



**Universidad
Norbert Wiener**

UNIVERSIDAD PRIVADA NORBERT WIENER

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**EVALUACIÓN DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DEL TUBÉRCULO *Euphorbia Huanchahana*
KLOTZCH & GARCKE BOISSIER “HUACHANGANA” EN
RATAS HOLTZMAN**

Tesis para optar el Título profesional de Químico Farmacéutico

Presentado por:

Br. Quispe Lactahuamán, Pilar Alicia

Br. Villafuerte Pedraza, Graciela

Asesor:

Mg. Daniel Ñáñez del Pino

Co Asesor:

Dr. Luis Miguel Félix Veliz

Lima – Perú

2019

DEDICATORIA

A mis padres, por la buena orientación que me dieron; y a mis hermanos, por su apoyo incondicional desde mis inicios, sus palabras de vida a lo largo de mi formación profesional y el inmenso cariño que me tienen. Mis hijos y mi esposo. A todos los que me apoyaron de buena fe durante mis estudios universitarios, mil gracias.

Br. Graciela Villafuerte Pedraza

DEDICATORIA

A Dios Divino por la fortaleza que me da en cada paso de mi vida y sobre todo salud y bendiciones en mi vida. Agradezco inmensamente a mi familia por su comprensión y apoyo incondicional y así lograr mis objetivos propuestos.

Br. Pilar Alicia Quispe Llactahuamán

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial a nuestro asesor Mg. Daniel, Ñañez del Pino por habernos brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y con su experiencia, conocimiento de la investigación del trabajo, así como también de haber tenido toda la paciencia para guiarnos durante todo el desarrollo de la tesis.

A la Doctora Juana Elvira Chávez Flores, por su valiosa participación y por ayudarnos de buena voluntad con los procedimientos de obtención de muestra para análisis., también al Doctor Luis Miguel Félix Veliz y a todos que se sumaron en el trayecto de la elaboración de la tesis con la buena voluntad en que nos apoyaron muchas gracias.

Br. Quispe Llactahuamán, Pilar Alicia

Br. Villafuerte Pedraza, Graciela

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN	vii
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
- Situación Problemática	2
- Marco teórico referencial	3
- Estudios antecedentes	15
- Importancia y justificación de la investigación	21
- Objetivo del estudio	22
- Hipótesis de investigación	23
II. MATERIALES Y METODOS	24
2.1. Enfoque diseño	24
2.2. Población, muestra y muestreo	24
2.3. Variable de estudio	25
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	25
2.5. Proceso de recolección de datos	26
2.5.1. Obtención de extracto etanólico del tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier "Huachangana"	27
2.5.2. Prueba de solubilidad del extracto etanólico del tubérculo	

<i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier	
“Huachangana”	27
2.6. Métodos de análisis estadístico	41
2.7. Aspectos bioéticos	41
III. RESULTADOS	42
IV. DISCUSIÓN	60
4.1. Discusiones	62
4.2. Conclusiones	61
4.3. Recomendaciones	63
CITAS Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
ANEXOS	72
Anexo A: Matriz de consistencia	72
Anexo B: Operacionalización de variables	73
Anexo C: Formato de validación del instrumento	75
Anexo D: Proceso de obtención del extracto etanólico del tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier "Huachangana"	77
Anexo E: Prueba de solubilidad y análisis de perfil cualitativo fitoquímico del extracto etanólico del tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”	78
Anexo F: Tabla de recolección de datos de parametros de toxicidad	79
Anexo G: Resultado de análisis de perfil hepático e histopatológico	80

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.	Especie vegetal de la familia <i>Euphorbia</i> en el mundo	6
Tabla 2.	Nombres comunes de <i>Euphorbia huanchahana</i> , según lugares de ubicación	7
Tabla 3.	Rangos de toxicidad según vías de administración	10
Tabla 4.	Valores de la DL ₅₀ que permiten clasificar las sustancias químicas como: muy tóxicas, tóxicas o nocivas	11
Tabla 5.	Estimación de toxicidad aguda (ETA) en función a la dosis letal	31
Tabla 6.	Fundamentos de Bilirrubina Directa	34
Tabla 7.	Fundamentos de Bilirrubina Total	35
Tabla 8.	Fundamento de Transaminasa Glutámico Oxalacético (Aspartato de Aminotransferasa) en Suero (GOT)	36
Tabla 9.	Fundamento de Fosfatasa Alcalina	36
Tabla 10.	Fundamento de Albumina (BCG)	37
Tabla 11.	Prueba de solubilidad del extracto etanólico de tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”	42
Tabla 12.	Análisis del perfil cualitativo fitoquímico del extracto etanólico del tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”	43
Tabla 13.	Comparación de los valores de Bilirrubinas, Transaminasas, y otros parámetros bioquímicos en ratas machos Holtzman, tratados con extracto etanólico del tubérculo de <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”	44

Tabla 14.	Comparación de los valores de Bilirrubinas, Transaminasas, y otros parámetros bioquímicos en ratas hembra Holtzman, tratados con el extracto etanólico del tubérculo de <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”	46
Tabla 15.	Comparación de los pesos en gramos de ratas Holtzman, versus grupo experimental tratado con el extracto etanólico del tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana” por sexo	52

ÍNDICE DE FIGURAS

RESUMEN

La intoxicación por plantas medicinales puede ocurrir por impericia de una sustancia aparentemente inocua de origen natural, como consecuencia de la absorción de una cantidad excesiva de un producto fitosanitario en un corto intervalo de tiempo. **Objetivo:** Determinar la toxicidad aguda hepática y renal del extracto etanólico de *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier. “Huachangana”, en ratas Holtzman. **Metodología:** Se diseñó un estudio experimental, mediante el análisis de perfil cualitativo fitoquímico, se determinó la presencia de metabolitos primarios y secundarios. Para la prueba de toxicidad aguda a (2000 mg/kg, DL₅₀). Se administró a **32** ratas vía oral en dosis única, según su peso corporal. A cuatro ratas solo se les administró agua destilada. Los animales de experimentación permanecieron en observación por **14** días, al término de los cuales no se detectó signos de toxicidad ni alteración de la curva de crecimiento de la especie ni muerte de ningún animal. El día **15** se realizó la eutanasia y se extirpó los órganos para realizar los análisis histopatológicos de los

tejidos (hígado y riñón). Además, se realizó el análisis de perfil hepático.

Resultados: Demostraron que no se hallaron cambios importantes en los análisis

	Pág.
Figura 1. Anatomía del hígado de ratas Holtzman	14
Figura 2. Flujograma para Obtención del extracto etanólico de tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”	27
Figura 3. Análisis del perfil cualitativo fitoquímicos del extracto etanólico de tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”	29
Figura 4. Flujograma de procedimientos para la evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico del tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”. En ratas Holtzman	30
Figura 5. Distribución de Bilirrubinas en ratas Holtzman por grupo control y experimental tratados con extracto etanólico del tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”	48
Figura 6. Distribución de transaminasas en ratas Holtzman por grupo control y experimental tratados con extracto etanólico del tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”	49
Figura 7. Distribución de Proteínas Total. Albuminas, Globulinas en ratas Holtzman del grupo control y experimental tratados con extracto etanólico del tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”	50
Figura 8. Distribución de Fosfatasa Alcalina y Gamma Glutamil Transpeptidasa en ratas Holtzman del grupo control y	

experimentales tratados con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”

		51
Figura 9.	Distribución de los pesos en ratas Holtzman del grupo control y experimental tratados con extracto etanólico del tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”	53
Figura 10.	Distribución de las ratas Holtzman según Transaminasas y Bilirrubinas por tipo de tratamiento	54
Figura 11.	Distribución de las ratas Holtzman según Transaminasas por tipo de tratamiento.	55
Figura 12.	Distribución de las ratas Holtzman según Fosfatasa Alcalina, Proteínas T., Albuminas, Gamma Glutamil Transpeptidasa y Globulinas por tipo de tratamiento	56
Figura 13.	Micrografía del grupo control del hígado de ratas Holtzman sin tratamiento.	57
Figura 14.	Micrografía del hígado de ratas Holtzman, tratado con extracto etanólico del tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”	57
Figura 15.	Micrografía del riñón de ratas Holtzman del grupo control sin tratamiento	58
Figura 16.	Micrografía del riñón tratado con extracto etanólico del tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”	58

del perfil hepático; al realizar los cortes histopatológicos del hígado y riñón no se evidenció lesiones macroscópicas. En los exámenes microscópicos realizados, no

se hallaron lesiones moderadas ni severas; el extracto etanólico de la especie botánica evaluada a 2000 mg/kg/ peso corporal. **Conclusión:** El extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier. “Huachangana”; a dosis de 2000 mg/kg no evidenció toxicidad aguda hepática y renal en ratas Holtzman.

Palabras Clave: Toxicidad aguda, *Euphorbia huanchahana*, animales de laboratorio, recolección de órganos. (Decs).

ABSTRACT

Intoxication by medicinal plants can occur due to the imperfection of a seemingly innocuous substance of natural origin, as a consequence of the absorption of an excessive amount of a phytosanitary product in a short period of time. Objective: To determine the acute hepatic and renal toxicity of the ethanol extract of *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier. "Huachangana", in Holtzman rats. Methodology: An experimental study was designed, through the analysis of phytochemical qualitative profile, the presence of primary and secondary metabolites was determined. For the acute toxicity test at (2000 mg / kg, LD50). It was administered to 32 rats orally in a single dose, according to their body weight. Only four rats were given distilled water. The experimental animals remained under observation for 14 days, at the end of which no signs of toxicity or alteration of the growth curve of the species or death of any animal were detected. On the 15th, euthanasia was performed and the organs were removed to perform histopathological analysis of the tissues (liver and kidney). In addition, liver profile analysis was performed. Results: They showed that no major changes were found in the liver profile analysis; when performing histopathological cuts of the liver and kidney no gross lesions were evident. In the microscopic examinations performed, no moderate or severe lesions were found; the ethanolic extract of the botanical species evaluated at 2000 mg / kg / body weight. Conclusion: The ethanolic extract of the *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier tuber. "Huachangana"; at a dose of 2000 mg / kg there was no evidence of acute liver and kidney toxicity in Holtzman rats.

Keywords: Acute toxicity, *Euphorbia huanchahana*, laboratory animals, organ collection. (Decs)

I. INTRODUCCIÓN

El conocimiento de propiedades medicinales de plantas está establecido en la observación, experiencia y el conocimiento del uso de plantas medicinales, empleando las diversas partes como: Raíces, tubérculos, tallo, hojas, flor, fruto y semillas con fines medicinales; este saber ha sido transmitido de generación en generación. Varias referencias bibliográficas demuestran la importancia y la antigüedad de la medicina herbolaria; con el paso del tiempo se fue desarrollando gradualmente el conocimiento de las drogas de origen natural ⁽¹⁾.

Desde tiempos remotos, las plantas dejaron de ser solamente parte de los bosques, pasando a formar parte de jardines y hierbas las que se destacaban por su forma y belleza con fines ornamentales ⁽²⁾.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que alrededor del 80 % de la población en vías de desarrollo depende casi exclusivamente de la medicina tradicional para sus necesidades de atención primaria de salud, su uso está establecido y ampliamente reconocido como inocuo y eficaz⁽³⁾. El 67 % de las plantas medicinales son provenientes de países sub desarrollados ⁽⁴⁾.

Actualmente se realizan diversos estudios a las plantas medicinales de forma que la etnobotánica, la fitoterapia y la fitoquímica están tomando un auge insospechado, tanto en la práctica de la medicina complementaria como en el ámbito académico. El 80 % de la población mundial, utiliza las plantas como principal remedio medicinal, según especifica la OMS. Esta práctica está asociada al empirismo en muchos casos, y faltan estudios químicos, clínicos y epidemiológicos que confirmen de forma fehaciente los efectos fisiológicos de los principios activos responsables. El 25 % de los fármacos existentes se obtiene de extractos vegetales, o bien se ha sintetizado a partir de sustancias halladas en la investigación Fitoquímica ⁽⁵⁾.

Los ensayos de toxicidad están disponibles para un gran número de países, no existen datos sobre toxicidad potencial de especies medicinales peruanas⁽⁶⁾. Además, debido a que la población que consume el tubérculo fresco de *Euphorbia*

huanchahana no tiene una medida específica de consumo por persona. Para ello, se aplicará el método test límite, metodología y diseño experimental descrito por las normas EPA (Agencia de Protección Ambiental) 870.1100, OECD 423 (Organización Económica para el Comercio Desarrollo), Arroyo y Cisneros ^(7,8).

El objetivo de investigación consiste en comprobar la toxicidad hepática y renal del extracto de la especie vegetal en estudio, a dosis de 2000 mg/kg en ratas hotlzman de ambos sexos, por tanto, está establecido de la siguiente manera: Formulación del problema, objetivos, marco teórico, parte experimental, resultados, discusión, conclusiones, recomendaciones, referencias bibliográficas y anexos.

- **Situación Problemática**

La intoxicación por plantas medicinales puede ocurrir por desconocimiento de una sustancia aparentemente inocua de origen natural, que se ingiera voluntaria o involuntariamente, como consecuencia de la absorción de una cantidad excesiva de un producto fitosanitario en un corto intervalo de tiempo. El hecho de que las hierbas sean productos naturales, no quiere decir que sean totalmente seguras hay hierbas que pueden tener efectos tan fuertes como algunos medicamentos⁽⁹⁾.

Actualmente son poco frecuentes los casos de intoxicación por plantas medicinales que pueden presentar carácter epidémico o mortal⁽²⁾. Los productos naturales pueden causar ocasionalmente problemas, debido a su presencia inesperada en alimentos con una concentración mayor a la normal, o bien se pueden confundir especies tóxicas con inocuas como sucede con algunos hongos comestibles, que incluso puede llegar a causar la muerte⁽¹⁰⁾.

Las plantas medicinales vienen siendo utilizadas con fines alimentarios o curativos, lo cual ha incrementado el número de consumidores y, por tanto, de reacciones adversas e interacciones con su consumo⁽¹¹⁾.

Los casos de intoxicación por el consumo de productos naturales son constantes, pero no son reportados por la población consumidora, debido al desconocimiento,

falta de identificación de efectos tóxicos que produce muchos productos medicinales comercializados en nuestro país, sin haber realizado los estudios necesarios de toxicidad.

Actualmente un sector de la población de escasos recursos económicos del anexo de Vichavichay - Castrovirreyna – Huancavelica consume la planta medicinal *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”, con la finalidad de contrarrestar la constipación, por lo tanto, es importante evaluar la toxicidad del extracto etanólico responsable de la actividad catártica, evidenciado en ratones albino realizado en la Universidad Privada Norbert Wiener. Así también en la Universidad Cayetano Heredia^(12,13).

Ante esta situación nos planteamos el siguiente problema de investigación

Formulación del problema

¿Cuál es el nivel de toxicidad aguda del extracto etanólico del Tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”, en ratas Holtzman?

- Marco teórico referencial

Estudio botánico de la especie *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier. “Huachangana”

Familia Euphorbiaceae

La *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”, pertenece a la familia Euphorbiaceae se encuentra entre una de las familias botánicas más grandes, complejas y diversas. Ofrece un gran potencial para su uso, con más de 1100 especies, nativas o naturalizadas⁽¹⁴⁾.

La familia Euphorbiaceae se caracterizan por tener hábitat muy variado, generalmente presenta látex o exudado coloreado, hojas alternas, simples, con

glándulas nectaríferas y estípulas, las flores son unisexuales y de frutos capsula explosivas; es reconocida por su diversidad y distribución cosmopolita, habita principalmente en zonas bajas, solo el 8,5 % crece en alturas superiores a 1500 m.s.n.m⁽¹⁵⁾. Las Euphorbiaceae, posee cerca de 300 géneros y 7,500 especies de amplia distribución en las regiones tropicales y templadas^(16,17).

Está conformada por alrededor 200 géneros y 7,000 especies. Es reconocida en el Perú por presentar 61 géneros y 323 especies, mayormente arbustos y árboles⁽¹³⁾.

Es una de las familias más interesantes del reino vegetal, es porque los miembros de la familia son muy numerosos y diversos en forma y habidad, también porque varios de ellos son de primera importancia en el campo económico. Las diferentes plantas de esta familia producen gran diversidad de sustancias químicas incluyendo el aceite de tung y aceite de ricino. No obstante, muchas de estas plantas son purgantes y algunas venenosas; otras producen frutos comestibles, mientras las raíces tuberosas de otras son alimentos importantes en los trópicos. Además, es la sexta familia más diversa dentro de las plantas con flores, después de Orchidaceae, Asteraceae, Fabáceae, Poaceae y Rubiáceae. Se distribuye en todo el mundo con excepción del antártico y está mejor representada en las regiones tropicales y subtropicales⁽¹⁷⁾.

Mayormente está representada en el mundo por aproximadamente 8,900 especies, si bien las mismas son cosmopolitas, en su mayoría habitan áreas tropicales y subtropicales. Entre ellas se encuentran especies de importante valor económico y otras que afectan a los cultivos comportándose como malezas⁽¹⁸⁾.

Descripción del género Euphorbia

Son plantas anuales, bianuales o perennes, herbáceas, a veces árboles y arbustos, algunas crasas o suculentas. Plantas monoicas o dioicas, con látex. Hojas simples, alternas, lámina entera o partida. Flores poco vistosas (algunas son monoclamídeas o aclamídeas), unisexuales, actinomorfas o algo

cigomorfas. Ovario súpero 3,1 -carpelar, 3-locular. Estilos 3, unidos. Estambres 5 a numerosos (a veces 1) libres o unidos de distintas formas. Flores reunidas en inflorescencias cimosas (ciatios en Euphorbia). Fruto cápsula esquizocárpica, tricoca, a veces drupáceo. Comprende unas 2,000 especies⁽¹⁹⁾.

Las especies vegetales por lo general tienen hojas normales, bien desarrolladas y carecen de tallos suculentos como reserva de agua. Pero muchas de ellas, principalmente africanas, tienen aspecto sacciforme, carecen de hojas o están muy reducidas, caen pronto y, como los cactus, están provistas de espinas. Los tallos suculentos están adaptados para el almacenamiento de agua y asumen las funciones asimiladoras que generalmente corresponde a las hojas. Existen formas intermedias entre las suculentas marcadamente suculentas y cactiformes y las herbáceas. Son especies con tallos más o menos suculentos, pero con hojas. Muchas son venenosas y han sido utilizadas por numerosos pueblos y culturas con varios fines, entre ellos medicinales^(17,18).

Distribución geográfica

Distribuida con cerca de 1,300 especies, ampliamente distribuido en regiones tropicales del mundo. Varias de estas tienen un papel muy importante en el uso tradicional de las plantas medicinales en África, Asia y América del Sur⁽²⁰⁾. Ocurren en todo el mundo. La familia es más diversa en los Trópicos. La mayor diversidad genérica en Euphorbiaceae Neo tropicales es en las zonas bajas de la selva Amazónica, donde hay varios géneros endémicos. Se caracterizan por presentar un látex o exudado coloreado, estípulas y están distribuidas en zonas tropicales, subtropicales y templadas⁽²¹⁾.

Especie vegetal en el mundo^(15,18,21).

La familia Euphorbiaceae, posee cerca de 300 géneros y 7 500 especies de amplia distribución en las regiones tropicales y templadas; como se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Especie vegetal de la familia *Euphorbia* en el mundo^(20,22).

Especies vegetal de Euphorbiaceae en el mundo
<i>Euphorbia admigdaloides</i> L
<i>Euphorbia atropurpurea</i> (Brouss.) Webb et Berth.
<i>Euphorbia balsamífera</i> Ait.
<i>Euphorbia berthelotii</i> Bolle.
<i>Euphorbia canariensis</i> L., parecida a un cactus de candelabros
<i>Euphorbia characias</i>
<i>Euphorbia helioscopia</i>
<i>Euphorbia lambii</i> Svent.
<i>Euphorbia minuta</i>
<i>Euphorbia obtusifolia</i> Poir
<i>Euphorbia paralias</i> L.
<i>Euphorbia pulcherrima</i> , flor de pascua

Nombre común, vulgar, vernacular, trivial o popular

Es bien conocido debido a que una misma especie vegetal toma diversas denominaciones según los países en que se encuentra y que para evitar los errores que de este hecho podría derivarse, la ciencia aconseja acompañar siempre a toda referencia el nombre específico con que es conocida en botánica, con frecuencia ocurre con especies netamente peruanas, que toman diversas denominaciones según las Regiones en que se presenta^(17,23 - 26).

Tabla 2. Nombres comunes de *Euphorbia Huanchahana*, según lugares de ubicación^(18,22-24).

Lugares	Nombres comunes
Lima	Huachangana
Puno	Huachangana, huachanca-huachanca
Cuzco	Huachanga, huachanca
Junín	Huachangana (hacer partir)
Ancash	Michoacán Mishuaka, mishuania
Ayacucho	Cuchi papa (papa de chancho)
Huancavelica	Charco (hacer votar)
Cajamarca	Wachanga
Otros	Chancano, huachanca
Lugar de recolección	Vichavichay-Huancavelica

Descripción morfológica de la especie *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”

Las plantas medicinales presentan cierta descripción según sus características propias de cada una de ellas.

- Hábitat:** Hierbas o arbustos, algunas xerofíticas y con apariencia de cacto, a menudo con savia lechosa.
- Hojas:** Alternas simples o compuestas, a menudo reducidas o deciduas en las especies xerofíticas; con estipulas.
- Inflorescencias:** Variadas, a menudo condensadas, de ahí la apariencia de una sola flor, un ciatio, plantas monoicas o dioicas
- Flores:** Unisexuales, actinomorfas. Cáliz de 5 sépalos o ninguno. Corola de 5 pétalos o ninguno. Androceo de 1 a muchos estambres, libres o unidos, a menudo presenta un ovario rudimentario en las flores masculinas. El gineceo está constituido por un pistilo compuesto de 3 carpelos unidos, con 3 lóculos, óvulos solitarios o pareados, placentación axilar, ovario supero estilos libres o unidos en la base.
- Fruto:** Esquizocarpo o una capsula.

6. Semilla: A menudo con una carúncula conspicua⁽¹³⁾.

Ubicación sistemática de la especie vegetal en estudio.

La especie vegetal *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier. “Huachangana” en estudio, recolectada en el anexo de Vichavichay provincia Castrovirreyna – Huancavelica, el 15 de abril de 2018, es un grupo de muestras que ya fueron identificadas, clasificadas y certificadas por la bióloga magister Joaquina Albán Castillo el 23 de marzo de 2009, proporcionadas desde el mismo lugar de origen por los Bachilleres Daniel Ñañez del Pino y Maribel Mendoza Berrocal⁽¹²⁾.

