

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y
BIOTECNOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



“COMPARACIÓN DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR DE
***Phyllanthus niruri* (CHANCAPIEDRA) CON LA SILIMARINA EN**
DAÑO HEPÁTICO INDUCIDO CON PARACETAMOL EN
ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN”

Presentado por las bachilleres:

- **Abarca Cari Bresia Maryory**
- **Onofre Huamani Lourdes Marisol**

Para obtener el título profesional de:
QUÍMICO FARMACÉUTICO

ASESORA: Mg. María Elena Guillén Núñez

AREQUIPA – PERÚ

2017

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la universidad Católica De Santa María en particular a la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica a donde quiera que estemos llevaremos en alto el honor de haber sido estudiantes de tan ilustre institución.

Nuestro profundo y sincero agradecimiento a nuestros docentes de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica Dra. Roxana Gutiérrez Aranibar, Q.F. Fernando Torres Vela, Ph.D. Jose Villanueva Salas y a nuestra asesora María Elena Guillen y a nuestro co-asesor Ph.D. Azael Paz Aliaga quienes nos brindaron su apoyo desinteresado e incondicional durante la realización de nuestro trabajo de investigación para ustedes nuestra eterna gratitud.

DEDICATORIA

A Dios. Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre Edith. Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi padre Medardo. Por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

A mi abuelito Antonio porque antes de partir me transmitió las enseñanzas necesarias para poder superar los obstáculos que tuviera en la vida

A mi familia en general, porque me han brindado su apoyo incondicional y por compartir conmigo momentos malos y buenos.

Bresia Maryory Abarea Cari

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mi Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

Con mucho cariño principalmente a mis padres que me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento. Gracias por todo papá y mamá por darme una carrera para mi futuro y por creer en mí. Aunque hemos pasado momentos difíciles siempre han estado apoyándome y brindándome todo su amor por todo esto les agradezco de todo corazón el que estén conmigo a mi lado.

A mis hermanos Marco y Lizbeth por estar conmigo y apoyarme siempre y consentirme tanto los quiero mucho.

Y no puedo ir sin antes decirles que sin ustedes no lo hubiera logrado, tantas desveladas sirvieron de algo y aquí está el fruto. Les agradezco a todos ustedes con toda mi alma el haber llegado a mi vida y compartir momentos agradables y tristes. Pero son esos momentos son los que nos hacen crecer y valcarar a las personas que nos rodean. Los quiero mucho nunca los olvidare.

Lourdes Marisol Onofre Huamani

ÍNDICE

RESUMEN	I
ABSTRACT	III
INTRODUCCIÓN	5
HIPÓTESIS	7
CAPÍTULO I	9
MARCO TEÓRICO	9
1.1. <i>Phyllanthus niruri</i>	9
1.1.1. MORFOLOGÍA Y DESCRIPCIÓN	9
1.1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	10
1.1.3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	11
1.1.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA	11
1.1.5. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS	16
1.1.6. USOS EN MEDICINA TRADICIONAL Y BENEFICIOS	17
1.1.7. DISTRIBUCIÓN	18
1.1.8. EFECTOS ADVERSOS	18
1.2. SILIMARINA	19
1.2.1. ACCIÓN TERAPÉUTICA	20
1.2.2. INDICACIONES	20
1.2.3. CONTRAINDICACIONES	20
1.2.4. EFECTOS ADVERSOS	20
1.2.5. POSOLOGÍA Y ADMINISTRACIÓN	21
1.2.6. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA SILIMARINA	21
1.3. PARACETAMOL	22
1.3.2. INDICACIONES	22
1.3.3. CONTRAINDICACIONES DEL PARACETAMOL	23
1.3.4. EFECTOS ADVERSOS	23
1.3.5. POSOLOGÍA	23
1.3.6. MECANISMO DE ACCIÓN	23
1.3.7. MECANISMO DE TOXIDAD DEL PARACETAMOL	23
1.4. HÍGADO	25
1.4.1. SUPERFICIES HEPÁTICAS	25

1.4.2. LÓBULOS	26
1.4.3. VASOS HEPÁTICOS.....	26
1.5. FISIOLÓGIA DEL HÍGADO.....	26
1.5.1. FUNCIONES METABÓLICAS	27
1.5.2. FUNCIONES DE ALMACENAMIENTO.....	27
1.5.3. DESTOXIFICACIÓN.....	27
1.5.4. FUNCIONES INMUNOLÓGICAS	28
1.6. HISTOLOGÍA HEPÁTICA.....	28
1.6.1 CÉLULAS EPITELIALES (LOS HEPATOCITOS).....	28
1.6.2. CÉLULAS ENDOTELIALES.....	29
1.6.3. CÉLULAS PERISINUSOIDALES (DE ITO).....	29
1.6.4 MACRÓFAGOS HEPÁTICOS (CÉLULAS ESTRELLADAS DE VON KUPFFER O CELULAS DE KUPFFER)	30
1.6.5. LINFOCITOS	30
1.6.6. LOBULACIÓN DEL HÍGADO	30
1.6.7. VASOS SANGUÍNEOS DEL PARENQUIMA.....	30
1.6.8. SINUSOIDES HEPÁTICOS	30
1.6.9. ESTROMA DE TEJIDO CONJUNTIVO	31
1.6.10. CAPILARES.....	31
1.6.11. ESPACIO PERISINUSOIDAL (ESPACIO DISSE).....	31
1.7. ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL HÍGADO.....	31
1.7.1. HEPATITIS VÍRICA AGUDA	31
1.7.2. HEPATITIS CRÓNICA	31
1.7.3. HEPATOPATÍAS ALCOHÓLICAS.....	32
1.7.4. ESTEATOSIS (HÍGADO GRASO)	32
1.7.5. COLESTASIS.....	32
1.7.6. CIRROSIS.....	32
1.8. MECANISMOS DE INJURIA HEPÁTICA	32
1.8.1. REACCIONES DE HEPATOTOXICIDAD IMPREDECIBLES:	33
1.8.2. REACCIONES DE HEPATOTOXICIDAD PREDECIBLE O INTRÍNSECA:	34
1.9. ENZIMAS HEPÁTICAS.....	34
1.9.1. ASPARTATO AMINOTRANSFERASA O TRANSAMINASA GLUTÁMICO OXALACÉTICA (AST- TGO)	34
1.9.2. ALANINA AMINOTRANSFERASA O TRANSAMINASA GLUTÁMICO PIRUVICA (ALT- GPT)	36

1.9.3. GAMMA GLUTAMILTRANSFERASA (GGT).....	36
1.9.4 CAUSAS DE LA ELEVACIÓN DE LAS AMINOTRANSFERASAS	37
CAPÍTULO II	38
MATERIALES Y MÉTODOS	38
2.1. TIPO DE ESTUDIO	38
2.2. UNIDADES DE ESTUDIO.....	38
2.5.1 Materiales de Vidrio.....	39
2.5.2 Equipos y Aparatos	39
2.5.3 Material Anexo	40
2.5.4 Reactivos.....	40
2.5.5 Producto farmacéutico	40
2.6 MÉTODOLOGÍA EXPERIMENTAL	41
2.6.1.1 MATERIAL VEGETAL.....	41
2.6.2.2 FORMACIÓN DE GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN	43
2.6.2.3 TÉCNICA PARA LA INDUCCIÓN DE DAÑO HEPÁTICO EN LAS UNIDADES EXPERIMENTALES	44
2.6.2.4 EXTRACCIÓN DE SANGRE Y ANÁLISIS DE LABORATORIO.....	45
CAPÍTULO III.....	50
CONCLUSIONES	71
RECOMENDACIONES	72
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: <i>Phyllanthus niruri</i>	10
Figura 2: Estructura de los lignanos.....	12
Figura 3: Estructura de terpenos	13
Figura 4: Estructura de flavonoides	14
Figura 5: Estructura de alcaloides	15
Figura 6: Estructura de taninos	16
Figura 7: Estructura de la silimarina	19
Figura 8: Hígado	25
Figura 9: Reacción de Transaminación TGO.....	35
Figura 10: Reacción de Transaminación TGP	36
Figura 11: Trituración del material vegetal.....	41
Figura 12: Obtención de sangre de las ratas para la determinación de TGO TGP TGG	45
Figura 13: Muestras de sangre para determinar TGO TGP GGT	45
Figura 14: Promedios nivel sérico (TGO) según etapas	61
Figura 15: Nivel sérico (TGO).....	62
Figura 16: Promedios nivel sérico de (TGP) según etapas	64
Figura 17: De nivel sérico (TGP).....	65
Figura 18: Nivel sérico (GGT).....	67
Figura 19: Nivel sérico de GGT (en UIL).....	67

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el bioterio de la Universidad Católica de Santa María y laboratorios de la Universidad San Agustín durante los meses junio-agosto del 2016.

El objetivo principal fue determinar el efecto hepatoprotector del extracto de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) comparado con la silimarina frente al daño hepático inducido con paracetamol en animales de experimentación. El método empleado fue de diseño experimental, prospectivo, en el cual se tomaron como objetos de estudio 20 ratas machos de la especie *Mus musculus*; adultos de tres meses de edad con un peso corporal promedio de 300 a 340g; se dividieron aleatoriamente en 4 grupos experimentales de 5 ratas cada uno, un grupo blanco sin inducción de daño hepático, y a los otros 3 grupos: control negativo, grupo experimental y control positivo se les indujo daño hepático mediante la administración de 200mg/kg de paracetamol durante los 5 primeros días de estudio; a partir del día 6 hasta el día 21 se administró al grupo control negativo agua como un placebo, al grupo experimental se le administró 160mg/kg del extracto etanólico de chancapiedra, al grupo control positivo un tratamiento constituido por 150mg/kg de silimarina.

Se determinó el efecto hepatoprotector mediante análisis histopatológico y bioquímico (pruebas de transaminasas TGP, TGO, GGT) basal, después de inducción de daño hepático y al final del tratamiento.

Se comparó las medias de los grupos experimentales mediante las pruebas estadísticas de Anova y especificidad de Tukey.

En los resultados se observó que el extracto de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) (160mg/kg) tiene actividad hepatoprotectora según el análisis de las pruebas bioquímicas para transaminasas que disminuyeron en un promedio de TGP (17.5 ± 1.6), TGO (38.0 ± 2.9), GGT (18.6 ± 1.4); según el análisis histopatológico se evidenció un grado moderado de daño hepático. El grupo control positivo con silimarina presentó una disminución en el promedio de TGP (13.7 ± 1.7), TGO (34 ± 2.4), GGT (18.9 ± 1.5). Según el análisis histopatológico se observó un grado moderado a leve de daño hepático.

