

Universidad Católica de Santa María

**Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y
Biotecnológicas**

Escuela Profesional de Farmacia y bioquímica



**“EFECTO HEPATOPROTECTOR DE LOS EXTRACTOS DE
LAS HOJAS DE *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) EN
ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN CON
HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA POR PARACETAMOL.
AREQUIPA 2018”**

Tesis presentada por la Bachiller

Pino Alvarez, Marily Eudes

**Para optar el Título Profesional de
Químico-Farmacéutica**

Asesor: Q.F. Torres Vela, Fernando

AREQUIPA – PERÚ

2019

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas
y Biotecnológicas
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Expediente N°. 20180000048175

N° Trámite en Fac. 1758-2018

Fecha 07-11-2018

FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL

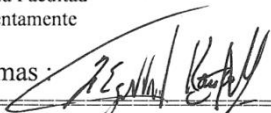
DE: PINO ALVAREZ, Marily Eudes

TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:

"EFECTO HEPATOPROTECTOR DE LOS EXTRACTOS DE LAS HOJAS DE *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION CON HEPATOXICIDAD INDUCIDA POR PARACETAMOL AREQUIPA 2018"

DICTAMINADORES: 1) Mgter. Maria Elena Guillén Núñez 2) Dra. Karin Vera López

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, como Dictaminadores del Plan de Tesis presentado por la recurrente, se ha procedido a la revisión del trabajo de investigación y hechas las observaciones y sugerencias correspondientes, consideramos que se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad
Atentamente

Firmas:  (Devolver antes de 8 días hábiles) Fecha

ASESOR: Q. F. Fernando Torres Vela

DICTAMEN DE ASESOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación como Asesor en el presente Trabajo de Investigación, cumpro con informar que este se ha desarrollado de acuerdo a los objetivos trazados y se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad.
Atentamente

Firma

Fecha 15-07-2019

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

- 1) Dra. Roxana Gutiérrez Aranibar
- 2) Mgter. Maria Elena Guillen Núñez

Dra. Karin Vera López

DICTAMEN DE BORRADOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, hemos procedido a revisar el Borrador de Tesis presentado por los recurrente, y luego de haber verificado el cumplimiento de los objetivos, la redacción del informe, de los resultados, discusión y conclusiones correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.
Atentamente

Firma

(Devolver antes de 15 días hábiles) Fecha

JURADOS: Presidente DRA. ROXANA GUTIERREZ ARANIBAR
Vocal MAG. MARIA ELENA GUILLEN NUÑEZ
Secretario DRA. KARIN VERA LOPEZ

SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:

Fecha: 10/9/19 Hora: 19.00 Local: C- 402 (SUM)

DECANO

DEDICATORIAS

La presente tesis está dedicada a Dios ya que gracias a él he podido terminar mi carrera.

A mis padres por brindarme su apoyo incondicional, a mis hermanas por estar siempre conmigo, a mis sobrinas por ser mi luz y mi alegría.

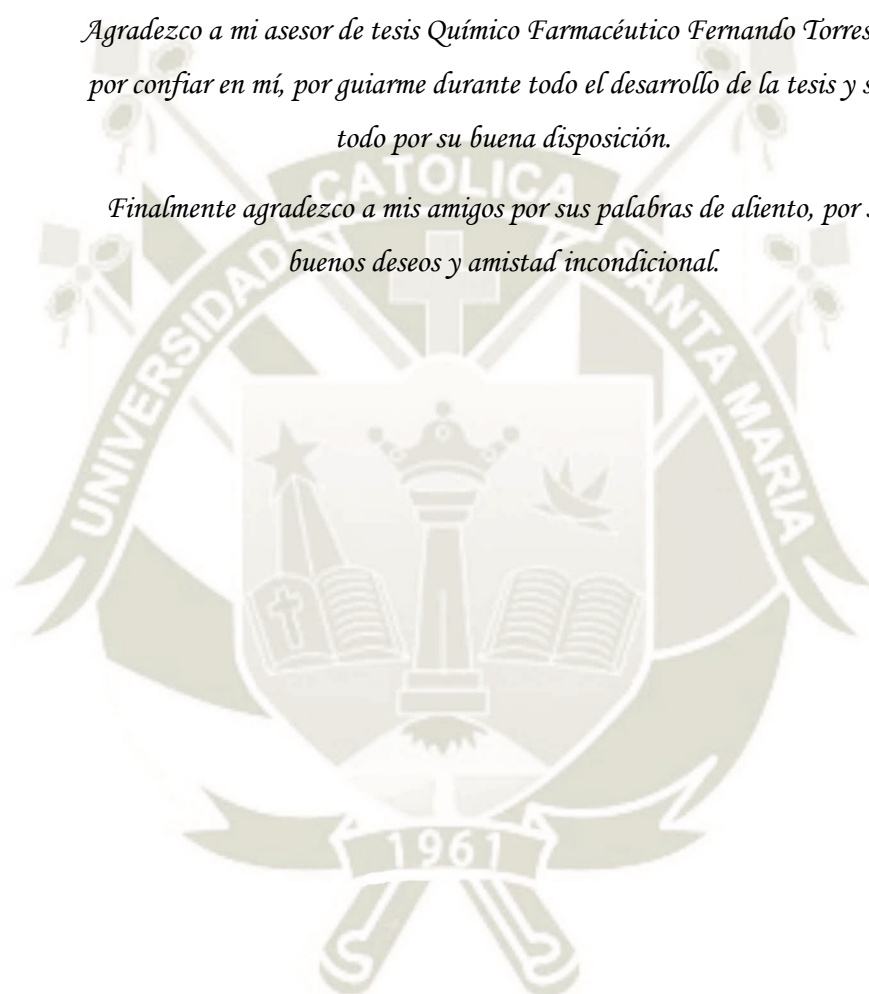


AGRADECIMIENTOS

Primeramente agradezco a mi casa de estudios UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA por la formación brindada y por los conocimientos obtenidos mediante la calidad de sus docentes.

Agradezco a mi asesor de tesis Químico Farmacéutico Fernando Torres vela por confiar en mí, por guiarme durante todo el desarrollo de la tesis y sobre todo por su buena disposición.

Finalmente agradezco a mis amigos por sus palabras de aliento, por sus buenos deseos y amistad incondicional.



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIAS	II
AGRADECIMIENTOS	III
RESUMEN.....	X
ABSTRACT	XII
INTRODUCCIÓN.....	XIV
OBJETIVOS	XVI
HIPÓTESIS	XVII
CAPÍTULO I.....	1
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1. BERRO	1
1.1.1. Nombre científico.....	1
1.1.2. Nombres vulgares	1
1.1.3. Distribución	2
1.1.4. Taxonomía vegetal	2
1.1.5. Parte a usar.....	2
1.1.6. Descripción botánica.....	2
1.1.7. Usos medicinales.....	3
1.1.8. Otros usos	4
1.2. FUNCIÓN HEPÁTICA	4
1.2.1. Anatomía del hígado.....	4
1.2.2. Histología hepática	5
1.2.3. Citología hepática	5
1.2.3.1 Circulación hepática.....	6
1.2.4. Recuerdo fisiológico	6
1.2.4.1 Funciones metabólicas	6
1.2.4.2 Función digestiva (síntesis de la bilis)	9
1.2.4.3 Función de detoxificación	10
1.2.4.4 Funciones Endocrinas	11
1.2.5. Enfermedades del hígado y vesícula biliar	12
1.2.6. Pruebas Complementarias para la valoración de la Función Hepática	13
1.2.6.1 Determinaciones analíticas.....	13
1.2.6.2 Pruebas de imagen	15

1.2.6.3	Biopsia hepática	15
1.2.6.4	Elastografía hepática	15
1.3.	SILIMARINA	15
1.3.1.	<i>Acción terapéutica.</i>	15
1.3.2.	<i>Propiedades.</i>	15
1.3.3.	<i>Farmacodinamia</i>	16
1.3.4.	<i>Indicaciones.</i>	16
1.3.5.	<i>Dosificación.</i>	16
1.3.6.	<i>Reacciones adversas.</i>	16
1.3.7.	<i>Precauciones y advertencias.</i>	16
1.3.8.	<i>Interacciones.</i>	17
1.3.9.	<i>Contraindicaciones.</i>	17
1.4.	PARACETAMOL	17
1.4.1.	<i>Farmacocinética</i>	17
1.4.2.	<i>Farmacodinamia</i>	18
1.4.3.	<i>Indicaciones</i>	18
1.4.4.	<i>Posología</i>	19
1.4.5.	<i>RAMS.</i>	19
1.4.6.	<i>Interacciones.</i>	19
1.4.7.	<i>Hepatotoxicidad.</i>	20
1.4.8.	<i>Tratamiento de la intoxicación</i>	21
CAPÍTULO II		22
2. MATERIALES Y MÉTODOS		22
2.1.	MATERIALES Y REACTIVOS	22
2.1.1.	<i>Material vegetal</i>	22
2.1.2.	<i>Material animal</i>	22
2.1.3.	<i>Material de laboratorio: Utillaje</i>	22
2.1.4.	<i>Material de laboratorio: Equipos</i>	23
2.1.5.	<i>Material de laboratorio: Reactivos</i>	23
2.1.6.	<i>Material de laboratorio: Dirvesos</i>	24
2.2.	METODOLOGÍAS UTILIZADAS	25
2.2.1.	<i>Obtención de la planta</i>	25
2.2.1.1	Recolección de la planta medicinal	25
2.2.1.2	Selección de la planta	25
2.2.1.3	Estabilización de la droga	26
2.2.1.4	Dsecación de la droga	26

2.2.1.5	Trituración	26
2.2.2.	<i>Obtención del extracto</i>	27
2.2.2.1	Proceso de extracción.....	27
2.2.2.2	Concentración.....	29
2.2.3.	<i>Método para el análisis fitoquímico</i>	30
2.2.3.1	Cromatografía en capa fina	30
2.2.4.	<i>Métodos para evaluar el efecto hepatoprotector</i>	33
2.2.4.1	Aspectos previos.....	33
2.2.4.2	Dosis de los extractos	34
2.2.4.3	Conformación de grupos experimentales.....	34
2.2.4.4	Esquema experimental	35
2.2.4.5	Inducción de hepatotoxicidad inducida por Paracetamol	37
2.2.4.6	Toma de muestra sanguínea.....	37
2.2.4.7	Cuantificación de indicadores hepáticos	37
2.2.5.	<i>Análisis estadístico</i>	42
CAPÍTULO III	43
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
3.1.	EXTRACCIÓN CON EQUIPO SOXHLET	44
3.2.	EVALUACIÓN DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR.....	44
3.2.1.	<i>Medición de Transaminasas</i>	47
3.2.2.	<i>Medición de Proteínas plasmáticas</i>	53
3.2.3.	<i>Medición de Bilirrubinas</i>	62
3.3.	ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR.....	71
DISCUSIÓN	74
CONCLUSIONES	77
SUGERENCIAS	79
BIBLIOGRAFÍA	80
ANEXOS	86
ANEXO N°1	87
ANEXO N° 2: RENDIMIENTOS EN LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS	88
ANEXO N°3: BASE DE DATOS	89

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Procedimiento para la determinación de Bilirrubina Total	39
Tabla N° 2: Procedimiento para la determinación de Bilirrubina Directa e Indirecta.....	40
Tabla N° 3: Procedimiento para la determinación de Proteínas totales	41
Tabla N° 4: Procedimiento para la determinación de Albumina plasmática	42
Tabla N° 5: Rendimiento de las hojas de berro según tipo de disolvente en equipo Soxhlet.....	44
Tabla N° 6: Dosis calculadas de los tratamientos Experimentales	45
Tabla N° 7: Niveles de Transaminasa glutámica pirúvica (UI/L) en animales de experimentación	47
Tabla N° 8: Test de Tukey de los Niveles Basales de Transaminasa Glutámica pirúvica (UI/L)	48
Tabla N° 9: Test de Tukey de los Niveles Post de Transaminasa Glutámica pirúvica (UI/L)	49
Tabla N° 10: Niveles de Transaminasa glutámica oxalacética (UI/L) en animales de experimentación	50
Tabla N° 11: Test de Tukey de los Niveles Basales de Transaminasa glutámica oxalacética (UI/L)	51
Tabla N° 12: Test de Tukey de los Niveles Post de Transaminasa glutámica oxalacética (UI/L)	52
Tabla N° 13: Niveles de Proteínas Totales (g/dL) en animales de experimentación	53
Tabla N° 14: Test de Tukey de los Niveles Basales de Proteínas Totales (g/dL)	55
Tabla N° 15: Test de Tukey de los Niveles Post de Proteínas Totales (g/dL) ..	55

Tabla N° 16: Niveles de Albúmina plasmática (g/dL) en animales de experimentación	56
Tabla N° 17: Test de Tukey de los Niveles Basales de Albúmina plasmática (g/dL).....	58
Tabla N° 18: Test de Tukey de los Niveles Post de Albúmina plasmática (g/dL).....	58
Tabla N° 19: Niveles de Globulina plasmática (g/dL) en animales de experimentación	59
Tabla N° 20: Test de Tukey de los Niveles Basales de Globulina plasmática (g/dL).....	60
Tabla N° 21 Test de Tukey de los Niveles Post de Globulina plasmática (g/dL)	61
Tabla N° 22: Niveles de Bilirrubina Total (mg/dL) en animales de experimentación	62
Tabla N° 23: Test de Tukey de los Niveles Basales de Bilirrubina Total (mg/dL)	63
Tabla N° 24: Test de Tukey de los Niveles Post de Bilirrubina Total (mg/dL)	64
Tabla N° 25: Niveles de Bilirrubina Directa (mg/dL) en animales de experimentación	65
Tabla N° 26: Test de Tukey de los Niveles Basales de Bilirrubina Directa (mg/dL)	66
Tabla N° 27: Test de Tukey de los Niveles Post de Bilirrubina Directa (mg/dL)	67
Tabla N° 28: Niveles de Bilirrubina Indirecta (mg/dL) en animales de experimentación	68
Tabla N° 29: Test de Tukey de los Niveles Basales de Bilirrubina Indirecta (mg/dL)	70

Tabla n° 30: Test de Tukey de los Niveles Post de Bilirrubina Indirecta (mg/dL)70



RESUMEN

En el presente estudio se han obtenido dos extractos de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro), con la finalidad de evaluar su efecto hepatoprotector administrado en animales de experimentación, a los que se les indujo hepatotoxicidad por administración de paracetamol por vía intraperitoneal.

Los extractos a los que se hace referencia fueron obtenidos mediante equipo Soxhlet, utilizando dos disolventes de distinta naturaleza, etanol y cloroformo, lo que permitió obtener un extracto etanólico y un extracto clorofórmico, a los que posteriormente se les eliminó completamente el disolvente hasta sequedad, ello permitió el cálculo del rendimiento, para el primer disolvente se tuvo un rendimiento de 14.68% y para el segundo disolvente de 3.67%.

Estos extractos fueron administrados a los animales de experimentación por el lapso de un mes, a una dosis de 800 mg/Kg y otra de 200 mg/Kg, denominadas dosis mayor y dosis menor respectivamente. Estas diferentes dosis constituyeron cuatro grupos que junto al grupo control y otro grupo al que se administró silimarina 200 mg/Kg conformaron los seis grupos experimentales, cada uno con 5 ratas de laboratorio.

La hepatotoxicidad fue inducida mediante la administración de acetaminofen o paracetamol a una dosis de 200mg/Kg administrado por vía

intraperitoneal, luego de la administración de 30 días de los tratamientos de los seis grupos experimentales. Se evaluó la actividad hepatoprotectora mediante la medición de parámetros bioquímicos en plasma proveniente del lecho ocular del animal.

Los parámetros bioquímicos fueron: transaminasa glutámico pirúvica, transaminasa glutámico oxalacética, proteínas totales, albumina, globulina, bilirrubina total, bilirrubina directa y bilirrubina indirecta. Todas estas cuantificaciones fueron recogidas y tabuladas. Se realizó comparaciones antes del tratamiento o niveles basales y posteriores al tratamiento y administración de paracetamol o niveles post. La comparación entre basal y post de cada grupo requirió una prueba “t” de Student, y la comparación entre los seis grupos de tratamiento de la medición basal y post requirió del ANOVA, ambos estadísticos fueron a un nivel de confianza del 95%.

De todos los tratamientos el análisis estadístico señaló como el extracto eficaz al extracto etanólico a una dosis de 800 mg/Kg, debido a que a diferencia de los otros tratamientos muestra diferencia significativa en comparación al grupo control en cuanto a los niveles de TGP, TGO, bilirrubina total, directa e indirecta. Al comparar este mismo grupo con el grupo que recibió silimarina una dosis de 200 mg/Kg mostró una eficacia similar, en cuanto a los niveles de transaminasas, respecto a las bilirrubinas, esta eficacia fue menor, todo ello bajo el ANOVA y test de Tukey, por lo que concluyo que dicho extracto tendría una eficacia comparable a la silimarina.

El análisis fitoquímico preliminar al extracto etanólico eficaz de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) mediante cromatografía en capa fina reveló la presencia de compuestos terpenos, triterpenos, esteroides, flavonoides y taninos.

Palabras clave: Hepatoprotector, hepatotoxicidad.

ABSTRACT

In the present study two extracts of the leaves of *Mimulus glabratus* H.B.K. (watercress) in order to evaluate its hepatoprotective effect administered in experimental animals to which hepatotoxicity was induced by administration of paracetamol intraperitoneally.

The extracts referred to were obtained by means of Soxhlet equipment, using two solvents of different nature, ethanol and chloroform, which allowed to obtain an ethanolic extract and a chloroform extract, which were then completely eliminated the solvent until dryness, this allowed the calculation of the yield, for the first solvent a yield of 14.68% was obtained and for the second solvent of 3.67%.

These extracts were administered to the experimental animals for a period of one month, at a dose of 800 mg / kg and another of 200 mg / kg, called the higher dose and the lower dose, respectively. These different doses constituted four groups that together with the control group and another group that was administered silymarin 200 mg / Kg formed the six experimental groups, each one with 5 laboratory rats.

The hepatotoxicity was induced by the administration of acetaminophen or paracetamol administered intraperitoneally, after the administration of 30 days of the treatments of the six experimental groups. The

hepatoprotective activity was evaluated by measuring biochemical parameters in plasma from the animal's eye bed.

The biochemical parameters were: glutamic pyruvic transaminase, glutamic oxalacetic transaminase, total proteins, albumin, globulin, total bilirubin, direct bilirubin and indirect bilirubin. All these quantifications were collected and tabulated. Comparisons were made before treatment or basal levels and after the treatment and administration of paracetamol or post levels. The comparison between baseline and post of each group required a Student "t" test, and the comparison between the six treatment groups of the basal and post measurements required the ANOVA, both statistics were at a confidence level of 95%.

Of all the treatments the statistical analysis indicated as the effective extract to the ethanolic extract at a dose of 800 mg / Kg, because unlike the other treatments shows significant difference compared to the control group in terms of the levels of TGP, TGO, total bilirubin, direct and indirect. When comparing this same group with the group that received silymarin, a dose of 200 mg / Kg showed a similar efficacy in terms of transaminase, compared to bilirubins, this efficiency was somewhat lower, all this under the ANOVA and Tukey test, so we concluded that said extract would have an efficacy comparable to silymarin.

Preliminary phytochemical analysis of the effective ethanolic extract of the leaves of *Mimulus glabratus* H.B.K. (watercress) by thin layer chromatography revealed the presence of terpenes, triterpenes, sterols, flavonoids and tannins.

Key words: Hepatoprotective, extract.

INTRODUCCIÓN

El hígado es una víscera cuyo parénquima deriva del endodermo digestivo que se sitúa justo debajo del diafragma y ocupa la mayor parte del cuadrante superior derecho del abdomen. Entre sus muchas funciones, se encuentran el almacenamiento de vitaminas, la síntesis de proteínas hemáticas, la destrucción de hematíes envejecidos, la excreción de sustancias tóxicas del organismo y el control de la formación y secreción de bilis (1).

Por la diversidad de funciones, el hígado es considerado un órgano vital, y la población no es ajena a ello, por ello muchas veces asume actitudes tendientes a la “protección” o “depuración” del hígado, evitando incluso tomar la prescripción médica, incluso relaciona las manchas en el rostro con la afección hepática o un estado de alteración del humor, esto trae como consecuencia que la misma gente consuma sustancias que tienen propiedades hepatoprotectoras, dentro de estas se encuentran las plantas medicinales. El berro o *Mimulus glabratus* es muy conocida por sus supuestas propiedades benéficas en la salud hepática, recomendándose incluso tomar en casos de colerina.

El berro en efecto es consumido como remedio para enfermedades del hígado (2) , sin embargo, estudios científicos sobre esta actividad terapéutica, no se encuentran disponibles en nuestro medio, razón por la cual mediante el presente trabajo de investigación realizado por la autora, se evalúa las hojas del berro a través de sus extractos etanólico y clorofórmico obtenidos mediante equipo Soxhlet.

El presente trabajo además de la evaluación del efecto hepatoprotector de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro), se hizo un análisis fitoquímico preliminar mediante cromatografía en capa fina. Se espera que con esta investigación preclínica se contribuya no solo en las ciencias farmacéuticas si no a la propia población



OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar el efecto Hepatoprotector de los extractos de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) en animales de experimentación con hepatotoxicidad inducida por administración de paracetamol.