Hábitat y distribución

Euphorbia huanchahana Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”, es una planta originaria del Perú, Crece en estado silvestre, en zonas frías y templadas, en laderas de cerros, suelos pedregosos, Florece de marzo a junio. Los diversos nombres vernaculares que recibe indican que es una planta empleada en muchos lugares. Se distribuye en las zonas andinas, en los valles interandinos y occidentales del sur y del centro del Perú (Áncash, Cajamarca, Huánuco, Junín, Cusco y Huancavelica). Se encuentra entre 500-4200 m.s.n.m⁽¹⁷⁾.

Composición química

Todas las plantas producen compuestos químicos que les atribuyen ventajas, producen metabolitos secundarios que se derivan biosintéticamente de los metabolitos primarios y constituyen una fuente importante de muchos medicamentos farmacéuticos. Contienen azúcares reductores, terpenoides, alcaloides, esteroides, taninos, proteínas, grasas, aceites, gomas, mucílagos, glucósidos, saponinas, cumarinas, glucósidos, cardiacos, antraquinonas, flavonoides y fenólicos compuestos^(27,28).

Aspectos farmacológicos

Plantas medicinales tienen múltiples aplicaciones terapéuticas en la medicina tradicional; las intoxicaciones son un problema de salud pública en la mayor

parte de los países, se ubica entre las primeras diez causas de mortalidad y de morbilidad, especialmente en la edad infantil. Las sustancias naturales son definidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como sustancias terapéuticas complementarias a la medicina occidental, útiles para aliviar diversas dolencias⁽²⁷⁾.

El nivel de toxicidad está sometido a la cantidad de toxina ingerida en tiempo determinado⁽²⁾. Consecuentemente se utilizan modelos animales adecuados que posibiliten la evaluación de nuevos medicamentos para el tratamiento y prevención de diferentes enfermedades, diversos estudios preclínicos también pueden influir en la atención clínica de los pacientes⁽²⁹⁾.

Con la investigación experimental realizada se buscó, determinar los posibles efectos tóxicos de la especie vegetal *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier "Huachangana".

Aspectos toxicológicos

La intoxicación producida por especies vegetales es poco frecuente, pero algunas veces pueden alcanzar a ser mortal⁽¹¹⁾. Ciertos componentes de hongos, plantas y hierbas medicinales pueden lograr consecuencias nocivas o tóxicas sobre el organismo. Una sustancia terapéutica causa mejoría del estado patológico, hasta cierta concentración, pasado ese límite, se convierte en tóxico⁽³⁰⁾.

Algunas intoxicaciones se producen con poca ingesta sustancias tóxicas (setas), para otros se precisa un consumo elevado de alimentos como los glucósidos cianogénicos o inhibidores de la colinesterasa; otros principios activos, sin embargo, se encuentra en concentraciones que no poseen una inmediata toxicidad aguda. Su consumo frecuente puede dar lugar a intoxicaciones crónicas, por tanto, es indispensable evaluar su significado para la salud humana y tomar medidas preventivas para minimizar riesgos⁽³¹⁾. Las pruebas de toxicidad aguda son aquellas diseñadas para determinar los efectos que se producen dentro de un periodo de tiempo corto luego de la administración de las sustancias que se desea probar⁽³²⁾.

Toxicidad

Viene a ser la acción de un agente tóxico sobre el organismo, se traduce en una alteración del estado fisiológico o de salud; por tanto, una intoxicación es una enfermedad. Según el grado que afecte al individuo, la intoxicación puede calificarse como leve, moderado, grave o severa. También puede considerarse bajo un criterio patocrómico, es decir, estimando su evolución en función del tiempo, así podemos clasificarlas en intoxicaciones agudas, crónicas y recidivantes⁽³³⁻³⁵⁾.

La aplicación de las plantas medicinales debe efectuarse sobre una base científica que valide la efectividad terapéutica y su relativa inocuidad^(36,37).

Es prescindible establecer los efectos tóxicos de las drogas y sus principios activos y para ello se realizan estudios de toxicidad. El cual tiene la capacidad para producir daño a un organismo vivo, en relación con la cantidad o dosis de sustancia administrada o absorbida, la vía de administración y su distribución en el tiempo (dosis única o repetidas), tipo y severidad del daño, tiempo necesario para producir éste, la naturaleza del organismo afectado y otras condiciones intervinientes⁽³⁸⁻⁴⁰⁾.

Tabla 3. Rangos de toxicidad según vías de administración⁽²⁸⁾.

Rango de toxicidad	Denominación usual	Vía oral Dosis única, rata DL 50	Vía cutánea. dosis única, conejo DL 50	Inhalación vapor 4h, CL50, ratas ppm	Posible dosis letal hombre
1	extremadamente tóxico	< 1 mg/kg	< 5 mg/kg	10	1 gota
2	altamente tóxico	1 a 50 mg/kg	<5 a 50 mg/kg	10 a 100	1 cucharilla (4 mL)
3	moderadamente tóxico	50 a 500 mg/kg	50 a 350 mg/kg	100 – 1,000	30g
4	ligeramente tóxico	0,5 a 5 g/kg	0,35 a 3 g/kg	1,000 a 10,000	250 g
5	Prácticamente no tóxico	5 a 15 g/kg	3 a 25 g/kg	10,000a100,000	1 litro
6	relativamente inocuo	>25 g/kg	>25 g/kg	>100,000	> 1 litro

Parámetros que se utilizan para determinar la toxicidad

Los estudios de toxicidad se basan en:

Toxicidad aguda

Consiste en la aparición de un cuadro clínico patológico, después de una única exposición a una sustancia o múltiples exposiciones en un periodo de 24 horas. El caso más representativo es la presentación de fenómenos tóxicos antes de las 24 horas de una única absorción del agente. La evolución puede llevar al intoxicado a la muerte, o a una recuperación total o parcial, en la cual quedarían secuelas o lesiones persistentes⁽³³⁾.

Aparición de severos efectos adversos, signos, síntomas y efectos tóxicos que se manifiestan en segundos, minutos, horas o días (14 días máximo), después de la administración por vía oral o cutánea de una dosis elevada de sustancia, dosis múltiples administradas a lo largo de 24 horas (DL₅₀) o inhalación durante cuatro horas (CL₅₀). Se expresa en función a la DL₅₀ y puede manifestarse como una simple irritación o causar muerte⁽³¹⁾.

Tabla 4. Valores de la DL₅₀ que permiten clasificar las sustancias químicas como: muy tóxicas, tóxicas y nocivas⁽³⁵⁾.

Categoría	DL ₅₀ oral Rata (mg/kg)	DL ₅₀ Cutánea rata o conejo (mg/kg)
Muy tóxicos	≤25	≤ 50
Tóxicos	25 a 200	50 a 400
Nocivos	200a 2000	400 a 2000

Toxicidad crónica

Es la capacidad de una sustancia para producir efectos adversos de un organismo debido a exposiciones continuas durante un período prolongado de tiempo, provocando acumulación del agente tóxico en el organismo, desarrollando tumores, lesiones en órganos blanco, anemia aplásica, alteraciones del sistema nervioso central, efectos citotóxicos, como ocurre con las sustancias carcinogénicas, mutagénicas y teratogénicas^(41,42).

Presencia de síntomas clínicos, durante largo tiempo, que pueden durar unos días o un año o más, tras exposiciones repetidas a una sustancia potencialmente tóxica⁽³¹⁾.

La toxicidad crónica puede manifestarse como miopatía, hipocalcemia, debilidad muscular, náuseas, vómitos, diarrea y reducción de peso⁽⁴³⁾.

Dosis mortal media o dosis letal 50 (DL₅₀)

Cantidad de droga o principio activo necesario para producir la muerte de la mitad de animal de experimentación a los que se ha administrado la dosis⁽³³⁾.

La dosis letal se obtiene cuando el efecto que se persigue es la muerte. Para calcular la dosis, se administra a un conjunto de animales en el laboratorio, por vía que se desea estudiar, dosis progresivamente crecientes del producto a investigar. Se esperan 24 horas y se observan los efectos producidos, en este caso la muerte de los animales. La dosis se expresa en mg/kg de peso del animal⁽⁴¹⁾.

Generalmente los venenos deben ser sometidos a estudios toxicológicos y farmacológicos mediante la estimación de la dosis diluciones. Letal media (DL₅₀), la cual es utilizada para evaluar la letalidad del veneno y la dosis en microgramos capaz de matar al 50 % de los animales con el fin de tener una

idea del peligro relativo que causa un agente; asimismo, esta técnica se emplea para todas las pruebas de toxicidad y para cuantificar la potencia del veneno⁽⁴²⁾.

Efectos adversos

Disminución de los niveles normales de las funciones anatómicas (fisiología) del individuo⁽⁴²⁾.

Efectos tóxicos

Alteración del equilibrio fisiológico como una “exageración del efecto terapéutico” (los cardiotónicos digitálicos pueden producir un paro cardíaco) o un “efecto distinto del terapéutico” (los antibióticos aminoglucósidos tienen efectos neurotóxicos y nefrotóxicos por mecanismos distintos a los de su actividad). Los efectos tóxicos solo deben aparecer en el ámbito experimental y nunca en el uso clínico normal⁽⁴⁴⁾.

Los estudios preclínicos sirven sobre todo para demostrar la falta de efectos tóxicos⁽⁴¹⁾. Pueden ser de los siguientes tipos:

Reversible.

Aquel cuyo efecto inicial desaparece después de un corto tiempo, luego de la eliminación del tóxico⁽³⁶⁾.

Irreversible

No desaparece con el tiempo. El daño persiste aun cuando el tóxico desaparezca^(36,41).

Dosis o nivel sin efecto observable (NISEO)

Máxima cantidad de sustancia administrada, en la que las consecuencias de una o de repetidas exposiciones no se manifiestan o solo lo hacen después de cierto tiempo⁽³⁰⁾.

Toxicidad selectiva

Refleja la capacidad del tóxico para actuar selectivamente sobre células. Esta teoría procede de los conceptos de Erlich sobre grupos “toxóforos” (zona activa del tóxico que se une a un receptor), modificados por Albert, Ariens y otros. La presencia de órganos diana susceptibles al tóxico: hígado, riñones, médula ósea, cerebro, etc⁽⁴²⁾.

Toxicidad hepática y renal

Frecuentemente el consumo de productos herbolarios o comúnmente denominados “naturistas”, no cuenta con una regulación sanitaria apropiada y se pueden comprar libremente. Diversas hierbas y preparados herbales han sido implicados como causa de daño hepático tanto en forma aguda como crónica. Algunas hierbas con toxicidad demostrada⁽⁴³⁾.

Los problemas más graves relacionados con el consumo de hierbas medicinales son debidos a las sustancias tóxicas presentes en las plantas⁴¹. Son plantas cuya ingesta se caracteriza por producir intoxicación hepática, renal o mixta, que puede llevar, en unos casos, a la insuficiencia hepatocelular grave, con coma hepático, y en otros, a la insuficiencia renal aguda⁽¹¹⁾.

La figura 1. Presenta las partes del hígado de ratas holtzman que son: Cara visceral del hígado (1), Lóbulo lateral derecho (2), Lóbulo medial derecho (4), Lóbulo lateral izquierdo (5), Lóbulo medial izquierdo (6), Proceso caudado del lóbulo caudado⁽⁴⁵⁾.

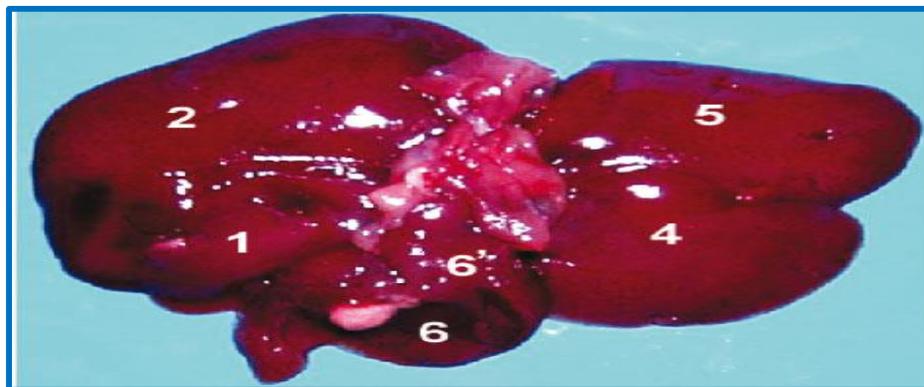


Figura 1. Anatomía del hígado de ratas Holtzman.

Análisis histopatológico

Dosis mortal media o dosis letal media (DL₅₀) Dosis de sustancia que produce la muerte al 50 % de animales de experimentación. Una población mínima de 10 ejemplares permite determinar su potencial tóxico. En la DL₅₀ se consideran siempre los efectos observados (signos, síntomas de toxicidad, efectos tóxicos y hallazgos patológicos). Los animales son observados por 14 días después de la administración de la sustancia, y son sacrificados y autopsiados al término de este período, para verificar efectos locales de órganos, por examen macro y microscópico. Se expresa en miligramos de tóxico por kilogramos de peso corporal del animal (mg/kg). También se le llama dosis media aguda oral (DL₅₀ aguda oral⁽³¹⁾).

- Estudios antecedentes

Antecedentes Internacionales

Olorunnisola, et al (2019). En la revista Europea de plantas medicinales se estudió la Evaluación de toxicidad aguda y subaguda de *Euphorbia lateriflora* (Schum y Thonn) en ratas Wistar Albino. **Objetivo:** Evaluar la toxicidad del extracto de etanol de la planta entera de *Euphorbia lateriflora* en ratas Albino Wistar. **Método:** La DL₅₀ en dosis única de 5000 mg / kg de peso corporal. **Resultado:** El estudio de toxicidad aguda oral a dosis altas únicas de 5000 mg / kg / muestra que la DL₅₀ del extracto es mayor que 5000 mg / kg /. Después de 7 días de administración oral, 5000 mg / kg / del extracto causaron una disminución significativa ($p < 0,05$) en el volumen celular empaquetado. A 5000 mg / kg / peso corporal, el extracto causó un aumento significativo ($p < 0,05$) en ALP, proteínas totales y albúmina y una disminución en los electrolitos séricos (Na⁺, K⁺ y Cl⁻). El análisis histopatológico reveló la expansión de los espacios fibrosos en el hígado y el engrosamiento de la base glomerular del riñón en el grupo alimentado con 5000 mg / kg / peso de extractos *Euphorbia lateriflora*. **Conclusión:** El efecto de toxicidad de órgano selectivo dependiente de la dosis y el tiempo de este extracto podría ser relativamente inseguro para el consumo a concentraciones especialmente altas⁽⁴⁶⁾.

Valenzuela R, et al (2015). En el estudio *Cnidioscolus chayamansa* hidropónica orgánica y su capacidad hipoglucemiante, calidad nutraceutica y toxicidad. **Objetivo:** Evaluar la capacidad hipoglucemiante y antioxidante, así como el contenido fenólico de una infusión de hojas de chaya hidropónica producida bajo fertilización orgánica; además determinar la toxicidad de la infusión. **Método:** Mediante modelos in vivo, usando ratas machos Wistar albinas y larvas de *Artemia salina* (determinación de toxicidad). Asimismo, se determinaron el contenido fenólico y la capacidad antioxidante de la infusión. **Resultado:** El consumo de la infusión evaluada redujo los niveles de glucosa de las ratas diabéticas, teniendo un mayor efecto hipoglicemiante que la aplicación de glibenclamida. **Conclusión:** El contenido de agentes fitoquímicos hipoglicemiantes en la infusión, incluyendo catequina y rutina. de hojas de chaya es considerada no tóxica y segura para su consumo como potencial agente hipoglicemiante⁽⁴⁷⁾.

Olubunm E, et al. (2016). En el estudio Toxicidad aguda acuosa del extracto de la hoja de *Euphorbia heterophylla* L. En ratas Sprague Dawley. **Objetivo:** Evaluar la toxicidad aguda del extracto acuoso de hoja de *Euphorbia heterophylla*. **Método:** Se utilizó el método de las directrices 423 de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE). **Resultado:** Se observó una disminución significativa ($p < 0,001$, $p < 0,01$) en el aumento porcentual semanal promedio en el peso corporal de las ratas que recibieron 50 mg / kg, 150 mg / kg y 300 mg / kg en cualquiera de las semanas de tratamiento, aunque no hubo cambios significativos en los alimentos consumidos. El peso relativo del hígado, riñón y cerebro aumentó significativamente ($p < 0,05$) especialmente a 2000 mg / kg. También hubo un aumento significativo en el hematocrito (HCT) y la hemoglobina (HB) a 50 mg / kg ($p < 0,05$) y 150 mg / kg ($p < 0,001$). Sin embargo, los glóbulos rojos (RBC) ($p < 0,05$), las plaquetas (PLT) ($p < 0,001$) y los glóbulos blancos (WBC) ($p < 0,05$) disminuyeron significativamente principalmente a 2000 mg / kg. Hubo una elevación significativa en aspartato transaminasa (AST), alanina transaminasa (ALT) o fosfatasa alcalina (ALP) a 50 mg / kg, 300 mg / kg y 2000 mg / kg. Además, EHL (*Euphorbia heterophylla* L) causó inflamación leve o

congestión portal en todos los grupos de tratamiento. **Conclusión:** (*Euphorbia heterophylla* L). Presenta toxicidad aguda, a dosis de 2000 mg /kg de peso. ⁽⁴⁸⁾.

Torrice f, et al. (2013). En el estudio Evaluación de la toxicidad aguda, actividad analgésica e hipoglicemiante del extracto acuoso de *Croton pungens* en animales experimentales. **Objetivo:** Determinar la toxicidad aguda del extracto acuoso de las hojas de *Croton pungens* y evaluar su posible actividad analgésica e hipoglicemiante en modelos experimentales. **Métodos:** Se utilizaron diversos métodos como son: Método de Probit; consiste en administrar diferentes dosis para conocer efecto reversible en el tiempo y dependiente de la dosis para determinar la DT₅₀, para determinar la actividad analgésica se utilizó el método térmico o método de Davies. La diabetes fue inducida por inyección intraperitoneal de aloxano. **Resultado:** Fueron reversibles y dependientes de la concentración. No hubo muerte en ninguna de las dosis evaluadas. Para la determinación de la DT₅₀ se utilizó el efecto Pilo-erección, resultando 1,0226 g/kg y 2,094 g/kg para machos y hembras. **Conclusión:** Se demuestra que el extracto acuoso de las hojas de *Croton pungens* no generó efectos tóxicos agudos, El (EACP) extracto acuoso *Croton pungens*, no presenta efectos analgésicos en el modelo evaluado y demostró actividad hipoglicemiante⁽⁴⁹⁾.

Cordeiro M, et al. (2015). En el estudio titulado. Actividad antimicrobiana y toxicidad de látex de *Euphorbia tirucalli* L. (aveloz). **Objetivo:** Evaluar la actividad antimicrobiana y la toxicidad de látex de *Euphorbia tirucalli*. **Métodos:** Se llevaron a cabo determinaciones de carbohidratos, proteínas y análisis de metabolitos secundarios. Pruebas de actividad antimicrobiana; citotoxicidad en células tumorales y toxicidad oral. **Resultados:** El látex mostró 165,29 µg/mL de proteína y 129,5 µg/mL de carbohidratos. Se detectaron alcaloides, cumarinas y núcleo esteroide. No se observó actividad antimicrobiana, hepato o nefrotóxica y no hubo cambios en el número de células de la sangre de los animales tratados. Sin embargo, se observó una reducción de 60 % de adhesión de células tumorales (HeLa) in vitro. **Conclusión:** Los resultados

obtenidos muestran que el látex de *Euphorbia tirucalli* a las concentraciones evaluadas, tiene baja toxicidad y no presenta actividad antimicrobiana⁽⁵⁰⁾.

Antecedentes Nacionales

Betancur J, et al. (2017). En su estudio Titulado Efecto de la administración crónica del látex liofilizado de *Croton lechleri* Muell. Arg. “sangre de drago” en *Rattus norvegicus* var. Albinus. **Objetivo:** Determinar la administración crónica (90 días) del látex liofilizado de *Croton lechleri* Muell. Arg. “sangre de drago” con el fin de evaluar los parámetros hematológicos y bioquímicos en *Rattus norvegicus* var albinus. **Materiales y métodos:** Se utilizó ratas con un peso corporal (p.c.) entre 150 g a 170 g, distribuidos en Grupo A (control) y Grupos B y C (experimentales), de 20 especímenes cada uno (10 hembras y 10 machos) a las que se administró por vía oral NaCl 0,9 % y una dosis diaria de 100 y 200 mg de látex liofilizado /kg p.c. Durante 90 días, se tomaron muestras de sangre cada 15 días para determinar parámetros hematológicos (hematocrito, linfocitos, leucocitos y segmentados) y bioquímicos (glucosa, úrea, creatinina, colesterol total y perfil hepático). **Resultado:** Todos los valores se encontraron dentro del rango normal. Se hallaron diferencias significativas al comparar los grupos de estudio en los resultados de glucosa (control vs. grupo I: p 0, 05). **Conclusión:** El látex liofilizado de *Croton lechleri* Muell. Arg. no generó toxicidad en los parámetros hematológicos y bioquímicos estudiados en *Rattus norvegicus* var Albinus⁽⁵¹⁾.

Silvero A, et al. (2016). En su estudio titulado Toxicidad aguda de hojas de *Xanthium spinosum* en ratones Balb/C. **Objetivo:** Analizar sobre el efecto tóxico del consumo de hojas de plantas maduras de *Xanthium spinosum* en ratones BALB/c. **Método:** Para el estudio se seleccionaron 35 ratones BALB/C machos que fueron distribuidos en 7 grupos, 6 de ensayo y 1 de control. El extracto fue preparado en concentraciones de 6 y 9 % (g/dL); se administró la solución 6 % a tres grupos y la solución 9 % a los otros tres grupos, con dosis entre 200 y 1000 mg/kg. Al final de 14 días de observación, se extrajeron muestras de sangre para estudios en laboratorios de urea y

transaminasas, además de órganos para estudios anatomopatológicos.