Se concluye que el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de *Phyllanthus niruri* a dosis de 160mg/Kg presentó una al efecto similar al de la silimarina a dosis de 150mg/Kg mediante las pruebas bioquímicas e histológicas. Estadísticamente la TGO, TGP y GGT han resultado ser igual con un valor $p=0.1264$, $p=0.2694$, $p=0.871$ respectivamente por lo que no existe diferencia significativa ($p>0.05$).

Palabra clave: chancapiedra, hepatoprotector, hepatotoxicidad, paracetamol.

ABSTRACT

This research paper called was held in the Vivarium of the Catholic University of Santa Maria and laboratories St. Augustine college during June-August 2016 months whose objective was to determine the hepatoprotective effect of the extract of *Phyllanthus niruri* (Chancapiedra) compared with silymarin against induction of liver damage in rats with acetaminophen.

The method used was experimental, prospective design, which were as objects of study 20 male rats of the species *Mus musculus*, young adults three months of age with a body weight of $300 \pm 340\text{g}$. They were divided into 4 experimental groups of 5 rats (*Muss musculus*) each, a white group without induction of liver damage, and the other 3 groups: negative control, experimental and positive control was induced liver damage by administering 200mg / kg paracetamol during the first 5 days of study. From day 6 to day 21 they were administered: the negative control water group as a placebo, the experimental group was administered 160mg / kg of alcohol extract of chancapiedra, the positive control group Treatment consisting of 150mg / kg silymarin.

The hepatoprotective effect was determined by analysis: histopathological and biochemical tests (transaminases SGPT, SGOT, GGT) at baseline, after induction of liver damage and end. the means of the experimental groups were compared using statistical tests Anova, Tukey specificity.

Results: The extract *Phyllanthus niruri* Chancapiedra (160mg/kg) has hepatoprotective activity according to the analysis of biochemical tests for

transaminase decreased by an average of TGP (17.5 ± 1.6), TGO (38.0 ± 2.9), GGT (18.6 ± 1.4); according to the histopathological analysis a moderate degree of liver damage was evident

The positive control group silymarin which showed a decrease in the average TGP (13.7 ± 1.7), TGO (34 ± 2.4), GGT (18.9 ± 1.5). And according to histopathology it was observed moderate to mild degree of liver damage.

Conclusions: hepatoprotector effect of alcoholic extract Chancapiedra biochemical and histologically present a resemblance to the effect of silymarin statistically (AST / SGOT) has proved to be equal with $p=0.1264$ value (SGPT / ALT) has proved to be equal with $p=0.2694$, (GGT) has proved to be equal with value $p=0.8711$ there is no significant difference ($p>0.05$).

Keyword: chanca stone, hepatoprotective, hepatotoxicity, paracetamol.



INTRODUCCIÓN

La lesión o daño hepático representa un problema de salud pública y va en aumento en las últimas décadas, causado por la exposición a diversos fármacos u otros agentes no farmacológicos, siendo una de las principales causas de muerte¹.

El daño hepático crónico puede conllevar, a una cirrosis que es causa importante de morbilidad y mortalidad en el mundo. En algunos países de América Latina, como Chile y México, la cirrosis hepática ocupa, entre el 5^{to} y 6^{to} lugar como causa de muerte general. En el Perú, la cirrosis hepática ocupa el 5^{to} lugar, en orden de magnitud entre las defunciones generales, el 2^{do} lugar entre las enfermedades digestivas y hepatobiliares y es la 2^{da} causa de muerte entre las defunciones registradas para el grupo etáreo de 20 a 64 años².

A pesar de ser considerado el daño hepático un problema de salud pública que requiere acciones claras para la prevención y tratamiento. Administrar alternativas terapéuticas para los pacientes con daño hepático sería de gran apoyo para la resolución de estos problemas. En la naturaleza existen gran cantidad de plantas que se han utilizado desde tiempos remotos como remedio natural a diferentes enfermedades. Estas plantas biosintetizan una serie de sustancias que son fármacos en potencia y que son las responsables del efecto terapéutico³.

Las plantas de la familia *Euphorbiaceae* han sido ampliamente utilizadas en la medicina tradicional de China y el Amazonas por sus propiedades medicinales.

Phyllanthus niruri "chancapiedra" es una hierba medicinal, que crece de 30 a 40 cm de altura, nativa de la amazonía se encuentra en climas tropicales, muy común en terrenos húmedos y sombreados tiene las siguientes características: hojas compuestas, pinnadas, flores imperfectas y pequeñas de 3 a 4 mm de diámetro, nacen en las axilas de las hojas⁴.

La chancapiedra presenta un gran abanico de propiedades terapéuticas sus principales usos que le confieren a esta planta son cálculos biliares y de las vías urinarias, úlceras, diabetes, diurético, hipotensor, hipoglicémico, antiviral (VIH) y cualquier inflamación que tenga en el estómago, para infecciones de transmisión sexual (gonorrea y sífilis) ^{5,6}.

Dado lo ventajoso de las acciones terapéuticas de esta planta, se ha desarrollado una serie de estudios fitoquímicos que indican la presencia de compuestos como, lignanos, alcaloides, cumarinas, taninos, flavonoides y terpenos ^{7,8}.

De acuerdo con la revisión realizada por Cabieses “la mayoría de las acciones señaladas por el uso popular de esta planta han sido investigadas desde el punto de vista farmacológico, desconociéndose aún sus propiedades hepatoprotectoras”, A finales de los 80, captó la atención mundial debido al descubrimiento de la actividad antiviral de la planta contra la hepatitis B. Trabajos clínicos preliminares mostraron los portadores del virus de la hepatitis B, fueron tratados con una preparación de la planta *Phyllanthus*, mostraron resultados prometedores⁹.

Estudios recientes han dado indicios de actividad antiviral de algunos componentes de la planta, han sido aislados y algunos de ellos interactúan con enzimas claves en el ciclo de replicación del virus¹⁰.

Con este trabajo de investigación, se demostrará el efecto hepatoprotector de *Phyllanthus niruri* “chancapiedra” al mejorar el perfil hepático en animales de experimentación comparado con silimarina.

HIPÓTESIS

Dado que la planta *Phyllanthus niruri* ha sido ampliamente utilizada en la medicina tradicional, es probable que el extracto de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) tenga efecto hepatoprotector frente al daño hepático inducido con paracetamol en animales de experimentación comparado con la silimarina.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto hepatoprotector del extracto de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) comparado con la silimarina frente al daño hepático inducido con paracetamol en animales de experimentación.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Determinar el perfil hepático producidos por el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) frente al daño hepático inducido con paracetamol en animales de experimentación.
2. Evidenciar los cambios histopatológicos producidos por el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) frente al daño hepático inducido con paracetamol en animales de experimentación.
3. Comparar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) con el efecto hepatoprotector de la silimarina.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. *Phyllanthus niruri*

1.1.1. MORFOLOGÍA Y DESCRIPCIÓN

Es una hierba anual, erguida y pequeña crece de 30 a 40 centímetros de altura nativa del bosque lluvioso del Amazonas y otras áreas tropicales incluyendo las Bahamas, el Sur de la India y China. El género *Phyllanthus* contiene alrededor de 600 especie de arbustos, árboles e hierbas anuales o bianuales distribuidas a través de las regiones tropicales y subtropicales de ambos hemisferios¹¹.

Es considerada una planta ruderal y espontánea común en terrenos sombreados en donde alcanza el mayor desarrollo. Las plantas ruderales son aquellas que surgen en caminos pavimentados o bien pueden ser observadas en terrenos baldíos. En Brasil, la mayor parte de las plantas ruderales tienen importancia fitoterapéutica. Algunas especies conocidas como flora medicinal están dentro de este tipo de plantas como por ejemplo: quebra-pedra (*Phyllanthus niruri*), *Bidens pilosa* y *Emilia sonchifolia*, citando solo algunas de las más famosas. Todas las plantas ruderales invariablemente son de porte pequeño, muchas veces rastreras con flores pequeñas¹².

Sinónimos: carolinianus *Phyllanthus*, sellowianus, Fraternus, kirganella, lathyroides lonphali, niruri *Nymphanthus*

Nombres comunes: chancapiedra,: Riñoncillo, Quebra-pedra, Erva-pombinha, Bahupatra, Bhuiamla, Bhuy amalaki, Niruri y Stone Breaker, picapedrero, arranca-pedras, punarnava, Amli, caña de guisantes senna, llevar a-me-semilla, sen criolla, Marisan Daun, hierba-gale viento, graine en bas Fievre, mala hierba huracán, malva-pedra, mapatan, sacha adoptivo, yerba de San Pablo¹³.



Fuente: Leslie Taylor, 2000

Figura 1: *Phyllanthus niruri*

1.1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Es una planta ramificada, glabra, de hojas compuestas, pinnadas, con pinnas opuestas oblongas a lanceoladas, redondeadas, flores imperfectas pequeñas (3-4 mm de diámetro) nacen en las axilas de las hojas, monoicas, corto pediceladas en los dos sexos, blancas, los frutos se desarrollan en la parte inferior del raquis, cápsulas deprimidas, muy pequeñas (3.5 mm de diámetro), con seis semillas retorcidas en sentido longitudinal, con diminutas estrías transversales, con dos lados planos y uno convexo. Las semillas miden de 0.8-1.0 mm de diámetro¹⁴.

1.1.3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Tabla 1: Clasificación taxonómica

Reino	<i>Plantae.</i>
División	<i>Magnoliophyta.</i>
Clase	<i>Magnoliopsida.</i>
Orden	<i>Malpighiales.</i>
Familia	<i>Euforbiáceas.</i>
Género	<i>Phyllanthus.</i>
Especie	<i>niruri, amarus</i>

1.1.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA

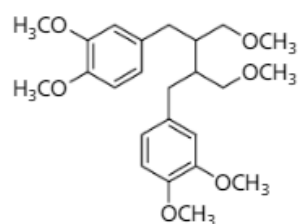
Es una rica fuente de fitoquímicos, incluyendo muchos que se han encontrado solo en el género *Phyllanthus*. Muchos de los componentes "activos" se atribuyen la presencia de lignanos, glucósidos, flavonoides, alcaloides, elagitaninos y fenilpropanoides se encuentran en la hoja, tallo y raíz de la planta.¹³

Entre sus componentes encontramos:

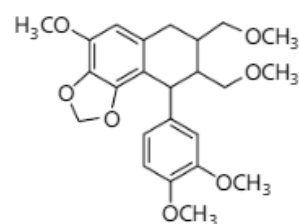
- **Lignanos**

Son compuestos que resultan de la condensación de dos a cinco unidades fenilpropánicas, se han descrito en las plantas que los lignanos poseen propiedades antibacterianas, antifúngicas, antimitóticas¹⁵.