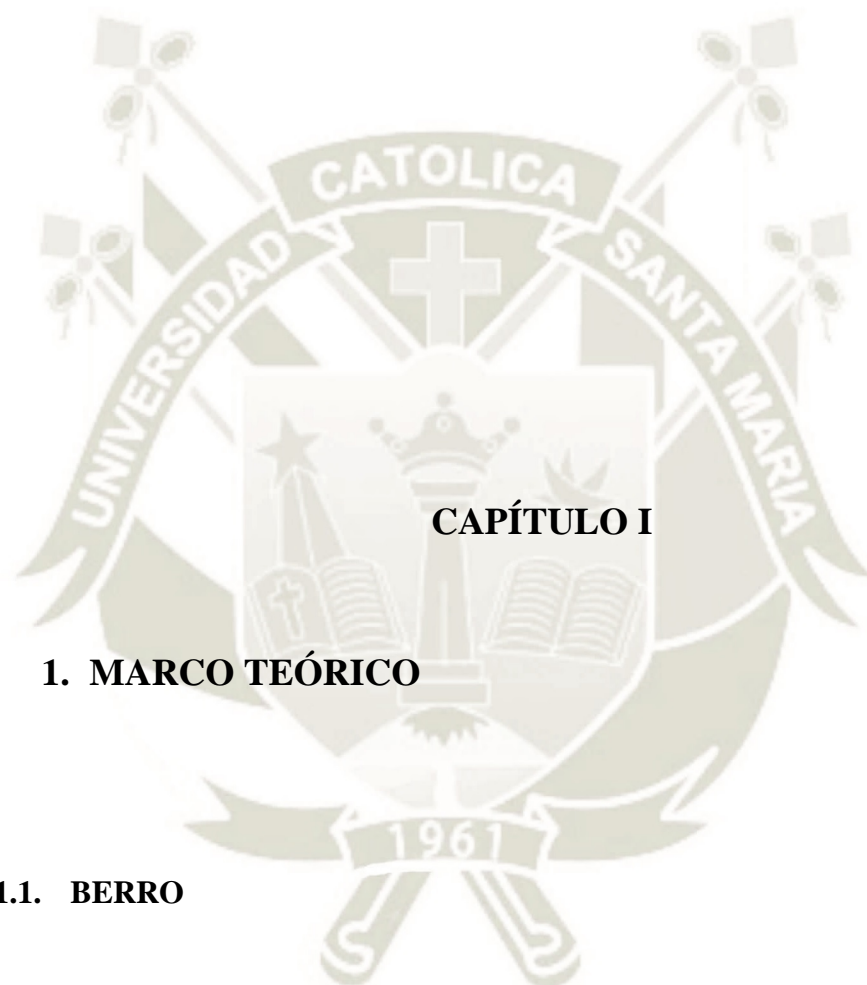
Objetivos específicos

- Obtener extractos con diferentes disolventes (alcohol etílico y cloroformo) a partir de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) y determinar los rendimientos que presentan.
- Describir los grupos de metabolitos secundarios que son revelados en los extractos de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) mediante el método de la cromatografía de capa fina.
- Determinar cuál de los extractos de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) y a que dosis oral en animales con hepatotoxicidad inducida por paracetamol muestra más eficacia hepatoprotectora.
- Comparar el efecto hepatoprotector de los extractos de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) según dosis en animales con hepatotoxicidad inducida por paracetamol muestra más eficacia hepatoprotectora con un grupo que reciba silimarina.



HIPÓTESIS

Debido a que las hojas del berro (*Mimulus glabratus* H.B.K.) son utilizadas por la población para la salud hepática y como tratamiento para afecciones del hígado, es probable, que los extractos de esta droga presenten efecto hepatoprotector en animales de laboratorio con hepatotoxicidad inducida por administración de paracetamol.



CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. BERRO

1.1.1.Nombre científico

Mimulus glabratus H.B.K.

1.1.2.Nombres vulgares

Berro, berro amarillo, berro de flor amarilla, jocko ruru, michi, ockuro (u), ocoruro (u), oqoruro (3) En aymara, okkoruru (4).

1.1.3. Distribución

Sierra y ceja de montaña en orillas de ríos entre 1000 y 4500 msnm (3)

Hierba acuática que crece en arroyos, estanques y canales de regadío.

Desde los 2000 – 2600 m (2).

1.1.4. Taxonomía vegetal

La taxonomía vegetal se realizó en el Herbarium arequipense (HUSA), del Departamento Académico de Biología, de la Universidad Nacional de San Agustín, a través de la constancia N° 039-2019-HUSA (ver en anexos), en donde se indica que el berro o *Mimulus glabratus* corresponde a la siguiente clasificación:

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Subclase: Asteridae
- Orden: Lamiales
- Familia: Phrymaceae
- Género: *Mimulus*
- Especie: *Mimulus glabratus* H.B.K.

1.1.5. Parte a usar

Hojas.

1.1.6. Descripción botánica

Hierba acuática, perenne, glabra, decumbente de 10-20 cm de longitud, tallos subcuadrangulares, con los nudos inferiores radicantes. Hojas opuestas aovada orbiculares, dentadas de 3-4 cm de largo por 2-2.5 cm de ancho, provistas de 6-7

nervaduras longitudinales. Flores hermafroditas, amarillo intenso solitarias en las axilas de las hojas, zigomorfas, bilabiadas. Cáliz penta angulado, dientes cortos, el superior de mayor longitud de 8-10 mm, de alto y 5 mm de ancho. Pedúnculo de 20-25 mm de largo sin brácteas en el limbo bilabiado, con 5 lóbulos, labio superior bilobulado, labio inferior trilobulado, lóbulo medio más largo que los laterales con dos prominencias rodeada de pelos y máculas rojo sanguíneas que estrechan la garganta. Estambres 4 didínamos, estilo filiforme inserto en el tubo corolino, estigma desigualmente bilamelado. Ovario supero, bilocular, plurióvulado. Fruto cápsula bivalva (2).



Figura N° 1: *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro)

FUENTE: Registros de investigación propios

1.1.7. Usos medicinales

Riñones: moler las hojas, exprimir el jugo y tomarlo. Úlceras: tomar el jugo de toda la planta. Colerina: tomar el jugo de toda la planta exprimida. Hígado: consumir las hojas directamente con limón. Cistitis: consumir directamente las hojas con limón. Próstata: Consumir directamente las hojas con limón (2). Como remedio en las enfermedades del hígado (4).

1.1.8. Otros usos

Como alimento, las partes verdes en ensalada (3) (4). Forraje (3) (2).

1.2. FUNCIÓN HEPÁTICA

El hígado es la glándula de mayor tamaño del organismo. Es esencial para la vida por cuanto lleva a cabo una vasta gama de funciones bioquímicas y metabólicas, entre ellas, eliminar del cuerpo las sustancias que podrían ser nocivas si se acumulasen, y excretar los metabolitos de fármacos y sustancias. Es el primer órgano donde llega la mayoría de los nutrimentos que se absorben a través de la pared intestinal; asimismo, abastece la mayoría de las proteínas plasmáticas y sintetiza la bilis que optimiza la absorción de lípidos y que también funciona como un líquido excretor. Por tanto, el hígado y el sistema biliar vinculado han desarrollado diversas características estructurales y fisiológicas, las cuales sustentan un amplio grupo de funciones decisivas (5).

1.2.1. Anatomía del hígado

El hígado está cubierto casi por completo por el peritoneo visceral y revestido en su totalidad por una capa de tejido conectivo denso irregular que yace en la profundidad del peritoneo. El hígado se divide en dos lóbulos principales – un lóbulo derecho grande un lóbulo izquierdo más pequeño – por el ligamento falciforme, una hoja del peritoneo (6). Aunque algunos anatomistas consideran que el lóbulo derecho abarca al lóbulo cuadrado y al lóbulo caudado, sobre la base de la morfología interna (en especial la distribución de los vasos sanguíneos), los lóbulos cuadrado y caudado pertenecen al lóbulo izquierdo.

El ligamento falciforme se extiende desde la cara inferior del diafragma entre los dos lóbulos principales hasta la cara superior del hígado y contribuye a sostenerlo en la cavidad abdominal (6). En el borde libre del ligamento falciforme está el ligamento redondo, un vestigio de la vena umbilical del feto; este cordón fibroso se extiende desde el hígado hasta el ombligo. Las porciones derecha e izquierda del ligamento coronario son estrechas extensiones del peritoneo parietal que van del hígado al diafragma (6).

1.2.2.Histología hepática

Los lóbulos del hígado están formados por muchas unidades funcionales llamadas lobulillos. Un lobulillo tiene una estructura de seis lados (hexágono) constituida por células epiteliales especializadas, llamadas hepatocitos, organizado en láminas irregulares ramificadas e interconectadas que rodean a una vena central (6). Además, el lobulillo hepático contiene capilares muy permeables llamados sinusoides, a través de los cuales circula sangre. En los sinusoides también están presentes las células reticuloendoteliales (de Kupffer), fagocitos que destruyen a los eritrocitos y glóbulos blancos viejos, bacterias y otros cuerpos extraños del torrente venoso provenientes del tracto gastrointestinal (6).

1.2.3.Citología hepática

- Hepatocitos: Son células de aspecto hexagonal, ricas en orgánulos: retículo endoplásmico rugoso (encargado de la síntesis proteica), retículo endoplásmico liso (con función de detoxificación) y gránulos de glucógeno (fundamentales como reserva energética y en la homeostasis de la glucosa), vacuolas de lípidos y un importante citoesqueleto formado por microtúbulos y microfilamentos fundamentales para la secreción biliar (7).
- Células de los conductos biliares: Son células cuboidales o cilíndricas y forman los túbulos por donde circula la bilis (7).
- Células endoteliales: Tapizan los sinusoides hepáticos y están separados de los hepatocitos por los denominados espacios de Disse. Su endotelio es fenestrado (lo que facilita el intercambio de la sangre con los hepatocitos) (7).
- Células perisinusoidales o de ITO: Se localizan en los espacios de Disse (espacio comprendido entre los hepatocitos y el endotelio). Realizan tres funciones esenciales: Almacenan vitamina A. Poseen capacidad

contráctil, por lo que regulan el flujo sanguíneo en los sinusoides. Intervienen en el proceso de fibrogénesis hepática (7).

- Células de Kupffer. Se localizan entre las células endoteliales. Derivan de los monocitos sanguíneos y tienen funciones de fagocitosis, presentación de antígenos y síntesis de citocinas. En el hígado representan las células del sistema mononuclear fagocítico (7).

1.2.3.1 Circulación hepática

El hígado recibe sangre de dos fuentes: casi 70% de la vena portal hepática y 30% de las arterias hepáticas. La vena portal hepática recibe sangre del estómago, intestinos, páncreas y bazo, y la lleva al hígado en el hilio hepático. Todos los nutrientes absorbidos por el intestino delgado alcanzan el hígado por esta ruta, excepto los lípidos, que son transportados en el sistema linfático (8). La sangre arterial unida por el hígado sale de la aorta por el tronco celiaco y sigue la ruta: primero por el tronco celiaco, seguido de la arteria hepática común, posteriormente por la arteria hepática propia y por último por las arterias hepáticas derecha e izquierda, que entran en el hígado por la porta. Estas arterias entregan al hígado oxígeno y otros materiales (8).

Ramas de la vena porta hepática y las arterias hepáticas se unen en los espacios entre los lóbulos hepáticos, y ambas drenan hacia las sinusoides hepáticas. De esta forma, hay una mezcla inusual de sangre venosa y arterial en los sinusoides (8). Después de su procesamiento en los hepatocitos, la sangre colecta en la vena central, en el núcleo del lóbulo. Al final, la sangre de las venas centrales converge en las venas hepáticas derecha o izquierda, sale de la superficie superior del hígado y se vacía en la vena cava inferior cercana (8).

1.2.4. Recuerdo fisiológico

Las funciones más importantes del hígado se detallan a continuación:

1.2.4.1 Funciones metabólicas

1.2.4.1.1 Hidratos de carbono

El hígado actúa como controlador de la glucosa sanguínea, almacenándola en forma de glucógeno y liberándola cuando las concentraciones sanguíneas son bajas. Los hidratos de carbono se absorben en el intestino como

monosacáridos y son transportados al hígado mediante la sangre portal. La mayor parte de la glucosa pasa rápidamente a través del hígado, ingresando en la circulación sistémica, donde el aumento de insulina facilita su entrada en los tejidos. En el hígado el exceso de monosacáridos se regula mediante el siguiente mecanismo (9):

- Conversión de otros monosacáridos en glucosa: la fructosa y la galactosa pueden convertirse en glucosa (9).
- Síntesis y almacenamiento de glucógeno: el exceso de glucosa se polimeriza y se almacena como glucógeno. El glucógeno almacenado puede proporcionar glucosa durante 17-24 h durante el ayuno. Cuando las concentraciones sanguíneas de glucosa son bajas, el glucagón y otras hormonas hiperglicemiantes (como la adrenalina y la hormona de crecimiento) estimulan la glucogenólisis, degradando el glucógeno y liberando glucosa a la sangre (9). Si no se utilizan los depósitos de glucógeno, el exceso de glucosa (no liberada a la sangre) finalmente se transforma en triglicéridos (TG) y se transporta al tejido adiposo para su almacenamiento (9).
- Gluconeogénesis: el hígado (y en menor grado el riñón) tiene la capacidad de generar glucosa a partir de sustratos como el glicerol, el piruvato y los aminoácidos alanina y glutamina. Esto proporciona una fuente de energía alternativa, que se genera principalmente durante el ayuno y la desnutrición (9).
- Formación de compuestos químicos: el exceso de glucosa también puede convertirse en otros compuestos químicos (ácido pirúvico, ácido láctico, acetyl CoA) que pueden utilizarse en vías metabólicas como el ciclo del ácido cítrico (9).

1.2.4.1.2 Lípidos

La mayoría de los lípidos se empaquetan en quilomicrones en el interior de los enterocitos. Los quilomicrones entran en los capilares linfáticos del intestino delgado, pasando a la circulación sistémica en los grandes vasos de la cavidad torácica. Así, la primera entrada al hígado de los lípidos absorbidos tiene lugar a

través de la circulación sistémica, no de la circulación portal. El metabolismo lipídico hepático incluye (9):

- b-oxidación de los ácidos grasos: aunque numerosos tejidos utilizan la b-oxidación como fuente de energía cuando es necesaria, la tasa es especialmente elevada en el hígado (9).
- Formación de la mayoría de lipoproteínas: las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se forman en el hígado. La VLDL y la LDL transportan TG y colesterol a los tejidos. La LDL está implicada en el desarrollo de enfermedad cardiovascular, dado que se incorpora el colesterol en placas de ateroma. La HDL transporta lípidos desde los tejidos hasta el hígado y se considera beneficiosa (9).
- Síntesis de colesterol y fosfolípidos: estos sustratos son necesarios para la formación de membranas, el colesterol es además el precursor de las hormonas esteroideas y de la bilis. Debido a estas importantes funciones, el hígado asegura un suplemento de estos sustratos sintetizándolos a partir de otros lípidos. Una enzima hepática, la hidroximetilglutaril-coenzima A reductasa (HMG-CoA), representa el paso limitante en la síntesis del colesterol. La actuación farmacológica para regular el colesterol es la utilización de estatinas (fármacos reductores del colesterol) que actúan inhibiendo esta enzima (9).
- Conversión del glucógeno no utilizado en TG: si el glucógeno hepático no se utiliza, se convierte en TG, que se transportan al tejido adiposo por las VLDL (9).

1.2.4.1.3 Proteínas

El metabolismo de las proteínas del hígado es esencial para la supervivencia. El hígado procesa los aminoácidos de la dieta y participa en el procesamiento de los restos nitrogenados para su excreción. Las funciones principales del hígado en este sentido son (9):

- Desaminación de aminoácidos: este mecanismo evita la formación de toxinas porque las aminotransferasas eliminan los grupos amino de los aminoácidos, generando amoníaco (NH_3) (9).
- Producción de urea: el NH_3 se combina con CO_2 para formar urea, de este modo se tampona el NH_3 y se favorece su excreción urinaria (9).
- Síntesis de proteínas plasmáticas: alrededor del 90% de las proteínas plasmáticas se sintetizan en el hígado. Entre ellas se incluyen: Albúmina, que contribuye a la presión oncótica. Inmunoglobulinas, que participan en las funciones inmunitarias. Fibrinógeno, que es necesario para la coagulación sanguínea (9).
- Interconversión de los aminoácidos: se sintetizan los aminoácidos esenciales a partir de otros aminoácidos disponibles.

1.2.4.2 Función digestiva (síntesis de la bilis)

El hígado produce y secreta 250 a 1 500 ml de bilis por día. Los principales constituyentes de la bilis son pigmentos biliares (bilirrubina), sales biliares, fosfolípidos (sobre todo lecitina), colesterol y iones inorgánicos.

El pigmento biliar, o bilirrubina, se produce en el bazo, hígado y médula ósea como un derivado del grupo hemo (sin el hierro) de la hemoglobina. La bilirrubina libre no es muy hidrosoluble y por consiguiente en su mayor parte es movilizada en la sangre unida a la proteína albúmina. Esta bilirrubina ligada a proteínas resulta imposible de filtrar y enviar a la orina por los riñones, y el hígado tampoco puede excretarla de manera directa en la bilis (10).

El hígado puede tomar parte de la bilirrubina libre fuera de la sangre y conjugarla (combinarla) con ácido glucurónico; esta bilirrubina conjugada es hidrosoluble y puede secretarse en la bilis. Una vez en la bilis, la bilirrubina conjugada puede entrar en el intestino, donde las bacterias la convierten en otro pigmento llamado urobilinógeno. Los derivados del urobilinógeno imparten un color marrón a las heces. No obstante, el intestino absorbe alrededor de 30 a 50% del urobilinógeno, que ingresa en la vena porta. Del urobilinógeno que entra en los sinusoides hepáticos, parte se secreta en la bilis y de ese modo retorna al intestino en

una circulación enterohepática; la parte restante se integra a la circulación general. El urobilinógeno plasmático, a diferencia de la bilirrubina libre, no se fija a la albúmina; por ello, los riñones filtran con facilidad el urobilinógeno y lo envían a la orina, donde sus derivados originan el color ámbar normal (10).

Los ácidos biliares son derivados del colesterol que cuentan con dos a cuatro grupos polares en cada molécula. Los principales ácidos biliares en los seres humanos son el ácido cólico y el ácido desoxicólico, que se conjugan con los aminoácidos glicina o taurina para formar las sales biliares. En soluciones acuosas, estas moléculas se “apiñan” para formar agregados conocidos como micelas. Las partes apolares se localizan en la región central de la micela (lejos del agua), mientras que los grupos polares se dirigen hacia el agua y circundan la periferia de la micela. En el intestino delgado, la lecitina, el colesterol y otros lípidos penetran en estas micelas, y la naturaleza dual de las sales biliares (parte polar, parte apolar) permite que emulsifiquen grasa en el quimo (10).

La producción hepática de ácidos biliares a partir del colesterol es la principal vía metabólica desintegradora de colesterol en el cuerpo. La cantidad que esto significa representa alrededor de medio gramo de colesterol convertido en ácidos biliares por día. No se requiere una cantidad mayor porque alrededor de 95% de los ácidos biliares liberados en el duodeno se absorbe en el íleon por medio de acarreadores específicos y, de esa manera, tienen circulación enterohepática. Las sales biliares recirculan 6 a 10 veces por día, ya que sólo se excreta 0.5 g con las heces (10).

1.2.4.3 Función de detoxificación

Se conocen alrededor de 4 000 000 de productos químicos, de los cuales aproximadamente 63 000 son de uso común y unos 11 500 pueden ser ingeridos directamente como fármacos o aditivos en los alimentos. Existen otros 50 000 productos contaminantes del medio ambiente. Cuando estos productos penetran en el organismo, la mayoría no se utiliza para la fabricación de energía, ni siquiera para formar parte de las estructuras celulares. Por esta razón son llamados xenobióticos. En esta categoría se incluyen las toxinas y las drogas (11).

El hígado es capaz de proteger al organismo de estos productos mediante dos mecanismos, generalmente sucesivos. En el primer mecanismo, reacciones de fase I, los productos y tóxicos se transforman de poco polares y poco hidrosolubles en productos mucho más polares e hidrosolubles que, en consecuencia, son mucho más fácilmente eliminables por la orina. El segundo efecto beneficioso de estas reacciones de fase I es aumentar la posibilidad de que estos productos puedan ser conjugados mediante las reacciones de fase II, con lo que se convierten en menos activos y tóxicos, y más fácilmente eliminables. La combinación de las reacciones de fase I y II constituye los mecanismos hepáticos de desintoxicación y eliminación al exterior (11).

La reacción de fase I comprende fundamentalmente reacciones de óxido-reducción. Las enzimas más importantes de la oxidación de drogas son dependientes de los sistemas del citocromo P-450. La mitad de las drogas oxidadas por el hígado lo son por este sistema y también lo son la gran mayoría de xenobióticos y tóxicos (11).

Las reacciones de fase II son reacciones de conjugación para xenobióticos o tóxicos y para la bilirrubina, como ya se comentó antes. La reacción se realiza mediante transferasas. La forma más habitual de conjugación en el hígado es la glucuronización (xenobiótico + ácido glucurónico). La enzima responsable es la UDP-glucuronil-transferasa, que conjuga con ácido glucurónico los $-COOH$ o los $-OH$ del xenobiótico, convirtiéndolo en una estructura más hidrosoluble y acelerando su excreción. Otros mecanismos de conjugación que se realizan en el hepatocito son los de unión a sulfato, glutatión y taurina (11).

Los mecanismos enzimáticos puestos en función por el hepatocito para eliminar productos químicos o toxinas pueden generar productos más activos y tóxicos para el propio organismo que el original, llegando a la paralización de los sistemas enzimáticos e, incluso, a la lesión de sus organelas (11).

1.2.4.4 Funciones Endocrinas

- Factor de crecimiento tipo insulínico 1 (IGF-1): libera el hígado a la circulación en respuesta a la hormona de crecimiento. El IGF-I media muchos de los efectos somáticos de la hormona de crecimiento (9).

- Angiotensinógeno: es el precursor de la angiotensina I y II (la angiotensina tiene un cometido importante en la regulación de la presión sanguínea) (9).
- Trombopoyetina (TPO): estimula a las células madre en la médula ósea para su diferenciación en megacariocitos, que darán lugar a las plaquetas. Las plaquetas intervienen en la coagulación de la sangre (9).
- Factor de crecimiento de los hepatocitos (FCH): actúa localmente para estimular la regeneración de las células hepáticas y resulta de especial importancia cuando el órgano se lesiona (9).
- Metabolismo de la vitamina D: el hígado hidroxila el colecalciferol (procedente de la dieta o sintetizado en la piel) para formar 25-hidroxicolecalciferol. Éste aún no es activo y debe ser hidroxilado nuevamente para convertirse en la forma activa de la vitamina D, el 1,25-dihidroxicolecalciferol. La vitamina D es un regulador fundamental de la absorción intestinal de calcio (9).

1.2.5. Enfermedades del hígado y vesícula biliar

Hepatitis. Es un proceso inflamatorio que afecta al hígado y que se caracteriza por un daño en el tejido hepático que puede desencadenar su insuficiencia funcional.

Se produce por diversas causas como infecciones virales y bacterianas, alcohol, fármacos o enfermedades inmunitarias. Sus síntomas son inespecíficos y, en algunos casos, aparece ictericia (piel y mucosas pigmentadas de amarillo).

Las más frecuentes son las de origen viral; se pueden distinguir varios tipos de virus productores de la enfermedad. Para diferenciarlas, se designa una letra (A, B, C, D, E).

- Hepatitis A y E. No presentan gravedad y suelen cursar de forma asintomática. Se transmiten por vía oral a través del agua o alimentos contaminados.
- Hepatitis B y C. Se transmiten por vía parenteral o por vía materna, durante el embarazo o el parto. La cronificación es el problema fundamental y ocurre

con más frecuencia en la C, pudiendo generar a largo plazo una cirrosis hepática o un tumor hepático (hepatocarcinoma).