Resultado: No se identificaron diferencias significativas en los parámetros relacionados a la observación diaria. Los resultados de las pruebas de laboratorio mostraron diferencias significativas ($p=0,01$) entre los niveles de GOT (transaminasa glutámico-oxalacética) y las dosis administradas del extracto de la planta. Todas las dosis administradas tuvieron valores significativamente mayores al control; entre las dosis administradas, existió diferencia entre 200 mg y 100 mg; 500 mg y 100 mg. Además, se constató correlación entre la GOT y la dosis de 74 %; GOT y concentración de 66 %.

Conclusión: El consumo del extracto de hojas maduras de *Xanthium spinosum* puede causar efecto tóxico a nivel hepático⁽⁵²⁾.

Paico D, y Raque S, (2015). Realizaron un estudio titulado Estudio comparativo de la toxicidad aguda y del efecto antiinflamatorio de los aceites de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* y *Plukenetia huayllabambana*) en ratones.

Objetivo: Fue evaluar el contenido de Omega 3 en aceite de Sacha Inchi, capaz de inhibir o reducir la respuesta inflamatoria. **Método:** Utilizó modelos in vitro e in-vivo en animales de experimentación. **Resultados:** Los análisis fisicoquímico mostró el aceite de Sacha Inchi contiene un 53 % de Omega 3, mientras el obtenido de *Pluquentia volubilis* presenta un 47 %. La evaluación citotóxica, demostró que ambos aceites no son cito tóxicos, debido a que mostraron una Concentración Inhibitoria Media (IC50) de 48,561 mg/mL para *Pluquentia volubilis*, y de 50,695 mg/mL para *Pluquentia huayllabambana*, los cuales, fisiológicamente, son valores difíciles de alcanzar en las células, se clasificó ambos aceites en la categoría de Relativamente Inocuos.

Conclusión: Los aceites demostraron tener efecto antiinflamatorio estadísticamente significativo, siendo el aceite de *Pluquentia huayllabambana* más efectivo presentando un 62 % de porcentaje de inhibición de la inflamación. Se demostró la inocuidad y la potencial actividad antiinflamatoria de *Plukenetia sp*⁽⁵³⁾.

Orellana L, et al. (2014). Realizaron un estudio titulado Toxicidad aguda de *Aleurites Moluccana* por vía oral en ratas *Sprague-Dawley*. **Objetivo:** Determinar la toxicidad aguda de *Aleurites moluccana* por administración oral en ratas Sprague-Dawley. **Método:** La evaluación de la toxicidad aguda oral según lo estipulado en el ensayo 423 de las directrices de la Organización Económica para el Comercio y Desarrollo (OECD). Guía para la evaluación de químicos. **Resultado:** No existieron diferencia significativa en los pesos, ni en las variables bioquímicas entre los grupos (Kruskal-Wallis, $p>0,05$). Los grupos A1 y A2 presentaron signos clínicos de toxicidad y la muerte de tres ratas; células hepáticas binucleadas y regenerativas en el hígado; y hemorragia glomerular en el riñón. **Conclusión:** Las variables clínicas e histopatológicas en hígado y riñón demostraron que la *Aleurites moluccana* produce toxicidad aguda⁽⁵⁴⁾.

Gorriti A, et al. (2010). En la revista titulada Toxicidad oral a 60 días del aceite de sacha inchi (*plukenetia volubilis* L.) y linaza (*linum usitatissimum* L.) y determinación de la dosis letal 50 en roedores. **Objetivo:** Evaluar la toxicidad oral a 60 días y determinar la dosis letal (DL 50) de los aceites crudos de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y linaza (*Linum ussitatisimum*) en ratas Holtzman y en ratones cepa Balb C57. **Métodos y materiales:** Para la evaluación de la toxicidad oral a dosis repetida por 60 días se utilizó 24 ratas macho Holtzman divididos en tres grupos de ocho cada uno, los grupos fueron: Solución salina fisiológica 4 mL/kg (SSF), aceite de sacha inchi 0,5 mL/kg (SI05) y aceite de linaza 0,5 mL/kg (L05), durante el experimento se controló semanalmente el peso corporal y signos de toxicidad en los grupos investigados, así como colesterol total, HDL, triglicéridos, glucosa, urea, TGP y fosfatasa alcalina a los 30 y 60 días de iniciado el experimento. Para la evaluación de la DL₅₀ se usó ratones macho cepa Balb C57 en grupos de diez animales, se administró por vía oral dosis crecientes de aceites crudos hasta alcanzar 1 mL/kg (37 g/kg); Se utilizó el método de probit. **Resultados:** Los parámetros séricos en las ratas indican que las administraciones de los aceites disminuyeron los niveles de colesterol, triglicéridos e incrementaron el

HDL con respecto al grupo control. **Conclusiones:** Se concluye que los aceites de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y linaza (*Linum ussitatissimum*) no presentan efectos tóxicos a los sesenta días de consumo⁽⁵⁵⁾.

- **Importancia y justificación de la investigación**

El presente trabajo de investigación se justifica en los siguientes aspectos:

Aporte económico: Teniendo en cuenta que un sector de la población de bajos recursos económicos, que están lejos de las postas médicas y hospitales, utilizan esta planta medicinal para aliviar el estreñimiento que padecen, es por ello se eligió esta especie *Euphorbia huanchahana*, Klotzch & Garcke Boissier. “Huachangana” conocida por la población como ccarco, la cual fue determinada la actividad catártica, y con la presente investigación se busca contribuir al uso de la especie dentro de la gran variedad de purgantes naturales.

Aporte Social: En el marco de revalidación de la medicina tradicional, es necesario ofrecer a la población plantas medicinales como alternativa de tratamiento, debido a sus propiedades curativas orientadas a mejorar su salud. Por otro lado, la especie vegetal huachangana es utilizada en Vichavichay como purgante, además con fines antiséptico y antiparásito; por este motivo es importante conocer la posible toxicidad aguda hepática, renal y hematológica.

Aporte en Salud: Las especies vegetales contienen diversas sustancias activas, en distintas concentraciones, que son responsables de una actividad farmacológica. Son utilizadas con diversos fines curativos desde tiempos inmemorables hasta la actualidad como remedios naturales. Con el proyecto de investigación se busca determinar el nivel de toxicidad hepática, renal probable que pueda presentar los fitoconstituyentes del extracto etanólico del tubérculo de *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”, utilizadas por un sector de la población del anexo de

Vichavichay – Castrovirreyna; y colaborar para el control de uso de esta planta por la población.

Aporte práctico: En el anexo de Vichavichay (distrito de cocas, provincia de Castrovirreyna departamento de Huancavelica), el tubérculo de *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”, son consumidas por los pobladores en forma directa, como laxante en caso de estreñimiento. Al realizar las revisiones bibliográficas, estas consideran el efecto catártico o laxante a los metabolitos secundarios de naturaleza antraquinona. Debido a dicho uso de los pobladores de esta zona, se planteó determinar la presencia de metabolitos secundarios, entre ellos la antraquinona y evaluar la toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg en ratas (Holtzman).

- **Objetivo del estudio**

Objetivo General.

Determinar la toxicidad aguda hepática y renal del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier. “Huachangana”, en ratas Holtzman

Objetivo Específico:

1. Identificar por análisis cualitativo fitoquímico la presencia de los metabolitos del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier. “Huachangana”.
2. Analizar el perfil hepático del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier. “Huachangana”, en ratas Holtzman.
3. Realizar los cortes histopatológicos del hígado y riñón de los grupos tratados.
4. Determinar la toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg en ratas Holtzman.

- Hipótesis de investigación

Hipótesis General

H_i: Presenta toxicidad hepática el extracto etanólico del tubérculo de *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier. “Huachangana”, en ratas Holtzman.

H_o: No presenta toxicidad hepática el extracto etanólico del tubérculo de *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier. “Huachangana”, en ratas Holtzman.

II. MATERIALES Y METODOS

2.1. Enfoque diseño

La presente investigación utilizó el método

- ✓ Según estrategia aplicada: Experimental
- ✓ Según el nivel y alcance de sus resultados: Explicativo
- ✓ Según tendencia o enfoque: Cuantitativo
- ✓ Según el propósito u orientación: Aplicada

2.2. Población, muestra y muestreo

Población y Muestra

La población de estudio estuvo constituida por ratas de cepa Balb/C53/CNPB y especie "Holtzman" adquiridos al bioterio del INS (Instituto Nacional de Salud) en el distrito de Chorrillos, Lima-Perú.

Tamaño de La muestra

Muestra vegetal: El tubérculo de *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier "Huachangana"

Muestra biológica: 36 ratas Holtzman de cepa Balb/C53/CNPB aproximadamente 177-280 g de peso corporal.

La muestra estuvo constituida por 36 ratas (18 hembras y 18 machos) de la especie "Holtzman" de aproximadamente 177-280 g de peso corporal. El muestreo fue no probabilístico por conveniencia.

Criterios de inclusión

- Ratas Holtzman de ambos sexos.
- Ratas Holtzman de 200+/- 300g de peso corporal.

- Ratas Holtzman que no tengan características de enfermedad.

Criterios de exclusión

- Ratas Holtzman que no disponen el peso corporal especificado.
- Ratas Holtzman que estuvieron utilizados en otros modelos de experimentación.
- Ratas Holtzman con rasgos apreciables de enfermedad.

2.3. Variable de estudio

Variable (1): Variable Dependiente

Toxicidad aguda el tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke. Boissier “Huachangana”, en ratas Holtzman.

Tipo de variable: (cuantitativa ordinal)

Variable (2): Variable independiente

Extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke. Boissier “Huachangana”.

Tipo de variable: (cualitativa nominal).

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos (validez y confiabilidad de instrumentos)

Todos los datos estadísticos fueron recolectados y registrados en hojas de cálculo, antes, durante y al término de la investigación. Los datos considerados dentro del estudio estuvieron conformados por los componentes de cada variable conforme los objetivos del estudio.

2.5. Proceso de recolección de datos

2.5.1. Obtención de extracto etanólico de tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”.

La obtención del extracto etanólico se realizó mediante el método de extracción por maceración, consiste en extraer sólido-líquido del material vegetal, contiene compuestos polares en el líquido extraído. Este proceso permite extraer los principios activos contenidos en el tubérculo de *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”^(56,57).

Se pesaron los tubérculos *Euphorbia huanchahana* Klotzsch & Garcke Boissier “Huachangana”. obteniendo 4 kilos de muestra, se licuo los tubérculos seleccionados, luego es macerado con etanol 70° por 7 días en frasco ámbar protegida de la luz a temperatura ambiente, a continuación, se procedió a filtrar el extracto con ayuda de un embudo y papel filtro. El filtrado obtenido se colocó en una fuente de pírex de vidrio, se llevó a la estufa a 40 °C para volatilizar el solvente utilizado obteniendo el extracto seco. Se pesó la muestra obtenida 320 g y se almacenó en un envase de vidrio color ámbar.

2.5.2. Prueba de solubilidad del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”.

La prueba de solubilidad se realiza con la finalidad de describir los procesos cualitativos de disolución con solventes de polaridad creciente; con el fin de obtener los metabolitos de acuerdo con su solubilidad^(58 - 61). Los solventes que se utilizaron son: Agua destilada, Etanol, Metanol, n-Butanol, Cloroformo, Acetona, Acetato de Etilo, n-Hexano, Éter etílico, y Benceno.

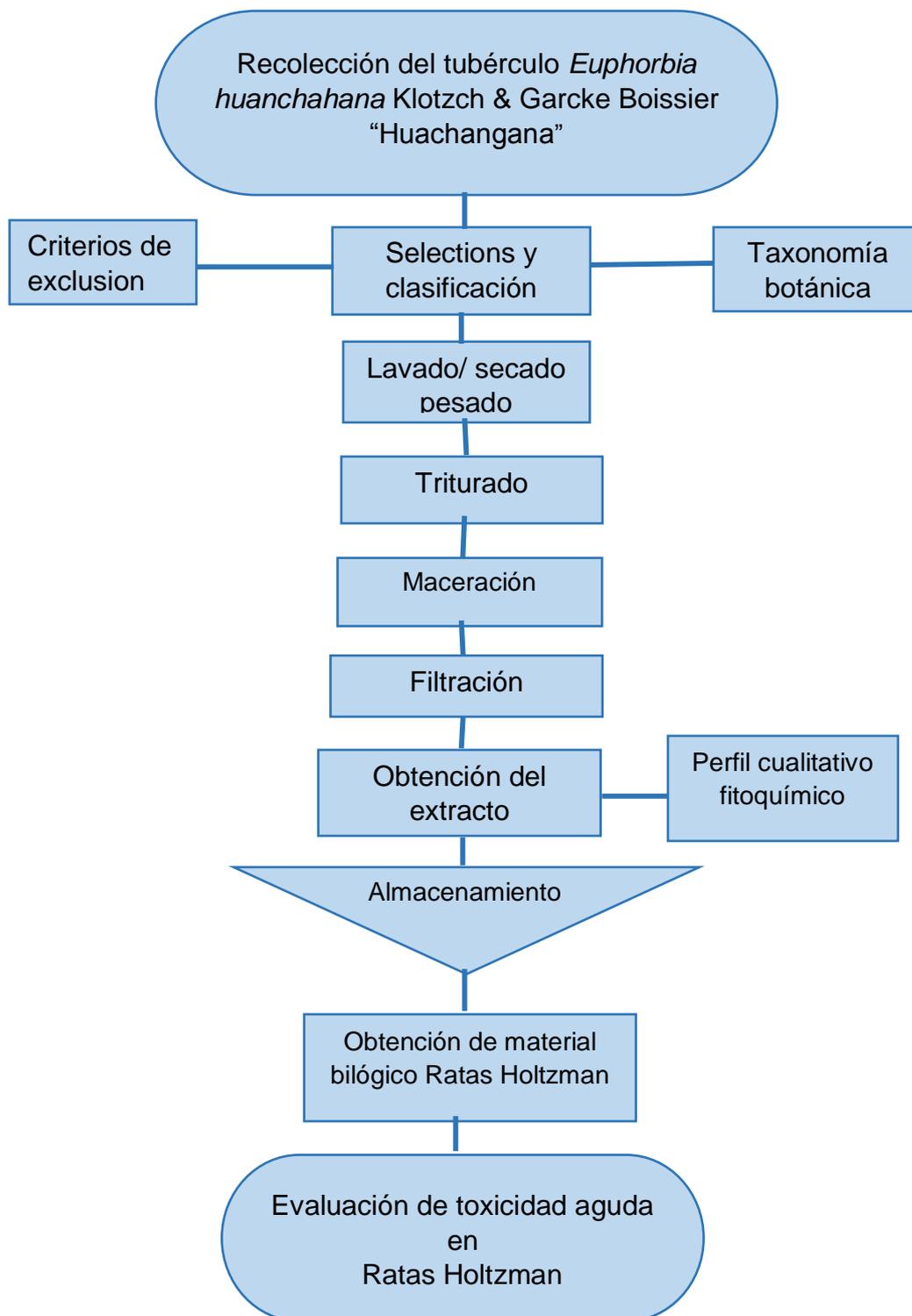


Figura 2. Flujograma para Obtención del extracto etanólico de tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”.

Análisis del perfil cualitativo fitoquímico del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”.

Mediante el análisis de perfil cualitativo fitoquímico se determina los metabolitos presentes a través de diferentes ensayos de cambios de coloración y formación de precipitados, que permiten identificar los metabolitos. Además, se diseñan métodos de fraccionamiento que guían a los estudios fitoquímicos para un mejor resultado, en cuanto a la relación de la composición química de la planta con el efecto farmacológico descrito en los modelos preclínicos realizado⁽⁶²⁻⁶⁴⁾. También, están basados en los modelos propuestos por Lock O⁽⁶¹⁾.

Para el análisis de perfil cualitativo fitoquímico se realizaron pruebas de coloración y precipitación para lo cual se utilizó 1 g de muestra del extracto del tubérculo *Euphorbia huanchahana* diluidos en 20 mL de solvente etanol, se puso 1 mL de extracto en cada tubo de ensayo y se agregó V gotas de los correspondientes reactivos para su identificación de los metabolito primarios y secundarios.

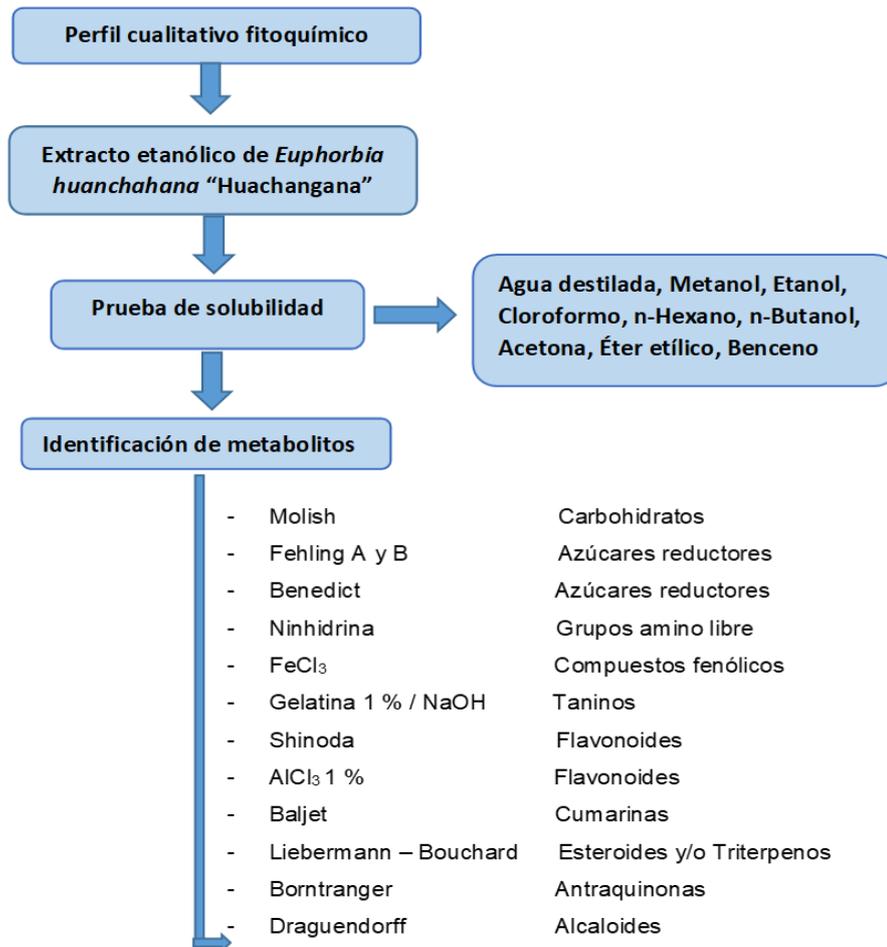


Figura 3. Análisis del perfil cualitativo fitoquímico del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”⁽⁶⁵⁻⁶⁸⁾.

Análisis toxicológico

Estudio toxicológico

Los bioensayos experimentales para la evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico del tubérculo fresco de *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”. En hígado y riñón de ratas Holtzman, se efectuaron siguiendo el test límite, metodología y diseño experimental descrito por las normas EPA (Agencia de protección

ambiental) 870.1100, OECD (Organización económica para el comercio y desarrollo). Los procedimientos y las recomendaciones internacionales establecidas en el Manual de Técnicas y Métodos de Investigación en Nutrición Humana, Normas Éticas de la Unión Europea para la Experimentación del Animal, Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) y Directriz para los Ensayos de Productos Químicos OCDE/OECD 423 método de clasificación de toxicidad aguda toxicidad oral^(7,66).

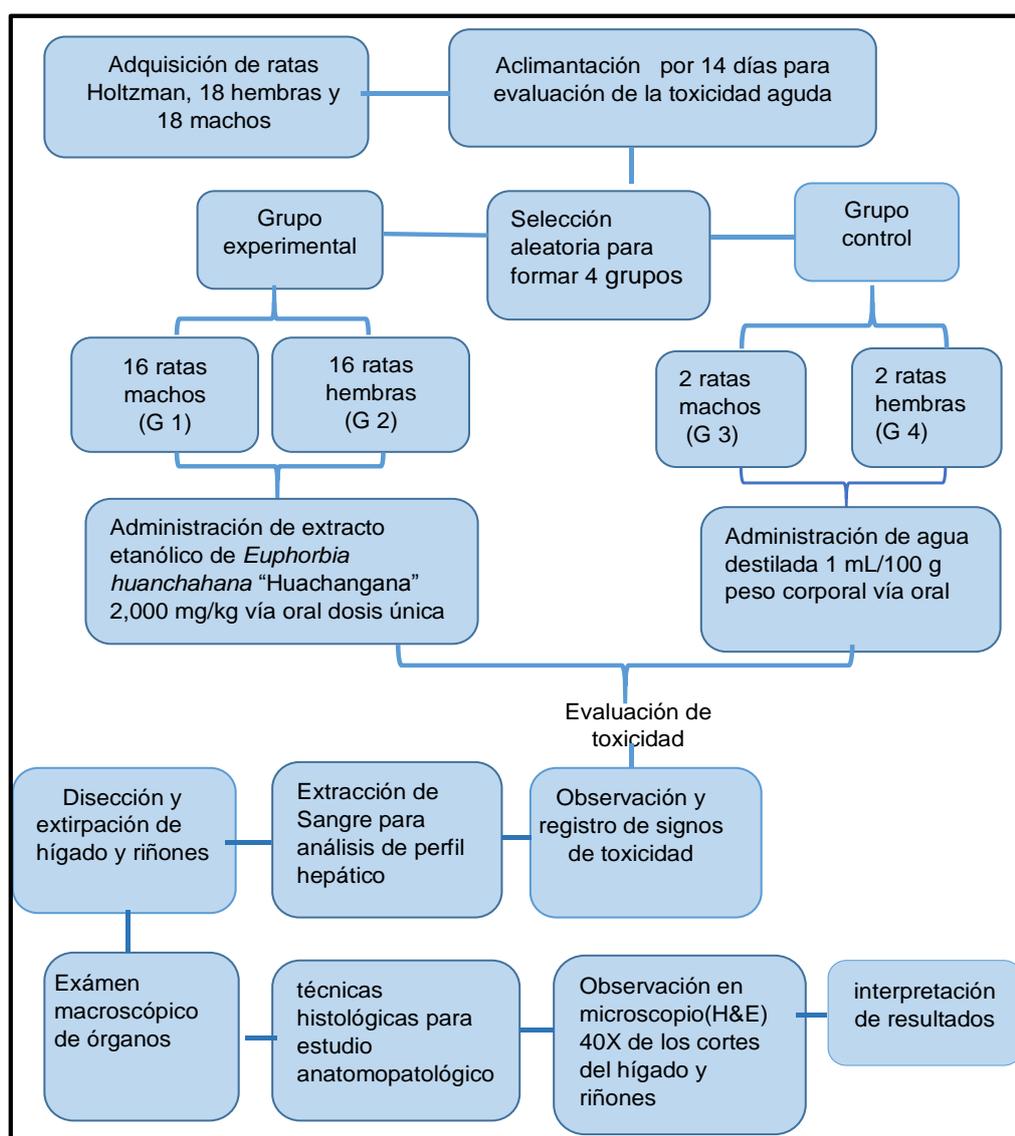


Figura 4. Flujograma de procedimientos para la evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier "Huachangana". En ratas Holtzman.