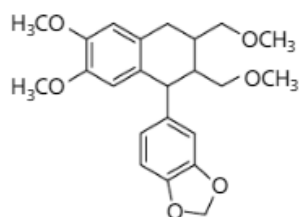
Phyllanthus niruri presenta lignanos como (filantina, filnirurina, hidroxinirantina, lintretalina, nirurina, filtretalina, hipofilantina, isolintretalina, nirantina, nirurinetina, hidroxilignanos, kinokinina, nirtetralina, nirfilina, isolaricilesinoltrimetil)¹⁶.



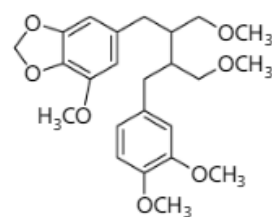
Phyllanthin



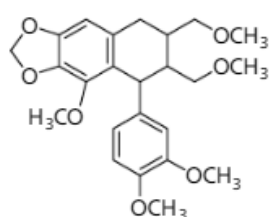
Hypophyllanthin



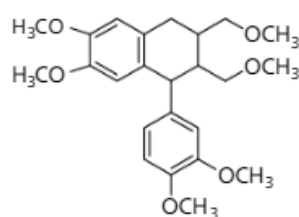
Niranthin



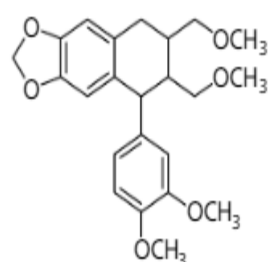
Lintetralin



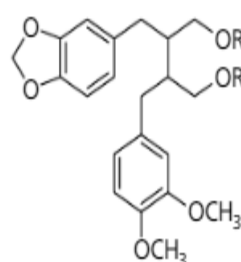
Phyltetralin



Nirtetralin



Isolintetralin



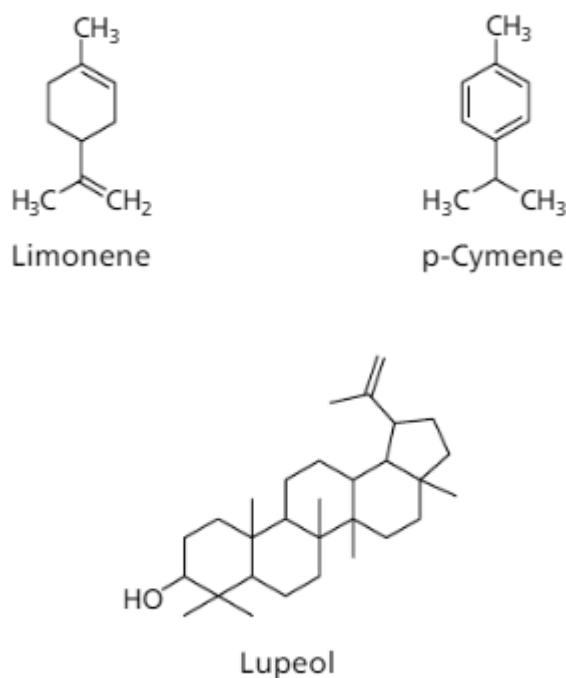
R = H 2,3-Desmethoxy seco-isolintetralin
R = COCH₃ 2,3-Desmethoxy seco-isolintetralin diacetate

Fuente. Bagalkotkar, 2006.

Figura 2: Estructura de los lignanos

- **Terpenos**

Constituyen el más amplio conjunto de metabolitos secundarios de los vegetales, los terpenos se forman de la condensación <cabeza –cola> de un número variable de unidades isoprénicas. La droga contiene terpenos como (cimeno, limoneno) (lupeol acetato, lupeol) ^{15, 16}.

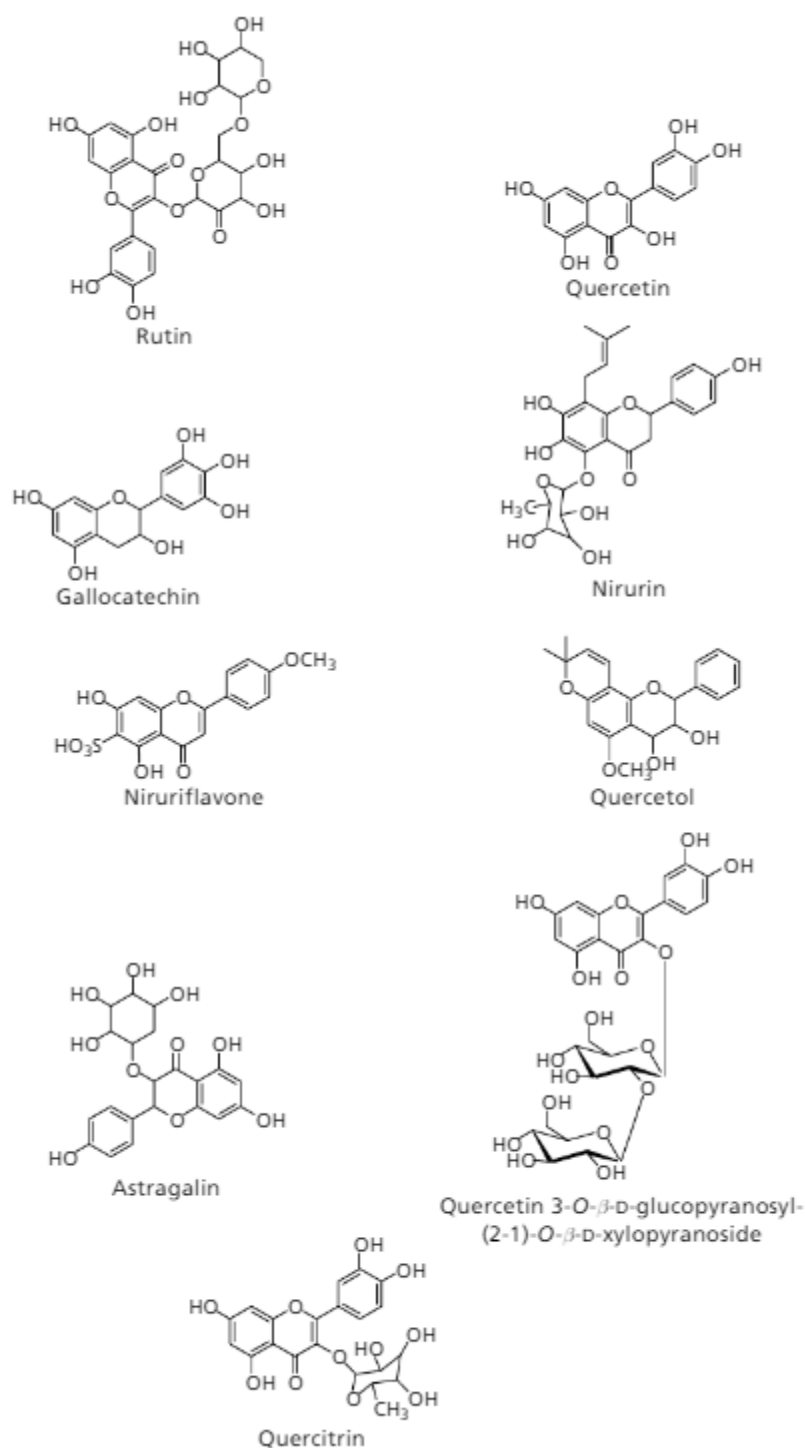


Fuente. Bagalkotkar, 2006.

Figura 3: Estructura de terpenos

Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos de los vegetales responsables de la coloración de los frutos y flores, se encuentran en las células epidérmicas de las hojas asegurando así la protección de los tejidos contra efectos de las radiaciones ultravioleta ¹⁵.



Fuente. Bagalkotkar, 2006.

Figura 4: Estructura de flavonoides

- **Alcaloides**

Son compuestos que derivan de un aminoácido; por lo tanto son nitrogenados que reaccionan como bases, son de origen natural. Su átomo de nitrógeno forma parte de un sistema heterocíclico. Posee actividades farmacológicas importantes a nivel del sistema nervioso central actúan como depresores y a nivel del sistema autónomo actúan como simpaticomiméticos, parasimpaticomiméticos, anestésicos locales, antifibrilantes y anticolinérgicos.

En la planta *Phyllanthus niruri* existe presencia de alcaloides como filantina, nirurina, norsecurinina, 4-metoxi-nor-securinina, filantona, filocristina^{15, 16}.