- Hepatitis D. En este caso, el virus no puede actuar si previamente la persona no está infectada con el virus de la hepatitis B. Los síntomas son parecidos a los producidos por otras enfermedades hepáticas virales.

- Cirrosis hepática. Es la consecuencia final de enfermedades hepáticas crónicas; genera una pérdida de la arquitectura normal del hígado y una disminución progresiva de sus funciones.

- La primera fase de la enfermedad cursa de forma asintomática, pero cuando progresa puede aparecer un acúmulo de líquido en el abdomen (ascitis) y, en casos avanzados, un funcionamiento anormal del cerebro.

- Tumores hepáticos. El más frecuente es el hepatocarcinoma, cuyos factores de riesgo son la cirrosis hepática producida por hepatitis B o C y la esteatosis o inflamación grasa del hígado. El diagnóstico se realiza con ecografía, TAC, . resonancia magnética y biopsias.

- Litiasis biliar o colelitiasis. Es la formación de cálculos dentro de la vesícula biliar o en el conducto biliar común. El síntoma principal es un dolor continuo en el abdomen, en forma de cólico biliar o hepático, que puede irradiarse al hombro derecho y a la espalda.

1.2.6. Pruebas Complementarias para la valoración de la Función Hepática

1.2.6.1 Determinaciones analíticas

- Bilirrubina: Su cifra normal en sangre es habitualmente menor de 1 mg/dl. La hiperbilirrubinemia (bilirrubina > 1 mg/dl) produce ictericia (tinte amarillento de la piel y mucosas). La hiperbilirrubinemia se puede asociar a enfermedades hepáticas y extrahepáticas (7).
- Albúmina sérica: Su cifra normal es de 3,5- 5,5 g/dl. Ya hemos comentado que la albúmina es sintetizada por el hígado y una de las causas de su disminución (hipoalbuminemia) son las enfermedades hepáticas. No obstante, otras enfermedades como las pérdidas renales de

albúmina (p. ej., síndrome nefrótico) o la desnutrición pueden ocasionar hipoalbuminemia (7).

- Estudio de coagulación: El hígado sintetiza la mayor parte de los factores de coagulación. Las enfermedades hepáticas, por tanto, pueden alargar los tiempos de coagulación (tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial activado) (7).
- Amonio plasmático: El amonio deriva de la degradación de los aminoácidos por las bacterias intestinales y los hepatocitos lo transforman en urea. En condiciones normales su cifra en sangre es de 10-80 $\mu\text{g/dl}$. Una de las causas de la elevación de amonio en sangre son las enfermedades hepáticas (7).
- Fosfatasa alcalina: Cifra normal 30-120 U/l. Las fosfatasas alcalinas son enzimas relacionadas con el transporte de metabolitos a través de membranas. Se encuentran en muchos órganos; placenta, intestino, riñón, huesos, hígado, etc., y por tanto se pueden elevar en muchas enfermedades. Disponemos, no obstante, de sistemas de determinación de sus isoenzimas que nos permiten conocer, en casos de duda, si su origen es hepático, óseo, etc. Su elevación en los procesos hepáticos guarda relación con la existencia de colestasis (obstrucción al flujo de salida de la bilis) (7).
- Gamma GT (gamma glutamil transpeptidasa): Cifra normal 0-30 U/l. Se trata de una enzima que sirve para el transporte de aminoácidos a través de las membranas. Al igual que la fosfatasa alcalina, se encuentra en muchos tejidos (riñón, páncreas, hígado, bazo, corazón, etc.) y se eleva en las enfermedades hepáticas, al igual que la fosfatasa alcalina, fundamentalmente si hay colestasis (7).
- Transaminasas: Las dos principales transaminasas son la GOT (transaminasa glutámico oxalacética) y la GPT (transaminasa glutámico pirúvica). La cifra normal de ambas debe ser menor de 35 U/l. Estas enzimas son responsables de la transformación de los grupos amino (de los aminoácidos) para su posterior eliminación en forma de urea. Siempre

que exista destrucción de los hepatocitos se producirá hipertransaminasemia (elevación de la cifra de transaminasas) (7).

1.2.6.2 Pruebas de imagen

La ecografía, la tomografía computadorizada (TC) y la resonancia magnética abdominal permiten valorar la morfología, el tamaño y las posibles lesiones hepáticas (7).

1.2.6.3 Biopsia hepática

Generalmente se hace guiada por ecografía o por TC y permite realizar un estudio anatomopatológico de la arquitectura hepática o de lesiones focales o localizadas (7).

1.2.6.4 Elastografía hepática

Es una técnica incruenta reciente, basada en la aplicación de ultrasonidos a través del hígado. Informa sobre el grado de elasticidad del tejido hepático que guarda relación directa con el grado de fibrosis (rigidez) que presenta. Es útil para evaluar la fibrosis hepática en los casos de hepatopatías crónicas o cirrosis (7).

1.3. SILIMARINA

1.3.1. Acción terapéutica.

Hepatoprotector. (12)

1.3.2. Propiedades.

La silimarina es el nombre genérico de un grupo de compuestos naturales (silibina, silidianina y silicristina) extraídos del fruto de la planta medicinal *Carduus marianus*, reconocida por su actividad antihepatotóxica. (13)

1.3.3.Farmacodinamia

La silimarina impide la peroxidación de los lípidos de la membrana celular y de las organelas de los hepatocitos, lo que protege la integridad y la función hepática de las sustancias tóxicas endógenas y exógenas; aumenta la síntesis de RNA mensajero y, en consecuencia, acelera la síntesis de proteínas. Se emplea en el tratamiento de hepatopatías crónicas, cirrosis, esteatosis y lesiones hepatotóxicas, en las que produce una mejoría de los síntomas clínicos (cefaleas, astenia, anorexia, trastornos digestivos, etc.). (13)

1.3.4.Indicaciones.

Hepatitis viral, hepatopatías crónicas de diferente etiología (tóxicas, metabólicas, infecciosas, alcohólica), cirrosis y esteatosis. (13) Tratamiento de lesiones de origen tóxico-metabólico, especialmente aquellas que se caracterizan por una intensa peroxidación, como las provocadas por una ingesta crónica de alcohol y de medicamentos hepato-tóxicos, esteatosis hepática, hepatitis alcohólica y cirrosis hepática. (14)

1.3.5.Dosificación.

Niños de 10 a 15kg: 25mg, 3 veces al día. Niños de 15 a 30kg: 50mg, 3 veces al día. Adolescentes: 75mg, 3 veces al día. Adultos: 70 a 140mg, 3 veces al día, durante 5 a 6 semanas. (13) Oral: 80-150 mg/8 h, mantenimiento: 80-150 mg/12 h. Duración: 4-6 sem. (14)

1.3.6.Reacciones adversas.

Epigastralgias, diarrea, reacciones cutáneas alérgicas. (13)

1.3.7.Precauciones y advertencias.

No tiene efectos embriotóxicos, puede ser administrado durante el embarazo y el período de lactancia. (13) Se desconoce si la silimarina o sus

metabolitos se excretan en la leche materna. Por tanto, no se puede excluir el riesgo en recién nacidos. (14)

1.3.8. Interacciones.

No se han encontrado. (13) (14)

1.3.9. Contraindicaciones.

Hipersensibilidad a la silimarina. Obstrucción mecánica de las vías biliares. (13)

1.4. PARACETAMOL

Es un analgésico y antipirético de eficacia similar o un poco menor que la aspirina, usado generalmente en pacientes que no toleren o en los que esté contraindicado el uso de salicilatos. Es una droga con muy buena tolerancia gastrointestinal y se la puede definir como completamente inocua a dosis adecuadas, pero altamente mortal cuando se produce intoxicación aguda con dosis altas (15).

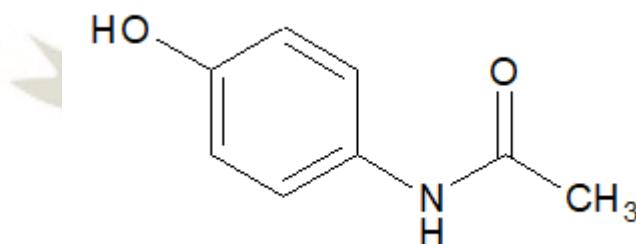


Figura N° 2: N-(4-hidroxifenil) etamida

Fuente: (12)

1.4.1. Farmacocinética

El paracetamol oral tiene una excelente biodisponibilidad. Las concentraciones plasmáticas máximas ocurren en un lapso de 30-60 minutos, y la $t_{1/2}$ en plasma es de casi dos horas. Se distribuye de manera uniforme en la mayoría de los fluidos corporales (16). La unión del fármaco a proteínas plasmáticas es

variable, pero menor que con otros NSAID. Alrededor de 90-100% del fármaco puede recuperarse en la orina en el primer día a una dosis terapéutica, principalmente después de la conjugación hepática con ácido glucurónico (~60%), ácido sulfúrico (~35%) o cisteína (~3%); pequeñas cantidades de hidroxilados y metabolitos deacetilados también han sido detectados (16). Los niños presentan menor capacidad de glucuronidación del medicamento que los adultos. Una pequeña proporción de paracetamol se somete a N-hidroxilación mediada por CYP para formar NAPQI, un intermedio con reactivos muy elevados. Este metabolito por lo regular reacciona con grupos sulfhídrico en GSH y por tanto se vuelve inofensivo. Sin embargo, después del consumo de grandes dosis de paracetamol, el metabolito se forma en cantidades suficientes para reducir el GSH hepático y contribuye significativamente a los efectos tóxicos de la sobredosis (16).

1.4.2.Farmacodinamia

El paracetamol tiene efectos analgésicos y antipiréticos similares al ácido acetilsalicílico, pero posee efectos antiinflamatorios débiles. Se ha postulado que el paracetamol tiene poca capacidad para inhibir las isoformas de COX en presencia de altas concentraciones de peróxido, como ocurre en los sitios de inflamación. La inhibición de COX puede ser desproporcionada en el encéfalo, lo que explica su efecto antipirético (17).

1.4.3.Indicaciones

Aunque se ha afirmado que es equivalente del ácido acetilsalicílico como analgésico y antipirético, el paracetamol carece de propiedades antiinflamatorias y de inhibición plaquetaria y no modifica las concentraciones de ácido úrico. El fármaco es útil en el dolor leve a moderado, como cefalea, mialgia, dolor puerperal y otras circunstancias en las que el ácido acetilsalicílico es un analgésico eficaz (18). El paracetamol solo es un tratamiento inadecuado para los trastornos inflamatorios como la artritis reumatoide. Para la analgesia leve, el paracetamol es el fármaco preferido en enfermos alérgicos al ácido acetilsalicílico o cuando los salicilatos son poco tolerados. Es preferible el ácido acetilsalicílico en personas con hemofilia o

antecedentes precipita broncoespasmo. A diferencia, de la aspirina, el paracetamol no antagoniza los efectos de los fármacos uricosúricos (18).

1.4.4.Posología

La dosis oral convencional de paracetamol es 325-650 mg cada 4-6 h; las dosis diarias totales no deben exceder 4 g (2 g/d) para alcohólicos crónicos. Las dosis únicas para niños de 2 a 11 años dependen de la edad y el peso (~10-15 mg/kg); no se deben administrar más de cinco dosis en 24 h. Está disponible una preparación inyectable. Se justifica atención especial debido a la disponibilidad de una amplia variedad de prescripciones y medicamentos de ingredientes múltiples sin receta que representan fuentes de paracetamol superpuestas potencialmente tóxicas (16).

1.4.5.RAMS.

En dosis terapéuticas, el paracetamol es muy bien tolerado y, quizá, sea el AINE más seguro de todos. A veces pueden aparecer alergias en forma de erupciones eritematosas, urticarias y otras reacciones. En general no hay hipersensibilidad cruzada con los salicilatos. La toxicidad hemática (leucopenia, trombocitopenia) es rara (19).

1.4.6.Interacciones

La única interacción que puede revestir importancia clínica es la que puede presentarse en administración conjunta con anticoagulantes orales. Aunque a dosis terapéuticas el paracetamol no parece alterar la coagulación en la mayoría de los pacientes tratados con anticoagulantes orales, parece prudente controlar el tiempo de protrombina (INR) al comienzo y al final de un tratamiento regular a dosis superiores a 2 g/día (20).

1.4.7. Hepatotoxicidad

La lesión hepática con paracetamol implica su conversión al metabolito tóxico NAPQI. Las conjugaciones de glucurónido y sulfato llegan a saturarse, y soportan grandes aumentos de hidroxilación N mediante CYP para formar NAPQI. Esto se elimina de forma rápida por conjugación con GSH y luego se metaboliza a un ácido mercaptúrico y se excreta en la orina. En el contexto de la sobredosis de paracetamol, los niveles hepatocelulares de GSH se agotan (16). El metabolito NAPQI altamente reactivo se une de manera covalente a las macromoléculas de las células, lo que lleva a la disfunción de los sistemas enzimáticos y el desorden estructural y metabólico. Además, el agotamiento de GSH intracelular hace que los hepatocitos sean muy susceptibles al estrés oxidativo y la apoptosis. También puede ocurrir necrosis tubular renal y coma hipoglucémico (16).

En adultos, la hepatotoxicidad puede ocurrir después del consumo de una dosis única de 10-15 g (150-250 mg/kg) de paracetamol; dosis de 20-25 g o más son potencialmente letales. Las condiciones de inducción de CYP (p. ej., consumo excesivo de alcohol) o agotamiento de GSH (p. ej., ayuno o malnutrición) aumentan la susceptibilidad a la lesión hepática, que se ha documentado, aunque de manera poco frecuente, con dosis en el rango terapéutico (16). Las transaminasas plasmáticas se vuelven elevadas, a veces muy notables, comenzando alrededor de 12-36 h después del consumo.

Los síntomas que ocurren durante los primeros dos días de intoxicación aguda por paracetamol reflejan los trastornos gástricos (p. ej., náuseas, dolor abdominal, anorexia) y son indicio de la potencial gravedad de la intoxicación (16). Las indicaciones clínicas de daño hepático se manifiestan al cabo de 2-4 días del consumo de dosis tóxicas, con dolor subcostal derecho, hepatomegalia, ictericia y coagulopatía. Pueden presentarse alteración renal o insuficiencia renal declarada. Las anomalías enzimáticas del hígado, en general, alcanzan un máximo a 72-96 h después del consumo. La biopsia hepática revela necrosis centrolobulillar sin afectar el área periportal. En los casos no mortales, las lesiones hepáticas son reversibles durante un periodo de semanas o meses (16).

1.4.8. Tratamiento de la intoxicación

La gravedad del cuadro, que puede ser mortal, y su pronóstico han de valorarse mediante la determinación de las concentraciones plasmáticas de paracetamol en relación con el momento de la ingestión (tabla 23-6). De acuerdo con esta valoración, el tratamiento será sintomático o dirigido a neutralizar el metabolito reactivo con productos ricos en grupos SH (20). El más recomendado en el momento actual es la N-acetilcisteína. Puede administrarse por vía oral o intravenosa, si es posible dentro de las primeras 8 h tras la ingestión, pero el plazo puede prolongarse hasta las 24 h, si bien el riesgo de desarrollar una lesión hepática irreversible aumenta a medida que se retrasa el comienzo del tratamiento. Por vía oral se administran inicialmente 140 mg/kg, seguidos de 70 mg/kg cada 4 h durante 3 días. Por vía intravenosa se inyecta una infusión inicial de 150 mg/kg en dextrosa al 5% durante 15 min; en las siguientes 4 h, 50 mg/kg en 500 mL, y en las siguientes 16 h, 100 mg/kg en 1.000 mL. Si los vómitos son abundantes, es obligada la administración intravenosa. En caso de no conocerse el momento de la ingestión, puede recurrirse a estimar la semivida plasmática del paracetamol a partir de dos determinaciones, separadas por 2 o más horas. Una semivida claramente superior a 4 h indicaría un posible daño hepático (20).

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIALES Y REACTIVOS

2.1.1. Material vegetal

El material vegetal estuvo conformado por especímenes recolectados de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro).

2.1.2. Material animal

El material animal estuvo conformado por especímenes pertenecientes a la especie *Rattus norvegicus*, todos machos de 3 a 5 meses de edad, con pesos de 280g a 353g.

2.1.3. Material de laboratorio: Utillaje

- Matraces
- Pipetas graduadas
- Punteras de 50ul, 100ul y 1000ul

- Micropipeta
- Probetas graduadas
- Tubos de ensayo
- Tubos ependorf
- Varillas de agitación
- Vasos de precipitados
- Capilares
- Cuba cromatográfica

2.1.4. Material de laboratorio: Equipos

- Balanza analítica (Ohaus Pioner Tm)
- Balanza de precisión
- Centrífuga
- Cocina eléctrica
- Equipo Rotavapor
- Equipo Soxhlet
- Estufa de desecación 854 (Shwabach-Germany)
- Frigorífico de conservación (Buchz Switzerland R – 114)
- Mechero Bunsen
- Espectrofotómetro (Fhotometer 5010)

2.1.5. Material de laboratorio: Reactivos

- Acetato de etilo ACS (BAKER)
- Ácido acético Q.P. (MERCK)
- Ácido fórmico (MERCK)

- Ácido sulfúrico ACS (MERCK)
- Agua destilada
- Tween 20 (MERCK)

- Alcohol etílico
- Alcohol yodado
- Cloroformo (Triclorometano) ACS (BAKER)
- Cloruro de aluminio
- Cloruro férrico ACS (MERCK)
- Etanol 96% (DELTA QUIMICA)
- Metanol ACS (BAKER)
- Reactivo Dragendorff
- Reactivo Liebermann Burchard
- Vainillina

2.1.6. Material de laboratorio: Dirvesos

- Algodón
- Cámara fotográfica
- Campo de tela
- Detergente
- Espátulas
- Frascos de vidrio color oscuro
- Gorro de laboratorio
- Gradilla para tubos de ensayo
- Guantes quirúrgicos

- Jaulas para ratas
- Jeringa hipodérmica de 3ml
- Láminas de sílica gel
- Mascarilla
- Papel filtro
- Plumón marcador
- Rejilla de asbesto
- Sonda orogástrica
- Soporte universal

2.2. METODOLOGÍAS UTILIZADAS

2.2.1. Obtención de la planta

2.2.1.1 Recolección de la planta medicinal

Los especímenes de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) fueron recolectados en la zona de Tilumpaya, perteneciente al distrito de Chiguata, departamento de Arequipa. La planta prosperaba en los bordes de riachuelos formados por agua de manantial (agua de ojo) que se encuentran en dicha zona.

Por la ubicación del lugar, la recolección inició a las 9 de la mañana, se retiraron especímenes completos de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro), no solo con la finalidad de estudio, sino también para su identificación correspondiente. Se recolectó aproximadamente 8 kilogramos de planta fresca.

2.2.1.2 Selección de la planta

La planta de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) está constituida por las hojas, para obtenerlas se seleccionó el material vegetal recolectado, descartando hojas en mal estado, con restos de tierra, heces, parasitismo o infecciones. En el caso del berro se observó hojas dañadas, estas fueron retiradas.



Figura N°3: Ejemplo de hoja no seleccionada de berro

FUENTE: Registros de investigación propios

2.2.1.3 Estabilización de la droga

La droga (hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. [berro]) seleccionada fue estabilizada, mediante el método de calor seco en estufa de desecación a una temperatura de 100°C durante 2 minutos.

2.2.1.4 Desecación de la droga

Las hojas estabilizadas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) fueron desecadas, para posteriormente hacer la extracción, esta desecación fue mediante calor artificial, utilizando estufa de desecación a una temperatura de 40°C durante 2 horas.

2.2.1.5 Trituración

La trituración de la droga se realizó con la finalidad de reducir el tamaño de esta y facilitar la extracción, para ello se utilizó como método la trituración manual, mediante mortero y pistilo de porcelana, se trituró hasta un tamaño de partícula de droga para infusión.



Figura N° 4: Trituración de la droga

FUENTE: Registros de investigación propios

2.2.2. Obtención del extracto

2.2.2.1 Proceso de extracción

Método

Los extractos se obtuvieron mediante extracción en equipo Soxhlet.

Fundamento

La extracción sólido-líquido, se usa a menudo para extraer un producto natural a partir de su fuente natural, tal como una planta. Se escoge un solvente que selectivamente disuelva el compuesto deseado pero que deje los sólidos insolubles indeseados en su fuente natural (21).

El sólido que se va extraer se coloca en un dedal hecho de papel filtro, y el cual se inserta en el centro de la cámara. Un solvente de bajo punto de ebullición, por ejemplo, alcohol etílico o éter dietílico, se coloca en el balón de destilación de fondo redondo y se calienta hasta reflujo. Los vapores suben por el lado izquierdo hacia el condensador donde se condensan (21). El líquido condensado cae dentro del dedal que contiene el sólido. El solvente caliente empieza a llenar el dedal y extrae el compuesto deseado a partir del material vegetal. Una vez que el dedal se llena con el

solvente, el brazo de la derecha actúa como sifón, y el solvente, el cual contiene el compuesto deseado disuelto, regresa dentro del balón de destilación.

El ciclo vaporización-condensación-extracción-evacuación por el sifón, se repite varias veces, y el producto deseado se concentra en el balón de destilación (21).

Procedimiento

Se realizó el mismo procedimiento para ambos solventes (etanol y cloroformo).

- Para el proceso de extracción lo primero que se realizó fue pesar el papel filtro, luego se procedió a pesar el mismo papel filtro con 15 g de muestra (hojas de berro trituradas), terminado ello se procedió a armar la muestra en forma de un tamalito pequeño amarrado con un hilo.
- Se procedió armar el equipo soxhlet donde se colocó primero un soporte con sus respectivos ganchos, seguido después se sujetó la boca esmerilada del extractor soxhlet o tubo soxhlet, luego se conectó con el matraz balón del equipo, previo a ello se llenó con 150 ml de solvente (llámese alcohol etílico o cloroformo).
- Se colocó la muestra en el cartucho del equipo, posteriormente se colocó el condensador que a su vez posee una entrada y salida de agua, el de entrada fue conectado con el caño de agua para que ingrese el agua a la parte del condensador y este así nos permita refrigerar el sistema.
- por último, se procedió a prender la cocina eléctrica para posteriormente esperar el proceso de extracción.



Figura N° 5: Extracción de extractos mediante equipo soxhlet

FUENTE: Registros de investigación propios

2.2.2.2 Concentración

La concentración representa la etapa siguiente al proceso de extracción. El proceso de concentración busca aumentar el contenido de sólidos en el extracto con la finalidad de: a) alcanzar un determinado contenido del residuo seco; b) fabricar extractos blandos y c) como etapa preliminar en la producción de extractos secos (22).