Modelo del estudio toxicológico

El uso de los animales de laboratorio en las investigaciones biomédicas representa un elemento fundamental en el desarrollo de importantes avances en la prevención y tratamiento de las enfermedades transmisibles y no transmisibles. El modelo empleado por Fortuna diseñado por John Willam Trevan⁽³²⁾.

Tabla 5. Estimación de toxicidad aguda (ETA) en función a la dosis letal

Toxicidad	Vía de administración	Número de animales de experimentación	Frecuencia	Dosis
Aguda	oral	36 ratas	Dosis única	2 000 mg/kg peso

Acondicionamiento del material biológico

Las ratas Holtzman, con un peso corporal promedio entre 225 g \pm 2,66 g (ratas hembras) y 276 g \pm 2,94 g (ratas machos), con 50 días de vida, fueron albergadas y mantenidas, durante el período de estudio, en el Bioterio del centro de investigación de Farmacología de la Universidad Privada Norbert Wiener, en jaulas metálicas de acero inoxidable, con 22 °C (\pm 3 °C) de temperatura ambiental. Se mantuvieron a condiciones normales de foto periodicidad (12 horas de luz/oscuridad), y con humedad relativa de 65 %⁽⁶⁹⁾.

Preparación de los sustratos biológicos para la evaluación

Las ratas fueron pesadas y albergadas en sus respectivas jaulas, según el grupo correspondiente. La ingesta alimenticia que se utilizó fue comida estándar para ratas (cebada); y la bebida que se les proporcionó fue el líquido elemental básico (agua) a libre albedrío. En la evaluación toxicológica se utilizó 36 ratas Holtzman de ambos sexos distribuidos según su género en dos grupos, G1-18 hembras G2-18 machos durante un periodo de aclimatación de 7 días, en el bioterio de la Universidad Norbert Wiener. A temperatura promedio de 20 \pm 2 °C con una humedad relativa de 50 a 70 %, con alimentos y agua, la iluminación fue con una secuencia de doce horas luz artificial y doce horas a oscuras⁽⁷⁰⁾.

Preparación y Administración de Dosis a Grupos a Tratar y blanco.

El extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”, se pesó 8.314 g de extracto seco; luego fue diluido en agua destilada en un vaso de beaker utilizando una bagueta de vidrio para su disolución, luego se filtró con la ayuda del papel filtro para posteriormente proceder a realizar su administración⁽⁵⁵⁾.

Se administraron vía oral un aproximado 2,76 mL a 3,12 mL por cada kg de peso a cada animal de experimentación, el extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana” 2000 mg/kg, de peso corporal. El extracto se administró a los animales en condiciones óptimas, considerada como dosis límite o prueba de letalidad, con la ayuda de una sonda oro gástrica N°18 estéril⁽⁷¹⁾.

Después de la administración de la dosis única, los animales permanecieron en observación por 14 días, para la detección de señales clínicas de toxicidad, las cuales fueron anotadas en el formato de control para cada animal. El primer, el sétimo y el día número 14 se efectuó el control de pesos corporales. Los datos fueron registrados en el respectivo

formato de control. La prueba limite se realizó a dosis de 2000 mg/kg de peso corporal con 32 ratas Holtzman ambos sexos.

Observaciones

Las observaciones de los animales de experimentación fueron después de administrar la dosis y según el peso corporal de las ratas, la cantidad de extracto en mL el cual fue principalmente para determinar la dosis letal DL₅₀, así también la aparición de los signos tóxicos relacionado con el estado general de las ratas para ello se utilizaron los siguientes parámetros:

Apariencia de pelos, lagrimeo, apnea, disnea, salivación, temblor, somnolencia, letargo, ruido nasal, epistaxis y convulsiones ataxia, diarrea y deshidratación⁽⁴⁹⁾.

Procedimiento para la extracción de sangre y órganos per fundidos

Extracción de Sangre y Órganos

El día 15 se trasladó las ratas al Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, para realizar la eutanasia (muerte sin sufrimiento físico), administrándoles éter etílico vía inhalatoria. Luego se procedió a la obtención de muestras sanguíneas de cada uno de los animales. Las muestras de sangre fueron utilizadas para realizar la determinación de valores bioquímicos como perfil hepático (Aminotransferasa de Alanina, Transaminasa Glutámico Oxalacética, Bilirrubinas, Fosfatasa Alcalina, Proteínas, Albuminas, Globulinas y Gamma Glutamil Transpeptidasa)^(55,71,72).

Los estudios de evaluación de toxicidad hepática y renal se realizaron en el Laboratorio central de patología clínica del Hospital Nacional Arzobispo Loayza.

Análisis del Perfil Hepático

Fundamentos de Bilirrubina Directa: En la determinación de bilirrubina se utilizó ácido sulfanílico diazotizado formándose azobilirrubina. Coloreada en medio acuoso solo reacciona la bilirrubina conjugada o directa en presencia de ácido sulfanílico diazotizado, los glucuronidos de bilirrubina y la bilirrubina – delta reacciona, formándose azobilirrubina que en pH ácido presenta un peak (pico) de absorción de 560 nm^(73,74).

Procedimiento: Se agregó al momento de utilizar por cada 1 mL de reactivo sulfanílico con una gota de reactivo nitrito de sodio (0,05 mL) mezclar y se dejó estable en 24 horas protegido de la luz. La muestra que se utilizó ha sido el suero de las ratas cepa Holtzman libre de hemólisis luego se realizó el análisis dentro de dos horas.

Tabla 6. Fundamentos de Bilirrubina Directa (BD) ^(73,75).

		Desconocida	Blanco reactivo
Muestra	mL	0,10	-
Reactivo	mL	1,00	1,00
trabajo			
Agua	mL	-	0,10
destilada			
Mezclar e incubar exactamente 3 minutos a temperatura ambiente (20 a 25 °c) o 1 minuto a 37 °c, llevando a cero el instrumento con el blanco reactivo.			
$Abs.=(Abs.muestra) - (Abs.blanco)$			

Fundamentos de Bilirrubina Total

Para este método se utilizó ácido sulfanílico diazotizado formándose azobilirrubina coloreada. En medio acuoso para medir la bilirrubina total se necesita la incorporación de un acelerador, inicialmente se utilizó

metanol (Malloy-Evelyn) y posteriormente benzoato de sodio (Jendrassic-Grof). El método Valtek se basa en la modificación propuesta por Walters y Gerarde, en la cual se utiliza dimetilsulfoxido (DMSO). La azobilirrubina formada es medida fotométricamente entre 540 y 600 nm siendo la intensidad del color formado directamente proporcional a la cantidad de bilirrubina directa en la muestra^(73,75).

Procedimiento: Se agrega por cada 1 mL. de dimetilsulfoxido (DMSO), 1 gota de reactivo nitrito de sodio o (0,05 mL), mezclar estable por 24 horas proteger de la luz.

Tabla 7. Fundamento de la bilirrubina total (BT)^(73,75).

		Desconocido	calibrador	Blanco Reactivo
Muestra	mL	0,10	-	-
Calibrador	mL	-	0,10	-
Reactivo trabajo	mL	1,00	1,00	1,00
Agua destilada	mL	-	-	0,10
Mezclar e incubar 10 minutos a temperatura ambiente (20° a 25 °c) o 6 minutos a 37 °C. llevando a cero el instrumento con el blanco reactivo. El color resultante es estable por 30 minutos.				
Abs.= (Abs. muestra) - (Abs. Blanco)				

Fundamento de Transaminasa Glutamico Oxalacetico (Aspartato de Aminotransferasa) en Suero (GOT)

Se encuentra en todo el tejido, pero en altas concentraciones en hígado, musculo, riñón y corazón el aumento de estos se asocia a enfermedades como hepatitis infarto del miocardio. La determinación de ASAT se realizó acoplando su acción transaminasa a la acción de la enzima MDH en presencia de la NADH. Este método se fundamentó en el método de Henry *et al*; siguiendo las recomendaciones de International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) ⁽⁷³⁾.

Procedimiento: Al mezclar 1 mL de reactivo 1 con 200 uL de reactivo 2 o preparar el volumen requerido manteniendo la proporción. Estabilidad del reactivo de trabajo en 10 días entre 2° y 8 °c.

Tabla 8. Fundamento de Transaminasa Glutámico Oxalacético (Aspartato de Aminotransferasa) en Suero (GOT)⁽⁷⁵⁾.

	(mL)	1,0
muestra o calibrador	(mL)	0,1

Mezclar y transferir a la cubeta del espectrofotómetro. Incubar 60 segundos a la temperatura de reacción, leer la absorbancia inicial (A1) a 340 nm. Repetir la lectura a intervalos de 60 segundos exactos hasta por tres minutos.

Fundamento de Fosfatasa Alcalina: De acuerdo, an International federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC).La fosfatasa alcalina cataliza el hidrolisis del p-Nitrofenilfosfato a p-Nitrofenol y fosfato produciéndose un aumento de absorbancia a 405 nm. Proporcional a la concentración de enzima en la muestra⁽⁷³⁾.

Procedimiento: Llevar el reactivo a temperatura de reacción 37°c y poner el espectrofotómetro en cero contra blanco de agua destilada.

Tabla 9. Fundamento de Fosfatasa Alcalina⁽⁷³⁾.

Reactivo de trabajo	mL	1,00
Volumen de muestra	mL	0,02

Mezclar y transferir a la cubeta del espectrofotómetro. Incubar 60 segundos a la temperatura de reacción. Leer la absorbancia inicial (A1) a 405 nm. Repetir la lectura a los 60 segundos.

Fundamento de Albumina (BCG): Estos métodos comúnmente utilizados se basan en la unión de albúmina a colorantes o indicadores siendo el más común el que utiliza verde de bromo cresol. El método de Valtek se basa en este último según las recomendaciones de Doumas^(73,74).

Procedimiento: Llevar el reactivo a temperatura de reacción (18^o-25 °c) antes de realizar el ensayo.

Tabla 10. Fundamento de Albumina (BCG)^(73,75).

		Blanco	Calibrador	Desconocido
Muestra	mL	-	-	0,01
Calibrador	mL	-	0,01	-
Reactivo	mL	1,0	1,0	1,0

Mezclar e incubar 3 minutos a temperatura ambiente y leer las absorbancias a 620nm, llevando a cero el espectrofotómetro con el blanco de reactivo. El color resultante es estable por a lo menos treinta minutos.

Análisis Histopatológicos de Hígado y Riñón

Se evaluó el aspecto macroscópico de los órganos que luego fueron conservados en formol al 10 %. Los cortes representativos de los diversos órganos se incluyeron en parafina y se seccionaron con micrótopo a un grosor de 4 a 5 µm. Se utilizó la técnica de coloración de hematoxilina-eosina que se realizó en el Departamento de Patología del Hospital Nacional Arzobispo Loayza. Los indicadores de toxicidad fueron edema, acumulaciones intracelulares, congestión vascular, necrosis, y hemorragias⁽⁷⁶⁾. Para realizar los análisis microscópicos de las muestras previamente se prepararon los tejidos tanto el hígado y riñón.

Toma de la muestra

Para realizar la obtención de las muestras se sacrificaron a los animales por dislocación cervical para efectuar la necropsia y la extracción de órganos internos (hígado y riñón), los cuales fueron examinados macroscópicamente en cuanto a superficie, color, consistencia, tamaño y peso, para luego ser fijados en solución de formalina al 10 % e incluidos en bloques parafinados, cortadas en 5 µm y coloreados con hematoxilina-eosina^(72 - 75).

Preparación de los tejidos

Fijación

Este proceso no debe exceder las 24 horas. Mediante la técnica de inmersión de órganos en fijador⁽⁷⁶⁾. El hígado y riñones extirpados fueron depositados en contenedores pequeños, los cuales contenían formol 10% tamponado neutro.

Los órganos extraídos y acondicionados adecuadamente se llevaron al Laboratorio Central de Patología Clínica del Hospital Nacional Arzobispo Loayza para su análisis pertinente.

Inclusión

- A. Selección del tejido:** Las selecciones de los órganos en estudio se realizaron con especial cuidado para evitar alguna alteración que dificulte nuestra investigación.

Los tejidos lavados con agua destilada, fueron colocados en los cassettes de inclusión 4 x 3 cm, los cuales fueron debidamente rotulados y almacenados.

- B. Deshidratación:** La deshidratación se realizó con parafina, debido a su inmiscibilidad con el agua, para que pueda penetrar completamente los tejidos se substituyó el agua por un solvente orgánico, alcoholes de

polaridad creciente; es decir, en alcohol de alcohol 96°, 30 minutos

- C. Aclaramiento:** Para el aclaramiento se sustituyó el deshidratante (alcoholes) por otra sustancia aclarante o líquido intermedio, miscible en el medio de inclusión (xilol). Para ello, se realizaron dos baños sucesivos con el agente clarificante; es decir, las muestras se sumergieron en xilol dos veces cada 30 minutos.
- D. Impregnación en parafina:** En esta técnica se introdujo la muestra en un molde con parafina líquida, cada 30 minutos por dos oportunidades. La parafina ingresó a los tejidos con facilidad, debido a la presencia de xilol, cubriendo el área ocupado por el agua, la misma que fue desplazada por el proceso de deshidratación con alcoholes. Obteniendo como resultado final que la muestra quedó completamente incluida en parafina, formándose un bloque o taco de parafina.
- E. Enfriamiento:** El bloque o taco fue solidificado en el refrigerador durante 12 horas.
- F. Cortes:** Con la ayuda del micrótopo se realizaron cortes longitudinales y transversales, seccionándolos a 4 μ y colocándolos en las láminas portaobjetos. Luego se procedió a la tinción, previa desparafinación.
- G. Coloración o tinción de los tejidos:** Se usó el método de la doble coloración con hematoxilina y eosina (H&E), según los siguientes^(30,76,77).
- a. La parafina se desplaza con xileno a dos cambios de 5-10 minutos.
 - b. Pasar por etanol absoluto a dos cambios de 5-10 minutos.
 - c. Pasar por etanol alcohol 96° a dos cambios de 2-5 minutos.
 - d. Pasar por etanol 70° a dos cambios de 2 minutos.
 - e. Primera coloración: aplicar hematoxilina de Harris por 5 minutos.
 - f. Diferenciación con etanol ácido (HCl 1%) a dos pasos de 20 minutos.

- g. Lavado con agua corriente.
- h. Lavar con agua alcalina (carbonato de litio) al 1 %.
- i. Lavado con agua corriente.
- j. Segunda coloración: aplicar eosina por 1 minutos (dos veces).
- k. Lavado con agua corriente.
- l. Lavar con etanol 96° (dos veces).
- m. Lavar con etanol absoluto (dos veces).
- n. Pasar con xilol a dos pasos de 5 minutos para proceder al montaje.

H. Observación de los tejidos

Para realizar la observación de los tejidos se realizaron inicialmente, antes del montaje facilitar la microscopia utilizando una gota del adherente traslúcido bálsamo de Canadá. Colocar la lámina porta objetico con la muestra y la laminilla cubreobjetos. Enfocar con el lente de aumento 5x del microscopio, visualizar con el lente de aumento 10x, luego a 40x. Observar. Tomar datos del análisis y capturar imágenes digitales.

Aplicación de instrumento de recolección de datos

Finalizado los análisis de los ensayos experimentales, es necesario procesar los datos obtenidos. Por lo tanto, se desarrolló con el número de animales utilizado en el experimento en comparación con los animales control. En el análisis cualitativo se realizó a los órganos de los animales y su observación, respectivamente.

Todos los datos cualitativos fueron recolectados y registrados, antes, durante y al término de la investigación.

La información contenida en nuestro instrumento de recolección de datos fue ingresada a un archivo de datos del programa de Office Excel versión 2016, luego de verificar su consistencia se exportó a un archivo SPSS Versión 24 para el análisis de datos.

2.6. Métodos de análisis estadístico

Mediante el SPSS versión 24 se calcularon tablas de frecuencia simple y de doble entrada. Con la finalidad de determinar la diferencia significativa de las variables en grupos e intergrupos (error), la medición de las variables cuantitativas (pesos de las ratas hembras y machos) se utilizaron técnicas paramétricas y no paramétricas. Para la comparación de los parámetros entre el grupo control y experimental por sexo se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney que no requiere normalidad ni supuestos de homogeneidad, por otro lado, las comparaciones de los parámetros de interés entre sexos se realizaron mediante pruebas T de Student. Los niveles de significancia fijados para ambos casos fueron del 5 % ($\alpha = 0,05$) y 95 % de confianza ($1 - \alpha = 0,95$).

Los resultados se expresaron mediante frecuencias absolutas, frecuencias relativas porcentuales, tabla de distribución de frecuencias y representaciones gráficas de barras y diagramas de cajas. Los análisis de datos se efectuaron progresivamente, al término de cada resultado obtenido u observación efectuada.

2.7. Aspectos bioéticos

Conforme los objetivos del estudio este estudio se cumplió con los lineamientos internacionales para el desarrollo de investigación científica con el uso de animales de experimentación por la Office of Animal Care and Use of National Institute of Health⁽⁷⁸⁾. Además, este estudio cumplió con los lineamientos de la bioética en los aspectos de no maleficencia, beneficencia y justicia.

III. RESULTADOS

Tabla 11. Prueba de Solubilidad del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”

SOLVENTES	NOMENCLATURA	REULTADO
Agua destilada	H ₂ O	+
Etanol	ETOH	+
Metanol	MeOH	+
n-Butanol	n-buOH	+
Cloroformo	CHCl ₃	-
Acetona	Me ₂ CO	-
Acetato de etilo	EtoAc	-
n-Hexano	Hex	-
Éter etílico	Et ₂ O	-
Benceno	C ₆ H ₆	-
Leyenda:	Soluble (+)	Insoluble (-)

En la tabla 11, se observa el extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”. Es soluble en solventes polares como: Agua destilada, Etanol, Metanol y n-Butanol e insolubles en solventes apolares como: Cloroformo, Acetona, Acetato de etilo, n-Hexano y Éter etílico.

Tabla 12. Análisis del perfil cualitativo fitoquímico del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”.

Reactivos	Metabolito	Resultados
Molish	Azúcares	+
Fehling A y B	Azúcares reductores	+
Benedict	Azúcares reductores	+
Ninhidrina	Grupo amino libre	+
Tricloruro férrico 1 %	Compuestos fenólicos	+
Gelatina 1 % /NaOH 1 %	Taninos	+
Shinoda	Flavonoides	+
Tricloruro de aluminio 1 %	Flavonoides	+
Baljet	Lactonas sesquiterpénicas	+
Liebermann- Bourchard	Esteroides y/o triterpenos	-
Borntranger	Quinonas	+
Draguendorff	Alcaloides	+
Leyenda:	Presencia (+)	Ausencia (-)

En la tabla 12 se muestran los resultados del análisis de perfil cualitativo fitoquímico del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana” los metabolitos primarios y secundarios como son: Azúcares reductores, Grupo amino libre, Compuestos fenólicos, Taninos, Flavonoides, Lactonas sesquiterpénicas, Esteroides y/o triterpenos, Quinonas y Alcaloides ⁽¹²⁾.

Tabla 13. Comparación de los valores de Bilirrubinas, Transaminasas, y otros parámetros bioquímicos en ratas machos Holtzman, tratados con el extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”

Sexo	Parámetro	Grupo	N	Media	Diferencia de medias	U de Mann-Whitney	Sig. asintótica(bilateral)
Macho	Bilirrubina total (BT) (mg/dL)	Control	2	0,68	-0,39	0,00	0,02
		Ex. etanólico	16	1,07			
	Bilirrubina directa (BD) (mg/dL)	Control	2	0,16	-0,30	0,00	0,02
		Ex. etanólico	16	0,45			
	Bilirrubina indirecta (BI) (mg/dL)	Control	2	0,49	-0,13	7,00	0,20
		Ex. etanólico	16	0,62			
	TGO (U/L)	Control	2	76,24	-65,57	0,00	0,02
		Ex. etanólico	16	141,80			
	TGP (U/L)	Control	2	31,61	-9,56	5,00	0,12
		Ex. etanólico	16	41,16			
	Fosfatasa Alcalina (U/L)	Control	2	142,11	-155,90	0,00	0,02
		Ex. etanólico	16	298,00			
	Proteínas T. (mg/dL)	Control	2	7,87	2,29	0,00	0,02
		Ex. etanólico	16	5,58			
	Albuminas (mg/dL)	Control	2	3,98	0,38	3,00	0,06
		Ex. etanólico	16	3,59			
Globulinas (mg/dL)	Control	2	3,41	1,46	3,00	0,06	
	Ex. etanólico	16	1,94				
Gamma glutamil transp. (mg/dL)	Control	2	36,00	10,56	9,00	0,32	
	Ex. etanólico	16	25,44				

En la tabla 13, muestra la comparación de los parámetros de estudio entre las 16 ratas machos del grupo experimental versus el grupo control de 2 ratas. Para la comparación se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney la cual plantea la hipótesis nula de que las distribuciones de ambos grupos son iguales o que las diferencias observadas se deben al azar y se puede aplicar a muestras pequeñas.

La tabla 13 muestra los promedios como un valor de referencia toda vez de que la prueba de U de Mann-Whitney en realidad trabaja con los rangos.

Al contrastar las ratas del grupo experimental tratadas con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia Huanchahana* versus el grupo control se observó un mayor valor promedio de la bilirrubina total: 1,07 Vs 0,68 mg/dL y de la bilirrubina directa: 0,45 Vs 0,16 mg/dL, en tanto la salida del SPSS versión 24 para la prueba U de Mann-Whitney proporciona un p valor menor a 0,05 (p valor = 0,002) lo cual indica que la diferencia observada es significativa y se puede concluir que existe diferencias entre ambos grupos.

En cuanto a la bilirrubina indirecta, la diferencia observada entre ambos grupos no es lo suficientemente amplia, por tanto, no se puede concluir que los valores de estos parámetros sean diferentes.