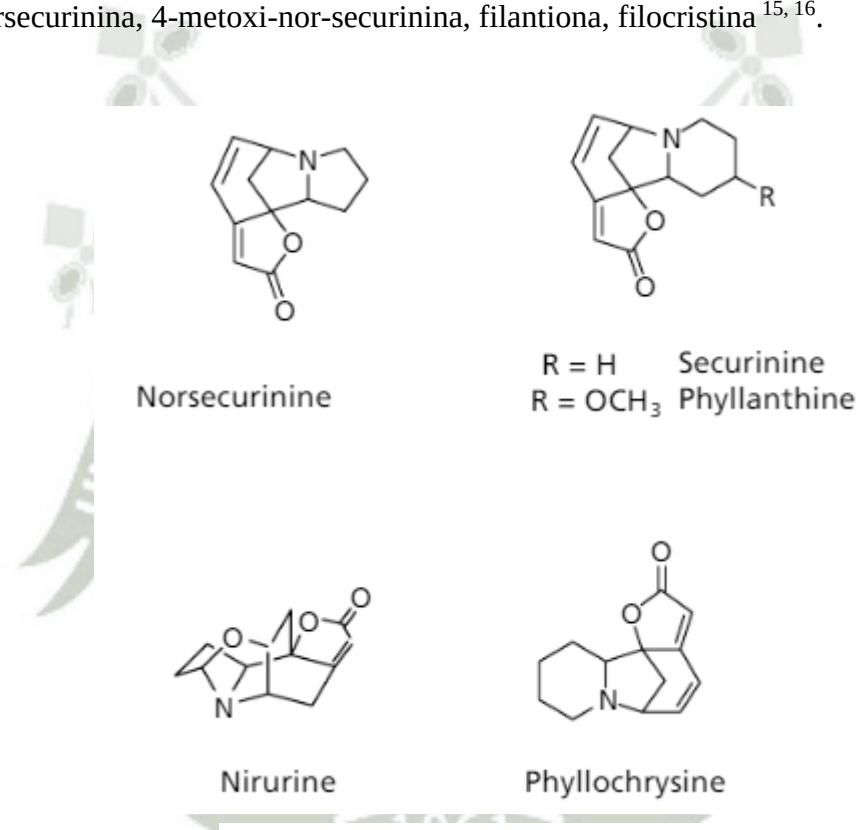


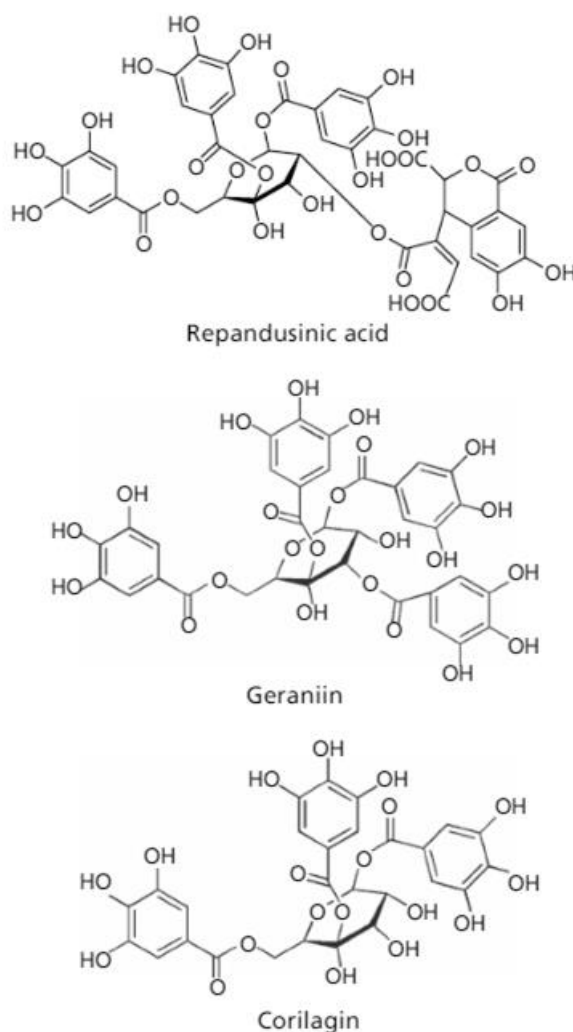
Figura 5: Estructura de alcaloides

Fuente. Bagalkotkar, 2006.

- **Taninos**

Son compuestos fenólicos hidrosolubles poseen una masa molecular entre 500 y 3000, tienen la propiedad de precipitar alcaloides y otras proteínas¹⁵.

Se le atribuye a los taninos propiedades biológicas como antioxidantes, astringentes.



Fuente. Bagalkotkar, 2006.

Figura 6: Estructura de taninos

1.1.5. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS

Phyllanthus niruri ha estado sujeta a muchos estudios desde mediados de los años sesentas con el fin de determinar los componentes activos y sus actividades farmacológicas.

Los brasileños fueron los primeros en realizar estos estudios. Los usos tradicionales de esta planta en la eliminación de piedras en el riñón y cálculos biliares han sido validados por investigaciones clínicas. En 1999 un estudio clínico realizado con extractos de *Phyllanthus niruri* exhibió un efecto poderoso y efectivo en la inhibición de la formación de cristales de oxalato de calcio (compuesto de la mayoría de las

piedras en los riñones). La actividad antiespasmódica de los alcaloides presentes en chancapiedra fue documentada por investigadores brasileños a mediados de los años ochenta.¹⁷

La investigación más reciente en chancapiedra revela que tiene actividad antiviral para controlar el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Un grupo de investigadores en 1992 descubrió que el extracto *Phyllanthus niruri* inhibe la transcriptasa HIV-1. En 1996 una investigación realizada por Myers de Bristol Squibb aisló un componente responsable de esta actividad al que denominaron “*niruriside*”. *P. niruri* con sus muchos usos efectivos para una gran cantidad de enfermedades es uno de los remedios más importante que viene del bosque lluvioso y ha ganado mucha popularidad a nivel del mundo. Lo más importante es que no se han informado efectos tóxicos en ninguno de las investigaciones clínicas realizadas ni en muchos años de uso en la medicina de hierbas¹⁷.

1.1.6. USOS EN MEDICINA TRADICIONAL Y BENEFICIOS

La planta tiene variados usos y un gran potencial económico y medicinal. Las especies del género *Phyllanthus* han sido investigadas como antiviral. En los estudios apoyados por la Central de Medicamentos (CEME) en Brasil, se sugiere la utilización potencial, no solo como efecto lítico y/o preventivo en la formación de cálculos urinarios, sino también su posible utilización en pacientes hiperuricémicos y en aquellos con insuficiencia renal¹⁶. *Phyllanthus niruri* es la más efectiva de un grupo relacionado de especies. Los científicos no han identificado el ingrediente responsable de los efectos medicinales de esta planta, pero la hierba ha mostrado un grupo de enzimas que juegan un papel crucial en la reproducción del virus de la Hepatitis B (Lancet, 1988). Es de muy fácil manejo agronómico, no presenta muchas exigencias, por lo cual podría ser de gran interés para agricultores que deseen cultivarla¹⁷.

Se le ha llamado chancapiedra porque ha sido usada por generaciones, por los indígenas de Amazonas como un remedio efectivo para eliminar cálculos biliares y de riñón y para otros problemas de relacionados. La planta se emplea para otras numerosas condiciones incluyendo cólicos, diabetes, disentería, fiebre, gripe, tumores, ictericia, dispepsia, entre otras.¹⁷

Se usa extensamente en la medicina de hierbas en Sudamérica, como el remedio más popular para la eliminación de cálculos biliares y de riñón a través del continente. En la medicina de hierbas peruana, se usa también para la hepatitis, las infecciones urinarias, y como diurético. En la medicina de hierbas brasileña se le llama *Quebra Pedra* y se considera un remedio excelente para quitar el ácido úrico de la orina y para eliminar piedras. En la India le llaman *Pitirishi o Budhatri*, y es utilizado como un remedio casero común para el asma, la bronquitis y la tos, la sed extrema, la anemia, la ictericia y la tuberculosis¹⁷.

1.1.7. DISTRIBUCIÓN

Es oriundo de los bosques lluviosos de Amazonas de Colombia, Perú y Brasil. Además, se le ha encontrado en otras áreas tropicales, incluyendo Las Bahamas, India y China.

En el Perú: En la Amazonía, hasta 500 m.s.n.m, en Loreto y Cajamarca¹⁶.

Esta planta ha sido encontrada a lo largo de Costa Rica en áreas de conservación como: La Amistad Pacífico, Tempisque, Pacífico Central, La Amistad Caribe, Arenal y Cordillera Volcánica Central (Instituto Nacional de Biodiversidad, 1997). Es una planta espontánea, común en terrenos húmedos y sombreados, donde consigue alcanzar el mayor desenvolvimiento¹⁷.

1.1.8. EFECTOS ADVERSOS

Phyllanthus niruri (chancapiedra) ha demostrado efectos hipotensores en animales y humanos. Las personas que toman medicamentos para el corazón de prescripción deben consultar a su médico antes de tomar esta planta. Puede estar contraindicado para algunas personas, dependiendo de la condición los medicamentos, puede ser necesario controlar y ajustar¹³.

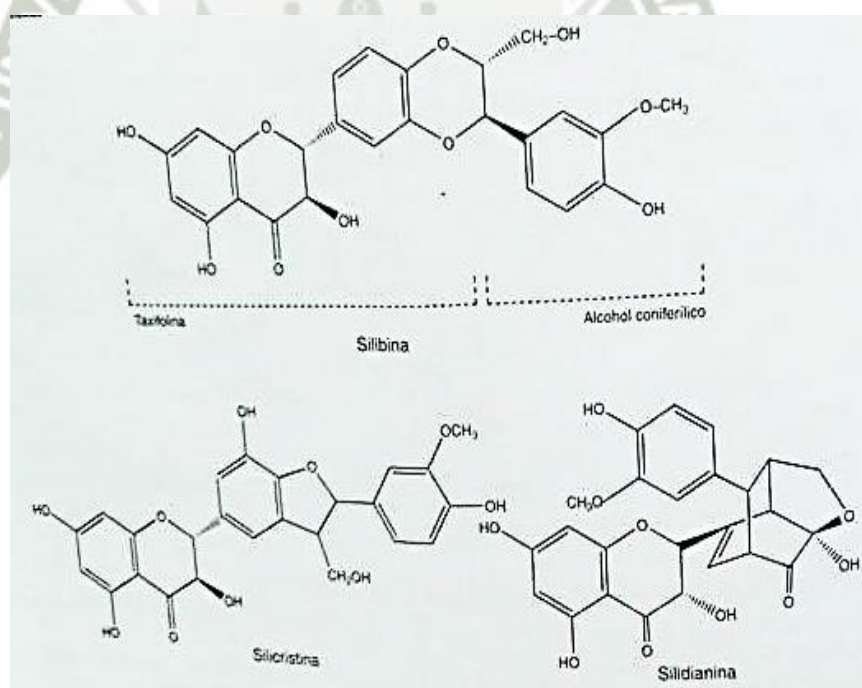
Además, la chancapiedra ha sido considerada en la medicina tradicional como abortiva (en dosis altas). Aunque no se ha estudiado específicamente en humanos o animales, los estudios en animales indican que tiene efectos relajantes uterinos. Por lo que está contraindicado durante el embarazo¹³.

También, se ha demostrado efectos hipoglucemiantes en animales y humanos. Está contraindicado para las personas con hipoglucemia. Los diabéticos deben consultar a su médico antes de tomar esta planta, como está contraindicada para algunos medicamentos como insulina¹³.

Por otro lado, ha sido documentada en estudios humanos y animales con efectos diuréticos, crónicos y el uso agudo de esta planta puede estar contraindicada en varias otras condiciones médicas en las que se encuentran los diuréticos, no se recomienda el uso a largo plazo de diuréticos puede causar desequilibrios de electrolitos y minerales¹³.

1.2. SILIMARINA

La silimarina es un suplemento dietético ampliamente utilizado por más de 2000 años proveniente de las semillas de *Sylibum marinum*. En este extracto se hallan flavonoides activos como las Silibinas (isómeros A y B), isosilibinas (A y B), silicristina y silidianina¹⁸.



Fuente Kuklinski, 2003.

Figura 7: Estructura de la silimarina

La silimarina actúa estimulando la síntesis proteica y la potenciación de los sistemas antioxidantes hepáticos, estimulando la actividad de la ARN polimerasa I lo que origina un aumento en la síntesis de ARN ribosomal, contribuyendo así a la formación de nuevos hepatocitos.^{19, 20}

1.2.1. ACCIÓN TERAPÉUTICA

La silimarina actúa a nivel del hepatocito como estabilizador de la membrana celular lesionada y hace efectiva una compleja protección del hígado frente a influencias nocivas, logrando la recuperación de las células hepáticas ya lesionadas, que se manifiesta en una mejoría del estado general, disminución de las molestias digestivas, aumento del apetito y peso, mejora de la sintomatología hepática y normalización de los valores en los análisis clínicos.