En la elaboración de los productos fitoterapéuticos, la concentración es una etapa problemática, debido a la posibilidad de degradación de sustancias termolábiles. Las soluciones que contienen sustancias estables pueden ser concentradas en equipos comunes y a presión normal o al vacío, pero la mayoría de los extractos deben ser evaporados a temperaturas bastante bajas en la medida de lo posible, así como, al vacío (22).

Procedimiento

Se realizó el mismo procedimiento para ambos disolventes (etanol y cloroformo).

- Terminado el procedimiento de extracción, el contenido obtenido se lleva al equipo rotavapor, para ello lo primero que se realizó fue conectar el agua de refrigeración para evitar que el disolvente evaporado pase a la bomba de vacío.
- Luego se procedió a encender la bomba del vacío y se conectó el matraz con el contenido a evaporar (llámese extracto etanólico o clorofórmico), luego se encendió el motor para que gire el matraz.
- posteriormente se cerró la llave de conexión que está en la parte superior del refrigerante para hacer vacío en el sistema y se produzca la evaporización, para ayudar la evaporación se sumergió el matraz en baño termostático a temperatura de 37°C. El procedimiento terminó hasta cuando se obtuvo un volumen aproximado de 25 ml del contenido, posteriormente esta mínima parte se transfirió en un beaker de 250 ml previo a ello se pesó el vaso vacío, se llevó a baño maría con la ayuda de un termómetro se llevó a una temperatura de 37°C hasta sequedad, una vez terminado el procedimiento se llevó a pesar y con ello se obtuvo los rendimientos respectivos.



Figura N° 6: Eliminación de los disolventes mediante equipo rotavapor

FUENTE: Registros de investigación propios

2.2.3. Método para el análisis fitoquímico

2.2.3.1 Cromatografía en capa fina

La cromatografía es una técnica que permite la separación y purificación de sustancias con base en las diferencias de adsorción entre dos fases: una móvil y una estacionaria. Existen diferentes cromatografías, según las fases involucradas: sólida-líquida (cromatografías de columna, de capa delgada y de papel), líquido-líquido (cromatografía líquida de alta resolución) y gas-líquido (23).

Una técnica cromatográfica más sencilla que se utiliza para analizar la separación de una mezcla de compuestos es la cromatografía de capa fina que se basa en la preparación de una capa uniforme, de un adsorbente sobre una placa de vidrio o de aluminio. El desarrollo del cromatograma en capa fina se realiza normalmente por el método ascendente, esto es, al permitir que un eluyente ascienda por una placa casi en vertical, por la acción de la capilaridad (23).

La mezcla que se desea separar se disuelve en una pequeña cantidad del solvente orgánico de bajo punto de ebullición para evaporarlo fácilmente, luego del experimento y con un capilar de punta muy fina se realiza un toque sobre la placa (23). Estos toques deben quedar ubicados sobre una línea margen a una distancia del borde inferior de un centímetro aproximadamente. Esto se hace para caracterizar los valores de R_f . La constante R_f expresa la posición de un compuesto sobre una placa

y mide la retención de un componente. Se define como el cociente entre la distancia recorrida por el soluto y la distancia recorrida por el solvente (23).

Procedimiento

Para la realización del análisis fitoquímico se procedió a preparar placas de sílica gel con dimensiones de 3 cm de ancho por 10 cm de alto, posteriormente se trazó una línea a 1cm de la base, constituyendo la línea de sembrado, y otra al frente a 1 cm del borde superior, constituyendo la línea de límite del disolvente.

Se prepararon las fases móviles para las siguientes reacciones: General, terpenos, flavonoides, taninos y alcaloides. Se trabajó con estas reacciones ya que se trata de un extracto total.

2.2.3.1.1 Fases Móviles

Para la reacción general se utilizó el siguiente sistema de disolventes y sus proporciones (24):

Disolvente	Acetato de etilo	Metanol	Agua
Proporción	97	20	10

Para la reacción de terpenos se utilizó el siguiente sistema de disolventes y sus proporciones (24):

Disolvente	Acetato de etilo	Tolueno
Proporción	95	5

Para la reacción de flavonoides se utilizó el siguiente sistema de disolventes y sus proporciones (25):

Disolvente	Acetato de etilo	Ácido acético	Ácido fórmico	Agua
Proporción	100	11	11	26

Para la reacción de taninos se utilizó el siguiente sistema de disolventes y sus proporciones (25):

Disolvente	Metanol	Agua
Proporción	70	30

Para la reacción de alcaloides se utilizó el siguiente sistema de disolventes y sus proporciones (25):

Disolvente	Ácido acético	Metanol	Agua
Proporción	70	10	20

2.2.3.1.2 Reveladores

General

El revelador para la reacción general fue el reactivo de vainillina ácido sulfúrico.

Sol. a: solución etanólica de H₂SO₄ al 5%

Sol. b: solución etanólica de vainillina al 1%.

Aspersar con a y luego con b, Calentar 5-10 min. A 110 °C.

Detección: aceites esenciales, terpenoides, derivados de fenilpropano, fenoles, etc. (26).

Terpenos

Reactivo de Liebermann Burchard: Mezclar 5 ml de ácido acético y 5ml de ácido sulfúrico concentrado. Esta mezcla se agrega con cuidado y enfriando a 50

ml de etanol (preparar poco antes de su uso). Detección: una coloración verde indica la presencia de triterpenos y/o esteroides (22).

Flavonoides

Rociar una solución de cloruro de aluminio al 1% en etanol. La aparición de una mancha fluorescente bajo luz UV es indicativa de flavonoides (27).

Taninos y polifenoles

Los compuestos fenólicos se detectan por la coloración parda que producen en presencia de una solución de cloruro férrico al 1% (27).

Alcaloides

Reactivo Dragendorff: Se prepara mezclando 8 g de nitrato de bismuto pentahidratado en 20 ml de ácido nítrico al 30% con una solución de 27.2 g de yoduro de potasio en 50 ml de agua. Se deja reposar por 24 horas, se decanta y se afora a 100 ml. La presencia de alcaloides se detecta al producirse una coloración naranja rojiza (27).

2.2.4. Métodos para evaluar el efecto hepatoprotector

Previo a la evaluación del efecto hepatoprotector se consideraron ciertos aspectos previos, los que se detallan a continuación:

2.2.4.1 Aspectos previos

Previamente a la evaluación del efecto hepatoprotector de las hojas de *Mimulus glabratus* (berro) se acondicionó la unidad biológica animal, con una alimentación balanceada mismas condiciones de cautiverio y agua a disposición uniformes. Luego de ello se identificó y marcó cada animal para proceder a obtener sus pesos corporales, esto último con la finalidad del cálculo de dosis. Posteriormente fueron distribuidos en los grupos experimentales correspondientes.

2.2.4.2 Dosis de los extractos

Debido a que no están disponibles datos relacionados a la dosificación preclínica en roedores de extractos secos de hojas de *Mimulus glabratus* (berro) es que se establecieron de manera experimental dos dosis, con un rango amplio entre ellas. Una dosis menor o dosis baja y una dosis mayor o dosis alta; debido a que la dosis menor podría ser luego de la experimentación eficaz solamente esta o ineficaz, entonces en este contexto se encuentra la dosis mayor que luego de la experimentación podría ser eficaz o ineficaz. La cantidad de dosis fue fijada arbitrariamente como dosis menor de 200 mg/kg y 800 mg/kg como dosis mayor.

2.2.4.3 Conformación de grupos experimentales

Los grupos experimentales que se conformaron al azar o en forma aleatoria, para ello se marcaron los animales con una solución de violeta de genciana, marcando según sus partes anatómicas, para luego constituir los siguientes grupos:

- Grupo control: Conformado por 5 animales de experimentación a los que se les administrará 3 ml de suero fisiológico.
- Grupo Extracto Etanólico dosis menor: Conformado por 5 animales de experimentación a los que se les administrara P.O. 200 mg/kg de extracto etanólico seco de *Mimulus glabratus* (berro).
- Grupo Extracto Etanólico dosis mayor: Conformado por 5 animales de experimentación a los que se les administrara P.O. 800 mg/kg de extracto etanólico seco de *Mimulus glabratus* (berro).
- Grupo Extracto Clorofórmico dosis menor: Conformado por 5 animales de experimentación a los que se les administrara P.O. 200 mg/kg de extracto clorofórmico seco de *Mimulus glabratus* (berro).
- Grupo Extracto Clorofórmico dosis mayor: Conformado por 5 animales de experimentación a los que se les administrara P.O. 800 mg/kg de extracto clorofórmico seco de *Mimulus glabratus* (berro).

- Grupo Silimarina: Conformado por 5 animales de experimentación a los que se les administrara P.O. silimarina a una dosis de 200 mg/kg contenida en una especialidad farmacéutica comercial. (28) (29)

2.2.4.4 Esquema experimental

La evaluación se organizó a manera de pasos solapados y otros consecutivos, en primer lugar, mientras se acondicionaba la unidad animal, se obtenía y concentraba los extractos, de modo tal que coincidiera su obtención al término del tiempo de acondicionamiento.

El acondicionamiento de la unidad animal consistió en seguir un protocolo de alimentación y cuidado uniformes, es decir, se les alimentó a la misma hora la misma cantidad de comida balanceada y siempre con agua a disposición. El bioterio al ser un ambiente destinado a la crianza de animales de laboratorio, provee las mismas horas de luz y sombra a todos los animales y todos nacen, crecen y se reproducen en condiciones de cautiverio.

Luego se distribuyó en los grupos experimentales conforme lo descrito en el punto anterior (2.2.4.3). A cada animal se le administró su tratamiento conforme el grupo asignado. Este tratamiento se administró dos veces al día a media mañana y a media tarde durante un mes. Transcurrido este periodo, se les indujo daño hepático, conforme se describe más adelante, después del periodo de injuria hepática los animales se sometieron a un ayuno de 24 horas previas a la obtención de la sangre según el método descrito. Inmediatamente se procedió al análisis de los marcadores bioquímicos de la función hepática.

Toda esta secuencia de procedimientos se resumió mediante el flujograma expuestos en la Figura N° 7, iniciando desde el acondicionamiento de la unidad vegetal (recuadro naranja oscuro) para culminar con el análisis de los datos obtenidos mediante la cuantificación de indicadores hepáticos mediante los marcadores bioquímicos de la función hepática.

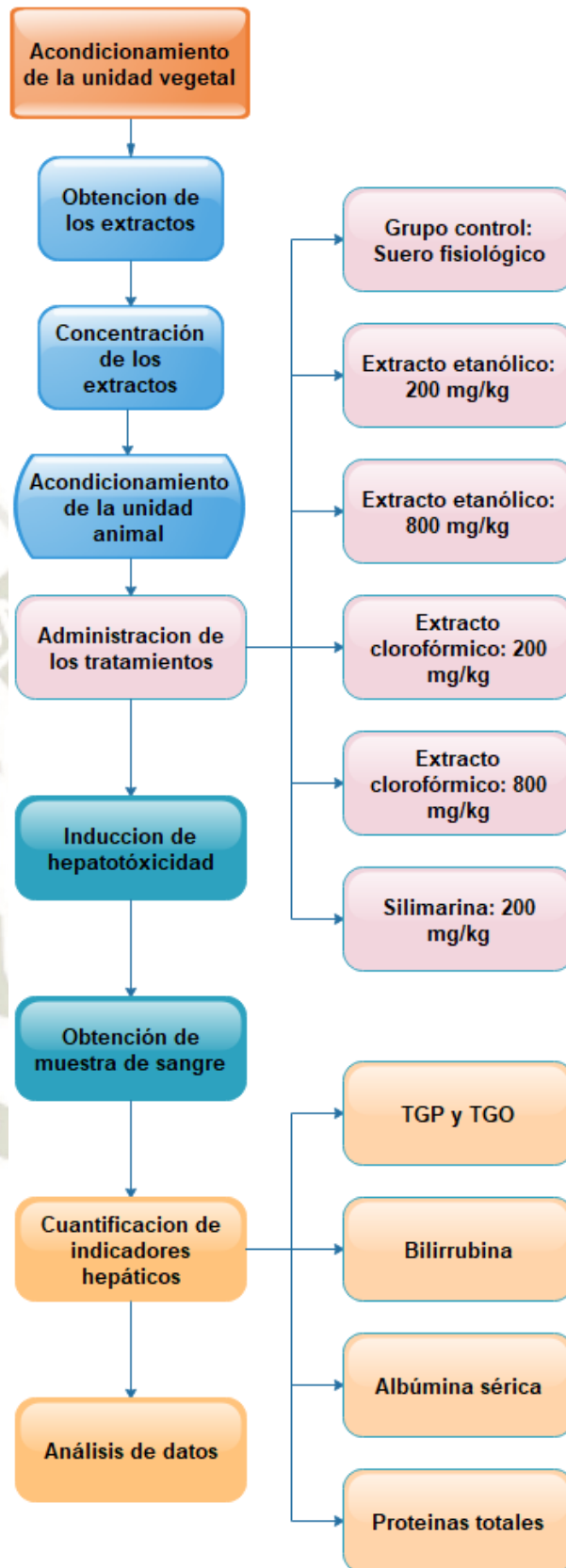


Figura N° 7: Esquema experimental

2.2.4.5 Inducción de hepatotoxicidad inducida por Paracetamol

La hepatotoxicidad será inducida por paracetamol, para ello se administrará por vía intraperitoneal una dosis de 200 mg/kg de paracetamol durante 5 días, una vez al día (28) (30) (31).

2.2.4.6 Toma de muestra sanguínea

La determinación de los parámetros bioquímicos se realizaron en muestras de sangre lo que implica la colecta de sangre del animal de experimentación, esta toma se realizó luego de la administración de los extractos y se realizaron mediante el método de Dorman, que consiste en obtener la sangre mediante punción del Angulo interno del ojo de los animales de experimentación a través de un tubo capilar de vidrio. La muestra es recibida en tubos de ensayo; se transporta con cuidado hacia la centrifuga. El dosaje de transaminasas se realiza en plasma.

2.2.4.7 Cuantificación de indicadores hepáticos

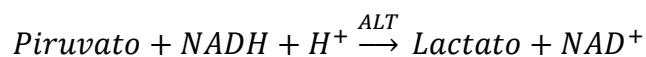
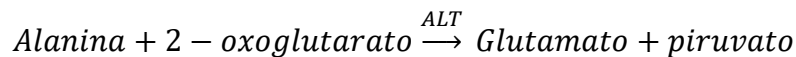
2.2.4.7.1 Determinación de TGP

Se utilizó el método colorimétrico según Reitman y Frankel para la cuantificación de la transaminasa glutámica-oxalacética (TGO) y transaminasa glutámica pirúvica (TGP) o alanina transaminasa (ALT) en plasma, optimizado de acuerdo a IFCC (Federación Internacional de Química Analítica y Medicina de Laboratorio).

Fundamento

Las transaminasas son enzimas clave en la interconversión de aminoácidos y sus cetoácidos por transferencia del grupo amino al par formado por el glutamato/oxoglutarato. La determinación de esta enzima es muy útil, por ejemplo, para enfermedades hepáticas agudas y crónicas (32). El método se fundamenta además en el acoplamiento de una segunda reacción enzimática como indicadora del proceso, la catalizada por la lactato deshidrogenasa, que transforma en piruvato producido en la primera reacción enzimática en lactato; al mismo tiempo la

reducción del piruvato va acompañada de la oxidación del NADH a NAD⁺, lo que permite seguir el transcurso de la reacción determinando la desaparición de absorbancia a 340 nm, ya que el NADH absorbe a esta longitud de onda, mientras que el NAD⁺ no (32).

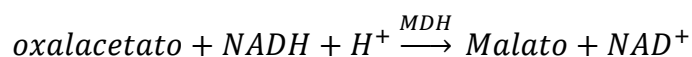
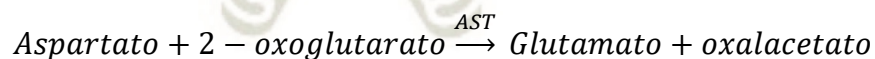


2.2.4.7.2 Determinación de TGO

Para el dosaje de la transaminasa aspartato aminotransferasa (AST) o transaminasa glutámico oxalacética (TGO) Se utilizó también el método, optimizado de acuerdo a IFCC (Federación Internacional de Química Analítica y Medicina de Laboratorio).

Fundamento

El fundamento es similar al anterior, pero por acción de la AST, se tienen como producto en vez del piruvato al oxalacetato, este último reacciona con grupos NADH, para dar como producto final malato. Ocurre también la transferencia de los grupos amino a un 2-oxoácido, generalmente el 2-oxoglutarato, lo que origina el correspondiente 2-oxoácido del aminoácido, y el grupo amino queda en la molécula de glutamato. Esta reacción es catalizada por la AST (33).



Todas las transaminasas utilizan el fosfato de piridoxal como cofactor y se diferencian en la preferencia por el aminoácido sobre el que actúan (33).

Como observamos la ALT tiene preferencia por la alanina y la AST por el aspartato.

TABLA N° 1: PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE TRANSAMINASAS

Descripción	Blanco	Muestra
Muestra	---	100 µL
Agua destilada	100 µL	---
Reactivo 1	1000 µL	1000 µL
Reactivo 2	250 µL	250 µL

Incubar 5 min a 37°C y leer la absorbancia a 546 nm (A2)

Fuente: (34)

2.2.4.7.3 Determinación de bilirrubina total

Se utilizó un test fotométrico usando 2,4-dicloroanilina (DCA).

Fundamento

En solución acidificada y en presencia de 2,4-dicloroanilina diazotizada, la bilirrubina directa forma un azocompuesto coloreado rojo.

Reactivos

- Reactivo 1: Solución amortiguadora fosfato (50 mmol/L); NaCl (150 mmol/L)
- Reactivo 2: Sal 2,4-diclorofenil-diazonio (5 mmol/L); HCl (130 mmol/L)

2.2.4.7.4 Determinación de bilirrubina total, directa e indirecta

Se utilizará el método colorimétrico según Jendrassik-Grof, que se fundamenta en la reacción de la bilirrubina con el ácido sulfanílico diazotado produciendo un pigmento rojo-violáceo (azobilirrubina) que se mide a 530 nm.

Fundamento

La bilirrubina sérica se determina mediante el acoplamiento con ácido sulfanílico diazotado, para formar azobilirrubina, que se determina mediante análisis colorimétrico. La prueba de bilirrubina directa o conjugada se lleva a cabo en un medio acuoso; el análisis de la bilirrubina indirecta o libre se efectúa en metanol o en una solución de cafeína-benzoato de sodio (35).

Reactivos

- Reactivo 1: EDTA-Na₂ (0.1 mmol/L); NaCl (150 mmol/L); ácido sulfámico (100 mmol/L)
- Reactivo 2: Sal 2,4-diclorofenil-diazonio (0.5 mmol/L); HCl (900 mmol/L), EDTA-Na₂ (0.13 mmol/L)

**TABLA N° 2: PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE BILIRRUBINA
DIRECTA E INDIRECTA**

Descripción	Blanco	Muestra
Muestra	---	50 µL
Agua destilada	50 µL	---
Reactivo 1	1000 µL	1000 µL
Reactivo 2	250 µL	250 µL

Incubar 5 min a 37°C y leer la absorbancia a 546 nm (A2)

Fuente: (34)

El cálculo para la bilirrubina Indirecta es mediante la sustracción de la bilirrubina total menos la bilirrubina directa.

2.2.4.7.5 Determinación de proteínas totales

Se utilizará el método de Biuret.

Fundamento

Se basa en la propiedad que presentan los compuestos que poseen enlaces peptídicos de reacción en medio alcalino con sales de cobre para formar un complejo, de estructura desconocida, entre el ión Cu⁺⁺ y los grupos carbonílicos e imínicos del enlace peptídico. La intensidad de color es proporcional al número de enlaces peptídicos que existan en la muestra, y por tanto a la concentración de proteínas (36).

Reactivos

- Reactivo: complejo EDTA/Cu 13 mmol/l en hidróxido de sodio 875 mmol/l y alquil aril poliéter (AAP).
- Estándar (suero patrón): solución de albúmina y globulinas de origen bovino

TABLA N° 3: PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES

Descripción	Blanco	Estándar	Muestra
Agua destilada	50 µL	---	---
Muestra	---	---	50 µL
Reactivo	3.5 ml	3.5 ml	3.5 ml

Mezclar, incubar 15 min a 37 °C, leer en espectrofotómetro a 540 nm

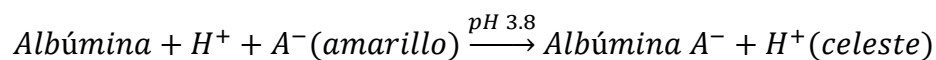
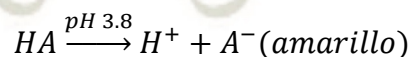
Fuente: (37)

2.2.4.7.6 Determinación de albúmina sérica

Se utilizará el método de bromo cresol.

Fundamento

El verde de bromocresol (3,3',5,5'- tetrabromo cresolfulonaftaleina [BCF]) en medio ácido se disocia y su forma aniónica se fija a la albúmina, específicamente, y produce un cambio de color, conforme la siguiente reacción (38).