Con respecto a los valores TGO de los grupos experimental y control se observa una diferencia significativa (p valor <0,05) lo cual permite concluir que los valores de (TGO) Gamma glutamil transpeptidasa de las ratas tratadas con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* son superiores al grupo control. En el caso de los valores (TGP) Gamma glutamil transpeptidasa, no se pueden concluir que los valores sean diferentes.

Tabla 14. Comparación de los valores de Bilirrubinas, Transaminasas, y otros parámetros bioquímicos en ratas hembra Holtzman, tratados con el extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”.

Sexo	Parámetro	Grupo	N	Media	Diferencia de medias	U de Mann-Whitney	Sig. asintótica(bilateral)
Hembra	Bilirrubina total (mg/dL)	Control	2	0,35	-0,63	0,00	0,02
		Ex. etanólico	16	0,98			
	Bilirrubina directa (mg/dL)	Control	2	0,17	-0,22	0,00	0,02
		Ex. etanólico	16	0,38			
	Bilirrubina indirecta (mg/dL)	Control	2	0,43	-0,17	3,00	0,06
		Ex. etanólico	16	0,60			
	TGO (U/L)	Control	2	53,58	-72,85	0,00	0,02
		Ex. etanólico	16	126,43			
	TGP (U/L)	Control	2	37,05	-2,74	13,00	0,67
		Ex. etanólico	16	39,79			
	Fosfatasa Alcalina (U/L)	Control	2	93,43	-161,32	0,00	0,02
		Ex. etanólico	16	254,75			
	Proteínas T. (mg/dL)	Control	2	6,49	1,07	0,00	0,02
		Ex. etanólico	16	5,42			
	Albuminas (mg/dL)	Control	2	4,25	0,66	0,00	0,02
		Ex. etanólico	16	3,58			
	Globulinas (mg/dL)	Control	2	3,36	1,55	1,00	0,03
		Ex. etanólico	16	1,81			
Gamma glutamil transp. (mg/dL)	Control	2	40,90	18,84	1,00	0,03	
	Ex. etanólico	16	22,06				

En la tabla 14, se muestra la comparación de los parámetros de estudio de las 16 ratas Holtzman hembras del grupo experimental versus 2 ratas Holtzman del grupo control. De manera análoga al caso de ratas machos se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney.

Nuevamente los promedios son como referencia toda vez que la prueba U de Mann-Whitney en realidad trabaja con los rangos.

Al contrastar las ratas del grupo experimental tratadas con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* versus el grupo control, se observó un mayor valor promedio de la bilirrubina total: 0,98 Vs 0,35 mg/dL y de la bilirrubina indirecta: 0,38 Vs 0,17 mg/dL, en tanto la salida del SPSS versión 24 para la prueba U de Mann-Whitney proporciona un p valor menor a 0,05 (p valor = 0,002) lo cual indica que la diferencia observada es significativa y se puede concluir que existe diferencias entre ambos grupos de ratas hembras.

En cuanto a la bilirrubina indirecta, la diferencia observada entre ambos grupos no es lo suficientemente amplia, por tanto, no se puede concluir que los valores de estos parámetros sean diferentes.

Con respecto a los valores TGO de los grupos experimental y control se observa una diferencia significativa (p valor <0,05), lo cual permite concluir que los valores de TGO de las ratas tratadas con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* son superiores al grupo control. En el caso de los valores TGP, no se pueden concluir que los valores sean diferentes.

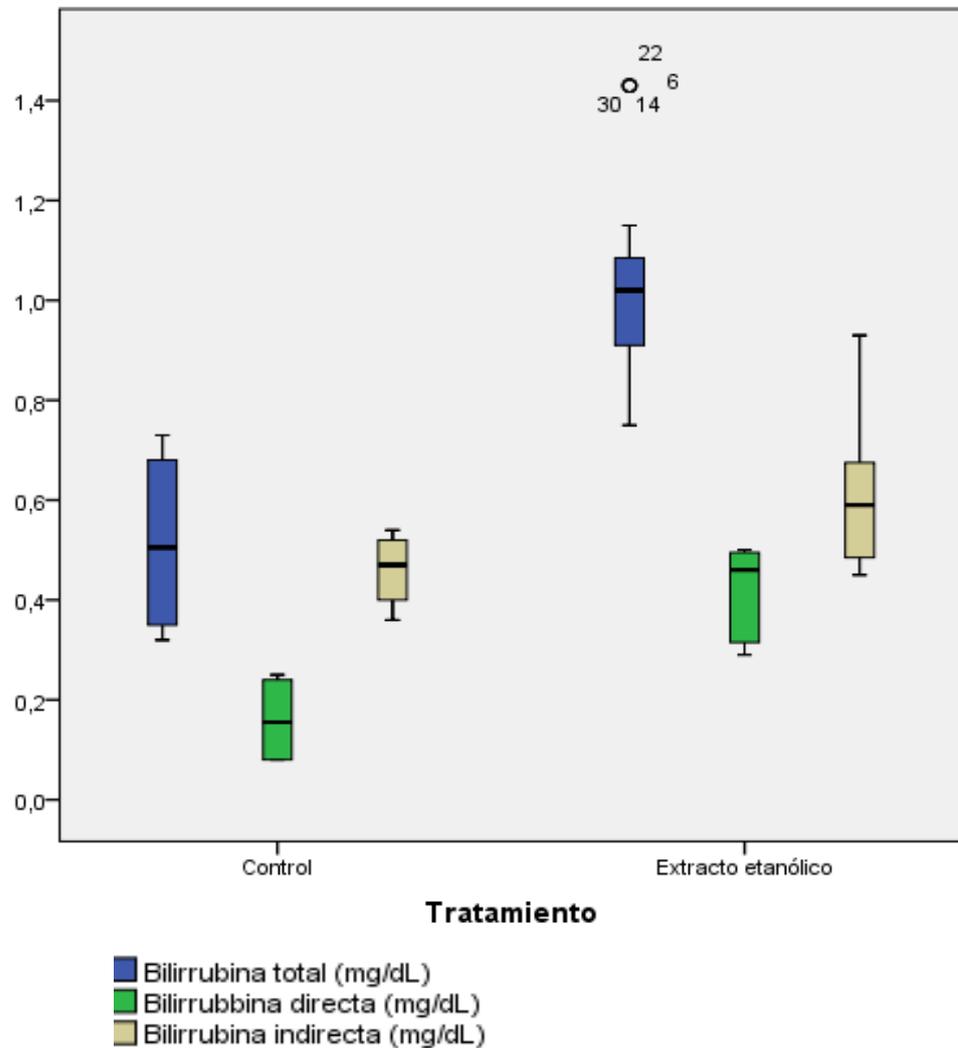


Figura 5. Distribución de Bilirrubinas en ratas Holtzman por grupo control y experimentales tratados con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”

En la figura 5, se observa la distribución conjunta para ratas machos y hembras, en términos generales que las distribuciones de los valores de Bilirrubina total, Bilirrubina directa y Bilirrubina indirecta en mg/dL son superiores para las ratas del grupo experimental tratadas con extracto etanólico del tubérculo “*Euphorbia huanchahana*” versus el grupo control, además se observaron algunos valores bastante elevados de la bilirrubina total.

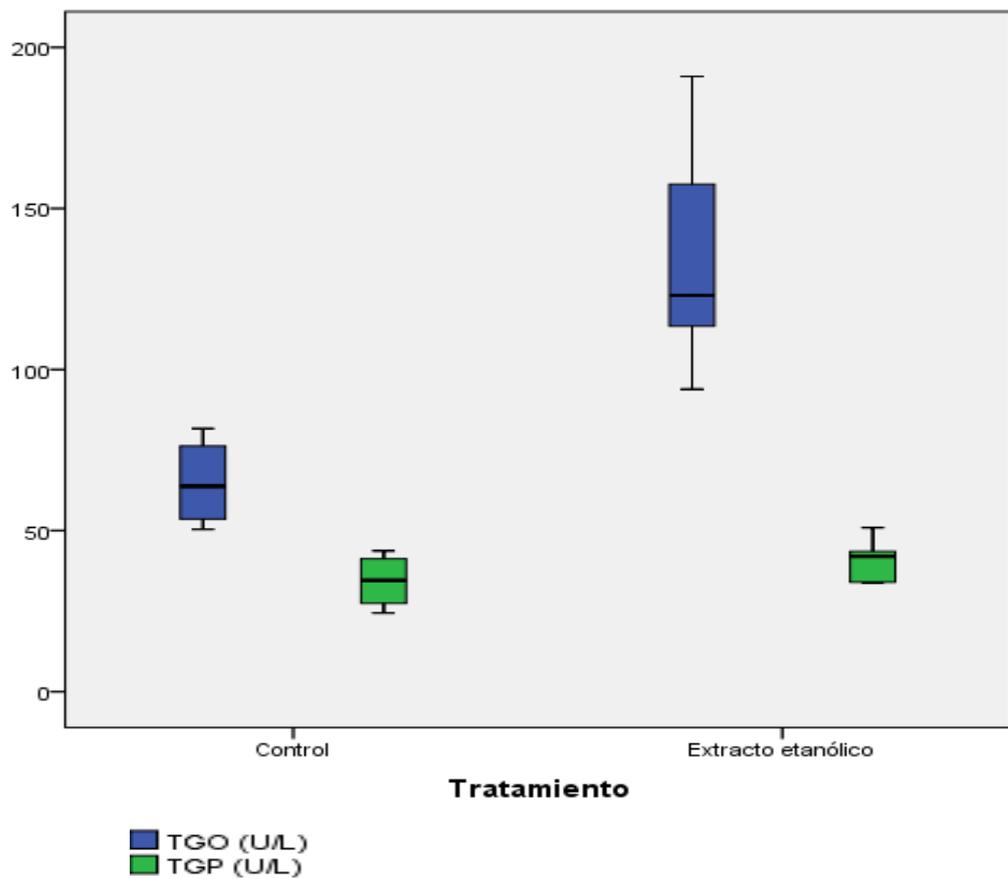


Figura 6. Distribución de transaminasas en ratas Holtzman por grupo control y experimentales tratados con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”.

En la a figura 6, se observa la distribución conjunta para ratas machos y hembras de los valores de TGO y TGP, se observa en términos generales que principalmente las distribuciones de los valores de (TGO) Gamma glutamil transpeptidasa. de las ratas del grupo experimental presenta una amplia dispersión y además valores superiores con respecto al grupo control, mientras que para el TGP se observa un ligero aumento también del grupo experimental con respecto al grupo control.

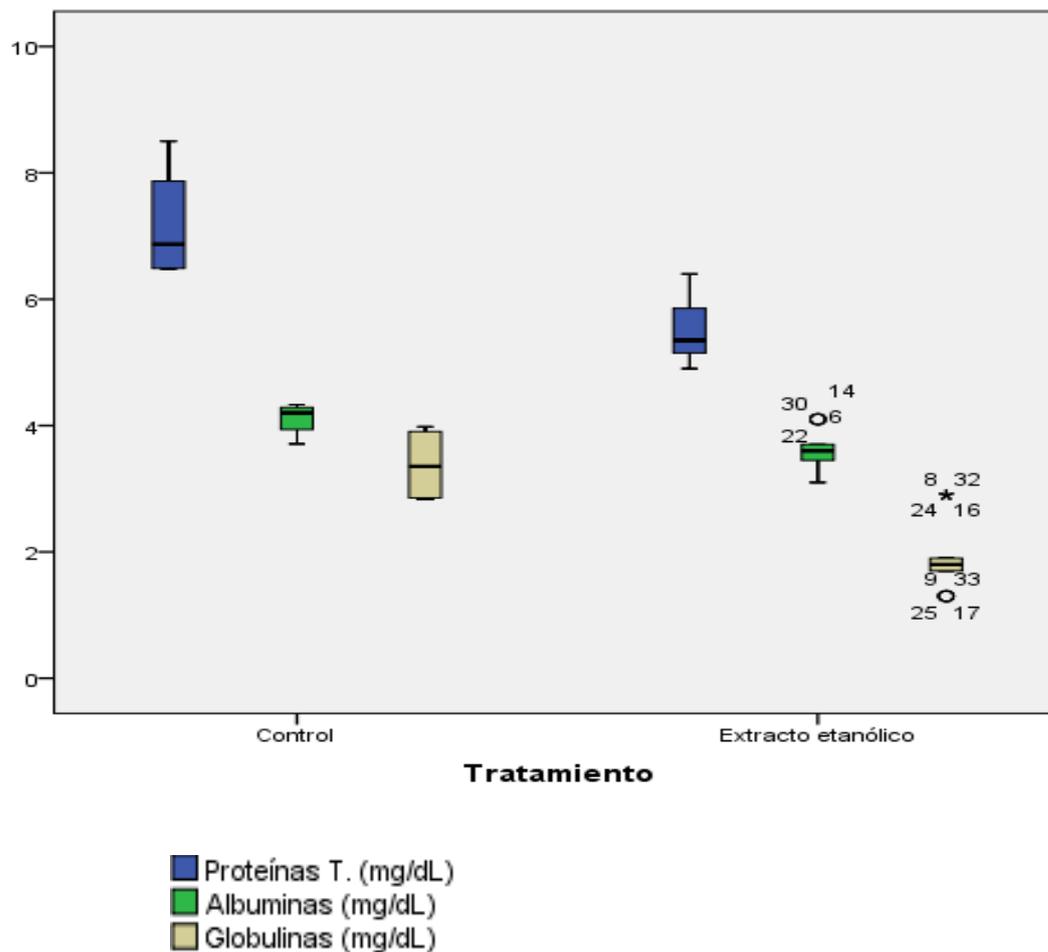


Figura 7. Distribución de Proteínas Total, Albuminas, Globulinas en ratas Holtzman del grupo control y experimentales tratados con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”.

En la figura 7, se observa la distribución conjunta para ratas machos y hembras de los valores de Proteínas, Albuminas y Globulinas en mg/dL, se observa en términos generales que principalmente las distribuciones de los valores dichos parámetros para las ratas del grupo experimental presenta menor dispersión y además valores inferiores con respecto al grupo control.

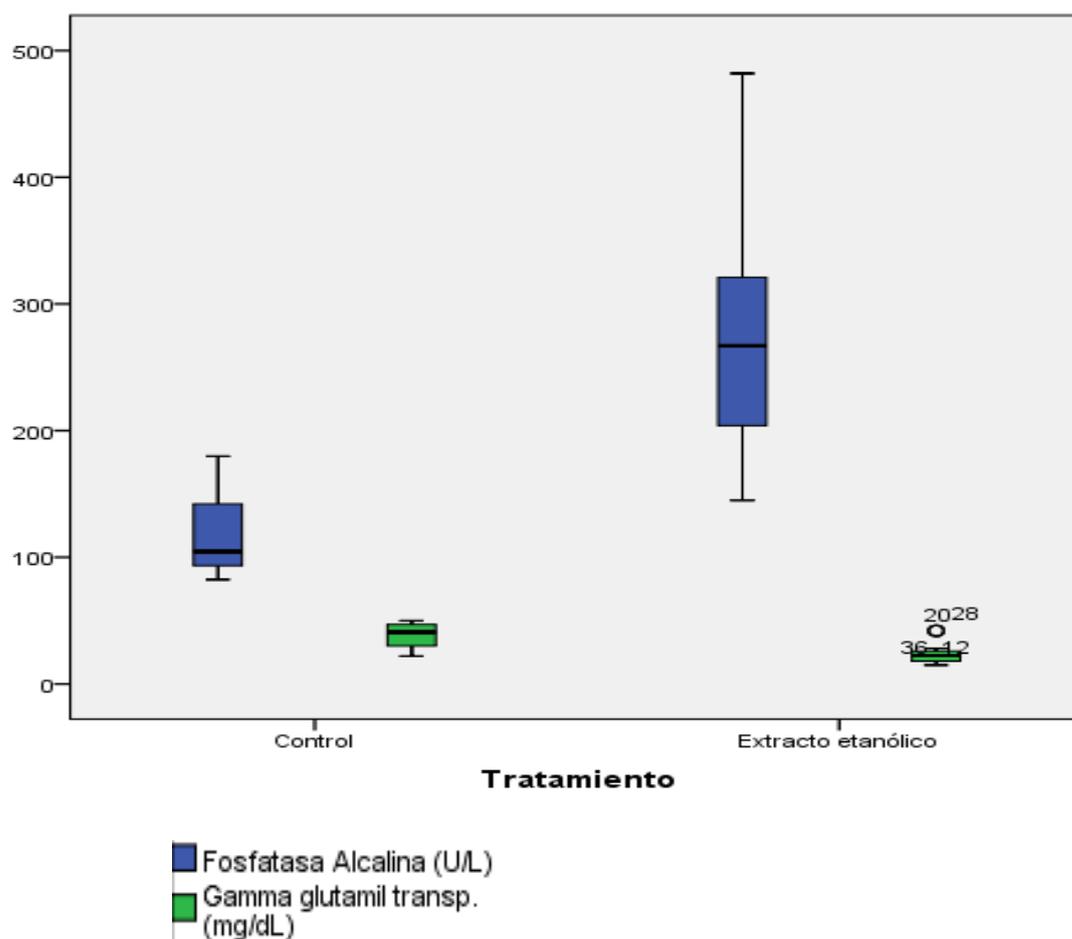


Figura 8. Distribución de Fosfatasa Alcalina y Gamma glutamil transpeptidasa en ratas Holtzman del grupo control y experimentales tratados con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”.

En la figura 8, se presenta la distribución conjunta para ratas machos y hembras de los valores de Fosfatasa Alcalina (U/L) y Gamma glutamil transpeptidasa. (mg/dL), se observa en términos generales que los valores de Fosfatasa Alcalina (U/L) para las ratas del grupo experimental presenta mayor dispersión y además valores superiores con respecto al grupo control mientras que en el caso de la Gamma glutamil transpeptidasa el comportamiento es inverso.

Tabla 15. Comparación de los pesos en gramos de ratas Holtzman, versus grupo experimental tratado con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana” por sexo.

Sexo	Parámetro	Grupo	N	Media	Diferencia de medias	U de Mann-Whitney	Sig. asintótica(bilateral)
Macho	Peso día uno (g)	Control	2	266,50	12,25	14,00	0,78
		Ex. etanólico	16	254,25			
	Peso día siete (g)	Control	2	270,50	2,94	16,00	1,00
		Ex. etanólico	16	267,56			
	Peso día catorce (g)	Control	2	264,00	7,75	13,50	0,72
		Ex. etanólico	16	256,25			
Hembra	Peso día uno (g)	Control	2	233,50	11,94	4,00	0,09
		Ex. etanólico	16	221,56			
	Peso día siete (g)	Control	2	241,50	6,44	8,00	0,26
		Ex. etanólico	16	235,06			
	Peso día catorce (g)	Control	2	236,50	3,69	9,50	0,35
		Ex. etanólico	16	232,81			

En la tabla 15, muestra que, tanto en ratas macho como hembras, las diferencia observadas entre los pesos promedios de las ratas del grupo control y el grupo experimental no fueron significativas en ninguno de los tres momentos de la evaluación (día uno, siete y catorce). Es decir, no se puede concluir que el extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia Huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana” afecte el peso de las ratas Holtzman.

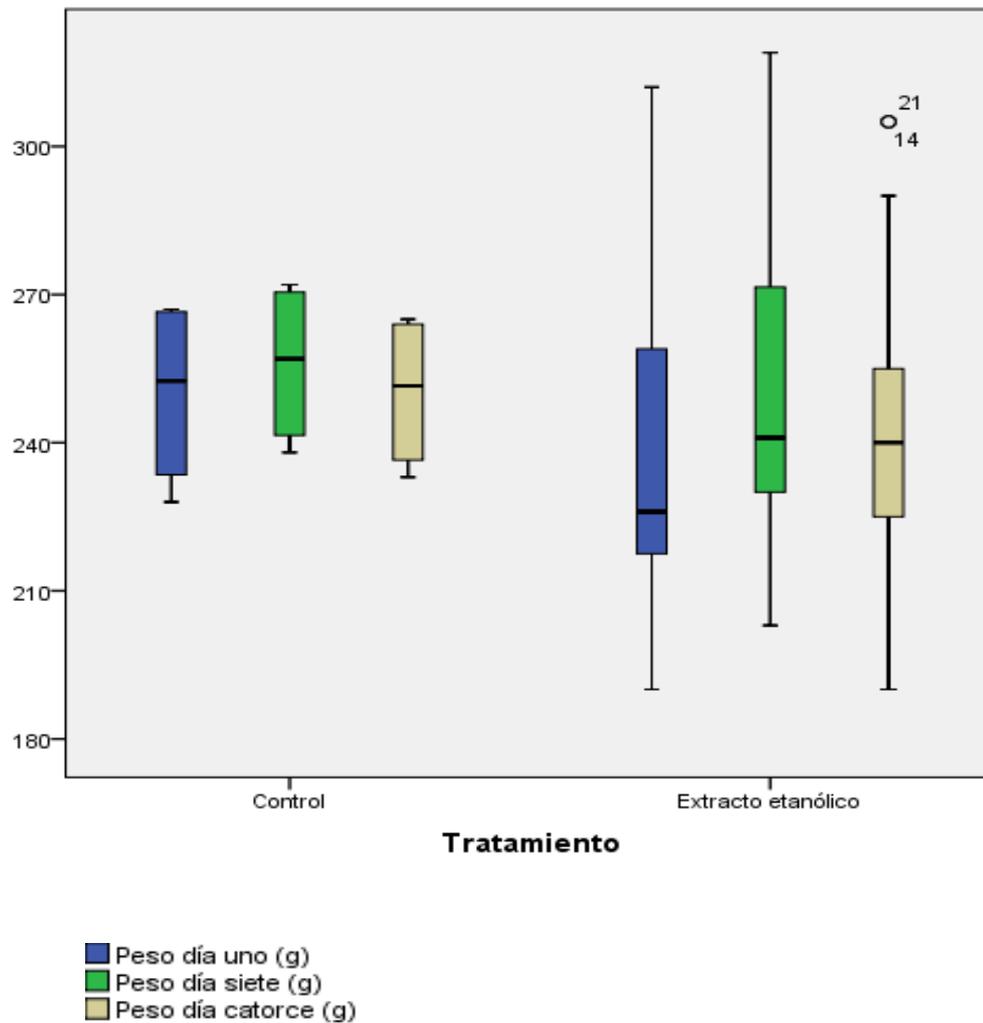


Figura 9. Distribución de los pesos en ratas Holtzman del grupo control y experimentales tratados con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”

En la figura 9, se observa el diagrama de cajas, que existe una mayor variabilidad en el caso de los pesos del grupo experimental con respecto al grupo control, por lo mismo cuando los valores medianos de los pesos del grupo experimental son ligeramente inferiores las comparaciones no son concluyentes.