Poseen también una acción hepatoprotectora, acelerando la recuperación del parénquima hepático dañado y facilitando la función desintoxicadora del hígado. Además, si se considera la significativa disminución de las vitaminas del complejo B que se presenta en las hepatopatías por la pérdida de la capacidad de almacenamiento, la administración de vitaminas del complejo B está indicada²¹.

1.2.2. INDICACIONES

Está indicado en la prevención y el tratamiento de enfermedades hepáticas, como hepatitis toxica, cirrosis hepática, hepatitis vírica, alteraciones digestivas y afecciones de la vesícula biliar²⁰.

1.2.3. CONTRAINDICACIONES

La Organización Mundial de la Salud aconseja que no se administre durante el embarazo o la lactancia y a niños sin supervisión medica²⁰.

1.2.4. EFECTOS ADVERSOS

Carece de toxicidad, aunque en algún caso se observó un ligero efecto laxante y algunas reacciones alérgicas²⁰.

1.2.5. POSOLOGÍA Y ADMINISTRACIÓN

Se recomienda 1 cápsula de silimarina después de cada comida. Dosis de mantenimiento: Hepalivio 1 cápsula diaria.

1.2.6. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA SILIMARINA

La silimarina es el principio activo de la planta *Silybum marianum*, conocida por todos como Cardo Mariano, es a la vez una de las sustancias más poderosas y protectoras que se conocen²¹.

Su poderoso efecto protector contra intoxicaciones resulta ser eficaz incluso contra la grave intoxicación producida por la seta venenosa *Amanita falloides*, siendo capaz de contrarrestar los efectos tóxicos, prevenir la muerte y reducir considerablemente el daño hepático²¹.

El efecto más interesante de la silimarina sobre el hígado sea su capacidad de estimular la síntesis de proteínas. Ésta estimulación favorece la capacidad del hígado para reemplazar las células dañadas por las nuevas – regeneración hepática -, pero también es interesante saber que la silimarina no produce el mismo efecto estimulador sobre los tejidos malignos.

La silimarina aumenta más de 35 % los niveles de glutatión en el hígado, un aminoácido muy necesario para desintoxicar la sangre de las sustancias nocivas que se toman con los alimentos, como el alcohol, sustancias contaminantes, medicamentos y hormonas que a largo plazo pueden causar mayores daños. El Glutatión neutraliza los radicales libres, además, de los residuos metabólicos y hormonales y actúa como poderoso antioxidante, sobre todo en combinación con el Selenio, para formar la potente enzima Glutathion Peroxidasa²¹.

Se ha postulado para la silimarina un triple mecanismo de acción:

- a) Modificación de la membrana celular externa de los hepatocitos impidiendo el ingreso de las toxinas al interior de las células.

- b) Estimulación de la actividad de la polimerasa A nucleolar, aumentando la síntesis ribosomal de proteínas y la capacidad de regeneración del hígado y la formación de nuevos hepatocitos.
- c) Un efecto antioxidante que contrarresta la acción de los radicales libres que se forman como metabolitos reactivos por acción de las toxinas y que dañan las membranas celulares²¹.

1.3. PARACETAMOL

El paracetamol es fármaco muy eficaz como analgésico para aliviar dolores musculares, articulares, menstruales, de espalda, garganta, cefaleas y antipirético, mas no posee acción antiinflamatoria. En dosis adecuadas no suele presentar efectos secundarios. Este componente está presente en diversos medicamentos¹⁹. El principio activo del paracetamol es el acetaminofén, el cual no altera la coagulación, ni la mucosa gástrica y por lo general, no produce reacciones alérgicas. No obstante, existen contraindicaciones para ciertos casos. Una sobredosis de paracetamol puede provocar una lesión hepática muy grave, incluso puede llegar a ser mortal^{21, 22}.

1.3.1. ABSORCIÓN Y DISTRIBUCIÓN

El paracetamol es absorbido rápidamente por el tracto digestivo, alcanzando máxima concentración plasmática luego de 30 o 60 minutos. Es metabolizado en el hígado en mayor medida y eliminado por la orina²¹.

La eliminación normal del paracetamol se produce al cabo de 2 o 4 horas, pero en pacientes con disfunción hepática, este período aumenta considerablemente, por lo que se produce una necrosis hepática²¹.

1.3.2. INDICACIONES

Posee efecto analgésico y antipirético de utilidad en el control del dolor leve a moderada intensidad, es de particular utilidad en sujetos donde está contraindicada la aspirina.^{22, 23}

1.3.3. CONTRAINDICACIONES DEL PARACETAMOL

Por lo regular el uso del paracetamol es bien tolerado en dosis terapéuticas recomendadas, pero el uso continuo de este fármaco o una sobredosis, pueden ocasionar hepatotoxicidad y nefropatía, debidas a la producción de un metabolito oxidativo en el hígado y el riñón. La toxicidad hepática puede reducirse mediante la administración de Metionina o N-acetilcisteína, pero no ocurre lo mismo con el riñón²¹.

1.3.4. EFECTOS ADVERSOS

Los efectos adversos que se pueden presentar con paracetamol, son náuseas, vómitos, dolor abdominal, ictericia, necrosis del hígado, hipoglucemia, a veces pueden aparecer alergias en forma de erupciones eritematosas, urticarias. Ante la ingesta de dosis altas inducir vómito, realizar lavado gástrico posterior a ello administrar carbón activado y antídoto para la intoxicación acetil cisteína ^{21,22}.

1.3.5 POSOLOGÍA

Dosis habitual por vía oral es de 325mg a 1000mg, la dosis diaria no debe de exceder 4000mg ni prolongarse el tratamiento por más de cinco días. Las dosis únicas para infantes varían de 40 a 48mg, según su edad y peso; en un lapso de 24 horas no debe administrarse más de cinco dosis²³.

1.3.6 MECANISMO DE ACCIÓN

Actúa bloqueando el pirógeno endógeno en el centro hipotalámico regulador de la temperatura inhibiendo la síntesis de las prostaglandinas. El calor es disipado por vasodilatación, aumento del flujo sanguíneo periférico y sudoración ²¹.

1.3.7 MECANISMO DE TOXIDAD DEL PARACETAMOL

El paracetamol no es tóxico. Su toxicidad es debida a la acción del metabolito intermedio (NAPQI) generado al biotransformarse a través de la vía oxidativa

hepática. A dosis terapéuticas, el NAPQI generado se une al glutatión intracelular y a otros compuestos tiólicos formándose un conjugado atóxico²¹.

En sobredosis, cuando la cantidad de paracetamol supera una dosis crítica (generalmente 150mg/kg), las vías de glucurónico y sulfoconjugación se saturan incrementándose la proporción de paracetamol que seguirá la vía oxidativa. Ello aumenta la velocidad y la producción de NAPQI precisándose más glutatión para neutralizarlo²¹.

Cuando las reservas de glutatión hepático descienden por debajo de un 30 %, el NAPQI libre ejerce su acción tóxica sobre el hepatocito uniéndose mediante un enlace covalente al locus neutrofílico de determinadas proteínas intracelulares, pudiendo producir la muerte celular. La necrosis inicialmente se concentra en la zona III centrolobulillar, ya que es aquí donde hay un mayor metabolismo oxidativo extendiéndose al restante parénquima hepático en los casos más severos²¹.

Aparte de este mecanismo oxidativo, se han propuesto experimentalmente otras vías fisiopatológicas complementarias o, incluso, determinantes del daño hepático y extrahepático: formación de radicales libres, cambios isquémicos en la microcirculación, trastornos de la homeostasis cálcica, inhibición de la cadena respiratoria mitocondrial²¹.

Si bien las manifestaciones tempranas de toxicidad por paracetamol son leves e inespecíficas (y no predicen la gravedad de la hepatotoxicidad), son importantes de reconocer tempranamente²¹.

- **Etapa I (primeras 24 h):** Puede haber náuseas, vómitos, letargia, aunque puede ser completamente asintomático²¹.
- **Etapa II (24 a 72 h):** Comienzan las evidencias de hepatotoxicidad en los exámenes de laboratorio, al mismo tiempo que los síntomas iniciales pueden cambiar por dolor en hipocondrio derecho, con hepatomegalia. Puede aparecer concomitantemente oliguria y pancreatitis.
- **Etapa III (72 a 96 h):** Se llega al máximo de elevación de transaminasas, llegando en ocasiones a exceder de 10.000IU/mL. Clínicamente puede haber

ictericia, encefalopatía y coagulopatía. El 25 a 50 % de los afectados presenta concomitantemente insuficiencia renal por necrosis tubular aguda.

- **Etapa IV (4 días a 2 semanas):** Los pacientes que sobreviven la etapa anterior entran a una etapa de recuperación cuya duración depende de la gravedad del compromiso inicial. Los cambios histológicos afectan preferentemente a la zona III (centrolobulillar), que es la de mayor concentración de CYP2E1. No hay casos reportados de daño hepático crónico por paracetamol.

1.4. HÍGADO

El hígado es un órgano situado en la parte superior derecha del abdomen pesa alrededor de 1500g y corresponde más o menos al 2.5 % del peso corporal del adulto. Es de color pardo rojizo con forma de cuña, bastante redondeado revestido por una cápsula de tejido conjuntivo fibroso (cápsula de Glisson)²⁴.

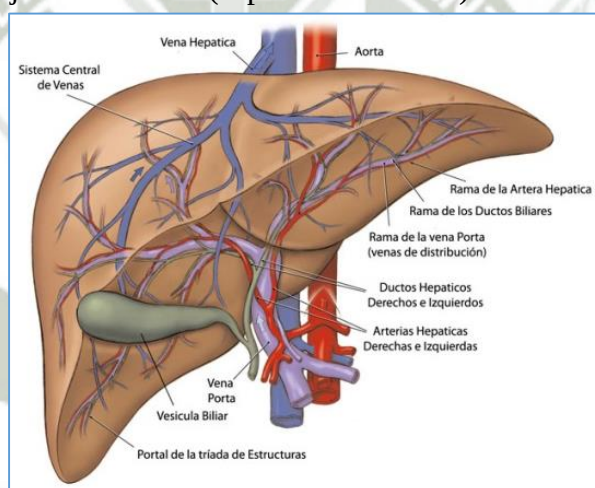


Figura 8: Hígado

1.4.1 SUPERFICIES HEPÁTICAS

Presenta dos superficie, una diafragmática y otra visceral.