Reactivos

- Reactivo: solución de 3,3',5,5'-tetrabromo cresolsulfon ftaleína (en polioxietilén lauril éter).
- Estándar (suero patrón): solución de albúmina y globulinas de origen bovino

TABLA N° 4: PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE ALBUMINA

PLASMÁTICA

Descripción	Blanco	Estándar	Muestra
Estándar	---	10 µL	---
Muestra	---	---	10 µL
Reactivo	3.5 ml	3.5 ml	3.5 ml

Mezclar, mantener 10 min entre 15 y 28 °C, leer en espectrofotómetro a 625 nm

Fuente: (37)

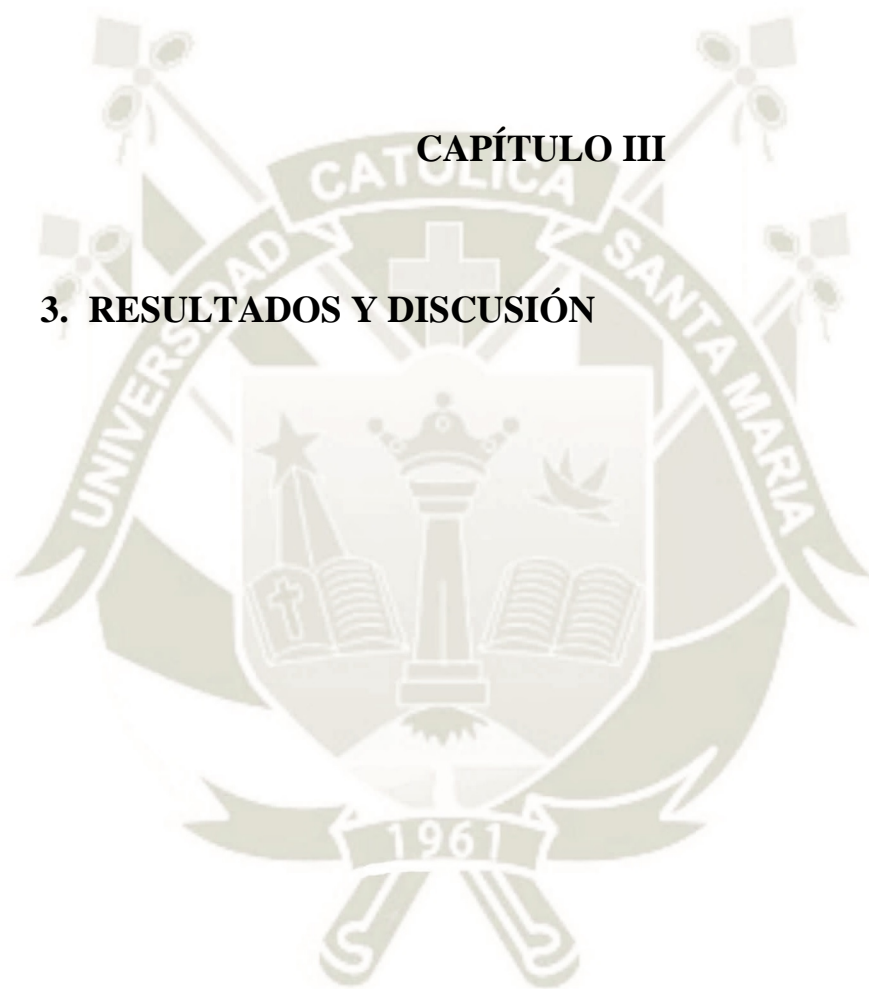
2.2.5. Análisis estadístico

La evaluación estadística fue mediante la estadística descriptiva y la inferencial, para la primera se utilizaron los estadígrafos media y desviación estándar. En el caso de la segunda Prueba de Dunnet, análisis de varianza (ANOVA) y test de Tukey.

Todos estos parámetros estadísticos se calcularon utilizando el software de análisis estadístico denominado IBM SPSS, en su versión 23.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



3.1. EXTRACCIÓN CON EQUIPO SOXHLET

La obtención de los extractos con etanol y cloroformo como disolventes, se realizó utilizando el equipo de destilación Soxhlet, para ello los especímenes de *Mimulus glabratus* (berro) fueron acondicionados o preparados para la extracción conforme se describe en el apartado metodológico de la presente tesis. Ya con las hojas trituradas se procedió con la extracción, la Tabla N° 5 contiene los resultados de los rendimientos de la droga según el disolvente mediante el método Soxhlet, el etanol como disolvente otorgó un rendimiento promedio de 14.68%, la extracción con cloroformo dio un rendimiento menor de 3.67%, es muy probable que esta diferencia de rendimientos se deba no solo a la naturaleza del disolvente sino a la naturaleza misma de la planta. Por otra parte se menciona que los datos mostrados en esta tabla provienen de tres extracciones para cada disolvente por lo que trata de datos promedio, el detalle para cada extracción se aprecia en la sección anexos de la presente tesis (anexo N° 2).

**TABLA N° 5: RENDIMIENTO DE LAS HOJAS DE BERRO SEGÚN TIPO DE DISOLVENTE
EN EQUIPO SOXHLET**

Descripción	Tipo de disolvente	
	Etanol	Cloroformo
Gramos de droga (promedio en g)	15	15
Gramos de extracto (promedio en g)	2.2	0.55
Rendimiento porcentual	14.68%	3.67%

FUENTE: Registros de investigación propios

3.2. EVALUACIÓN DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR

La recolección de todos los datos para la evaluación del efecto hepatoprotector se recogen en el anexo N° 3 de la presente investigación. Se evaluaron las transaminasas hepáticas, proteínas plasmáticas y bilirrubinas plasmáticas. Tal como se mencionó en la parte operativa en el capítulo anterior se hizo una evaluación basal o dosaje basal esto es, antes de la administración de cualquier tratamiento, este dosaje fue posterior al periodo de estandarización animal. Luego de este dosaje se administró los tratamientos durante un mes, al término del cual se hizo un ayuno de 12 horas para luego administrar paracetamol por vía IP

como sustancia hepatotóxica, esta administración fue por 5 días, luego de este periodo de tiempo se hizo un dosaje posterior al paracetamol.

TABLA N° 6: DOSIS CALCULADAS DE LOS TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES

GRUPOS	PESO (GR)	Dosis mg	Dosis ml
GC Negativo	320	0	5.0
	314	0	5.0
	337	0	5.0
	327	0	5.0
	314	0	5.0
Extracto seco Etanol Dosis Min	290	58.0	0.8
	336	67.2	0.9
	296	59.2	0.8
	280	56.0	0.8
	304	60.8	0.8
Extracto seco Etanol Dosis Max	339	271.2	3.7
	316	252.8	3.4
	312	249.6	3.4
	334	267.2	3.6
	310	248.0	3.4
Extracto seco clorofórmico Dosis Min	353	70.6	1.1
	351	70.2	1.1
	313	62.6	0.9
	337	67.4	1.0
	318	63.6	1.0
Extracto seco clorofórmico Dosis Max	327	261.6	3.9
	338	270.4	4.1
	345	276.0	4.1
	334	267.2	4.0
	320	256.0	3.8
GC Positivo (Silimarina)	329	65.8	3.3
	321	64.2	3.2
	317	63.4	3.2
	293	58.6	2.9
	314	62.8	3.1

FUENTE: Registros de investigación propios

Para la administración de los tratamientos se elaboró soluciones de los mismos, para el tratamiento de silimarina se disolvió 600 mg de silimarina en 30 mL de agua destilada, 2.2 g del extracto etanólico se disolvieron en 30 mL de agua destilada, y para el clorfórmico la disolución fue de 1g en 15 mL de agua destilada. La tabla N°6 contiene las dosis en mg calculadas según peso de cada animal, y la dosis-alícuota correspondiente a extraer de las soluciones elaboradas.

El análisis de la información que se presenta a continuación consistió en un resumen descriptivo de medias y desviaciones estándar de cada parámetro bioquímico hepático, antes (basal) y post (después) de la administración del paracetamol. También se incluye un análisis inferencial mediante una prueba “t” para comparar los datos basales y los posteriores.

Otro análisis estadístico inferencial fue el Análisis de varianza a la información de los grupos de sus mediciones basales y posteriores. Como es de suponer cada análisis de varianza implica una prueba post doc y fue un test de Tukey, esta tabla se presenta en los resultados de cada parámetro.

En cuanto a los resultados de la prueba “t” y el ANOVA se presentan solo las significancias prácticas, ello debido a la congestión de cuadros o tablas.

También resulta importante hacer énfasis que todos los análisis estadísticos inferenciales fueron realizados a un nivel de confianza del 95% equivalente a una significancia del 0.05.

3.2.1. Medición de Transaminasas

TABLA N° 7: NIVELES DE TRANSAMINASA GLUTÁMICA PIRÚVICA (UI/L) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Grupos	N	Basal	Post	Prueba “t” Sig.(<0.05)
Grupo Control	5	54.28 6.12	92.52 5.31	0.000
G. Extracto etanólico Dosis 200mg/kg	5	56.91 5.20	88.83 5.91	0.000
G. Extracto etanólico Dosis 800mg/kg	5	59.12 5.75	69.89 6.70	0.000
G. Extracto clorofórmico Dosis 200mg/kg	5	62.43 7.97	91.03 6.05	0.000
G. Extracto clorofórmico Dosis 800mg/kg	5	58.70 10.66	77.97 11.78	0.000
Grupo Silimarina Dosis 200mg/kg	5	63.73 7.53	65.54 7.33	0.000
ANOVA Sig. (< 0.05)		0.387	0.000	---

FUENTE: Registros de investigación propios

*VN: 32.2-80.9

UI/L (39)

La Tabla N° 7 muestra los promedios de niveles de transaminasa glutámica pirúvica (TGP) en ratas de laboratorio, para todos los grupos experimentales, en cuanto a la prueba “t” realizada para comparar los niveles basales de TGP con los niveles posteriores al tratamiento y administración de paracetamol (post en el cuadro) de todos los grupos se observa que, todos los grupos tienen una significancia de 0.000, valor que es inferior al nivel permitido de 0.05 lo que permite rechazar la hipótesis nula de igualdad de medias y aceptar la hipótesis que los grupos son diferentes, en conclusión los niveles de TGP basales son diferentes a los posteriores.

El ANOVA necesario para la comparación de todos los niveles basales de los grupos de tratamiento presenta una significancia de 0.387 valor que se ubica por encima del nivel permitido (Sig <0.005), concluyéndose que todos los grupos mantienen semejanzas significativas en sus niveles basales de TGP, por el contrario, en los niveles de TGP posteriores de todos los grupos la significancia es igual a

0.000, por lo que en cuanto a esta medición de TGP los grupos son estadísticamente diferentes. En esta línea de observación se aprecia en general que los promedios basales de todos los grupos son inferiores a los posteriores, en forma específica se aprecia en los valores basales que el grupo control tiene el valor más bajo con 54.28 UI/L de TGP y el valor más alto corresponde al grupo que recibió como tratamiento silimarina; para la medición posterior el más bajo corresponde al grupo silimarina con 65.54 UI/L y el más alto al grupo control con 92.52 UI/L.

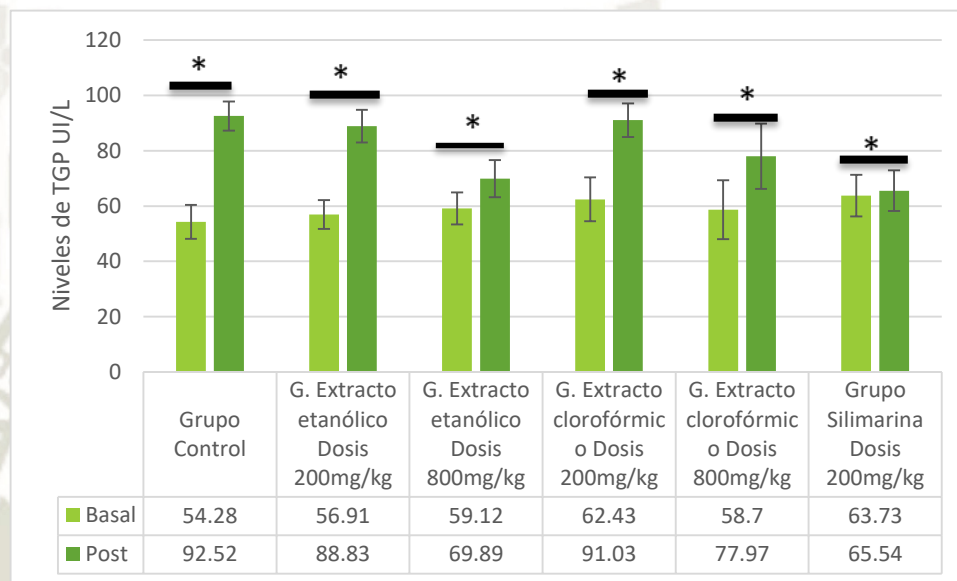


Figura N° 8: Comparación de los niveles de transaminasa glutámica pirúvica (UI/L) en los distintos grupos experimentales. Datos expresados como promedio ($p < 0.05$)

TABLA N° 8: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES BASALES DE TRANSAMINASA GLUTÁMICA PIRÚVICA (UI/L)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
G. Control	5	54.2840
G. Ext. Etanólico dosis 200mg/kg	5	56.9100
G. Ext. Clorofórmico dosis 800mg/kg	5	58.7000
G. Ext. Etanólico dosis 800mg/kg	5	59.1220
G. Ext. Clorofórmico dosis 200mg/kg	5	62.4340
G. Silimarina dosis 200mg/kg	5	63.7300
Sig.		0,366

FUENTE: Registros de investigación propios

Los resultados del Test de Tukey expuestos en la tabla N° 8 indican a un nivel de significancia de 0.05 que no existen diferencias significativas de los niveles basales de transaminasa glutámica pirúvica (TGP) medidos en UI/L en los diferentes grupos tratamiento, por lo que todos los animales de los grupos presentan valores significativamente similares antes de iniciar con la administración de los tratamientos.

**TABLA N° 9: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES POST DE TRANSAMINASA
GLUTÁMICA PIRÚVICA (UI/L)**

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
G. Silimarina dosis 200mg/kg	5	65.5400	
G. Ext. Etanólico dosis 800mg/kg	5	69.8900	
G. Ext. Clorofórmico dosis 800mg/kg	5	77.9740	77.9740
G. Ext. Etanólico dosis 200mg/kg	5		88.8340
G. Ext. Clorofórmico dosis 200mg/kg	5		91.0300
G. Control	5		92.5180
Sig.		0,130	0,053

FUENTE: Registros de investigación propios

Los resultados del Test de Tukey expuestos en la tabla N° 9 indican a un nivel de significancia de 0.05 que existen diferencias significativas de los niveles postratamiento de transaminasa glutámica pirúvica (TGP) medidos en UI/L posterior a la administración de los tratamientos ya que el grupo tratado con silimarina muestra niveles más bajos de TGP con 65.54 UI/L siendo este promedio estadísticamente similar al nivel de TGP promedio de 69.89 UI/L correspondiente al grupo tratado con extracto etanólico en dosis mayor, con relación al resto de grupos no tendrían eficacia ya que son estadísticamente similares al grupo control.

TABLA N° 10: NIVELES DE TRANSAMINASA GLUTÁMICA OXALACÉTICA (UI/L) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Grupos	N	Basal	Post	Prueba “t” Sig.(<0.05)
Grupo Control	5	204.88 6.24	254.67 5.94	0.000
G. Extracto etanólico Dosis 200mg/kg	5	211.68 6.79	243.79 6.87	0.000
G. Extracto etanólico Dosis 800mg/kg	5	214.19 7.93	220.24 8.04	0.000
G. Extracto clorofórmico Dosis 200mg/kg	5	206.58 8.92	249.23 10.74	0.000
G. Extracto clorofórmico Dosis 800mg/kg	5	213.10 9.59	240.07 9.73	0.000
Grupo Silimarina dosis 200mg/kg	5	209.66 12.50	211.49 12.66	0.000
ANOVA Sig. (< 0.05)		0.524	0.000	---

FUENTE: Registros de investigación propios

***VN: 88.9-215.8 UI/L (39)**

La Tabla N° 10 muestra los promedios de niveles de transaminasa glutámica oxalacética (TGO) en ratas de laboratorio para todos los grupos experimentales, la prueba “t” realizada para comparar los niveles basales de TGO con los niveles posteriores al tratamiento y administración de paracetamol (post en el cuadro) de todos los grupos se observa que, todos los grupos tienen una significancia de 0.000, valor que es inferior al nivel permitido de 0.05 lo que permite rechazar la hipótesis nula de igualdad de medias y aceptar la hipótesis que los grupos son diferentes, en conclusión los niveles de TGO basales son diferentes a los posteriores..

El ANOVA necesario para la comparación de todos los niveles basales de los grupos de tratamiento presenta una significancia de 0.524 valor que se ubica por encima del nivel permitido (Sig <0.005), concluyéndose que todos los grupos mantienen semejanzas significativas en sus niveles basales de TGO, por el contrario, en los niveles de TGO posteriores de todos los grupos la significancia es igual a 0.000,

por lo que en cuanto a esta medición de TGO los grupos son estadísticamente diferentes. En esta línea de observación se aprecia en general que los promedios basales de todos los grupos son inferiores a los posteriores, en forma específica se aprecia en los valores basales que el grupo control tiene el valor más bajo con 204.89 UI/L de TGP y el valor más alto corresponde al grupo que recibió como tratamiento extracto etanólico a dosis mayor con 214.19 UI/L; para la medición posterior el más bajo corresponde al grupo silimarina con 211.49 UI/L y el más alto al grupo control con 254.67 UI/L.

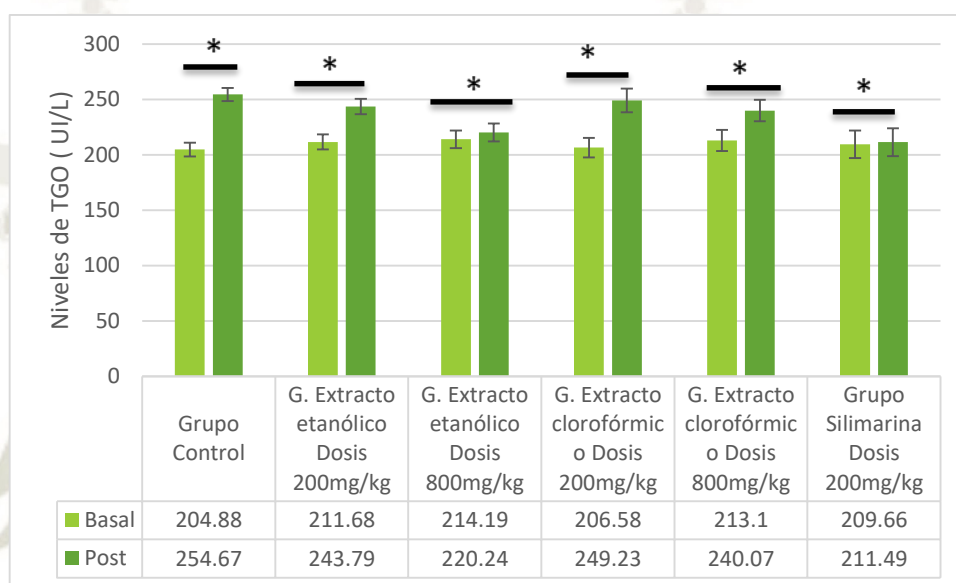


Figura N° 9: Comparación de los niveles de transaminasa glutámica oxalacética (UI/L) en los distintos grupos experimentales. Datos expresados como promedio ($p < 0.05$)

TABLA N° 11: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES BASALES DE TRANSAMINASA GLUTÁMICA OXALACÉTICA (UI/L)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
G. Control	5	204.8860
G. Silimarina dosis 200mg/kg	5	209.6620
G. Ext. Clorofórmico dosis 200mg/kg	5	206.5780
G. Ext. Etanólico dosis 200mg/kg	5	211.6780
G. Ext. Clorofórmico dosis 800mg/kg	5	213.1040
G. Ext. Etanólico dosis 800mg/kg	5	214.1860
Sig.		0,575

FUENTE: Registros de investigación propios

Los resultados del Test de Tukey expuestos en la tabla N° 11 indican a un nivel de significancia de 0.05 que no existen diferencias significativas de los niveles basales de transaminasa glutámica pirúvica (TGO) medidos en UI/L en los diferentes grupos tratamiento, por lo que todos los animales de los grupos presentan valores significativamente similares antes de iniciar con la administración de los tratamientos.

**TABLA N° 12: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES POST DE TRANSAMINASA
GLUTÁMICA OXALACÉTICA (UI/L)**

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
G. Silimarina dosis 200mg/kg	5	211.4940	
G. Ext. Etanólico dosis 800mg/kg	5	220.2360	
G. Ext. Clorofórmico dosis 800mg/kg	5		240.0740
G. Ext. Etanólico dosis 200mg/kg	5		243.7940
G. Ext. Clorofórmico dosis 200mg/kg	5		249.2320
G. Control	5		254.6740
Sig.		0,674	0,168

FUENTE: Registros de investigación propios

Los resultados del Test de Tukey expuestos en la tabla N° 12 indican a un nivel de significancia de 0.05 que existen diferencias significativas de los niveles postratamiento de transaminasa glutámica oxalacética (TGO) medidos en UI/L posterior a la administración de los tratamientos ya que el grupo tratado con silimarina muestra niveles más bajos de TGO con 211.49 UI/L siendo este promedio estadísticamente similar al nivel de TGO promedio de 220.23 UI/L correspondiente al grupo tratado con extracto etanólico en dosis mayor, con relación al resto de grupos no tendrían eficacia ya que son estadísticamente similares al grupo control.

Se encontró en la *Curcuma longa* L. respuesta hepatoprotectora significativa contra la lesión hepática en un extracto acuoso liofilizado frente a TGO en un estudio hecho por Canelo Saldaña Piero Paolo y Mendoza Gardini Yrani kateri. (40)

3.2.2. Medición de Proteínas plasmáticas

La Tabla N° 13 muestra los promedios de niveles de proteínas plasmáticas totales en ratas de laboratorio para todos los grupos experimentales, según estos resultados observamos que el valor más bajo de proteína basal corresponde al grupo tratado con extracto etanólico dosis mayor con 7.00g/dL, el resto de grupos tiene valores cercanos, en cuanto a las proteínas posterior al tratamiento y la administración de paracetamol el nivel más bajo corresponde al grupo extracto etanólico dosis mayor con 6.83 g/dL. La prueba “t” para comparar el antes y el después toma valores de significancia mayores a 0.05, por lo que todos los grupos no tienen diferencias significativas de proteínas totales en ambos momentos de medición.

TABLA N° 13: NIVELES DE PROTEÍNAS TOTALES (G/DL) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Grupos	N	Basal	Post	Prueba “t” Sig.(<0.05)
Grupo Control	5	7.35 0.50	7.01 0.54	0.246
G. Extracto etanólico Dosis 200mg/kg	5	7.07 0.53	7.18 0.48	0.780
G. Extracto etanólico Dosis 800mg/kg	5	7.00 0.32	6.83 0.32	0.238
G. Extracto clorofórmico Dosis 200mg/kg	5	7.57 0.63	7.25 0.52	0.131
G. Extracto clorofórmico Dosis 200mg/kg	5	7.66 0.60	7.35 0.34	0.422
Grupo Silimarina dosis 200mg/kg	5	7.06 0.40	7.59 0.63	0.208
ANOVA Sig. (< 0.05)		0.218	0.224	---

FUENTE: Registros de investigación propios

***VN: 4.5-8.4 g/dL (41)**

La prueba “t” fue para comparar el antes y después (basal y post respectivamente) de cada grupo, sin embargo, al igual que en las transaminasas el ANOVA permite comparar el nivel basal o el nivel post tratamiento entre los seis

grupos tratados. En cuanto a los niveles basales la significancia es de 0.218 valor que se ubica por encima del nivel permitido (Sig <0.05), concluyéndose que todos los grupos mantienen semejanzas significativas en sus niveles basales de proteínas plasmáticas totales, similar resultado se observa con la etapa posterior con una significancia de 0.224 por lo que en este momento tampoco habría diferencias significativas entre los diferentes grupos experimentales en cuanto proteínas plasmáticas se refiere.