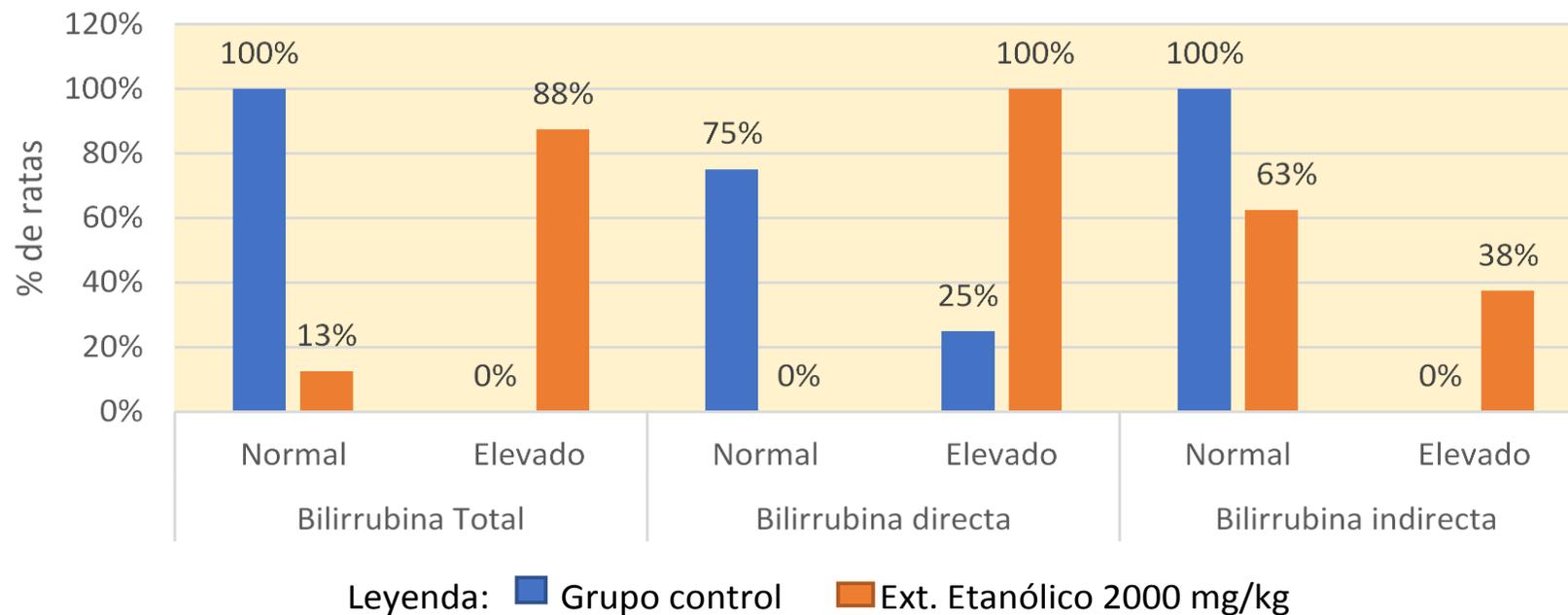


Figura 10. Distribución de las ratas Holtzman según Bilirrubinas y transaminasas por tipo de tratamiento.

En la figura 10, se observa el porcentaje (%) de distribución de las ratas Holtzman según Bilirrubinas y transaminasas por tipo de grupo, observamos que el 88 % (28) de las ratas Holtzman tratadas con el extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana” presentan valores elevados de bilirrubina total, mientras que un 100 % (32), de este mismo grupo presentan también valores elevados de bilirrubina directa. Se observa además que solo un reducido de 38 % (12) presentan valores elevados de bilirrubina indirecta.

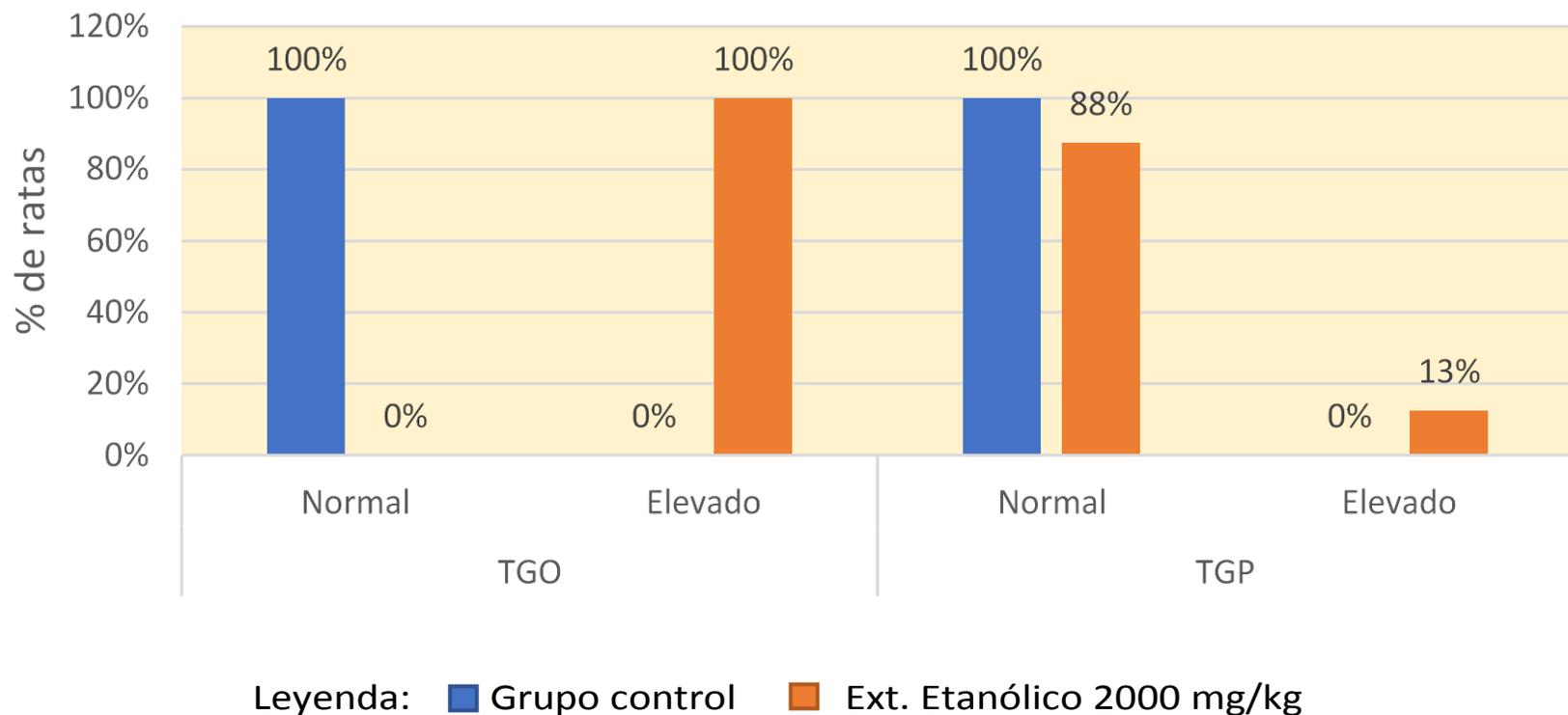


Figura 11. Distribución de las ratas Holtzman según transaminasas por tipo de tratamiento.

En la figura 11, se observa los valores porcentuales de las transaminasas por tipo de tratamiento de grupo, que un 100 % (32) de las ratas Holtzman del grupo experimental tratados con el extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”, presentan valores elevados de (TGO) Gamma Glutamyl Transpeptidasa, mientras que un solo reducido 13 % (4) presentaron valores elevados de TGP.

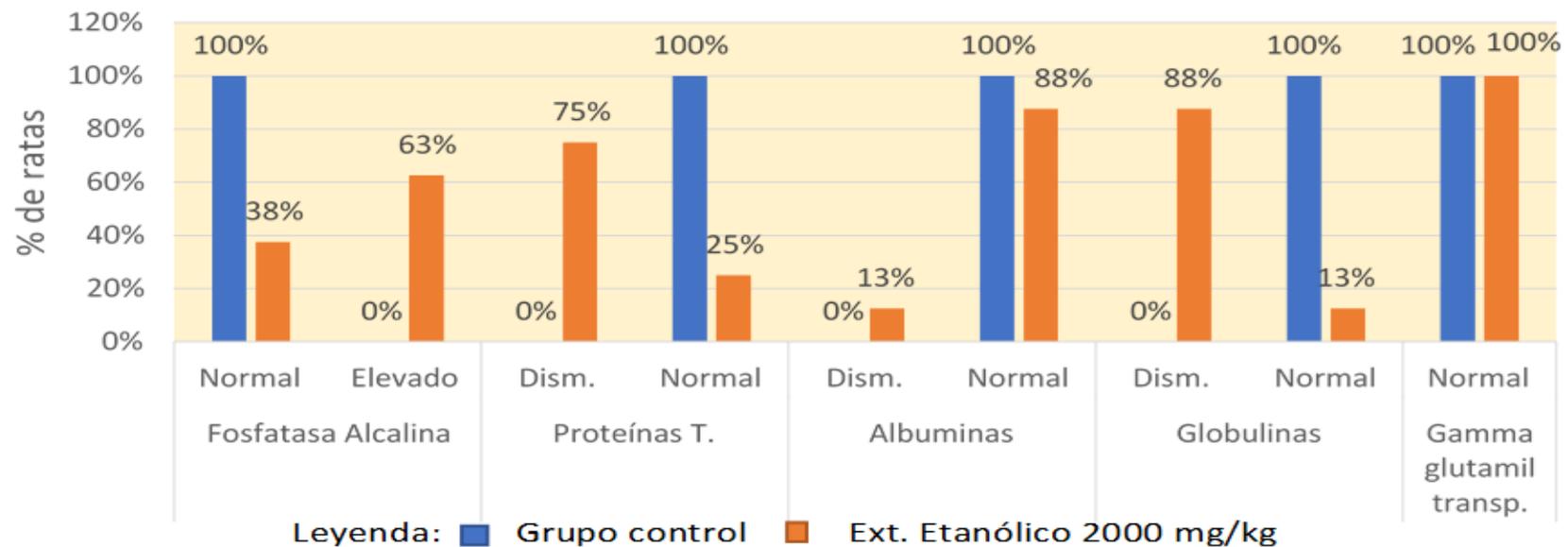
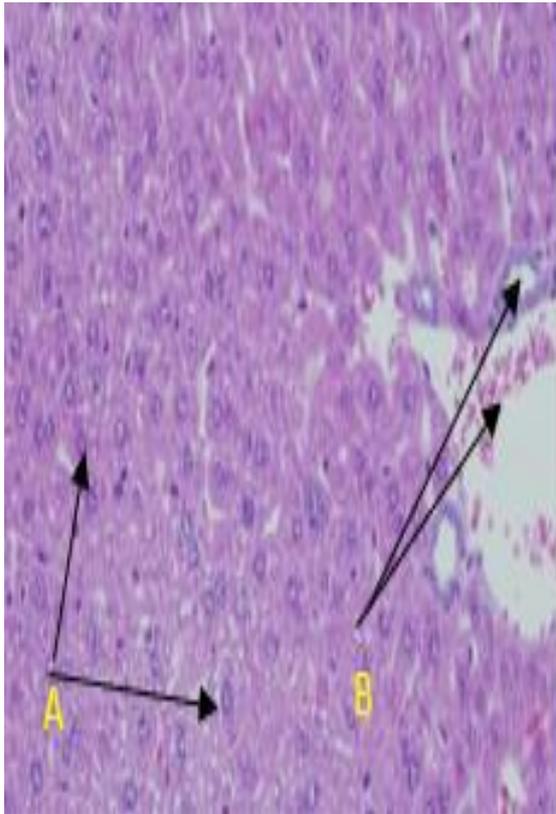


Figura 12. Distribución de las ratas Holtzman según Fosfatasa Alcalina, Proteínas T, Albuminas, Gamma Glutamil Transpeptidasa y Globulinas por tipo de tratamiento.

En la figura 12, se observa del grupo de ratas Holtzman del grupo experimental el 63 % presentaron valores elevados de Fosfatasa Alcalina, mientras que un 75 % presentaron valores disminuidos de proteínas t., también un 13 % presentaron disminución de los niveles de Albumina, un 88 % disminución de Globulinas, mientras que el 100 % presentaron valores normales de Gamma Glutamil Transpeptidasa.

A. Corte histopatológica del hígado

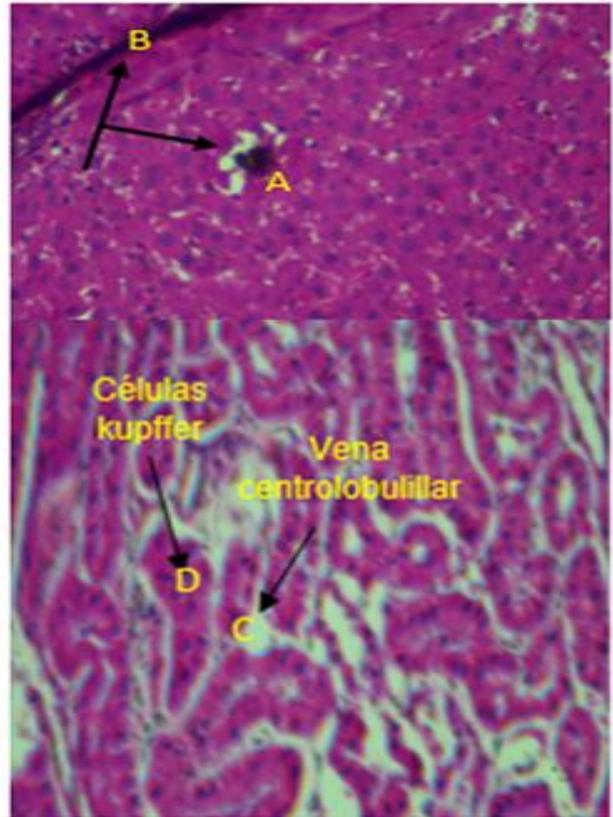


Leyenda:

- (A) células de kupffer,
- (B) vena centro biliar, vena centro lobular

Figura 13. Micrografía del grupo control del hígado de ratas Holtzman sin tratamiento.

En la figura 13, se observa el corte histopatológico del hígado de ratas Holtzman sin tratamiento. Células de kupffer, vena centro biliar, vena centro lobular conservado, limpio, despejadas sin edema. En su estado normal.



Leyenda:

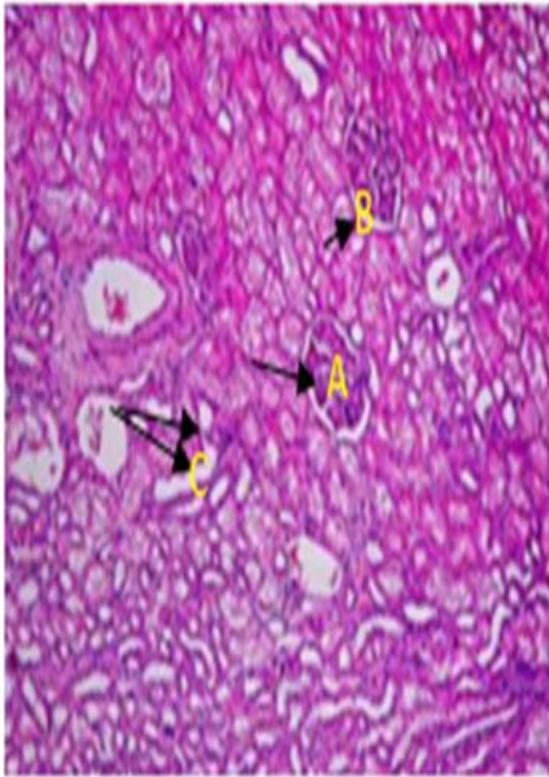
- (A) vena centro lobular
- (B) Arteria
- (C) Vena centro lobulillar
- (D) Capsulas de Kupffer

Figura 14. Micrografía del hígado de ratas Holtzman, tratado con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier "Huachangana"

En la figura 14, se observa el corte histopatológico del grupo experimental a dosis de 2000 mg/kg vía oral.

- (A) vena centro lobular con gotas de sangre.
- (B) Arteria ocluida por una trombosis
- (C) Vena centro lobulillar con canales congestivas
- (D) Capsulas de Kupffer conservados sin hemorragia.

B. Corte histopatológico del riñón

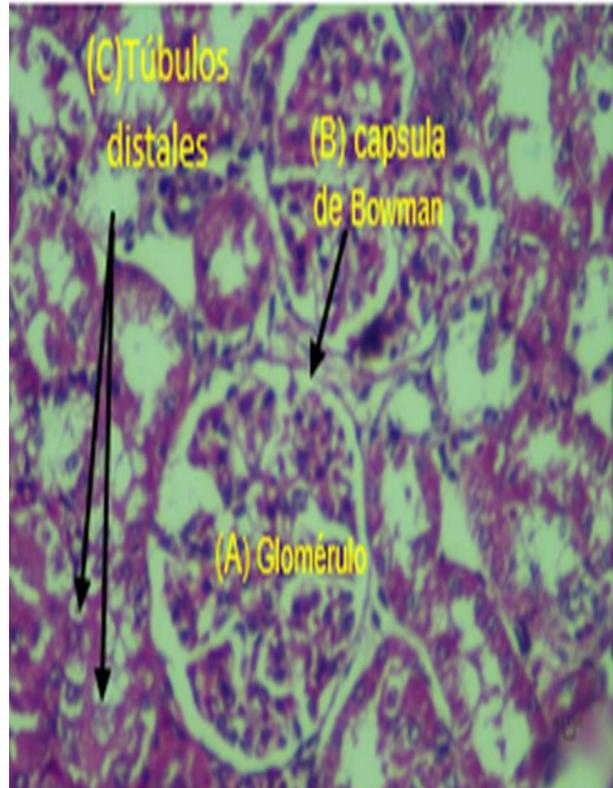


Leyenda.

- (A). Glomérulo, lóbulos capilares
- (B) Cápsula de Bowman
- (C) Túbulos distales

Figura 15. Micrografía del riñón de ratas Holtzman del grupo control sin tratamiento.

En la figura 15, se observa el corte histopatológico del riñón sin tratamiento. Glomérulo, lóbulos capilares, capsula de Bowman, túbulos distales, en su estado normal.



Leyenda.

- (A). Glomérulo, lóbulos capilares
- (B) Cápsula de Bowman
- (C) Túbulos distales

Figura 16. Micrografía del riñón tratado con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* "Huachangana" Klotzch & Garcke Boissier "Huachangana".

En la figura 16, se observa: las estructuras del glomérulo conservado, las cápsulas de Bowman completas y conservados y túbulos distales con asa de Henle libres y completas.

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusiones

El extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “huachangana”, como se evidencia en la tabla 11 de la prueba de solubilidad, se demostró que contiene fitoquímicos de naturaleza polar, esto coincide con lo publicado por Ñañez *et al*⁽¹²⁾.

En el análisis del perfil cualitativo fitoquímico del extracto etanólico del tubérculo de *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”, demostró la presencia de metabolitos como: Carbohidratos, azúcares reductores, grupos aminos libres, compuestos fenólicos, flavonoides, lactonas sesquiterpénicas, quinonas y taninos, son metabolitos de naturaleza polar, lo cual se ve favorecido con el uso de un solvente como el etanol (Tabla 12). Estos hallazgos concuerdan con los resultados reportados por Lock⁽⁶¹⁾, Ñañez *et al*⁽¹²⁾ y Miranda⁽⁷⁹⁾. Además, se ha demostrado la misma composición en otras especies del mismo género de *Euphorbia* como lo indica Castillo *et al*⁽⁸⁰⁾, Collave⁽⁸¹⁾ y Carvajal *et al*⁽⁸²⁾.

En las pruebas de Bilirrubinas, Transaminasas y otros parámetros bioquímicos, muestra que en el caso de las ratas machos del grupo experimental versus grupo control tratadas con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”, se observó un mayor valor promedio de la bilirrubina, T (1,07 mg/dL vs. control 0,68 mg/dL). y de la bilirrubina indirecta: 0,38 Vs 0,17 mg/dL, en tanto la salida del SPSS para la prueba U de Mann-Whitney proporciona un p valor menor a 0,05 (p valor = 0,002). lo cual indica que la diferencia observada es significativa y se puede concluir que existe diferencias entre ambos grupos de ratas machos (Tabla 13), podemos afirmar según los valores bajos, no es tóxico como se evidencia en lo publicado por Olubunm *et al*⁽⁴⁸⁾, Silvero *et al*⁽⁵²⁾ y Águila⁽⁸³⁾.

Con respecto a los valores de gamma glutamil transpeptidasa (TGO) de los grupos experimental y control se observa una diferencia significativa (p valor <0,05) lo cual permite concluir que los valores de TGO de las ratas tratadas con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* son superiores al

grupo control. En el caso de los valores TGP, no se pueden concluir que los valores sean diferentes. Sin embargo, en cuanto a la bilirrubina indirecta, la diferencia observada entre ambos grupos los valores son bajos, por tanto, no es tóxico (Tabla 13) conforme a lo publicado por Olubunm et al⁽⁴⁸⁾, Silvero et al⁽⁵²⁾ y Águila⁽⁸³⁾, Sandoval⁽⁸⁴⁾ y Rojas⁽⁸⁵⁾.

En las pruebas de Bilirrubinas, Transaminasas y otros parámetros bioquímicos, muestra que en el caso de las ratas hembras del grupo experimental versus grupo control tratadas con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier "Huachangana", se observó un mayor valor promedio de la bilirrubina 0,98 mg/dL vs. control 0,35 mg/dL. y de la bilirrubina indirecta: 0,38 Vs 0,17 mg/dL, en tanto la salida del SPSS para la prueba U de Mann-Whitney proporciona un p valor menor a 0,05 (p valor = 0,002), lo cual indica que la diferencia observada es significativa y se puede concluir que existe diferencias entre ambos grupos de ratas hembras (Tabla 14). conforme a lo señalado por Olubunm et al⁽⁴⁸⁾, Silvero et al⁽⁵²⁾ y Águila⁽⁸³⁾ y Rojas⁽⁸⁵⁾.