- **Superficie diafragmática o cara anterosuperior:** Es convexa, se encuentra bajo del diafragma. Está dividida en dos porciones por el ligamento falciforme.
- **Superficie visceral o cara posteroinferior:** orientada hacia abajo, atrás y hacia la izquierda. Está cubierta por el peritoneo visceral²⁵.

1.4.2. LÓBULOS

El hígado está dividido en dos lóbulos anatómicos grandes (derecho e izquierdo) y en otros dos pequeños (lóbulo cuadrado y lóbulo caudado) ^{24,26}.

- **Lóbulo derecho:** es el más voluminoso situado a la derecha del ligamento falciforme
- **Lóbulo izquierdo:** situado a la izquierda del ligamento falciforme
- **Lóbulo cuadrado:** visible en la superficie inferior tiene una forma rectangular y está limitado por delante por el borde inferior, a la izquierda por la fisura para el ligamento redondo, por detrás por el hilio hepático y a la derecha por la fosa para la vesícula biliar.
- **Lóbulo caudado o Spiegel:** visible en la superficie posterior del hígado está limitado a la izquierda por la fisura para el ligamento venoso, por debajo por el hilio hepático y a la derecha por el surco para la vena cava inferior²⁵.

1.4.3. VASOS HEPÁTICOS

Los vasos conectados con el hígado son la vena porta, la arteria hepática. La vena porta y la arteria hepática asciende en el epiplón hasta el hilio del hígado donde se bifurcan. El hígado recibe el doble del aporte de sangre. Desde la arteria hepática se obtiene sangre oxigenada y de la vena portal hepática se recibe sangre no oxigenada que contiene nutrientes recién absorbidos durante la fase de absorción²⁷.

1.5. FISIOLÓGÍA DEL HÍGADO

El hígado es un órgano fundamental, además de tener funciones digestivas y excretoras que se relacionan con la formación de bilis, cumple funciones en los procesos metabólicos, regula la homeostasis calórica, desempeña una función importante en el metabolismo de proteínas, hormonas, vitaminas y xenobióticos y en el almacenamiento de metales y vitaminas y en la respuesta inmunitaria²⁸.

También, mantiene la concentración sanguínea de la glucosa (glucemia) y regula las concentraciones de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Además, tiene la propiedad de degradar o conjugar muchos fármacos o sustancias tóxicas; sin embargo, puede ser dañado por estas sustancias y sufrir lesiones²⁴.

Las principales funciones hepáticas se pueden clasificar de la siguiente forma: metabólicas, de almacenamiento, destoxificación e inmunológicas²⁹.

1.5.1. FUNCIONES METABÓLICAS

- **Síntesis de proteínas plasmáticas:** entre las proteínas plasmáticas producidas se encuentran: albumina, lipoproteínas, glucoproteínas, protrombina y fibrinógeno, globulinas no inmunes $\alpha\beta$.
Para la síntesis de estas proteínas el hígado utiliza aminoácidos que provienen de los alimentos (exógenas) o del músculo (endógenas); también utiliza aminoácidos que se sintetizan en la misma glándula.
- **Síntesis de ácidos grasos:** formación de lipoproteínas, fosfolípidos y colesterol.
- **En el metabolismo de los carbohidratos:** el hígado es importante para mantener las concentraciones de glucosa normal. Deposita glucosa en forma de glucógeno y forma glucosa a partir de los aminoácidos y lípidos.

1.5.2. FUNCIONES DE ALMACENAMIENTO

El hígado almacena sustancias útiles para el organismo. El almacenamiento de glucógeno permite proveer de glucosa durante ocho horas.

Varias vitaminas se captan desde la sangre y se almacenan en el hígado, estas vitaminas son las vitaminas liposolubles (A, D, K, E). Además, participa en el almacenamiento de hierro, sintetiza casi todas las proteínas que intervienen en el transporte del hierro, como la transferrina, la haptoglobina y la hemopexina^{24, 29}.

1.5.3. DESTOXIFICACIÓN

Se encarga de excretar fármacos y otros productos químicos que no son hidrosolubles. Las enzimas hepáticas reducen, hidrolizan, oxidan o desmetilan muchos fármacos o productos químicos antes de volverlos hidrosolubles. Los hepatocitos realizan este proceso en dos fases:

- La fase I u oxidación, comprende la hidroxilación y la carboxilación en un compuesto extraño. Estas reacciones se producen en el retículo endoplasmático liso y las mitocondrias de los hepatocitos. Comprende una

sería de reacciones bioquímicas con proteínas que reciben el nombre de citocromo P450.

- La fase II o conjugación, comprende la conjugación de la sustancia extraña de la fase I con el ácido glucurónico, glicina o taurina este proceso convierte el producto aún más hidrosoluble, de tal modo que pueda ser eliminado con facilidad por los riñones^{24, 29}.

1.5.4. FUNCIONES INMUNOLÓGICAS

El hígado tiene capacidad en la respuesta inmunitaria mediante las células de Kupffer. Estas células actúan como un filtro fagocitando y destruyendo antígenos y complejos antígeno – anticuerpo procedentes de la luz intestinal que acceden a él a través de la sangre portal. El hígado produce también otras proteínas a las que se les ha atribuido capacidad eliminadora de antígenos como la α feto proteína, que es producida normalmente en cantidades elevadas por el hígado fetal, se ha relacionado con la posibilidad de eliminación de antígenos presentes en el líquido amniótico y la circulación fetal; también, se le ha atribuido a esta proteína una capacidad antigénica frente al cáncer primitivo del hígado³⁰.

1.6. HISTOLOGÍA HEPÁTICA

El hígado es una malla compleja de células epiteliales penetrada y envaginadas por tejido conjuntivo de soporte y permeadas por un gran número de vasos sanguíneos que perfunden en el hígado con un flujo abundante de sangre, el cual proviene de la vena porta y las arterias hepáticas³¹.

1.6.1 CÉLULAS EPITELIALES (LOS HEPATOCITOS)

Son células poliédricas con grandes núcleos redondeados poseen una cromatina dispersa por su periferia y un núcleo prominente. El núcleo varía de tamaño esto es una característica celular inusual; hasta un 25 por 100 de los hepatocitos se ven células binucleadas.

El citoplasma varía según el estado nutricional del individuo cuando se está bien nutrido el hepatocito almacena buena cantidad de glucógeno y procesa grandes cantidades de lípidos. Por otro lado el citoplasma es eosinófilo debido a la cantidad

de mitocondrias y posee un fino granulo basófilo ocasionado por la gran cantidad de ribosomas libres y ER rugoso³¹.

Realizan las actividades metabólicas principales de este órgano, aunque ayudadas por otras células que poseen capacidades de almacenamiento, fagocitosis y de soporte mecánico. Los hepatocitos están dispuestos en placas anastomosadas, tapizadas por el endotelio y separadas entre sí por espacios vasculares²⁶.

También, pueden ser considerados como células exocrinas que secretan bilis hacia el aparato digestivo a través de conductos hepáticos y biliares, tienen también otra orientación metabólica hacia la sangre, con la que los hepatocitos mantienen una serie compleja de intercambios químicos²⁶.

1.6.2. CÉLULAS ENDOTELIALES

Son aplanadas, cada una de ellas con un núcleo central y unidas a las vecinas mediante complejos de unión. Los orificios forman grupos con un diámetro medio de 100 nm que permite el acceso directo del plasma a las bases de los hepatocitos²⁶.

1.6.3. CÉLULAS PERISINUSOIDALES (DE ITO)

Son menos numerosas, poseen un contorno irregular y están situadas dentro de las láminas hepáticas acunadas entre las bases de los hepatocitos, se caracteriza por presencia de numerosas vesículas lipídicas y filamentos de actina miosina. (Johnson y cols.1992). Estas células desempeñan una función importante es secretar componentes de la matriz de las láminas hepáticas incluyendo distintos tipos de colágeno y varios proteoglucanos. También, almacenan vitamina A liposoluble en sus vesículas lipídicas las cuales participan en la regeneración del hígado dañado.

Después del daño tóxico las células perisinusoidales desempeñan la función en la reorganización de los cordones hepáticos. Desde el punto de vista patológico, en la sustitución de los hepatocitos muertos por fibras de colágeno, como sucede en la cirrosis²⁶.

1.6.4 MACRÓFAGOS HEPÁTICOS (CÉLULAS ESTRELLADAS DE VON KUPFFER O CELULAS DE KUPFFER)

Se encuentra situado dentro de la luz sinusoidal en conexión con la superficie endotelial; derivan de la médula ósea y constituyen parte importante del sistema fagocítico mononuclear del organismo²⁶.

Las células de Kupffer junto al bazo participan en la eliminación de los eritrocitos desgastados y otras partículas de desecho de la circulación³¹.

Se trata de células irregulares con prolongaciones largas, tienen núcleos aplanados y el citoplasma contiene invaginaciones características de la membrana plasmática, los lisosomas son numerosos²⁶.

1.6.5. LINFOCITOS

Los linfocitos granulados grandes, están asociados con la superficie de los macrófagos hepáticos. Al parecer se trata en gran parte de células citolíticas naturales y constituyen una defensa contra los virus y agentes infecciosos²⁶.

1.6.6. LOBULACIÓN DEL HÍGADO

Según la descripción original en el cobayo adulto y algunos mamíferos, el hígado está conformado por una gran parte de grupos prismáticos de hepatocitos donde cada grupo o lobulillo suele ser hexagonal, mide alrededor de 1 mm de diámetro y está rodeado por tejido conjuntivo laxo. Dentro de esa unidad, los cordones hepáticos se disponen como radios de rueda alrededor de una vénula hepática terminal central (vénula centrolobulillar o vena central), tributaria de una vena hepática; sin embargo, en el hombre no suelen observarse esos lobulillos clásicos bien definidos.

1.6.7. VASOS SANGUÍNEOS DEL PARENQUIMA

Consiste en trabéculas de hepatocitos bien organizadas que en el adulto normalmente tienen una célula de espesor y están separadas por capilares sinusoidales²⁴.

1.6.8. SINUSOIDES HEPÁTICOS

Están revestidos por un delgado endotelio discontinuo el cual posee una lámina basal discontinua la discontinuidad del endotelio se debe a dos razones²⁴.

- Fenestraciones grandes sin diafragma en células endoteliales.
- Brechas amplias entre las células endoteliales contiguas.

Las sinusoides hepáticas difieren de otras sinusoides por un segundo tipo celular llamado macrófago sinusoidal estrellado, el cual es un componente habitual del revestimiento vascular.

1.6.9. ESTROMA DE TEJIDO CONJUNTIVO

Se continúa con la cápsula fibrosa de Glisson en la estroma conjuntiva hay vasos sanguíneos, nervios, vasos linfáticos y conductos biliares²⁴.