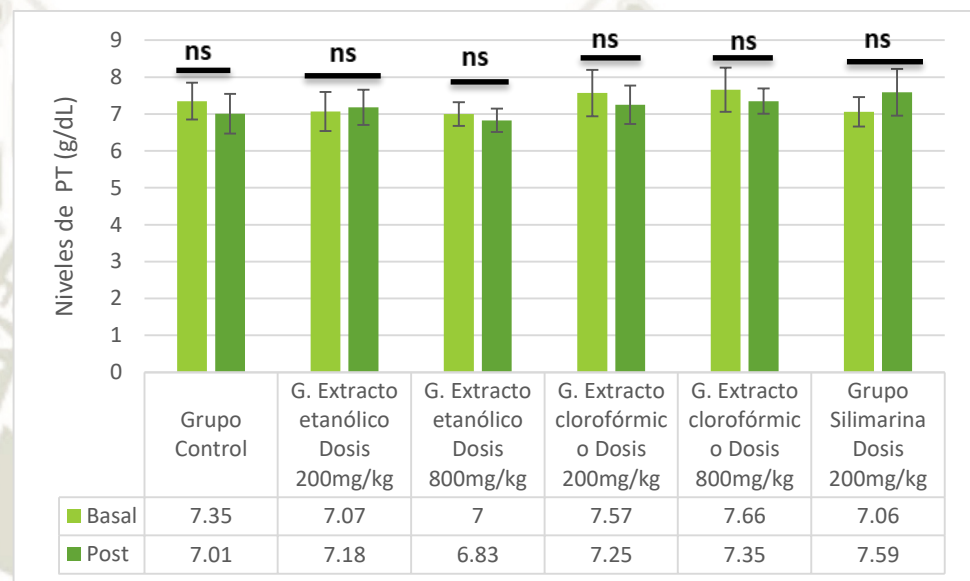


Figura N° 10: Comparación de los niveles de proteínas totales (g/dL) obtenidos en los distintos grupos experimentales. Datos expresados como promedio (p>0.05)

TABLA N° 14: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES BASALES DE PROTEÍNAS TOTALES

(G/DL)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
G. Ext. Etanólico dosis 800mg/kg	5	7.0040
G. Silimarina	5	7.0620
G. Ext. Etanólico dosis 200mg/kg	5	7.0720
G. Control	5	7.3460
G. Ext. Clorofórmico dosis 200mg/kg	5	7.5660
G. Ext. Clorofórmico dosis 800mg/kg	5	7.6600
Sig.		0,353

FUENTE: Registros de investigación propios

Los resultados del Test de Tukey (Tabla N° 14) corroboran los resultados del ANOVA anteriores debido a que a un nivel de significancia de 0.05 no existen diferencias significativas entre los niveles basales de proteínas plasmáticas entre todos los grupos tratamiento, por tanto, todos los animales de los grupos presentan valores significativamente similares antes de iniciar con la administración de los tratamientos.

TABLA N° 15: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES POST DE PROTEÍNAS TOTALES

(G/DL)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
G. Ext. Etanólico dosis 800mg/kg	5	6.8260
G. Control	5	7.0080
G. Ext. Etanólico dosis 200mg/kg	5	7.1820
G. Ext. Clorofórmico dosis 200mg/kg	5	7.2480
G. Ext. Clorofórmico dosis 800mg/kg	5	7.3500
G. Silimarina dosis 200mg/kg	5	7.5940
Sig.		0,165

FUENTE: Registros de investigación propios

Los resultados del Test de Tukey (Tabla N° 15) corroboran los resultados del ANOVA anteriores debido a que a un nivel de significancia de 0.05 tampoco existen diferencias significativas entre los niveles posteriores a los tratamientos experimentales de proteínas plasmáticas entre todos los grupos tratamiento.

Oliver Alberto Rey Vidal en su trabajo de la *Ananas comusus* (piña) encontró diferencias significativas al tratar ratas con toxicidad hepática frente a proteínas totales al parecer la planta presenta actividad hepatoprotectora. (42)

TABLA N° 16: NIVELES DE ALBÚMINA PLASMÁTICA (G/DL) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Grupos	N	Basal	Post	Prueba “t” Sig.(<0.05)
Grupo Control	5	3.66 0.33	3.56 0.36	0.629
G. Extracto etanólico Dosis 200mg/kg	5	3.96 0.26	3.67 0.29	0.181
G. Extracto etanólico Dosis 800mg/kg	5	3.86 0.28	3.84 0.41	0.958
G. Extracto clorofórmico Dosis 200mg/kg	5	3.59 0.21	3.68 0.28	0.424
G. Extracto clorofórmico Dosis 800mg/kg	5	3.93 0.22	3.97 0.22	0.851
Grupo Silimarina dosis 200mg/kg	5	3.67 0.30	3.90 0.20	0.307
ANOVA Sig. (< 0.05)		0.171	0.283	---

FUENTE: Registros de investigación propios

***VN: 2.9-5.9 g/dL (41)**

La Tabla N° 16 muestra los promedios de niveles de albúminas plasmáticas en ratas de laboratorio para todos los grupos experimentales, según estos resultados observamos que el valor más bajo de albúmina basal corresponde al grupo extracto etanólico dosis mayor con 3.59 g/dL, el resto de grupos tiene valores cercanos, en cuanto a las albúminas posterior a los tratamientos y la administración de paracetamol el nivel más bajo corresponde al grupo control con 3.56 g/dL. La

prueba “t” para comparar el antes y el después toma valores de significancia mayores a 0.05, por lo que todos los grupos no tienen diferencias significativas de albúminas en ambos momentos de medición.

El análisis de varianza o ANOVA realizado para los niveles de albúmina basal, presentan una Sig= 0.171 al ser este valor mayor al nivel aceptado se asume que no existen diferencias entre los valores de albúmina basal de los distintos grupos de tratamiento; por otra parte el ANOVA realizado a las mediciones post tratamiento de la albumina plasmática también presenta una significancia mayor al nivel aceptado ($0.283 > 0.05$), según ello no habría diferencias significativas entre los niveles de albumina entre los diferentes grupos de tratamiento experimentales.

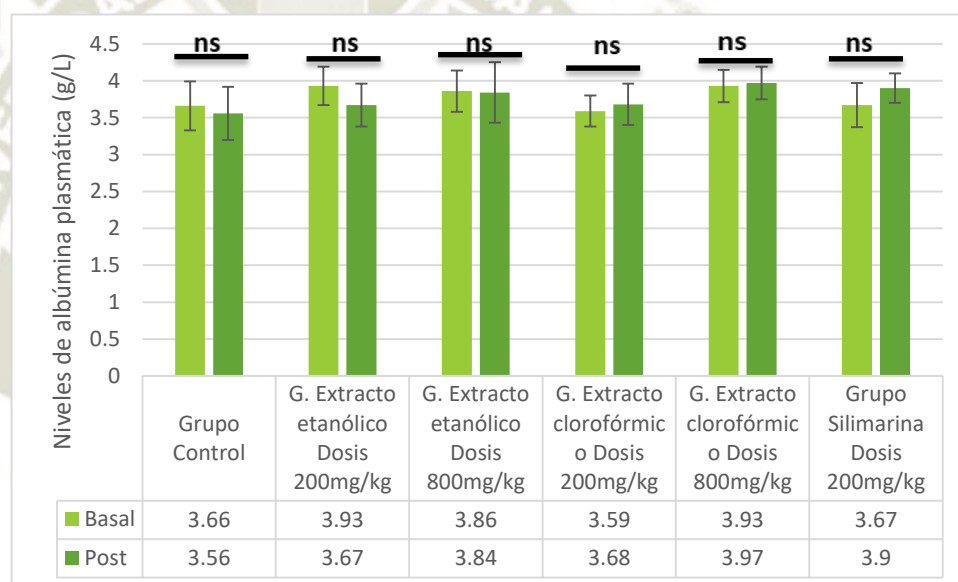


Figura N° 11: Comparación de los niveles de albúmina plasmática obtenidos en los distintos grupos experimentales. Datos expresados como promedio ($p > 0.05$)

**TABLA N° 17: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES BASALES DE ALBÚMINA
PLASMÁTICA (G/DL)**

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
G. Ext. Clorofórmico dosis 200mg/kg	5	3.5920
G. Control	5	3.6640
G. Silimarina dosis 200mg/kg	5	3.6700
G. Ext. Etanólico dosis 800mg/kg	5	3.8560
G. Ext. Clorofórmico dosis 800mg/kg	5	3.9320
G. Ext. Etanólico dosis 200mg/kg	5	3.9640
Sig.		0,281

FUENTE: Registros de investigación propios

Los resultados del Test de Tukey (Tabla N° 17) corroboran los resultados del ANOVA anteriores debido a que a un nivel de significancia de 0.05 no existen diferencias significativas entre los niveles basales de albuminas plasmáticas entre todos los grupos tratamiento, por tanto, todos los animales de los grupos presentan valores significativamente similares antes de iniciar con la administración de los tratamientos.

**TABLA N° 18: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES POST DE ALBÚMINA PLASMÁTICA
(G/DL)**

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
G. Control	5	3.5600
G. Ext. Etanólico dosis menor	5	3.6740
G. Ext. Clorofórmico dosis menor	5	3.6760
G. Ext. Etanólico dosis mayor	5	3.8440
G. Silimarina	5	3.9040
G. Ext. Clorofórmico dosis mayor	5	3.9660
Sig.		0,317

FUENTE: Registros de investigación propios

Los resultados del Test de Tukey (Tabla N° 18) corroboran los resultados del ANOVA anteriores debido a que a un nivel de significancia de 0.05 tampoco existen diferencias significativas entre los niveles posteriores a los tratamientos experimentales de albúminas plasmáticas entre todos los grupos tratamiento.

TABLA N° 19: NIVELES DE GLOBULINA PLASMÁTICA (G/DL) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Grupos	N	Basal	Post	Prueba “t” Sig.(<0.05)
Grupo Control	5	3.68 0.69	3.45 0.79	0.610
G. Extracto etanólico Dosis 200mg/kg	5	3.12 0.39	3.51 0.60	0.265
G. Extracto etanólico Dosis 800mg/kg	5	3.15 0.48	2.98 0.43	0.422
G. Extracto clorofórmico Dosis 200mg/kg	5	3.97 0.73	3.57 0.72	0.054
G. Extracto clorofórmico Dosis 800mg/kg	5	3.73 0.72	3.38 0.21	0.349
Grupo Silimarina dosis 200mg/kg	5	3.39 0.43	3.69 0.49	0.360
ANOVA Sig. (< 0.05)		0.167	0.499	---

FUENTE: Registros de investigación propios

La Tabla N° 19 muestra los promedios de niveles de globulinas plasmáticas en ratas de laboratorio para todos los grupos experimentales, según estos resultados observamos que el valor más bajo de globulina basal corresponde al grupo tratado con extracto etanólico dosis menor con 3.11 g/dL, el resto de grupos tiene valores cercanos, en cuanto a las globulinas posterior a los tratamientos y la administración de paracetamol el nivel más bajo corresponde al grupo tratado con extracto etanólico dosis mayor con 2.98 g/dL. La prueba “t” para comparar el antes y el después toma valores de significancia mayores a 0.05, por lo que todos los grupos no tienen diferencias significativas de globulinas en ambos momentos de medición.

El análisis de varianza o ANOVA realizado para los niveles de globulina basal, presentan una Sig= 0.167 al ser este valor mayor al nivel aceptado se asume

que no existen diferencias entre los valores de albúmina basal de los distintos grupos de tratamiento; por otra parte el ANOVA realizado a las mediciones post tratamiento de la globulina plasmática también presenta una significancia mayor al nivel aceptado ($0.499 > 0.05$), según ello no habría diferencias significativas entre los niveles de albumina entre los diferentes grupos de tratamiento experimentales

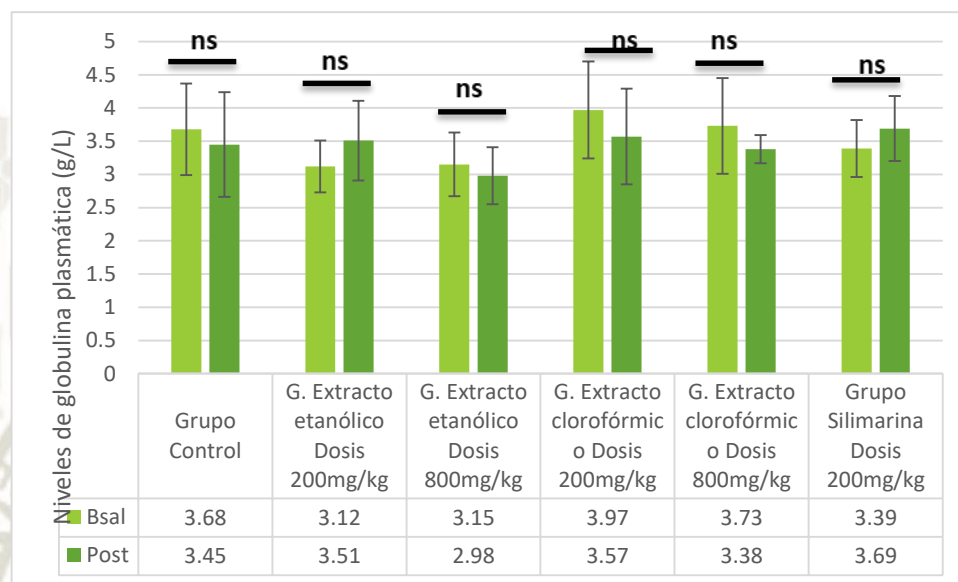


Figura N° 12: Comparación de los niveles de globulina plasmática obtenidos en los distintos grupos experimentales. Datos expresados como promedio ($p > 0.05$)

TABLA N° 20: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES BASALES DE GLOBULINA PLASMÁTICA (G/DL)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
G. Ext. Etanólico dosis 200mg/kg	5	3.1080
G. Ext. Etanólico dosis 800mg/kg	5	3.1480
G. Silimarina dosis 200mg/kg	5	3.3920
G. Control	5	3.6820
G. Ext. Clorofórmico dosis 800mg/kg	5	3.7280
G. Ext. Clorofórmico dosis 200mg/kg	5	3.9740
Sig.		0,223

FUENTE: Registros de investigación propios

Del mismo modo que con la albumina plasmática los resultados del Test de Tukey (Tabla N° 20) corroboran los resultados del ANOVA anteriores debido a que a un nivel de significancia de 0.05 no existen diferencias significativas entre los niveles basales de globulinas plasmáticas entre todos los grupos tratamiento, por tanto, todos los animales de los grupos presentan valores significativamente similares antes de iniciar con la administración de los tratamientos.

TABLA N° 21 TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES POST DE GLOBULINA PLASMÁTICA
(G/DL)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
G. Ext. Etanólico dosis 800mg/kg	5	2.9820
G. Ext. Clorofórmico dosis 800mg/	5	3.3840
G. Control	5	3.4480
G. Ext. Etanólico dosis 200mg/kg	5	3.5080
G. Ext. Clorofórmico dosis 200mg/kg	5	3.5720
G. Silimarina dosis 200mg/kg	5	3.6900
Sig.		0,400

FUENTE: Registros de investigación propios

Los resultados del Test de Tukey (Tabla N° 21) corroboran los resultados del ANOVA anteriores debido a que a un nivel de significancia de 0.05 tampoco existen diferencias significativas entre los niveles posteriores a los tratamientos experimentales de globulinas plasmáticas entre todos los grupos tratamiento.

3.2.3. Medición de Bilirrubinas

TABLA N° 22: NIVELES DE BILIRRUBINA TOTAL (MG/DL) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Grupos	N	Basal	Post	Prueba “t” Sig.(<0.05)
Grupo Control	5	0.37 0.05	2.42 0.26	0.000
G. Extracto etanólico Dosis 200mg/kg	5	0.38 0.05	2.56 0.21	0.000
G. Extracto etanólico Dosis 800mg/kg	5	0.39 0.04	0.98 0.08	0.000
G. Extracto clorofórmico Dosis 200mg/kg	5	0.39 0.05	2.47 0.38	0.000
G. Extracto clorofórmico Dosis 800mg/kg	5	0.40 0.04	1.45 0.13	0.000
Grupo Silimarina dosis 200mg/kg	5	0.37 0.03	0.50 0.04	0.000
ANOVA Sig. (< 0.05)		0.838	0.000	---

FUENTE: Registros de investigación propios

***VN: 0.0-0.64 mg/dL (41)**

La Tabla N° 22 muestra los promedios de bilirrubina total de las ratas de laboratorio para todos los grupos experimentales, según los resultados expuestos el valor más bajo de bilirrubina total basal fue para el grupo control con 0.37 mg/dL, para la medición post tratamiento el valor más bajo de bilirrubina total fue para el grupo que recibió silimarina por 30 días con 0.50 mg/dL.

La comparación de los valores de bilirrubina total para cada grupo de tratamiento entre sus valores basales y los valores post tratamiento mediante la prueba “t”, a significancia= 0.05, presenta un valor de 0.000 para todos los grupos, al ser este valor inferior al permitido, se asume la diferencia de medias, de lo que se deduce que los valores de bilirrubina total presentan diferencias significativas entre el basal y el post para todos los grupos de tratamiento. En esta tabla también se observa los resultados del ANOVA, la significancia para la comparación de todos los grupos en su medición basal es de 0.838 al ser un valor superior al permitido de 0.05,

concluimos que no hay diferencias significativas entre los grupos respecto a su valor de bilirrubina total basal. La significancia para la medición posterior es de 0.000, concluimos que entre los grupos de tratamiento existen diferencias significativas con relación a la bilirrubina total.

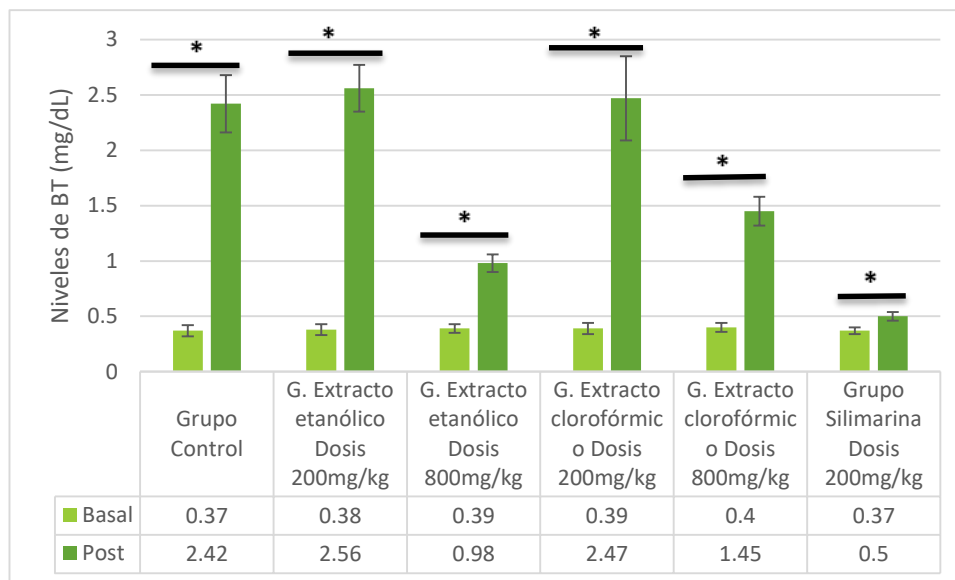


Figura N° 13: Comparación de los niveles de bilirrubina total obtenidos en los distintos grupos experimentales. Datos expresados como promedio ($p < 0.05$)

TABLA N° 23: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES BASALES DE BILIRRUBINA TOTAL

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
G. Control	5	0.3660
G. Silimarina dosis 200mg/kg	5	0.3680
G. Ext. Etanólico dosis 200mg/kg	5	0.3800
G. Ext. Clorofórmico dosis 200mg/kg	5	0.3880
G. Ext. Etanólico dosis 800mg/kg	5	0.3920
G. Ext. Clorofórmico dosis 800mg/kg	5	0.3960
Sig.		0,884

FUENTE: Registros de investigación propios

El test de Tukey (resultados Tabla N° 23) muestra la semejanza entre todos los grupos experimentales en cuanto a la bilirrubina total, debido a que todos conforman un subconjunto homogéneo, concluyéndose que todos los animales de experimentación tienen un bilirrubina basal o inicial similar.

TABLA N° 24: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES POST DE BILIRRUBINA TOTAL
(MG/DL)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
G. Silimarina dosis 200mg/kg	5	0.4960			
G. Ext. Etanólico dosis 800mg/kg	5		0.9760		
G. Ext. Clorofórmico dosis 800mg/kg	5			1.4540	
G. Control	5				2.4280
G. Ext. Clorofórmico dosis 200mg/kg	5				2.4680
G. Ext. Etanólico dosis 200mg/kg	5				2.5600
Sig.		1,000	1,000	1,000	0,927

FUENTE: Registros de investigación propios

El test de Tukey (resultados Tabla N° 24) muestra la existencia de cuatro subconjuntos homogéneos que difieren entre sí, siendo el grupo tratado con silimarina el que presenta menor valor de bilirrubina total posterior al tratamiento constituyendo el grupo más eficaz, seguido del grupo tratado con el extracto etanólico a una dosis mayor, con una eficacia debajo del grupo silimarina y mayor que el grupo tratado con extracto clorofórmico a dosis mayor, precisamente este último grupo presenta una eficacia menor que se distingue de los grupos mencionados, y del resto de grupos experimentales que constituyen el subconjunto 4 los que no tendrían eficacia ya que este subconjunto incluye al grupo control.

En el caso de Sánchez Torres Carlos Alberto y Sotomayor Rios Guillermo Carlos hallaron efectos significativos al tratar ratas con intoxicación hepática y administrando el zumo de fruta de la *Opuntia ficus indica* (tuna) se vio una disminución de la bilirrubina total. (34)

**TABLA N° 25: NIVELES DE BILIRRUBINA DIRECTA (MG/DL) EN ANIMALES DE
EXPERIMENTACIÓN**

Grupos	N	Basal	Post	Prueba “t” Sig.(<0.05)
Grupo Control	5	0.11 0.02	1.12 0.26	0.001
G. Extracto etanólico Dosis 200mg/kg	5	0.12 0.02	1.15 0.27	0.001
G. Extracto etanólico Dosis 800mg/kg	5	0.09 0.02	0.40 0.09	0.002
G. Extracto clorofórmico Dosis 200mg/kg	5	0.10 0.02	1.18 0.09	0.000
G. Extracto clorofórmico Dosis 800mg/kg	5	0.11 0.02	0.62 0.10	0.000
Grupo Silimarina dosis 200mg/kg	5	0.10 0.02	0.17 0.03	0.000
ANOVA Sig. (< 0.05)		0.380	0.000	---

FUENTE: Registros de investigación propios

La Tabla N° 25 muestra los promedios de bilirrubina directa de las ratas de laboratorio para todos los grupos experimentales, según los resultados expuestos el valor más bajo de bilirrubina directa basal fue para el grupo que recibió como tratamiento silimarina con 0.10 mg/dL; para la medición post tratamiento el valor más bajo de bilirrubina directa fue también para el grupo que recibió silimarina por 30 días con 0.17 mg/dL.