Con respecto a los valores de gamma glutamil transferasa (TGO) de los grupos experimental y control se observa una diferencia significativa (p valor <0,05) lo cual permite concluir que los valores de TGO de las ratas tratadas con extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* son superiores al grupo control. En el caso de los valores TGP, no se pueden concluir que los valores sean diferentes. Sin embargo, en cuanto a la bilirrubina indirecta, la diferencia observada entre ambos grupos los valores son bajos, por tanto, no demostró toxicidad aguda hepática y renal en las ratas hembras (Tabla 14) conforme a lo señalado por Olubunm et al⁽⁴⁸⁾, Silvero et al⁽⁵²⁾ y Águila⁽⁸³⁾ y Rojas⁽⁸⁵⁾.

En los estudios pos mortem, las observaciones microscópicas de los tejidos de hígado y riñón realizados, indica taponamiento de los canalículos biliares, vena centro lobular con espacios de vacuos y hepatocitos libres y tiene hepatocitos bien marcados, el espacio centro lobular con tejidos central periférico compacto, presenta espacios vacíos con presencia de tejido graso, además presenta espacios hemorrágicos periféricos y en el centro lobular con espacios comprometidos, no son graves ni generalizadas, y van desde leve a moderado.

No representan hallazgos patológicos mayores que hayan causado daño del hígado y riñón. Por lo tanto, el extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”, no causó cambios histopatológicos (lesiones), degeneración celular. Las variables cualitativas permitieron demostrar que la H₁, que presumía causar efectos tóxicos en hígado y riñón de ratas administrada a dosis única de 2000 mg/kg peso, queda rechazada. La hipótesis H₀ es aceptada; es decir, el extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier. “Huachangana”, administrado a dosis única de 2000 mg/kg no produce toxicidad hepática y renal (Figura 13), según indica Silvero *et al*⁽⁵²⁾ y Arroyo *et al*⁽⁸⁷⁾.

4.2. Conclusiones

- No se determinó toxicidad aguda hepática y renal del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana” en ratas Holtzman.
- Los metabolitos del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana” encontrados son alcaloides, carbohidratos, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, antraquinonas, triterpenos y/o esteroides, grupo amino libres y azúcares reductores.
- En el análisis bioquímico realizado a nivel hepático y renal, el extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”, cuyos valores de bilirrubinas, Transaminasas y otros parámetros bioquímicos son bajos y no producen toxicidad hepática a dosis 2000 mg/kg por vía oral.
- En el estudio realizado de los cortes histopatológicos no se evidencia alteraciones a dosis límite de 2000 mg/kg por vía oral, por tanto, no presenta toxicidad.
- La toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg por vía oral no evidencia alteraciones de toxicidad aguda hepática ni renal, por lo tanto, no presenta toxicidad.

4.3. Recomendaciones

- Se recomienda continuar con el trabajo realizando sobre los estudios de toxicidad crónica, dosis límite de 2000 mg/Kg vía oral para determinar su posible grado de toxicidad.
- Realizar el estudio sub aguda de la actividad catártica del tubérculo *Euphorbia huanchahana* “Huachangana”. Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”.
- A las autoridades de la universidad apoyar a los alumnos a la investigación de los recursos naturales, puesto que el Perú está dotado de una inmensa variedad de plantas medicinales en la actualidad aun no estudiadas.

CITAS Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martínez Y, Criollo A, Roque Y, et al. Uso de plantas medicinales con efecto antiinflamatorio en el consultorio #34, Sagua la Grande, Cuba. REE 2014; 8(1).
2. Leiva L, Escobar R, Morales J, et al. Intoxicaciones agudas por plantas tóxicas reportadas por Centro de Toxicología de Villa Clara en período 2008-2011. Rev. Cubana. Plant. Med. 2014; 19(4): 399-406.
3. Gupta N, Vishnoi G, Wal A, et al. Medicinal Value of *Euphorbia Tirucalli*. Syst Rev Pharmacy. 2013; 4(1):31-40.
4. Da Silva S, Oliveira G, Dias R, et al. Representaciones y usos de las plantas medicinales en mayores. Rev. Latino-Am Enfermagem. 2018;20(4).
5. Pauro R, Gonzáles J, Gamarra F, et al. Plantas Alimenticias, Medicinales y Biosidas de las Comunidades de Muñani y Suatia, Provincia de Lampa (Puno – Perú). Ecol Aplic. 2011; 10(1): 41-49.
6. Bussmann R, Sharon D. Medicinal plants and their ecology in Northern Peru and Southern Ecuador. Minnesota: Lila State University; 2015
7. Organisation for Economic Co-operation and Development. Guidelines for the Testing of Chemicals Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure. OECD/OCDE 425 Adopted: October 3, 2008. [Artículo online]. Disponible en: <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/fedddocs/oecd/oecd425.pdf>. Fecha de Acceso 30/09/2019
8. Arroyo J, Cisneros C. Modelos experimentales de investigación farmacológica. 1th Ed. Lima: ASDIMOR S.A.C; 2012.
9. Lottus J. Infusiones, tisanas o té de hierbas permitidas y nocivas durante el embarazo y la lactancia. Rev. Obstet. Ginecol.- Hosp. Santiago Oriente Dr. Luis Tisné Brousse. 2015; 10(3): 148-159.
10. Ccama C. Toxicología de Adsorción y Excreción. [Tesis]. Arequipa: Escuela Académico Profesional de Ingeniería e Industrias Alimentaria, Facultad de Ingeniería de Procesos, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2014.
11. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An Fac Med. 2016; 77(4):327-32.

12. Ñañez D, Mendoza M, Félix L, Rivas W, *et al.* Determinación de Fitoconstituyentes y evaluación de la actividad catártica en el extracto hidroalcohólico de *Euphorbia huanchahana* (Huachangana). *Rev. Perú Med. Integrativa.* 2018; 3(2):71-7.
13. Silvero A, Morínigo S, Meza A, *et al.* Toxicidad Aguda de las hojas de *Xanthium spinosum* en ratones Balb/C. *Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública.* 2016; 33(1):113-9.
14. De Sousa M, Alves S. Especies de interés de familia Euphorbiaceae en Brasil. *Rev. Cub. Plantas Medicinales.* 2014; 19(1):292-309.
15. Gómez A, Murillo J, García H. La familia Euphorbiaceae Juss, en el departamento Santander, Colombia. XII Congreso Venezolano de Botánica. Caracas 2015; pp. 209.
16. Coy C, Constanza D, Castiblanco F. Importancia medicinal del género *Crotón* (euphorbiaceae). *Rev. Cub. Plantas Medicinales.* 2016; 21(2):234-247.
17. Artigas R. *Euphorbia hyssopifolia* L., neófito para la flora ibérica. *Flora Montiberica.* 2015; 59: 69-71.
18. Barrera O, Henry L. Estudio de los alcaloides de *crotón draconoides* “sangre de grado”, su actividad cicatrizante y el diseño de una forma farmacéutica. [Tesis]. Lima: Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
19. Rodríguez A, Oscar. Manual de Primeros Auxilios 1ra Edición. Editorial. Universidad Estatal A Distancia. San José Costa Rica 1983.
20. Román A, Lannacone J, Alvariño L. Efecto Tóxico del Saúco, *Sambucus peruviana* (Caprifoliaceae), en *Daphnia magna*, *Sitophilus zeamais* Y *Copidosoma koehleri* en Perú. *Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia* (2017) 33(1): 3-13.
21. Neira L, Stashenko E, Escobar P. Actividad antiparasitaria de extractos de plantas colombianas de la familia Euphorbiaceae. *Revista de la Universidad Industrial de Santander.* Vol.46 No.1 2014 [Revista en internet]. [Fecha de acceso 01-06-201]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/suis/v46n1/v46n1a03.pdf>.acceso.
22. Román A, Lannacone J, Alvariño L. Efecto Tóxico del Saúco, *Sambucus peruviana* (Caprifoliaceae), en *Daphnia magna*, *Sitophilus zeamais* y

- Copidosoma koehleri* en Perú. Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia (2017) 33(1): 3-13.
23. Marchessi J, Subils R, Scaramuzzino R, Crosta H, Eseiza M, Saint H, Juan V. Presencia de *Euphorbia davidii* Subils (Euphorbiaceae) en la Provincia de Buenos Aires: morfología y anatomía de la especie. Buenos Aires, 2011. [Citado el 09 de julio 2018]. Disponible en: www.scielo.org.ar/pdf/kurtz/v36n1/v36n1a03.pdf.
 24. Salazar W, Cárdenas J, Núñez M, Fernández I, Villegas L, Pacheco L, Untiveros G. Estudio fitoquímico y de la actividad antihelmíntica de los extractos de *Euphorbia huanchahana* y *Baccharis salicifolia*. Rev. Soc. Quim. Perú. 2007, 73, N° 3 (150-157). [Citado el 29 de mayo 2018]. Disponible en: <http://docplayer.es/24979008-Estudio-fitoquimico-y-de-la-actividad-antihelmintica-de-los-extractos-de-euphorbia-huanchahana-y-baccharis-salicifolia.html>.
 25. López M, Sottile M, Dávalos M. Angiospermas. Eudicotiledoneas. Cátedra Botánica Sistemática y Fitogeografía, FCA, UNNE Año 2014. [Citado el 29 de mayo 2018]. Disponible en: www.biologia.edu.ar/botanica/.../4-Eudicotiledoneas-CoreEudicotiledoneas.pdf.
 26. Espadero M, Avilés H, Armijos L, Ávila L, Idrovo L, Oyola C. Evaluación Microbiológica y Composición Química de Extractos Orgánicos de *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss en *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Revista de Ciencias de la Vida 29(1) 2019:119-129.
 27. Castañeda R, Albán J. Importancia Cultural de la Flora Silvestre del Distrito de Pamparomás, Ancash, Perú. Lima, 2016. [Citado el 09 de julio 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v15n2/a11v15n2.pdf>
 28. Rado B. Etnobotánica del Distrito de Ocongate Quispicanchi – Cusco. [Tesis de grado]. Universidad Nacional de San Antonio Abad de Cusco. Perú, 2011.
 29. Ali Esmail Al-Snafi Pharmacology and therapeutic potential of *Euphorbia hirta* (Syn: *Euphorbia pilulifera*) - A review Volumen 7, Versión 3 Versión. 1 (marzo de 2017), PP. 07-20. 2017.
 30. De Pardo E, Monroy M, Copali D. Sustancias folclóricas como causa de Intoxicación por sustancia Desconocida en Terapia Intensiva del "Hospital

- Pediátrico Manuel Asencio Villarroel " (2003 - 2008). Gaceta Medicina Boliviana 32 (2) 2009.
31. Morales D. Investigación preclínica en las ciencias biomédicas. Revista Cubana de Estomatología 2015; 52(2):171-187.
 32. Fortuna E. Evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas frescas de *Mutisia acuminata* R. & P. 'chinchilcuma' en cerebros y cerebelos de ratas albinas cepa Holtzman. [Tesis de grado] Universidad Privada Norbert Wiener, Lima, 2013.
 33. Repetto. M y Repetto. G. Toxicología fundamental Cuarta edición. Edición Díaz de Santos. España, 2009.
 34. Silvero A, Morínigo S, Meza A, Mongelós M, González A, Figueredo S. toxicidad aguda de las hojas de *Xanthium spinosum* en ratones BALB/C. Revista Peruana de Medicina Experimental Salud Publica. 2016; 33(1):113-9. doi: 10.17843/rpmesp.2016.
 35. Schaaf A. Uso de pesticidas y toxicidad: relevamiento en la zona agrícola de San Vicente, Santa Fe, Argentina. Revista Mexicana de ciencias agrícolas. vol.4 no.2. México, 2013; [Revista en internet]. [fecha de acceso 22-06-2018]. Disponible en: AA Schaaf - Revista mexicana de ciencias agrícolas, 2013 - scielo.org.mx.
 36. Cameán A, Repetto M. Toxicología alimentaria. Ediciones Díaz de Santos S.A. Madrid, 2012.
 37. Kuklinski. C. farmacognosia. Ediciones Omega. Año de edición 2000.
 38. Silvero A, Morínigo S, Meza A, *et al.* Toxicidad aguda de las hojas de *Xanthium spinosum* en ratones BALB/C. Rev. Perú Med Exp Salud Publica. 2016; 33(1):113-9.
 39. Schaaf A. Uso de pesticidas y toxicidad: relevamiento en la zona agrícola de San Vicente, Santa Fe, Argentina. Rev. Mex. Ciencias Agrícolas. 2013; 4(2): 323-331.
 40. Núñez M. Efecto Antiinflamatorio y Toxicidad Aguda del Extracto Etanólico de *Acme//a oleracea* (L.) R.K. Jansen (Botoncillo) en Ratones Albinos. [Tesis]. Cusco: Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco; 2011.
 41. Mateo P. Gestión de la Higiene industrial en la empresa. 7ª. Edición. Edita. Fundación Cofemetal. Madrid, 2007.

42. Tavares C, Kimiko R. Cafeína para el tratamiento del dolor. Revista Brasileira de Anestesiología. Brasil, 2012.
43. Fernández M, Nuria M, Martin C. Cómo se fabrica un medicamento. Madrid, 2018. [fecha de acceso 22-06-2018]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?isbn=8490974616>.
44. Sanjuán J, Vargas A, Ortiz L, et al. Determinación de la DL50 del veneno de serpientes adultas de la especie *Bothrops atrox* en ratones albinos. Rev. Fac Ciencias Básicas. 2012; 9(2).
45. Möller R, Vázquez N. Anatomía del Hígado de la Rata Wistar (*Rattus norvegicus*) Int J Morphol. 2011; 29(1): 76-79.
46. Simbad O, Adetutu A, Olusoji A, Ayodeji F, y Adegbola P. Evaluación de toxicidad aguda y subaguda de *Euphorbia lateriflora* (Schum y Thonn) en ratas Wistar Albino. Revista Europea de Plantas Medicinales. 29 (1): 1-10, 2019; 47285 ISSN: 2231-0894, NLM ID: 10158347.
47. Valenzuela R, Morales M, Verde M, Cárdenas A, Preciado P, González J y Ramón Esparza J. *Cnidocolus chayamansa* hidropónica orgánica y su capacidad hipoglucemiante, calidad nutraceutica y toxicidad. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.6 Núm.4 16 de mayo - 29 de junio, 2015 p. 815-825.
48. Olubunmi E, Ibrahim O, Akinwunmi A y Viola N. Toxicidad aguda acuosa del extracto de la hoja de *Euphorbia heterophylla* L. En ratas Sprague Dawley. Revista de Investigación Médica Complementaria y Alternativa 1 (3): 1-10, 2016. Ciencia Internacional. (1) Ahmed Moussa, Laboratorio de Investigación de Farmacognosia y Api-Fitoterapia, Universidad de Mostaganem, Argelia.
49. Torres M, García E, García, Soto G, Aradillas C, Cubillas A, evaluación de la toxicidad aguda in vivo del extracto etanólico y acuoso de *Calea urticifolia*. Bot. sci vol.94 no.1 México ene./mar. 2016. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200742982016000100133.
50. Cordeiro F, Tataki R, Riveiro E, Stuelp P. Actividad antimicrobiana y toxicidad de látex de *Euphorbia tirucalli* L. (aveloz). Revista Cubana de Plantas Medicinales 2015;20(4)492-497.
51. Betancur J, Ríos F, Villacrés J, Mendocilla M, Figueroa L, Villar A, Aranda J. Efecto de la administración crónica del látex liofilizado de *Croton lechleri* Muell.

- Arg. "sangre de drago" en *Rattus norvegicus* var. Albinus. Rev. Perú Med Integrativa.2017;2(1):13-20.
52. Silvero A, Morinigo S, Meza A, Mongelós M, Gonzales A, Figueredo S. Toxicidad aguda de las hojas de *Xanthium spinosum* en ratones BALB/C. Rev. Perú. Med. Exp. salud publica vol.33 no.1 Lima ene./mar. 2016.
 53. Paico D, Raque S. Estudio comparativo de la toxicidad aguda y del efecto antiinflamatorio de los aceites de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* y *Plukenetia huayllabambana*) en ratones. Universidad Peruana Cayetano Heredia. 2015 [Tesis]. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima; 2015.
 54. Orellana L, Montañez M, Morón I, Orellana A, Casildo L, Aguilar E, Barrutia J, Granda B, Sánchez W, Villanueva A. Toxicidad Aguda de *Aleurites moluccana* por vía oral en ratas Sprague-Dawley. Escuela Académico Profesional de Medicina Humana, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. Sociedad Científica San Fernando, Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima- Perú. CIMEL 2014; 19(1):4-9. Volumen 19, Número 1.
 55. Gorriti A, Arroyo J, Quispe F, Cisneros B, Condorhuaman M, Almora J y Chumpitaz V. toxicidad oral a 60 días del aceite de sachá inchi (*plukenetia volubilis* L.) y linaza (*linum usitatissimum* L.) y determinación de la dosis letal 50 en roedores. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2010; 27(3): 352-60.
 56. Nogué J, Blanché C, Piqueras J. Intoxicación por plantas y setas. Barcelona; 2009.
 57. Platinetti L, Porcal M, Sánchez M. Galletas a Base de Harina de Trigo Enriquecidas con Extracto de Jengibre rico en Polifenoles. Córdoba 2016.
 58. Verde M, García S, Rivas C. Metodología científica para el estudio de plantas medicinales. En Rivas C, Oranday M, Verde M. Investigación en plantas de importancia médica. Barcelona, España: Omnia Science; 2016. p. 1-40.
 59. Carrión A, García C. Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de métodos. [Tesis] Ecuador: Universidad de Cuenca; 2010.
 60. Verde M, García S, Rivas C. Metodología científica para el estudio de plantas medicinales. En Rivas C, Oranday M, Verde M. Investigación en plantas de importancia médica. Barcelona, España: Omnia Science; 2016. p. 1-40.
 61. Lock O. Investigación Fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales. 3° ed. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016.

62. Ruíz S, Venegas E, Chávez M, Eustaquio C. Identificación preliminar de los metabolitos secundarios de los extractos acuosos y etanólicos del fruto y hojas de *Morinda citrifolia* L. “noni” y cuantificación espectrofotométrica de los flavonoides totales. UCV – Scientia. 2010; 2 (2): 11-22.
63. Higuera M, Caamaño A, Rosas. E.G.A. Toxicidad hepática inducida por fármacos y herbolaria. Revista médica del Hospital General de México Rev. Med Hosp Gen Mex 2012; 75:230-7. México, 2012.
64. Ramírez A, Isaza G, Pérez J, Martínez M. Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antibacteriana del *Solanum dolichosepalum bitter* (Frutillo). Revista Cubana de Plantas Medicinales 2017; 22(1).
65. Aguirre O, et al. Actividad larvícida de extractos vegetales de la familia Asteraceae y modelación matemática para su uso en el control de poblaciones de *Aedes aegypti*. Actual Biol. 2018; 40 (108): 5-16.
66. Rengifo D. Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de flavonoides y taninos del extracto etanólico de hojas de *Desmodium vargasianum* Schubert. Rev. Soc. Quím. Perú. 2018; 84 (2):175-182.
67. Cabrera H, Morón F, Amador V, García A, Acosta L. Composición fitoquímica de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides*. Rev. Cubana Plant. Med. 2012; 17 (3): 268-278.
68. Hernández J, Ramírez R, Villagran C. Manual de Procedimientos Recomendables para la Investigación con animales. Primera edición, octubre 2012 Editorial Samsara Editorial, México 2012.
69. Sotomayor A, et. al. Obtención de extractos de hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) inducidos por su efecto inhibidor de la corrosión. Rev. Soc. Quím. Perú. 2018; 84(1): 119-132.
70. Hurtado P, Jurado B, Ramos E, Calixto M. Evaluación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico estandarizado de hojas de *Juglans neotropica* Diels (Nogal peruano). Rev. Soc. Quím. Perú. 2015; 81 (3): 283-291.
71. Fuentes F, Mendoza R, Rosales A. Cisneros R. Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio: Centro Nacional de Productos Biológicos Instituto Nacional de Salud Lima – Perú; 2008.
72. Romero W. Zenia Batista Z. De Lucca M. Ruano A. García M. Rivera M. García J. Sánchez S. EL 1, 2, 3. de la Experimentación con Animales de

- Laboratorio. Rev. Perú Med Exp Salud Pública. 2016;33(2):288-99. doi: 10.17843/rpmesp.2016.332.2169.
73. Bonilla J. Determinación de la toxicidad, actividad sedante y ansiolítica del extracto acuoso de las flores de *Erythrina berteroana* (pito) en ratones NIH. [Tesis] Universidad de El Salvador. 2013.
 74. León A, Blanco D, Peña A, Ronda M, González B. Arteaga M, Bada A, González Y, Mancebo A. Valores hematológicos y bioquímicos de las ratas Sprague Dawley producidas en CENPALAB, Cenp: SPRD - Revista electrónica de Veterinaria - ISSN 1695-7504, 2011 Volumen 12 N° 11.
 75. Guerra R, Gómez L, Castillo U, Gonzalo T, Sánchez J, Avalos N, Mejía J, Núñez M, Moreno M. Efecto Analgésico, Caracterización Fitoquímica y Análisis Toxicológico del Extracto Etanólico de Hojas de *Pereskia lychnidiflora*. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2018;35(4):581-9.
 76. Valtek S.A. Bilirrubina Directa (Diazo Ácido). [Citado el 29 de febrero 2019]. Disponible en: <http://andinamedica.com.pe/wp-content/uploads/2016/08/VTK-bilirrubina-directa.pdf>.
 77. Morales D. Investigación preclínica en las ciencias biomédicas. Revista Cubana de Estomatología 2015; 52(2):171-187.
 78. Institute of Laboratory Animal Resources. Office of Animal Care and Use of National Institute of Health. Baltimore: Animal Welfare Commission on Life Sciences, US Department of Agriculture; 2005.
 79. Miranda A. Estudio fitoquímico, y evaluación de la actividad citotóxica y antimicrobiana in vitro del látex de *Euphorbia laurifolia* en patógenos dérmicos. [Tesis] Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015.
 80. Castillo E, Castillo S, Reyes C. Estudio fitoquímico de *Plukenetia volubilis* L. y su efecto antioxidante en la lipoperoxidación inducida por Fe³⁺ /ascorbato en hígado de *Rattus rattus* var. Albinus. [en línea] 2010 [Citado 13 de marzo 2019]; Scientia 2(1). Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6181502.pdf>.
 81. Collave H, García A. Estudio Farmacognóstico y cuantificación de flavonoides totales en las hojas de "*Manihot esculenta*" yuca. [Tesis] Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo; 2014.