1.6.10. CAPILARES

Son los vasos que hay entre las trabéculas hepatocíticas.

1.6.11. ESPACIO PERISINUSOIDAL (ESPACIO DISSE)

Situado entre el endotelio sinusoidal y los hepatocitos; es el sitio de intercambio de materiales entre la sangre y los hepatocitos. Las microvellosidades aumentan hasta seis veces la extensión de la superficie para el intercambio de sustancias entre los hepatocitos y el plasma, las proteínas y lipoproteínas sintetizadas en el hepatocito se transfieren a la sangre a través del espacio perisinusoidal²⁴.

1.7. ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL HÍGADO

1.7.1. HEPATITIS VÍRICA AGUDA

Es una infección de las células hepáticas (hepatocitos) ocasionado por virus de la hepatitis (virus de la hepatitis A, B, C, D o E), la mayoría de casos originan una respuesta del hígado más linfocítica que neutrofílica; la principal característica del daño hepatocelular agudo es el aumento de los niveles de aminotransferasas que normalmente se sitúa más de ocho veces por encima de los límites^{32,33}.

1.7.2. HEPATITIS CRÓNICA

Se define como evidencia sintomática bioquímica o serológica de la prolongación o de la reaparición de una enfermedad hepática durante más de seis meses que es asociada a una inflamación o necrosis³⁴.

1.7.3. HEPATOPATÍAS ALCOHÓLICAS

El consumo excesivo de alcohol es la principal causa de hepatopatías, se considera la dosis mínima de alcohol, capaz de inducir lesión hepática en varones es de 80 g/día y en mujeres el umbral tóxico es menor 40 g/día ya que presentan un contenido menor de alcohol deshidrogenasa en la mucosa gástrica^{33, 35}.

1.7.4. ESTEATOSIS (HÍGADO GRASO)

Es la acumulación de triglicéridos en las células hepáticas en forma de vacuolas de tamaño variable. El hígado aumenta de tamaño, puede pesar entre 4 y 6 kg, de aspecto amarillo y grasiento^{33, 35}.

1.7.5. COLESTASIS

Es la obstrucción del árbol biliar impidiendo que la bilis formada en los hepatocitos alcance la luz duodenal, desde el punto de vista clínico se eleva gradualmente los niveles de las enzimas canaliculares principalmente fosfatasa alcalina y GGT donde la GGT alcanza valores anormales antes que la fosfatasa alcalina. Cuando existe una obstrucción extra hepática los niveles de ambas enzimas alcanzan valores entre 10 y 20 veces por encima de los límites^{32, 33}.

1.7.6. CIRROSIS

Representa el estado terminal de la hepatitis crónica y va acompañada de fibrosis; los niveles de alaninotransferasa disminuyen progresivamente y los niveles de aspartato aminotransferasa permanecen aproximadamente iguales³².

1.8. MECANISMOS DE INJURIA HEPÁTICA

La injuria hepática que da lugar a la hepatotoxicidad se puede producir ya sea de forma predecible o impredecible, es decir pueden depender de la toxicidad inherente del fármaco o por el nivel de resistencia del paciente. Adicionalmente los procesos de injuria impredecible pueden ser causados por reacciones de hipersensibilidad o debido a aberraciones en el metabolismo. Pero estos aspectos dicotómicos de características individuales y toxicidad propia inherente pueden ser solo simples definiciones. La capacidad para producir injurias puede ser vista como una línea donde en un extremo están ubicados los agentes tóxicos intrínsecos y en el otro están

agentes cuyos efectos se expresan dependiendo de las características del individuo, en el centro está un punto de equilibrio entre ambos promotores de injurias³⁶.

1.8.1. REACCIONES DE HEPATOTOXICIDAD IMPREDECIBLES:

Estas no están relacionadas con las dosis, tienen una latencia que va de pocos días hasta un año, y esta afecta a personas con cierta susceptibilidad. La afección puede ser causada por la síntesis de componente tóxicos que afectan a las proteínas de la célula, desencadenando en necrosis o idiosincrasia metabólica, aparición de complejos antigénicos droga y hapteno que activan a las células T, promoviendo reacciones inmunitarias que producen daño al hígado.

Gran parte de las drogas dañinas para el hígado producen efecto de forma impredecible. Las drogas que lleva a injuria por mecanismo idiosincráticos son ketoconazol, isoniazida, amiodarona, ácido valproico. Las que llevan a injuria por hipersensibilidad son difenilhidantoína, halotano, difenilhidantoína sulfonamidas, y sustancias con arsénico²⁴.

Los efectos sistémicos como erupciones en la piel, eosinofilia y fiebre están asociadas a hipersensibilidad por fármacos, la sensibilización puede durar hasta cinco semanas con respuestas a una nueva exposición reflejando la acción inmunológica presente. Un análisis del hígado por biopsia puede determinar si se trata de una reacción inflamatoria granulomatosa con supremacía de eosinófilos en la inflamación³⁶.

Contrariamente, las fallas en el proceso metabólico de los fármacos que genera la aparición de sustancias tóxicas, por lo general no genera algún tipo de manifestación alérgica, aunque tienen extensas fases de latencia, suelen aparecer tardíamente respuestas a nuevas exposiciones y pueden quedar resagos de daño mucho después de retirar el uso de la sustancia. El órgano hepático durante estas reacciones por lo general no presenta reacción inflamatoria, granulomatosa ni eosinofilia³⁷.

En animales experimentales no es posible reproducir injuria hepática impredecible, si aparecen formas de colestasis, citolisis o mixta, por el contrario la injuria hepática predecible es factible de reproducirse y se sabe que pueden desembocar en citolisis³⁶.

1.8.2. REACCIONES DE HEPATOTOXICIDAD PREDECIBLE O INTRÍNSECA:

La hepatotoxicidad que un compuesto, puede producir a través de sus componentes (predecible) frente al tipo de hepatotoxicidad por a reacciones de hipersensibilidad (impredicible), está mucho más relacionada con dosis administrada que con el metabolismo corporal³⁶.

El principal medicamento causante de hepatotoxicidad predecible es el acetaminofeno, le siguen el cobre, hierro o sustancias relacionadas a índole laboral como cloroformo, paraquat, bromobenceno, o componentes naturales como amanita falloides, amatoxina. En una gran variedad de hidrocarburos halogenados, el factor hepatotóxico tiene que ver con la longitud de la cadena, y el tipo de enlace para ambos es inversamente proporcional; sin embargo, es directamente proporcional para la cantidad de átomos de cloro³⁶.

En otras palabras, el radio de acción de las sustancias para producir efecto hepatotóxico va desde los que llevan intrínsecamente la toxicidad (individual o ligada a dosis) hasta los que tienen efecto tóxico idiosincrático (ligada a susceptibilidad del individuo) no relacionada a dosis³⁶.

1.9. ENZIMAS HEPÁTICAS

Las enzimas hepáticas se encuentran en el interior de los hepatocitos, las principales enzimas son las transaminasas (aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa), las fosfatasa alcalina, la gamma GT). Cuando se produce daño hepático estas enzimas pueden filtrarse al plasma y ser de utilidad para el diagnóstico del daño hepático³².

1.9.1. ASPARTATO AMINOTRANSFERASA O TRANSAMINASA GLUTÁMICO OXALACÉTICA (AST- TGO)

Esta enzima recibía el nombre Transaminasa Glutámico-Oxalacética, hasta la llegada de la nomenclatura sistemática. Cataliza una reacción de transaminación reversible. El carbono para la síntesis de Aspartato proviene de Oxalacetato, producido en el ciclo de Krebs o por Carboxilación de Piruvato. El Glutamato es el donador del grupo amino. La reacción, también, depende de Fosfato de Piridoxal³⁸.

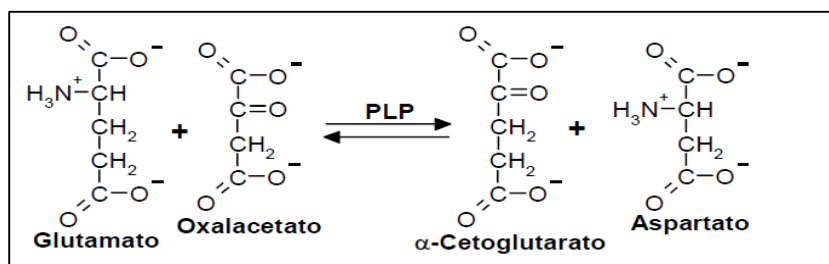


Figura 9: Reacción de Transaminación TGO

Se localiza en el citoplasma y en el mitocondria de los hepatocitos. La ASAT se encuentra también presente en el corazón, músculo esquelético en cantidades similares. La actividad en el suero de tanto la ASAT aumenta rápidamente durante el comienzo de una ictericia viral y permanece elevada por 1 a 2 semanas. En las hepatitis tóxicas también se eleva, pero la LDH se eleva mucho más como resultado de la necrosis celular hepática. En los pacientes con hepatitis crónica activa, también, se observan aumentos en la ASAT³⁸.

La necrosis hepática aguda se acompaña por incrementos significativos en las actividades tanto ASAT. El aumento en la actividad de la ALAT es generalmente mayor que el incremento en la actividad de la ASAT. En la cirrosis del hígado, las actividades de las transaminasas séricas generalmente no se elevan por encima de 300UI/L, sin importar la causa de la enfermedad cirrótica³⁸. Las elevaciones en la ASAT séricas observadas en el síndrome de Reye, son atribuibles directamente al daño hepático. También, se incrementa la actividad de las transaminasas en la actividad neoplásica.

En el diagnóstico de la enfermedad del hígado, la medición de los niveles séricos de ASAT es valiosa. Sin embargo, la mejor manera de usar estos análisis es junto con otros análisis de enzimas como la LDH y la creatina, y con otras mediciones de la función renal y hepática como la urea sanguínea, la creatinina, el amoníaco y la bilirrubina. Esto es importante cuando se establece el diagnóstico puesto que la están presentes en otros tejidos además del hígado y la actividad sérica de esta enzima puede reflejar una enfermedad orgánica en tejidos distintos al hígado³⁸.

1.9.2. ALANINA AMINOTRANSFERASA O TRANSAMINASA GLUTÁMICO PIRUVICA (ALT- GPT)

Antes de la nomenclatura sistemática, esta enzima se denominaba Transaminasa Glutámico-Pirúvica (TGP), nombre con el cual se designa todavía, sobre todo en clínica.

La síntesis de alanina se lleva a cabo mediante una reacción de transferencia de un grupo amino, que depende de la enzima alanina aminotransferasa. El piruvato se convierte en alanina aceptando el grupo α - amino del glutamato. La reacción es reversible y requiere de fosfato de piridoxal como coenzima³⁸.