La comparación de los valores de bilirrubina directa para cada grupo de tratamiento entre sus valores basales y los valores post tratamiento mediante la prueba “t”, a significancia= 0.05, presenta un valor entre 0.000 y 0.001 para todos los grupos, al ser estos valores inferiores al permitido, se asume la diferencia de medias, de lo que se deduce que los valores de bilirrubina directa presentan diferencias significativas entre el basal y el post para todos los grupos de tratamiento. En esta tabla también se observa los resultados del ANOVA, la significancia para la comparación de todos los grupos en su medición basal es de 0.380 al ser un valor superior al permitido de 0.05, concluimos que no hay diferencias significativas entre

los grupos respecto a su valor de bilirrubina directa basal. La significancia para la medición posterior es de 0.000, concluimos que entre los grupos de tratamiento existen diferencias significativas con relación a la bilirrubina directa.

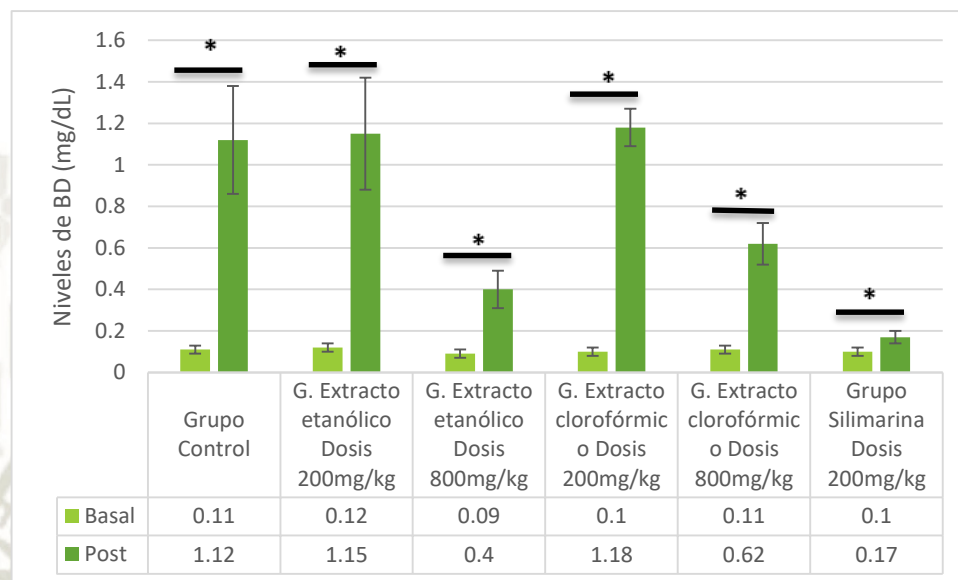


Figura N° 14: Comparación de los niveles de bilirrubina directa obtenidos en los distintos grupos experimentales. Datos expresados como promedio ($p < 0.05$)

TABLA N° 26: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES BASALES DE BILIRRUBINA DIRECTA (MG/DL)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
G. Ext. Etanólico dosis 800mg/kg	5	0.0880
G. Silimarina dosis 200mg/kg	5	0.1000
G. Ext. Clorofórmico dosis 200mg/kg	5	0.1040
G. Control	5	0.1060
G. Ext. Clorofórmico dosis 800mg/kg	5	0.1100
G. Ext. Etanólico dosis 200mg/kg	5	0.1160
Sig.		0,280

FUENTE: Registros de investigación propios

El test de Tukey (resultados Tabla N° 26) muestra la semejanza entre todos los grupos experimentales en cuanto a la bilirrubina directa, debido a que todos conforman un subconjunto homogéneo, concluyéndose que todos los animales de experimentación tienen una bilirrubina directa basal o inicial similar.

TABLA N° 27: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES POST DE BILIRRUBINA DIRECTA
(MG/DL)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
G. Silimarina dosis 200mg/kg	5	0.1740		
G. Ext. Etanólico dosis 800mg/kg	5	0.4020	0.4020	
G. Ext. Clorofórmico dosis 800mg/kg	5		0.6200	
G. Control	5			1.1240
G. Ext. Etanólico dosis 200mg/kg	5			1.1460
G. Ext. Clorofórmico dosis 200mg/kg	5			1.1840
Sig.		0,303	0,349	0,993

FUENTE: Registros de investigación propios

El test de Tukey (resultados Tabla N° 27) muestra la existencia de tres subconjuntos homogéneos que difieren entre sí, siendo el grupo tratado con silimarina y el grupo tratado con extracto etanólico dosis mayor los que presentan valores menores de bilirrubina directa, pero en este último grupo su eficacia no es bien clara porque también mantiene similitud con el grupo tratado con extracto clorofórmico dosis mayor que se ubica en el subconjunto 2, el resto de grupos experimentales que constituyen el subconjunto 3 los que no tendrían eficacia ya que este subconjunto incluye al grupo control.

TABLA N° 28: NIVELES DE BILIRRUBINA INDIRECTA (MG/DL) EN ANIMALES DE

EXPERIMENTACIÓN

Grupos	N	Basal	Post	Prueba “t” Sig.(<0.05)
Grupo Control	5	0.26 0.06	1.30 0.48	0.006
G. Extracto etanólico Dosis 200mg/kg	5	0.26 0.05	1.41 0.27	0.000
G. Extracto etanólico Dosis 800mg/kg	5	0.30 0.04	0.57 0.09	0.003
G. Extracto clorofórmico Dosis 200mg/kg	5	0.28 0.04	1.28 0.37	0.003
G. Extracto clorofórmico Dosis 800mg/kg	5	0.29 0.05	0.83 0.09	0.000
Grupo Silimarina dosis 200mg/kg	5	0.27 0.03	0.32 0.03	0.007
ANOVA Sig. (< 0.05)		0.689	0.000	---

FUENTE: Registros de investigación propios

La Tabla N° 28 muestra los promedios de bilirrubina indirecta de las ratas de laboratorio para todos los grupos experimentales, según los resultados expuestos el valor más bajo de bilirrubina indirecta basal fue para el grupo control con 0.26 mg/dL; para la medición post tratamiento el valor más bajo de bilirrubina indirecta fue para el grupo que recibió silimarina por 30 días con 0.32 mg/dL.

La comparación de los valores de directa total para cada grupo de tratamiento entre sus valores basales y los valores post tratamiento mediante la prueba “t”, a significancia= 0.05, presenta un valor entre 0.000 y 0.007 para todos los grupos, al ser estos valores inferiores al permitido, se asume la diferencia de medias, de lo que se deduce que los valores de bilirrubina indirecta presentan diferencias significativas entre el basal y el post para todos los grupos de tratamiento. En esta tabla también se observa los resultados del ANOVA, la significancia para la comparación de todos los grupos en su medición basal es de 0.689 al ser un valor superior al permitido de 0.05, concluimos que no hay diferencias significativas entre los grupos respecto a su valor

de bilirrubina indirecta basal. La significancia para la medición posterior es de 0.000, concluimos que entre los grupos de tratamiento existen diferencias significativas con relación a la bilirrubina indirecta.

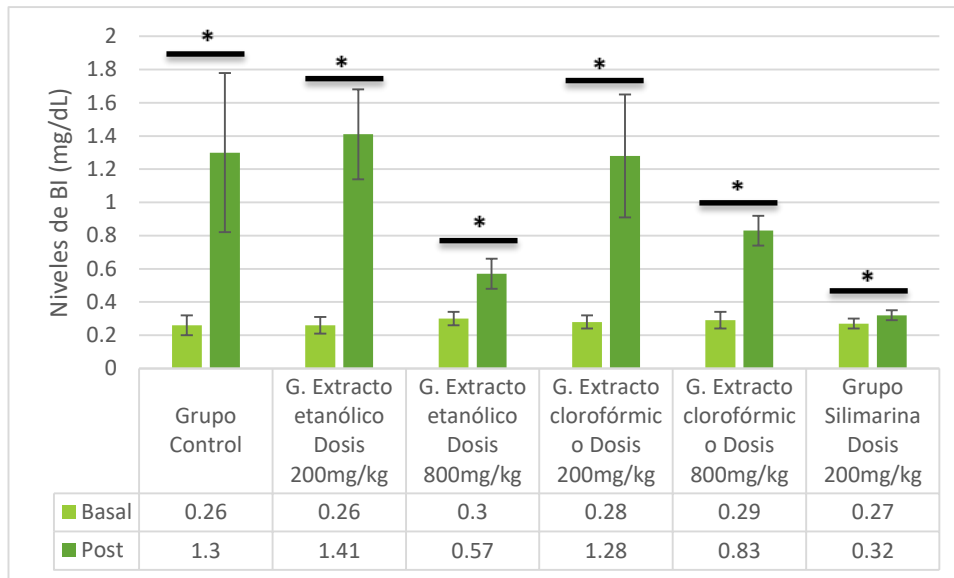


Figura N° 15: Comparación de los niveles de bilirrubina indirecta obtenidos en los distintos grupos experimentales. Datos expresados como promedio ($p < 0.05$)

TABLA N° 29: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES BASALES DE BILIRRUBINA

INDIRECTA (MG/DL)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
G. Control	5	0.2600
G. Ext. Etanólico dosis 200mg/kg	5	0.2640
G. Silimarina dosis 200mg/kg	5	0.2680
G. Ext. Clorofórmico dosis 200mg/kg	5	0.2840
G. Ext. Clorofórmico dosis 800mg/kg	5	0.2860
G. Ext. Etanólico dosis 800mg/kg	5	0.3040
Sig.		0,690

FUENTE: Registros de investigación propios

El test de Tukey (resultados Tabla N° 29) muestra la semejanza entre todos los grupos experimentales en cuanto a la bilirrubina indirecta, debido a que todos conforman un subconjunto homogéneo, concluyéndose que todos los animales de experimentación tienen una bilirrubina indirecta basal o inicial similar.

TABLA N° 30: TEST DE TUKEY DE LOS NIVELES POST DE BILIRRUBINA INDIRECTA

(MG/DL)

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
G. Silimarina	5	0.3220		
G. Ext. Etanólico dosis mayor	5	0.5740		
G. Ext. Clorofórmico dosis mayor	5	0.8340	0.8340	
G. Ext. Clorofórmico dosis menor	5		1.2840	1.2840
G. Control	5		1.3040	1.3040
G. Ext. Etanólico dosis menor	5			1.4140
Sig.		0,070	0,113	0,974

FUENTE: Registros de investigación propios

El test de Tukey (resultados Tabla N° 30) muestra la existencia de tres subconjuntos homogéneos que difieren entre sí, siendo el grupo tratado con silimarina y el grupo tratado con extracto etanólico dosis mayor los que presentan valores menores de bilirrubina indirecta y ambos diferente del resto de grupos experimentales, en el segundo subconjunto homogéneo se ubica el grupo tratado con

extracto clorofórmico dosis mayor, el resto de tratamientos experimentales con dosis menores (clorofórmico y etanólico) no tendrían eficacia – pese a mantener similitud con el grupo del subconjunto 2, debido a que presenta semejanzas estadísticamente significativas con el grupo control.

3.3. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

La figura N°8 corresponde a la imagen fotográfica de la cromatografía de la reacción general, junto a ella está la representación gráfica de las manchas coloreadas y sus respectivos Rfs, esta reacción se llevó a cabo en acetato de etilo (97), metanol (20) y agua (10) como fases móviles, siendo el revelador el reactivo de vainillina-ácido sulfúrico, se observan manchas verdes, azules y amarillas correspondientes a terpenos y flavonoides.

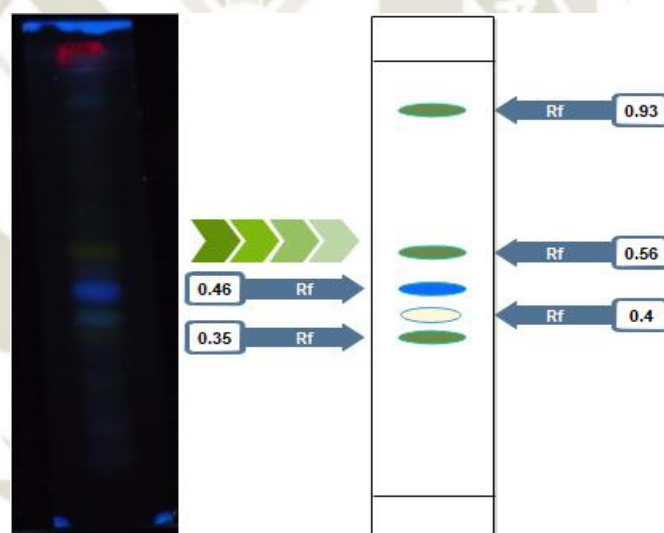


FIGURA N° 16: Cromatografía de la reacción general

La figura N°9 corresponde a la imagen fotográfica de la cromatografía de la reacción para terpenos, junto a ella está la representación gráfica de las manchas coloreadas y sus respectivos Rfs, esta identificación se llevó a cabo en acetato de etilo (95) y tolueno (5) como fases móviles, siendo en revelador el reactivo de Liebermann Burchard, se observan manchas verdes y azules correspondientes a triterpenos y esteroides.

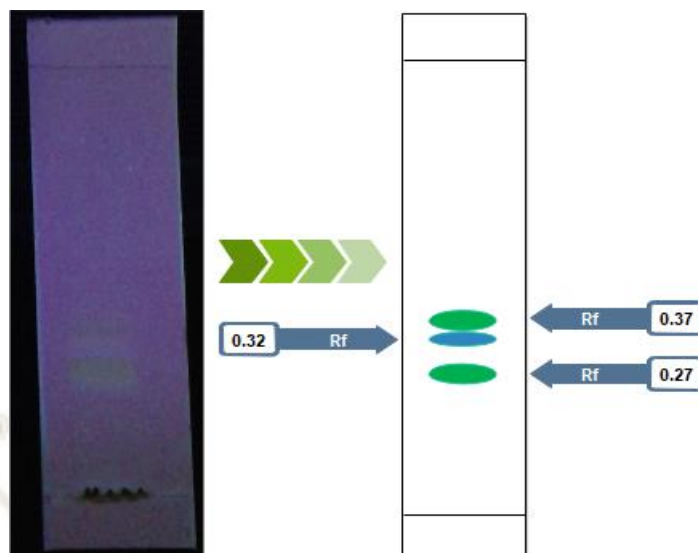


FIGURA N°17: Cromatografía de la reacción para terpenos

La figura N°10 corresponde a la imagen fotográfica de la cromatografía de la reacción para flavonoides, junto a la representación gráfica de las manchas coloreadas y sus respectivos Rfs, esta identificación se llevó a cabo en acetato de etilo (100), ácido acético (11), ácido fórmico (11) y agua (26) como fases móviles, siendo en revelador el reactivo de cloruro de aluminio en solución etanólica, se observan manchas amarillas fluorescentes correspondiente a flavonoides.



FIGURA N°18: Cromatografía de la reacción para flavonoides

Finalmente, la figura N°11 corresponde a la imagen fotográfica de la cromatografía de la reacción para taninos, junto a la representación gráfica de la mancha coloreada observada y su Rf, esta identificación se llevó a cabo metanol (70)

y agua (30) como fases móviles, siendo en revelador el reactivo de cloruro férrico en solución etanólica, se observa una mancha marrón claro que corresponde a taninos.

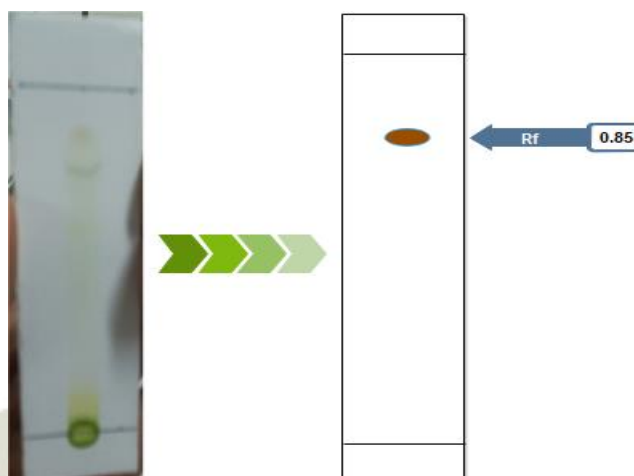


FIGURA N°19: Cromatografía de la reacción para Taninos

La reacción para alcaloides realizada con ácido acético (70), metanol (10) y agua (20), con el Reactivo Dragendorff como revelador fue negativa.

DISCUSIÓN

Uno de los factores clave para el desarrollo de una fitoterapia racional es disponer de medicamentos a base de plantas que, como cualquier otro medicamento, tengan garantizadas su calidad, seguridad y eficacia, que serán las bases sobre las que se sustente el uso científico de la fitoterapia (43).

En base a la premisa anterior el presente estudio busca evidenciar la actividad sobre la función hepática de un extracto vegetal.

La insuficiencia hepática es consecuencia de la afectación del parénquima hepático. Puede ser aguda, de aparición rápida y progresiva, o de instauración lenta, como ocurre en las enfermedades crónicas (cirrosis hepática). Los factores desencadenantes pueden ser muy variables (infecciones principalmente víricas, trastornos metabólicos, acción de tóxicos, cáncer, alteraciones vasculares, enfermedades autoinmunes, etc.) (44).

Aunque las afecciones hepáticas graves originadas por procesos inflamatorios (hepatitis) o debidas a destrucción del tejido hepático (cirrosis) son tratadas con fármacos potentes, en algunos casos las plantas medicinales, a través de la fitoterapia, pueden desempeñar un papel importante en la prevención y tratamiento de algunas de ellas (44).

En la medicina tradicional existen recursos vegetales que la población utiliza para prevenir o curar afecciones, el profesional que observa estos usos y quiere hacer Fitoterapia, tiene que basarse en evidencias mediante el presente estudio se establecen evidencias del uso tradicional del *Mimulus glabratus* o berro, que la población utiliza indistintamente como preventivo para la “salud hepática” o simplemente “para el hígado”, o refiriéndose imprecisamente a “males del hígado” o “colerina”.

La evaluación de la actividad hepatoprotectora fue midiendo parámetros bioquímicos directamente relacionados con la actividad hepática, como son transaminasas hepáticas, proteínas y bilirrubinas. Se evaluaron dos tipos de extractos (etanólico y clorofórmico) a dos dosis, se concluyó – en comparación a la silimarina – que el extracto de mayor eficacia fue el extracto etanólico de berro administrado a una dosis de 800 mg/kg. En cuanto a las transaminasas (pirúvica y oxalacética) se

observó que este extracto muestra eficacia similar estadísticamente significativa en comparación con el grupo que recibió silimarina.

En cuanto a esta última del análisis de varios estudios con diferentes agentes inductores de hepatotoxicidad se recoge en la bibliografía que tras su administración se observa una mejoría en el proceso inflamatorio y una reducción de las lesiones histológicas, disminuyendo los valores de fosfatasa alcalina, transaminasas (GPTy GOT), bilirrubina y α -globulina (44). Por lo que no resulta extraño nuestros resultados. Al parecer los extractos vegetales muestran efectos dosis dependiente, siendo las dosis mayores las que muestran resultados, ya que en el estudio Actividad Hepatoprotectora del extracto de *Homalium letestui* en injuria hepática inducida con paracetamol (45), se observaron reducciones de los niveles de las enzimas (ALT, AST y ALP) además del colesterol total. En esta misma línea se vio disminución significativa de SGOT y SGPT y ALP en ratas intoxicadas con simvastatina, en comparación con el grupo control normal, observándose además una buena comparación con el grupo que recibió silimarina, todo ello en el estudio, Actividad Hepatoprotectora de las hojas de *Melia azedarach* contra la hepatotoxicidad en ratas inducida con simvastatina (46).

En cuanto a las proteínas plasmáticas (totales, albumina y globulinas) en el presente estudio no se vieron efectos significativos, cabe precisar que estos tampoco se observó en el caso del grupo de silimarina, y en el mismo grupo control, al parecer no se aprecia un cambio de dicho parámetro, probablemente por la homeostasis en el animal, disminuyendo la tasa de catabolismo proteico, lo que mantiene de algún modo las cifras constante de proteínas séricas, aunque en algunos estudios se observo un aumento de proteínas séricas, cabe aclarar que en estos estudios hubo una disminución previa de las proteínas plasmáticas en los grupos control como en el caso del Estudio del Efecto Hepatoprotector de las fracciones del extracto de la planta *Marsilea minuta* Linn. (47), en cambio en otros se vio lejos de un aumento una disminución de proteínas totales, como en el estudio Efectos hepáticos protectores y antioxidantes de los extractos de hojas y tallos de *Spondias mombin* sobre la hepatotoxicidad y el estrés oxidativo inducidos por el tetracloruro de carbono (48).

En el caso de las bilirrubinas (total, directa e indirecta) se observó eficacia, aunque no totalmente comparable al grupo silimarina, ya que para la bilirrubina total el extracto administrado a 800 mg/Kg fue inferior pero superior al control y el resto de grupos de tratamiento experimentales con extractos de berro. Estos resultados guardan relación con los comentados hasta el momento y además en el estudio Composición química, antioxidante y actividades hepatoprotectoras de extractos de metanol de hojas de *Terminalia bellirica* y *Terminalia sericea* (Combretaceae) (49).

La explicación a estos efectos observados, probablemente se sustenten a partir de la cromatografía en capa fina en donde se observó la identificación de flavonoides, aun más si se considera que la silimarina tiene naturaleza flavónica, se trata de un lignano flavonoide (50), por ello se afirma que: En general los flavonoides son protectores capilares y venosos, favoreciendo la correcta síntesis de colágeno. Inhiben la agregación plaquetaria y muchos de ellos son protectores hepáticos (51).

El mecanismo de acción probablemente se deba a los dos mecanismos descritos, el primero de ellos de estabilización de membrana de hepatocitos, mediante la incorporación a la membrana o el aumento de los niveles de AMPc, podría ser uno de los mecanismos de acción implicados en el efecto estabilizador de membranas (44). El otro está relacionado a la actividad antiradicalaria junto con los demás fitoconstituyentes como los triterpenos y taninos hallados en nuestro estudio. Por otros se sabe que los fitoconstituyentes como los flavonoides, los triterpenoides, las saponinas y los alcaloides poseen actividad hepatoprotectora (52).