82. Carvajal L, Hata Y, Sierra N, Rueda D. Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana* krukoff). Revista Colombia Forestal Vol. 12: 161-170 / diciembre 2009.
83. Águila J, Bartra J. Determinación sérica de Bilirrubina Directa total en personas adultas de ambos sexos pertenecientes a la Iglesia Adventista de Trujillo. La Libertad - Julio; 2012. [Tesis] Universidad Nacional de Trujillo; 2012.
84. Sandoval M, Ayala S, Oré M, Valdivieso L, Loli R, Ricra V, Huamán O. Evaluación de la toxicidad hepática y renal aguda y subaguda del látex de *Crotón palanostigma* (sangre de grado) en animales de experimentación. An Fac Med Lima 2005; 66(2).
85. Rojas M. Valores de Referencia de Perfil Hepático y Lipídico en Personas que Viven a 3000 Metros Sobre el Nivel del Mar. [Tesis] Universidad Técnica de Ambato; Ambato. – Ecuador. Enero – 2019.
86. Cedral J, Cárdenas M, García A, Chuairé L, Payan C, Villegas V, Sánchez C. Manual de histología tejidos fundamentales. Editorial Universidad del Rosario. Primera edición. Bogotá D.C. 2009. Pag. 51.
87. Arroyo J, Franco C, Chávez R, Anampa A, Rojas J, Cabanillas J. Estudio de toxicidad a 28 días, del extracto atomizado de rizoma de *Curcuma longa* (a4r), flores de *Cordia lutea* (a4f) y hojas de *Annona muricata* (a4l) en un modelo murino. Revista peruana de medicina integrativa.2016;1(1):31-7.

ANEXOS

Anexo A: Matriz de consistência

EVALUACIÓN DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL TUBÉRCULO *Euphorbia Huanchahana* KLOTZCH & GARCKE BOISSIER. "HUACHANGANA" EN RATAS HOLTZMAN

Planteamiento de Problema	Objetivos	Hipótesis	Justificación	Variable	Tipo de Variables	Metodología
<p>Problema General</p> <p>¿Cuál es el nivel de toxicidad aguda del extracto etanólico del Tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke. Boissier "Huachangana", en ratas Holtzman?</p> <p>Problema Específico</p> <p>1.- ¿Cuál es el perfil cualitativo fitoquímicos del extracto etanólico del Tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke. Boissier "Huachangana"?</p> <p>2.- ¿Cuál es el nivel de toxicidad aguda del perfil hepático del extracto etanólico del Tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke. Boissier "Huachangana"?</p> <p>3.- ¿Qué tipos de cortes histopatológicos del hígado y riñón se realiza?</p> <p>4.- ¿Cuál es el nivel de toxicidad aguda a dosis de 2000 mg/kg.?</p>	<p>Objetivo General</p> <p>Determinar la toxicidad aguda hepática y renal del extracto etanólico de <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier. "Huachangana", en ratas Holtzman</p> <p>Objetivos Específico</p> <p>1.- Identificar por análisis cualitativo presencia de los metabolitos del extracto etanólico del tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier. "Huachangana".</p> <p>2.- Analizar de perfil hepático del extracto etanólico de <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier. "Huachangana", en ratas Holtzman.</p> <p>3.- Realizar los cortes histopatológicos del hígado y riñón de los grupos tratados.</p> <p>4.- Determinar la toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg en ratas Holtzman.</p>	<p>Hipótesis General</p> <p>Hi: Presenta toxicidad hepática el extracto etanólico del tubérculo de <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier. "Huachangana", en ratas Holtzman.</p> <p>Ho: No presenta toxicidad hepática el extracto etanólico del tubérculo de <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier. "Huachangana", en ratas Holtzman.</p>	<p>Aporte económico: Dado que un sector de la población de bajos recursos económicos, que están lejos de las postas médicas y hospitales, utilizan esta planta medicinal para aliviar el estreñimiento que padecen, es por ello se eligió esta especie <i>Euphorbia huanchahana</i>, Klotzch & Garcke Boissier. "Huachangana" conocida por la población como ccarco, la cual fue determinada la actividad catártica, y con la presente investigación se busca contribuir al uso de la especie dentro de la gran variedad de purgantes naturales.</p> <p>Aporte Social: En el marco de revalidación de la medicina tradicional, es necesario ofrecer a la población plantas medicinales como alternativa de tratamiento, debido a sus propiedades curativas orientadas a mejorar su salud.</p> <p>Aporte en Salud: Con el proyecto de investigación se busca determinar el nivel de toxicidad hepática, renal probable que pueda presentar los fitoquímicos del extracto etanólico del tubérculo de <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier "Huachangana", utilizadas por un sector de la población del anexo de Vichavichay – Castrovirreyna; y colaborar para el control de uso de esta planta por la población.</p> <p>Aporte práctico: En el anexo de Vichavichay (distrito de cocas, provincia de Castrovirreyna departamento de Huancavelica), el tubérculo fresco de <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier "Huachangana", son consumidas por los pobladores en forma de directa, como laxante en caso de estreñimiento. Al realizar las revisiones bibliográficas, estas consideran el efecto catártico o laxante a los metabolitos secundarios de naturaleza antraquinona. Debido a dicho uso de los pobladores de esta zona, se planteó determinar la presencia de metabolitos secundarios, entre ellos la antraquinona y evaluar el nivel de la toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg en ratas (Holtzman).</p>	<p>Variable (1) Variable Dependiente Toxicidad aguda el tubérculo <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke. Boissier "Huachangana", en ratas Holtzman.</p> <p>Variable (2) Variable independiente Extracto etanólico del <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke. Boissier "Huachangana".</p>	<p>Variable (1) Cuantitativa ordinal</p> <p>Variable (2) Cualitativa nominal</p>	<p>Tipo y diseño Según estrategia aplicada: Experimental. Según el nivel y alcance de sus resultados: Explicativo. Según tendencia o enfoque: Cuantitativo. Según el propósito u orientación: Aplicada</p> <p>Población y Muestra. La población de estudio estuvo constituida por ratas de cepa Balb/C53/CNPB y especie "Holtzman" adquiridos al bioterio del INS (Instituto Nacional de Salud) en el distrito de Chorrillos, Lima-Perú.</p> <p>Tamaño de La muestra: La muestra estuvo constituida por 36 ratas (18 hembras y 18 machos) de la especie "Holtzman de aproximadamente 177-280 g de peso corporal. El muestreo fue no probabilístico por conveniencia.</p> <p>Criterios de inclusión</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ratas cepa Holtzman de ambos sexos. • Ratas cepa Holtzman de 200+/- 300g de peso corporal. • Ratas cepa Holtzman que no tengan características de enfermedad. <p>Criterios de exclusión</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ratas Holtzman que no disponen el peso corporal especificado. • Ratas Holtzman que estuvieron utilizados en otros modelos de experimentación. • Ratas Holtzman con rasgos apreciables de enfermedad. <p>Instrumento y procedimientos de recolección de datos</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Obtención de extracto etanólico <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier "Huachangana". 2. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier "Huachangana". 3. Análisis del perfil cualitativo fitoquímicos del extracto etanólico de <i>Euphorbia huanchahana</i> Klotzch & Garcke Boissier "Huachangana". 4. Análisis toxicológico 5. Procedimiento para la extracción de sangre y órganos per fundidos <p>Análisis de datos Mediante el SPSS se calcularon tablas de frecuencia simple y de doble entrada. Con la finalidad de determinar la diferencia significativa de las variables intragrupos e intergrupos (error), la medición de las variables cuantitativas (pesos de las ratas hembras y machos) se efectuó mediante el análisis de varianza T de Student. Los niveles fijados fueron: nivel de significancia ($\alpha = 0,05$) y nivel de confianza ($1 - \alpha = 0,95$).</p>

Anexo B: Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Dimensión	Indicador	Valores	Criterios de medición	Escala de medición de Variable	Instrumentos de recolección de datos
Variable. (1). Variable Independiente Extracto etanólico del Tubérculo de <i>Euphorbia huanchahana</i> (Klotzch & Garcke.) Boissier "Huachangana"	Extracto etanólico. Es el proceso para la obtención de un producto en forma de extracto seco.	1. Identificación macroscópica	Tubérculo	SI/NO	Ficha taxonómica	Cualitativa nominal	
		2. Identificación física	Solubilidad	Soluble	Tipos de solventes		
		3. Identificación de Principales compuestos Químicos.	Flavonoides	Insoluble	Reacción Shinoda		
			Fenoles	+/-	Reacción de Cloruro Férrico		
			Taninos	+/-	Reacción de Agua de bromo		
			Saponinas	+/-	Método de Espuma		
			carbohidratos	+/-	Reacción de Molish		
			Lactónicos	+/-	Reacción de Baljet		
			Triterpenoides y/o Esteroides	+/-	Reacción de Liebermann-Burchard		
			Quinonas	+/-	Reacción de Borntranger		
Alcaloides	+/-	Reacciones de Mayer Reacción de Dragendorff					
Variable. (2). Dependiente	Capacidad de una sustancia para producir toxicidad	1.- Análisis Clínico de Perfil hepático	Bilirrubina Total	> 0,2 - 1,2 mg/dL. >0,2 - 1,2 mg/dL	Alterado Normal	Cuantitativa ordinal	Ficha de recolección de datos.

Toxicidad aguda		Transaminasas ALT y AST	>40 y 50 U/L <40 y 50 U/L	Alterado Normal		
	2.- Análisis histopatológico	Análisis de hígado	Componentes microscópicos de estructura celular conservada	Hígado con límites celulares normales		
			Componentes microscópicos de estructura celular poco conservada	Hígado con límites celulares anormales		
		Análisis de riñón	Componentes microscópicos de estructura celular conservada	Riñón con límites celulares normales		
			Componentes microscópicos de estructura celular poco conservada	Riñón con límites celulares anormales		

Anexo C: Formato de validación del instrumento

Estudio Botánico realizado en el Museo de historia natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA</p> <p>MUSEO DE HISTORIA NATURAL</p>	
---	---	---

CONSTANCIA Nº 019-USM-2009

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

La muestra vegetal recibida de los señores Daniel Ñañez del Pino y Maribel Mendoza Berrocal, ha sido estudiada y clasificada como *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ROSIDAE

ORDEN: EUPHORBIALES

FAMILIA: EUPHORBIACEAE

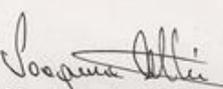
GENERO: *Euphorbia*

ESPECIE: *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke
Boissier

Nombre vulgar: "HUACHANGANA"
Determinado por: Blgo. María Isabel La Torre

Se expide la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudio.

Lima, 23 de Marzo del 2009


Mg. Joaquina Albán Castillo
JEFA DEL HERBARIO
SAN MARCOS (USM)



<p>Av. Arenales 1256, Jesús María Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú</p>	<p>Telfs.: (511) 471-0117, 470-4471, 470-7918, 619-7000 anexo 5703 Fax: (511) 265-6819</p>	<p>e-mail: museohn@unmsm.edu.pe http://museohn.unmsm.edu.pe</p>
--	--	---

Anexo D. Proceso de obtención del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huachahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”



Tubérculo fresco de “*Euphorbia huachahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”. Fuente: Ñañez D. et.al. (2018).“



Maceración y filtración del extracto etanólico *Euphorbia huachahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”



Evaporación del extracto etanólico tubérculo “*Euphorbia huachahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”

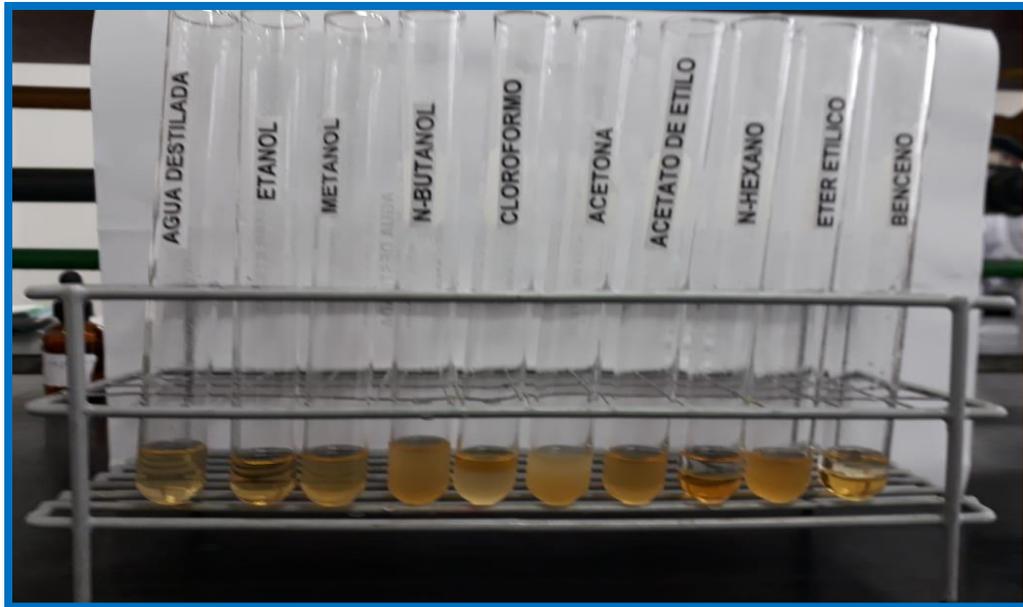


Obtención del Extracto etanólico fresco del Tubérculo fresco de *Euphorbia huachahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”



Almacenamiento del extracto etanólico tubérculo *Euphorbia huachahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”

Anexo E: Prueba de solubilidad y análisis de perfil cualitativo fitoquímico del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”.



Prueba de solubilidad del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”.



Análisis de perfil cualitativo fitoquímico del extracto etanólico del tubérculo *Euphorbia huanchahana* Klotzch & Garcke Boissier “Huachangana”.

Anexo F: Tabla de recolección de Parámetros de toxicidad.

PARÁMETROS DE TOXICIDAD	OBSERVACIONES	SI / NO	
		SI	NO
Apariencia del pelo	Textura, color, caída.		
Apariencia de la piel	Enrojecimiento, sequedad, exudación.		
Ojos	Enrojecimiento,		
Membranas	Sequedad,		
Mucosas	Secreción anormal.		
Ataxia	Perdida del equilibrio, caminata errática.		
Parálisis	Perdida de respuesta en cualquier extremidad.		
Reacción a estímulos	Respuesta al tacto o al ruido.		
Vasoconstricción periférica	Palidez.		
Vasodilatación periférica.	Enrojecimiento		
Pilo-erección	Pelaje erizo		
Salivación	Exceso de secreción bucal		
Actividad motora	Aumento o disminución de la actividad normal.		
Tremores y convulsiones	Contracción muscular anormal espontánea. Contracción o estiramiento muscular descontrolado		
Respiración	Aumento o disminución en la frecuencia respiratoria.		
Deshidratación	Pelliculo de la piel, sin el retorno de esta a su posición normal.		
Diarrea	Heces blandas o deposición acuosa.		

Anexo G: Resultado de análisis de perfil hepático e histopatológico

	Universidad Nacional Mayor de San Marcos Universidad del Perú. Decana de América FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA SERVICIO ACADEMICO ASISTENCIAL DE ANÁLISIS CLÍNICOS Jr. Huanta 1215 - Telf. 619-7000 - Anexo 4813 LIMA - PERU	
Paciente :	M 16	Ord. De Análisis N° : 184074
Ind.Dr (a) :	

PERFIL HEPÁTICO
Muestra (Sangre - ratas)

Análisis	Resultado	Valor Referencial
BILIRRUBINA TOTAL :	0.75 mg/dL	De 0,14 - 0,86 mg/dL
BILIRRUBINA DIRECTA :	0.30 mg/dL	De 0,02 a 0,24 mg/dL
BILIRRUBINA INDIRECTA :	0.45 mg/dL	De 0,12 a 0,62 mg/dL
TGO :	109.20 U/L	De 38 - 92 U/L
TGP :	42.44 U/L	De 17 - 50 U/L
FOSFATASA ALCALINA :	482.43 U/L	De 39 - 216 U/L
PROTEÍNAS T. :	5.12 mg/dL	De 6,3 - 8,6 mg/dL
ALBUMINAS :	3.78 mg/dL	De 3,3 - 4,9 mg/dL
GLOBULINAS :	1.34 mg/dL	De 2,4 - 3,9 mg/dL
GAMMA GLUTAMIL TRANSP.:	24.12 U/L	De 10 - 50 U/L



Director del S.A.A.C
Gustavo A. Guerra Brizuela
BioQuímico-Clinico
Colegiatura: 06953 - N°Esp. A516571

Lima, 31 de octubre del 2018.
F/SAC-002 R-1



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



SERVICIO ACADÉMICO ASISTENCIAL DE ANÁLISIS CLÍNICOS

Jr. Huanta 1215 - Telf. 619-7000 - Anexo 4813 LIMA - PERU

Paciente : H 12

Ord. De Análisis N° : 184074

Ind. Dr (a) :

PERFIL HEPÁTICO

Muestra (Sangre - ratas)

Análisis	Resultado	Valor Referencial
BILIRRUBINA TOTAL :	0.88 mg/dL	De 0,14 - 0,86 mg/dL
BILIRRUBINA DIRECTA :	0.29 mg/dL	De 0,02 a 0,24 mg/dL
BILIRRUBINA INDIRECTA :	0.59 mg/dL	De 0,12 a 0,62 mg/dL
TGO :	122.50 U/L	De 39 - 82 U/L
TGP :	34.00 U/L	De 17 - 50 U/L
FOSFATASA ALCALINA :	145.49 U/L	De 39 - 216 U/L
PROTEÍNAS T. :	5.60 mg/dL	De 6,3 - 8,8 mg/dL
ALBUMINAS :	3.70 mg/dL	De 3,3 - 4,9 mg/dL
GLOBULINAS :	1.90 mg/dL	De 2,4 - 3,9 mg/dL
GAMMA GLUTAMIL TRANSP.:	19.81 U/L	De 10 - 50 U/L



Dpto. de F.F. S.A.A.A.C
Eusebio A. Guerra Brizuela
Bioquímico-Clinico
Colegiatura: 06953 - N°Esp. A516571

Lima, 31 de octubre del 2018.
F/SAC-002 R-1



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA)
FACULTAD DE MEDICINA



“Año de la Lucha contra la Corrupción y la Impunidad”

Instituto de Patología

INFORME DE INVESTIGACION

Nombre de la Investigación:

“EVALUACIÓN DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL TUBÉRCULO *Euphorbia Huanchahana* KLOTZCH & GARCKE BOISSIER. “HUACHANGANA” EN RATAS HOLTZMAN”.

Tesistas:

- Br. Quispe Ilactahuaman, pilar Alicia
- Br. Villafuerte Pedraza, Graciela

Institución o dependencia:

UNIVERSIDAD NORBERT WIENER

Profesor responsable:

Dr. Ernesto Ruez González – Docente extraordinario Experto del Instituto de Patología – Facultad de Medicina – UNMSM.

Las alumnas en mención han realizado la inclusión, corte y leído las muestras correspondientes a su trabajo de investigación desarrollado en los laboratorios del Instituto de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad nacional Mayor de san marcos , por lo cual se da la siguiente conclusión del trabajo realizado:

Codificación:

M1 R a M₁₆ R: Machos O Masculinos

Riñones

1. M1R: Glomérulos con cápsulas completas túbulo renales gruesos capsula conservada.
2. M2R: Cápsula conservada glomérulo en 60%conservados túbulo gruesos conservados.
3. M3R: túbulo engrosados capsula conservada glomérulo parcialmente ocluidos.
4. M4R: Asa de Henle conservado existe una hemorragia a nivel de los túbulo gruesos; conservados.
5. M5R: capsulas limpias sin cicatrices, glomérulos con Asa de Henle ocupados túbulo gruesos y ocupados parcialmente.
6. M6R: Capsula limpia sin cicatrices glomérulos con capsulas de homan central capa gruesa y obstrucción de los túbulo



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA)
FACULTAD DE MEDICINA



“Año de la Lucha contra la Corrupción y la Impunidad”

Instituto de Patología

7. M₇R: Capsula conservada la estructura ,un glomérulo obturado parcialmente compromete las asas de Henle
8. M₈R: Túbulos con asa de Henle libre Capsula libre glomerulares con asa completa y conservada
9. M₉R: capsula conservada en la zona central del núcleo obstruida probablemente un trombo
10. M₁₀R: Tubulis contorneados conservados ,glomérulos conservados capsula plano y limpia
11. M₁₁R: Glomerulos con capsula homan perfecto túbulos conservados
12. M₁₂R: capsulas conservados; en este caso 40% glomerulos en la superficie dañados.
13. M₁₃R: Capsula conservada glomérulos alargados conservados
14. M₁₄R: Capsula conservada con una cicatriz túbulos conservados tejido medular hemorrágico
15. M₁₅R: Capsula conservada glomérulos alargados conservados funcionantes ,túbulos con asa de Henle completa
16. M₁₆R: Capsula conservado glomérulo filtrando en un 60 % está completa bien capsula de homan

M₁H: Hígado

1. M₁H: Nucleo centrales medio centro lobular el resto con escoriaciones
2. M₂H: vena centro lobular conservada con empastamiento de los canales biliares
3. M₃H: vena centro lobular y alteraciones estructurales de los canaliculos
4. M₄H: Vena centro lobular hemorrágico central
5. M₅H: vena centro lobular hepatocito con espacios libres de piezas
6. M₆H: vena centro lobular hemorrágico con cortes y existe taponamiento de los canaliculos biliares
7. M₇H: vena centro lobular vacía con restos hepatocelulares perfuncos y conductos libres
8. M₈H: espacio vacío por exceso de grasa intracavitarios
9. M₉H: vena centro lobular con espacios de vacuos y hepatocitos libre.
10. M₁₀H: vena centro lobular libre y tiene hepatocitos profusos bien marcados
11. M₁₁H:espacios hemorrágicos periféricos el resto está compactamente cerrado



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA)
FACULTAD DE MEDICINA



“Año de la Lucha contra la Corrupción y la Impunidad”

Instituto de Patología

M₂R: Cápsula conservada glomérulo en 100 % conservados túbulos gruesos conservados.

M₁H: vena centro biliar con canales biliares despejadas.

M₂H: vena centro lobular sin hemorragia.

Dr. Ernesto Raez Gonzalez
Reponsable

Lima, 07 Diciembre 2018