La presencia de flavonoides junto a los triterpenos y taninos en la presente investigación serían los responsables de la actividad hepatoprotectora, este conjunto activo probablemente muestre sinergia tendiente al efecto estabilizador de membrana comentado y la actividad antiradicalaria más aún si consideramos que el mecanismo de toxicidad con paracetamol implica la formación de un metabolito tóxico y prooxidante conocido como NAPQI (53).

Por lo que se concluye que de acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación del *Mimulus glabratus* (berro) tendría una eficacia hepatoprotectora.

CONCLUSIONES

Primera

Se evaluó el efecto hepatoprotector de los extractos etanólico y clorofórmico de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) obtenidos mediante Soxhlet en 30 animales de experimentación, a los que se les indujo hepatotoxicidad por administración de paracetamol por vía intraperitoneal.

Segunda

Con las hojas estabilizadas, desecadas y trituradas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) mediante el método de extracción por Soxhlet se obtuvo dos extractos según la naturaleza del disolvente, un extracto etanólico con un rendimiento de 14.68%, y uno clorofórmico con un rendimiento de 3.67%.

Tercera

La cromatografía en capa fina realizada sobre el extracto etanólico de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) como ensayo fitoquímico preliminar reveló la presencia de compuestos terpénicos, triterpenos, esteroides, flavonoides y taninos.

Cuarta

Los extractos etanólico y clorofórmico de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) se administraron P.O. para su evaluación en dos dosis cada uno, una dosis mayor de 800 mg/Kg y otra menor de 200 mg/Kg, según el análisis estadístico (ANOVA y Test de Tukey) a un nivel de confianza del 95% indican como el extracto eficaz al extracto etanólico a una dosis de 800 mg/Kg, debido a que muestra diferencia significativa en comparación al grupo control en cuanto a los niveles de TGP, TGO, bilirrubina total, directa e indirecta.

Quinta

El extracto etanólico de hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) administrado a una dosis de 800 mg/Kg en comparación con el grupo que recibió silimarina a una dosis de 200 mg/Kg mostró una eficacia similar en cuanto a los niveles de transaminasas posteriores a la administración de paracetamol, respecto a las bilirrubinas, esta eficacia fue menor de acuerdo al análisis estadístico de ANOVA y test de Tukey.



SUGERENCIAS

Primera

Realizar estudios en animales de experimentación para determinar la seguridad del extracto etanólico de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro), administrado por vía oral.

Segunda

Realizar estudios preclínicos en animales de experimentación a fin de evaluar el efecto hepatoprotector del extracto de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro), sobre hepatotoxicidad inducida por otros agentes activos.

Tercera

Evaluar en seres humanos con hepatopatías crónicas la eficacia del extracto etanólicos de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K. (berro) o su infusión, administrados por vía oral, como terapia coadyuvante.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Instituto Catalán de la Salud. ATS/DI Atención Especializada. Segunda ed. España: Editorial Mad S.L.; 2002.
- 2 Asociación Especializada para el desarrollo. Estudios de la biodiversidad Cuenca del Cotahuasi: La Unión Arequipa Flora Medicinal. Primera ed. La Unión: Asociación Especializada para el desarrollo; 1998.
- 3 Brack Egg A. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. Primera ed. Cusco: Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de Las Casas; 1999.
- 4 Villagrán C, Castro V. Ciencia Indígena de los Andes del Norte de Chile. Primera ed. Santiago de Chile: Editorial Universitaria S.A.; 2004.
- 5 Barret K, Barman S, Boitano S, Brooks H. Ganong Fisiología Médica. Veintitrés ed. México: McGraw-Hill Interamericana S.A.; 2010.
- 6 Tortora GJ, Derrickson B. Principios de Anatomía y Fisiología. Undécima ed. Madrid: Médica Panamericana; 2010.
- 7 Pastrana Delgado J, García De Casasola Sánchez G. Fisiopatología y Patología general básicas para ciencias de la salud. Primera ed. Barcelona: Elsevier España S.L.; 2013.
- 8 Saladin KS. Anatomía y Fisiología La unidad entre Forma y Función. Sexta ed. México: McGraw-Hill Interamericana Editores S.A.; 2013.
- 9 Mulrone SE, Myers AK. Netter. Fundamentos de Fisiología. Primera ed. Barcelona: Elsevier España S.L.; 2011.
- 10 Ira Fox S. Fisiología Humana. Duodécima ed. de León Fraga J, editor. México: McGraw-Hill Interamericana Editores S.A.; 2011.
- 11 Tresguerres JA. Fisiología Humana. Tercera ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2005.
- 12 Schneider C. Vademécum Peruano Genérico y de Marcas. Primera ed. España: Ediciones Médicas Internacionales S.A.; 2006.

- 13 Lepori RL. P.R. Vademécum. Novena ed.: Editorial Kairos; 2003.
- 14 VIDAL VADEMECUM Internacional. Vademecum Internacional. Diecisiete ed. Madrid: Editorial VIDAL VADEMECUM Internacional; 2017.
- 15 Suárez E, Suárez F, Suárez S. Manual de Farmacología Médica. Primera ed. Rosario: Corpus; 2006.
- 16 Brunton LL. Googman & Gilman Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Décimotercera ed. Brunton LL, editor. México: McGraw-Hill Interamericana Editores S.A.; 2018.
- 17 Hilal-Dandan R, Brunton LL. Googman & Gilman Manual de Farmacología y Terapéutica. Segunda ed. México: McGraw-Hill Interamericana Editores S.A.; 2015.
- 18 Katzung BG, Trevor AJ. Farmacología Básica y Clínica. Décimotercera ed. México: McGraw Hill Interamericana S.A.; 2016.
- 19 Lorenzo P, Moreno A, Leza J, Moro M. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. Dieciocho ed. México: Médica Panamericana; 2008.
- 20 Flórez J. Farmacología Humana. Sexta ed. Barcelona: Elsevier España S.L.; 2014.
- 21 Ocampo R, Ríos LA, Betancur LA, Ocampo DM. Curso Práctico de Química Orgánica, enfocado a Biología y Alimentos. Primera ed. Escobar Velásquez LF, editor. Caldas: Universidad de Caldas; 2008.
- 22 Sharapin N. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Primera ed. Pinzón R, editor. Santafé de Bogotá; 2000.
- 23 Grande Tovar CD. Manual de Prácticas de Química Orgánica Aplicada. Primera ed. Cali: Editorial Bonaventuriana; 2013.
- 24 Huaricallo Quispe LL. Evaluación in vitor del efecto antimicrobiano de los extractos de Lepidium chichicara (jhanukara) sobre cepas de Staphylococcus aureus, Streptococcus sp y Pseudomona aeruginosa. Tesis. Arequipa: Universidad Católica de Santa María, Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2015.

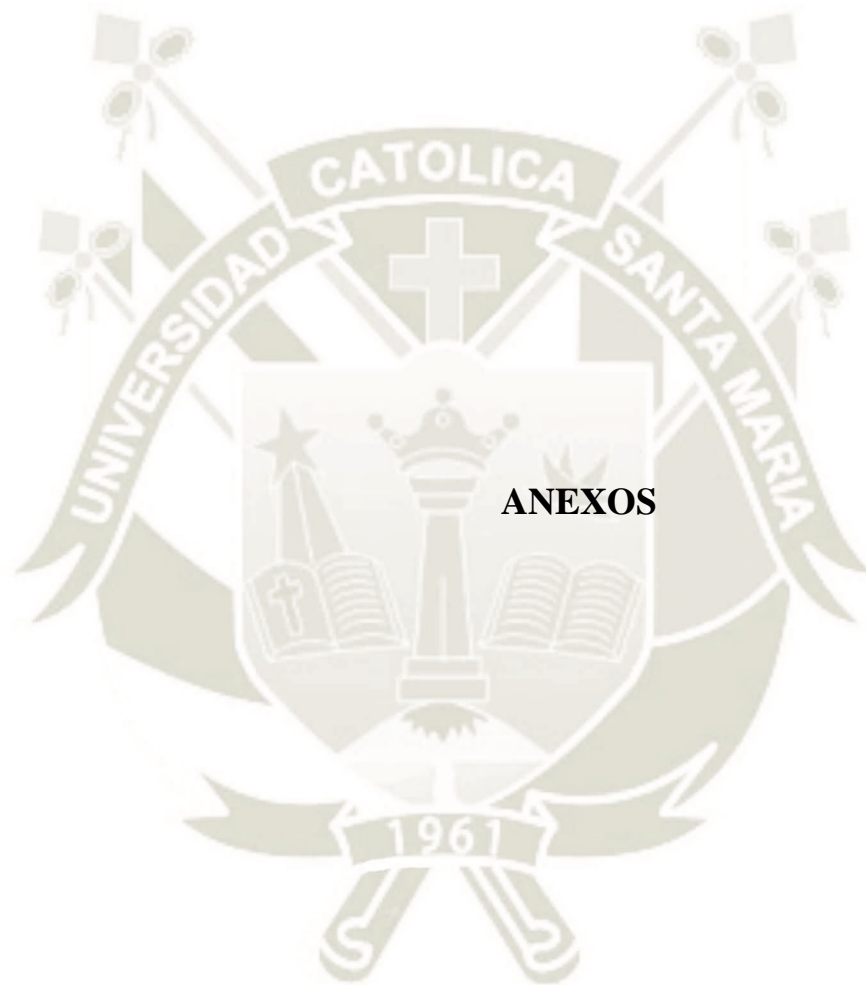
- 25 Lazo Blanco F, Huamán Jara E. Evaluación del Efecto Cicatrizante de los extractos (fluido y glicólico) y la crema de *Aloysia spathulata* (chiqchilla) en heridas incisivas inducidas en animales de experimentación. Tesis. Arequipa: Universidad Católica de Santa María, Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2013.
- 26 Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio de productos naturales. Segunda ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
- 27 Marcano D, Hasgawa M. Fitoquímica Orgánica. Segunda ed. Caracas: Universidad Central de Venezuela; 2002.
- 28 Guillen Cruzado FY. Efecto Hepatoprotector del *Peumus boldus* "boldo" en la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus rattus* Var. *Albinus*. Tesis. Trujillo: Universidad César Vallejo, Escuela Académica Profesional de Medicinal; 2016.
- 29 Yovera Leyva E. Efecto protector del *Peumus boldus* "boldo" en la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus rattus* Var *Albinus*. Tesis. Trujillo: Universidad César Vallejo, Escuela Académica Profesional de Medicina; 2016.
- 30 Astohuillca de la Cruz LD, Nuñez Tamay EE. Efecto Hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Myriopteris aurea* (cuti-cuti) en daño hepático agudo inducido con paracetamol en ratas. Tesis. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica; 2017.
- 31 Pally Sacaca A. Efecto protector y regenerativo del Etilendiamino tetraacetico (EDTA) en ratas con daño hepático inducido por paracetamol. Arequipa 2013. Tesis. Arequipa: Universidad Católica de Santa María, Programa Profesional de Medicina Humana; 2013.
- 32 Roca P, Oliver J, Rodríguez A. Bioquímica: Técnicas y métodos. Primera ed. Irurzun A, Feduchi E, editors. Madrid: Editorial Hélice; 2003.
- 33 Peretó J, Sendra R, Pamblanco M, Bañó C. Fundamentos de bioquímica. Primera ed. Valencia: Universitat de Valencia; 2007.

- 34 Sánchez Torres CA, Sotomayor Ríos GC. Efecto Hepatoprotector del Zumo de Fruta de la Opuntia Ficus Indica (Tuna), variedad morada, en Ratas con Intoxicación Hepática Inducida por Paracetamol. Tesis. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Escuela Académicos Profesional de Nutrición; 2015.
- 35 Gennaro AR. Remington Farmacia Tomo 1. Veinte ed. Buenos Aires: Medica Panamericana S.A.; 2003.
- 36 Díaz Portillo J, Fernández del Barrio M, Parede Salido F. Aspectos Básicos de Bioquímica Clínica. Primera ed. Madrid: Díaz de Santos S.A.; 1997.
- 37 Belon Chayguaque JM, Escobar Vásquez LB. Proteínas totales y albúmina en adultos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. Tesis. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2017.
- 38 Quesada Mora S. Manual de experimentos de laboratorio para Bioquímica. Primera ed. San José de Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia; 2007.
- 39 León Goñi ACea. Valores hematológicos y bioquímicos de las ratas Sprague Dawley producidas en CENPALAB, Cerp: SPRD. REDVET. 2011; 12(11).
- 40 Canelo Saldaña PP, Mendoza Gardini YK. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de Curcuma longa L. en daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono en ratas albinas. Tesis. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Escuela de Formación Profesional de Bromatología y Nutrición Humana; 2017.
- 41 Sharp P, Villano J. The Laboratory Rat. 2nd ed. Florida: CRC Press Taylor & Francis Group; 2012.
- 42 Rey Vidal OA. Actividad hepatoprotectora de Ananas comusus (piña) en ratas con toxicidad hepática inducida por isoniacida. Tesis. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Escuela Académica Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2017.


- 43 Haya Palazuelos FJ. Uso práctico de la fitoterapia en ginecología. Primera ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana S.A.; 2007.
- 44 Castillo García E, Solís Martínez I. Manual de Fitoterapia. Primera ed. Barcelona: Editorial Elsevier Doyma S.L.; 2007.
- 45 Efiom Okokon J, Simeon O, Joseph , Ekpo Umoh E. Hepatoprotective activity of the extract of Homalium letestui stem against paracetamol-induced liver injury. Avicenna Journal of Phytomedicine. 2017 January; 7(1).
- 46 Fazil Ahmed Mea. Hepatoprotective activity of Melia azedarach leaf extract against simvastatin induced Hepatotoxicity in rats. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2012 Junio; 2(7).
- 47 Balne Dea. Hepatoprotective Effect Of Whole Plant Extract Fractions Of Marsilea minuta Linn. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2013 April; 6(3).
- 48 Nwidu Lea. Efectos hepáticos protectores y antioxidantes de los extractos de hojas y tallos de Spondias Mombin sobre la hepatotoxicidad y el estrés oxidativo inducidos por el tetracloruro de carbono. Journal of Basic and Clinical Pharmacy. 2017 October; 8(82).
- 49 Sobeh Mea. Composición química, antioxidante y actividades hepatoprotectoras de extractos de metanol de hojas de Terminalia bellirica y Terminalia sericea (Combretaceae). PeerJ. 2019 February.
- 50 Romo de Vivar Romo A, editor. Química de la Flora Mexicana Investigaciones en el Instituto de Química de UNAM. Primera ed. México: Universidad Autónoma de México; 2006.
- 51 Vanaclocha Vanaclocha B, Cañigueral Folcará S, editors. Fitoterapia Vademécum de Prescripción. Cuarta ed. Barcelona: Editorial Masson S.A.; 2006.
- 52 Eidi Aea. Hepatoprotective Activity Of Cinnamon Ethanolic Extract Against CCl4-Induced Liver Injury In Rats. EXCLI Journal. 2012 August;(12).
- 53 Kalant H, Roschlau W. Principios Básicos de Farmacología. Sexta ed. México:

Oxford University Press; 2002.






ANEXO N°1



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



CONSTANCIA N° 039-2019-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

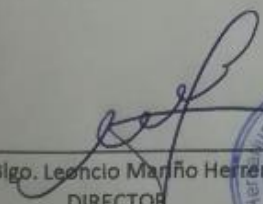

HACE CONSTAR:

Que la muestra preservada del espécimen presentada por Marily Eudes Pino Alvarez egresado de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas de la Universidad Católica de Santa María, para la ejecución de su Tesis "Efecto hepatoprotector de los extractos de las hojas de *Mimulus glabratus* H.B.K (berro) en animales de experimentación con hepatotoxicidad inducida con paracetamol. Arequipa 2018". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente clasificación y especie.

Reino	Plantae
Division	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Phrymaceae
Genero	<i>Mimulus</i>
Especie	<i>Mimulus glabratus</i> H.B.K

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen convenientes.

Arequipa 07 de mayo del 2019.

Bigo. Leoncio Manfio Herrera
 DIRECTOR
 Herbarium Arequipense (HUSA)

Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado
 Teléfono: (054) 237755 / 993659045
 Apartado Postal: 0028
 AREQUIPA - PERÚ

ANEXO N° 2: RENDIMIENTOS EN LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

Para el extracto Etanólico

Extracciones	Droga (g)	Extracto (g)	Rendimiento
Primera	14.8	2.2	14.865
Segunda	15.3	2.1	13.725
Tercera	14.9	2.3	15.436
Promedio	15	2.2	14.676

Para el extracto clorofórmico

Extracciones	Droga (g)	Extracto (g)	Rendimiento
Primera	14.9	0.54	3.624
Segunda	15.3	0.53	3.464
Tercera	14.8	0.58	3.919
Promedio	15	0.55	3.669

ANEXO N°3: BASE DE DATOS

Grupo experimental	Basal		Post	
	TGP	TGO	TGP	TGO
Grupo Control	45.9	207.3	87.73	247.44
	56.1	207.1	89.90	249.50
	58.9	196.2	101.17	260.67
	60.4	201.4	93.84	256.24
	50.1	212.5	89.95	259.52
Grupo Extracto Etanólico Dosis menor	57.7	222.1	85.46	251.01
	48.7	210.2	84.59	234.35
	62.9	211.1	96.09	246.12
	59	203.1	94.39	239.16
	56.3	211.9	83.64	248.33
Grupo Extracto Etanólico Dosis mayor	54.2	219.8	64.54	227.12
	66.7	212.3	79.46	216.76
	53.4	203.1	63.56	209.29
	63.3	223.6	73.87	229.05
	58	212.2	68.02	218.96
Grupo Extracto Clorofórmico Dosis menor	58.8	199.3	91.71	249.89
	64.9	195.3	93.86	230.83
	67.3	210.5	93.06	251.92
	50.5	211.4	80.57	257.61
	70.7	216.5	95.95	255.91
Grupo Extracto Clorofórmico Dosis mayor	45.8	216.6	62.89	238.56
	70.7	201.1	93.81	230.24
	53.8	220.7	71.14	249.64
	68.8	222.3	83.44	250.63
	54.4	204.8	78.59	231.30
Grupo Silimarina	63.3	224.1	65.33	226.21
	68.1	197	69.61	198.68
	66.3	218.3	68.01	219.94
	70	196.4	71.66	198.09
	51	212.5	53.09	214.55

Grupo experimental	Basal			Post		
	PROT. TOT	ALBU	GLOB	PROT. TOT	ALBU	GLOB
Grupo Control	7.4	3.29	4.11	6.91	3.58	3.33
	7.79	3.83	3.96	6.54	4.18	2.36
	7.26	4.03	3.23	7.34	3.40	3.94
	6.54	3.82	2.72	6.49	3.33	3.16
	7.74	3.35	4.39	7.76	3.31	4.45
Grupo Extracto Etanólico Dosis menor	7.3	4.08	3.22	6.47	3.89	2.58
	7.2	4	3.2	7.69	3.46	4.23
	6.55	4.03	2.52	7.57	4.05	3.52
	7.78	4.19	3.59	7.08	3.34	3.74
	6.53	3.52	3.01	7.10	3.63	3.47
Grupo Extracto Etanólico Dosis mayor	7.09	3.53	3.56	6.90	4.09	2.81
	6.5	3.86	2.64	6.46	4.12	2.34
	7	4.07	2.93	6.59	3.39	3.20
	7.37	3.63	3.74	6.89	3.40	3.49
	7.06	4.19	2.87	7.29	4.22	3.07
Grupo Extracto Clorofórmico Dosis menor	7.87	3.89	3.98	7.41	3.84	3.57
	7.62	3.46	4.16	6.80	3.61	3.19
	7.94	3.51	4.43	7.54	3.30	4.24
	7.93	3.37	4.56	7.87	3.59	4.28
	6.47	3.73	2.74	6.62	4.04	2.58
Grupo Extracto Clorofórmico Dosis mayor	7.64	3.64	4	7.79	4.22	3.57
	8.04	4.04	4	6.89	3.64	3.25
	6.62	4.16	2.46	7.39	4.10	3.29
	8.02	3.76	4.26	7.16	3.99	3.17
	7.98	4.06	3.92	7.52	3.88	3.64
Grupo Silimarina	7.54	4.1	3.44	7.47	3.65	3.82
	6.72	3.84	2.88	8.00	4.05	3.95
	7.01	3.58	3.43	6.54	3.72	2.82
	6.63	3.46	3.17	7.92	4.08	3.84
	7.41	3.37	4.04	8.04	4.02	4.02

Grupo experimental	Basal			Post		
	BIL TOT	BIL DIR	BIL INDIR	BIL TOT	BIL DIR	BIL INDIR
Grupo Control	0.44	0.11	0.33	2.82	0.91	1.91
	0.35	0.08	0.27	2.55	0.84	1.71
	0.39	0.09	0.3	2.34	1.34	1.00
	0.31	0.14	0.17	2.26	1.44	0.82
	0.34	0.11	0.23	2.17	1.09	1.08
Grupo Extracto Etanólico Dosis menor	0.35	0.13	0.22	2.60	1.40	1.20
	0.43	0.1	0.33	2.76	0.89	1.87
	0.33	0.12	0.21	2.71	1.46	1.25
	0.36	0.1	0.26	2.50	1.09	1.41
	0.43	0.13	0.3	2.23	0.89	1.34
Grupo Extracto Etanólico Dosis mayor	0.39	0.08	0.31	0.93	0.38	0.55
	0.36	0.11	0.25	0.93	0.27	0.66
	0.43	0.1	0.33	1.07	0.51	0.56
	0.43	0.07	0.36	1.05	0.39	0.66
	0.35	0.08	0.27	0.90	0.46	0.44
Grupo Extracto Clorofórmico Dosis menor	0.45	0.13	0.32	2.29	1.11	1.18
	0.42	0.1	0.32	2.71	1.25	1.46
	0.36	0.08	0.28	2.73	1.30	1.43
	0.33	0.1	0.23	1.87	1.18	0.69
	0.38	0.11	0.27	2.74	1.08	1.66
Grupo Extracto Clorofórmico Dosis mayor	0.42	0.09	0.33	1.42	0.48	0.94
	0.43	0.1	0.33	1.53	0.67	0.86
	0.41	0.15	0.26	1.35	0.62	0.73
	0.32	0.11	0.21	1.65	0.75	0.90
	0.4	0.1	0.3	1.32	0.58	0.74
Grupo Silimarina	0.35	0.08	0.27	0.46	0.16	0.30
	0.43	0.12	0.31	0.56	0.21	0.35
	0.35	0.13	0.22	0.50	0.20	0.30
	0.36	0.09	0.27	0.48	0.17	0.31
	0.35	0.08	0.27	0.48	0.13	0.35