La alanina sintetizada es liberada a la circulación para llegar al hígado. Las células hepáticas captan la alanina y la transforman en piruvato, mediante la reacción inversa, catalizada por la enzima hepática³⁸.

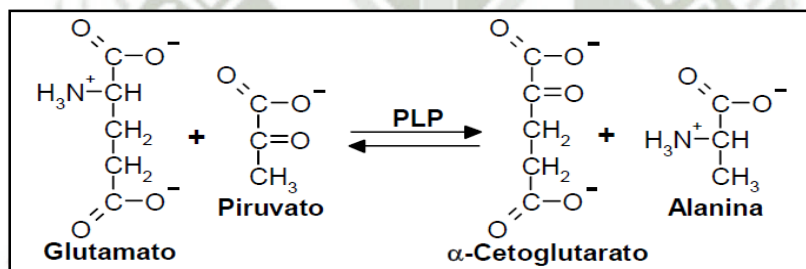


Figura 10: Reacción de Transaminación TGP

1.9.3. GAMMA GLUTAMILTRANSFERASA (GGT)

La GGT cataliza la transferencia del grupo γ glutamilo desde un péptido u otro compuesto a otros péptidos así misma a aminoácidos o al agua; la enzima generalmente está unida a la membrana plasmática de los hepatocitos en el lado canalicular como también en los túbulos renales proximales, las células epiteliales intestinales y las de la próstata.

No se detecta GGT en hueso ni en músculo esquelético o cardiaco siendo el hígado la mayor fuente de actividad, la GGT generalmente tiene una vida media entre 7 y 10 días; cuando existe enfermedad hepática alcohólica la vida media aumenta hasta 28 días.

1.9.4 CAUSAS DE LA ELEVACIÓN DE LAS AMINOTRANSFERASAS

La enfermedad hepática es la causa más importante del aumento de la actividad de ALT y una causa común de aumento de la actividad de AST³⁹.

Tabla 2: Factores que afectan la actividad de AST y ALT además de lesión hepática

FACTOR	AST	ALT	COMENTARIOS
Raza/ Sexo	15% más alto en hombres afroamericanos		En adultos, las actividades de AST y ALT son significativamente mayores en hombres que mujeres.
IMC	40 -50% más alto con alto IMC.	40-50% más alto con alto IMC.	Relación directa entre peso y ALT, AST.
Ejercicio	Aumento de 3 veces con ejercicio extremo.	20% menos en individuos que hacen ejercicios normalmente respecto de aquellos que no practican o lo hacen de manera extenuante.	Efecto del ejercicio se ha visto predominante en hombres: diferencias mínimas en mujeres (<10%); las enzimas aumentan más con el entrenamiento.

Fuente: Dufour RD (2005)

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

La ejecución del presente trabajo de investigación se realizó en el bioterio y laboratorio de la Universidad Católica de Santa María y en laboratorios de la Universidad San Agustín entre junio y agosto del 2016.

2.1. TIPO DE ESTUDIO

Es una investigación de tipo experimental y prospectiva.

2.2. UNIDADES DE ESTUDIO

En la investigación se empleó una muestra constituida por 20 ratas machos de la especie *Mus musculus*, de tres meses de edad con pesos promedio de 300 a 340g.

2.3. MATERIAL

2.3.1 MATERIAL DE ESTUDIO

Phyllanthus niruri (chancapiedra).

2.3.2 MATERIAL BIOLÓGICO

El material biológico fue constituido por el suero sanguíneo y las muestras de hígado de cada animal de experimentación.

2.4. Criterios de selección

Criterios de inclusión:

- Ratas de 3 meses de vida.
- Ratas de raza *Mus musculus*.
- Que tenga pesos entre 300-340g.
- Animales machos

Criterios de exclusión:

- Ratas de menores de 3 meses de vida o mayores de 3 meses.
- Ratas que no sean de raza *Mus musculus*.
- Que no tenga pesos entre 300-340g.
- Animales hembras.

2.5 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPO

2.5.1 Materiales de Vidrio

- Baguetas (Boeco)
- Fiolas de 25mL(Pyrex)
- Luna de reloj
- Pipetas de 5mL,10mL (Pyrex)
- Probeta (Pyrex)
- Tubos de ensayo
- Vaso de precipitado de 100mL, 250mL(Pyrex)

2.5.2 Equipos y Aparatos

- Balanza analítica (Modelo A-160 Denver Instrument Company)
- Balanza para pesar ratas
- Equipo de Soxhlet
- Martillo de Thomas

- Microscopio
- Rotavapor (BUCHI)

2.5.3 Material Anexo

- Algodón
- Barbijos
- Capilares
- Espátula
- Guantes quirúrgicos
- Jaula metálica
- Jeringas hipodérmicas 1mL
- Mortero
- Papel filtro
- Recolector de orina
- Soporte universal

2.5.4 Reactivos

- Agua destilada
- Etanol al 96 % (DELTAQUIMICA)
- Formol 10 % (DELTAQUIMICA)
- Sustrato (TGO o TGP)
- Na(OH) 0,4mol/L
- Reactivo 2,4-DNPH

2.5.5 Producto farmacéutico

- Paracetamol (GLAXO SMITH KLINE)
- Silimarina (NATURGEN)

2.6 MÉTODOLÓGÍA EXPERIMENTAL

2.6.1 MÉTODO FITOQUÍMICO

2.6.1.1 MATERIAL VEGETAL

Las hojas de *Phyllanthus niruri* fueron obtenidas desde la ciudad de Pucallpa, se escogieron las hojas en buen estado, dejando de lado las que presentaban rupturas, manchas y material extraño. Las hojas ya secas de chancapiedra se micropulverizaron en un molino de martillo, empleándose el tamiz n° 000. Luego se almacenó el polvo en una botella de color caramelo y refrigerado a 4 °C hasta el día de su utilización.



Figura 11: Trituración del material vegetal

2.6.1.2 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO *Phyllanthus niruri*

Elaboración de los extractos de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra):

El procedimiento que se utilizó fue un método de extracción mediante un equipo Soxhlet y se empleó como solvente una solución de alcohol etílico al 96% (etanólico). La relación fue de 10g de pulverizado de hojas de chancapiedra con 200mL de solvente.

Fundamento:

La extracción sólido-líquido se usa frecuentemente para extraer un producto natural a partir de una fuente natural, se escoge un solvente que selectivamente disuelva el compuesto de interés, pero que deje los sólidos insolubles no deseados en la fuente natural.

El equipo de extracción consiste en tres partes: el refrigerante, el extractor propiamente dicho, que posee un sifón que acciona automáticamente e intermitente y, el recipiente colector, donde se recibe o deposita la muestra. El mecanismo es el siguiente: al calentarse el solvente que se encuentra en el recipiente colector, se evapora ascendiendo los vapores por el tubo lateral, se condensan en el refrigerante y caen sobre la muestra que se encuentra en la cámara de extracción en un dedal o paquetito. El disolvente se va acumulando hasta que su nivel sobrepase el tubo sifón, el cual se acciona y transfiere el solvente cargado de materia al recipiente colector. Nuevamente el solvente vuelve a calentarse y evaporarse, ascendiendo por el tubo lateral quedando depositado el extracto etéreo en el recipiente colector. El proceso se repite durante el tiempo que dure la extracción en forma automática e intermitente y así la muestra es sometida constantemente a la acción del solvente.

2.6.1.3 MÉTODO DE CONCENTRACIÓN (VACÍO)

Procedimiento:

Una vez obtenido el extracto con las fracciones activas se procedió a evaporar el solvente mediante el uso de un rotavapor, la solución obtenida se almacenó en botella de vidrio color caramelo a 4 °C hasta su utilización.

2.6.1.4 MÉTODO GRAVIMÉTRICO DETERMINACIÓN DEL EXTRACTO SECO

Fundamento

El método gravimétrico es usado para la determinación del porcentaje de rendimiento de extracción %RE.

El método se fundamenta en la determinación de la diferencia de peso al evaporar todo el solvente del extracto obtenido con el peso inicial de la muestra por el 100%.

$$\%RE = \frac{\text{Peso del extracto seco}}{\text{peso de la planta seca}} \times 100$$

Procedimiento

Para la determinación del porcentaje de rendimiento se pesó 10g de la planta para cada extracción por el método de Soxhlet posteriormente se pesó un balón previamente tarado y se colocó el extracto obtenido, para su evaporación mediante el equipo de rotavapor a una temperatura de 78°C (punto de ebullición del etanol), luego se llevó el balón a estufa a una temperatura de 40°C para la eliminación total del solvente hasta la aparición del residuo con un peso constante, finalmente se procedió a determinar el porcentaje de rendimiento del extracto seco.

2.6.2 MÉTODOS BIOLÓGICOS

2.6.2.1 ESTANDARIZACIÓN DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES

Se emplearon un lote de 20 animales machos, teniendo un régimen alimenticio diaria de aproximadamente 30g de pelex del concentrado para mantenimiento TOMASINO® y agua *ad libitum*.

Luego de un período de estandarización de 7 días a estas condiciones.

2.6.2.2 FORMACIÓN DE GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN

Los animales fueron divididos en 4 grupos de 5 animales cada uno.

GRUPO BLANCO: Constituido por 5 ratas, que recibieron agua como placebo por vía orogástrica en lugar del extracto de hojas de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) durante los 21 días del estudio.

GRUPO CONTROL NEGATIVO: Constituido por 5 ratas, las cuales se les indujo daño hepático mediante la administración vía intraperitoneal de 200mg/kg de paracetamol durante 5 días. A partir del día 6 hasta el 21 recibieron por vía orogástrica un placebo en lugar de tratamiento constituido por agua.

Cumplido el tiempo del ensayo, se procedió con su sacrificio extrayéndose sangre para determinar el perfil hepático y el hígado para el estudio anatomopatológico.

GRUPO EXPERIMENTAL: Constituido por 5 ratas, a las cuales se les indujo daño hepático mediante la administración vía intraperitoneal de 200mg/kg de paracetamol durante 5 días. A partir del día 6 hasta el día 21 recibieron por vía orogástrica un tratamiento constituido por 160mg/kg de peso de extracto etanólico de hojas de chancapiedra (*Phyllanthus niruri*) por vía orogástrica.

Cumplido el tiempo del ensayo, se procedió con su sacrificio, extrayéndose sangre para determinar el perfil hepático y el hígado para el estudio anatomopatológico.

GRUPO CONTROL POSITIVO: Conformado igualmente por 5 animales, a las cuales se les indujo daño hepático mediante la administración por vía intraperitoneal de 200mg/Kg de paracetamol durante 5 días. A partir del día 6 hasta el día 21 recibieron por vía orogástrica un tratamiento constituido por 150mg/kg de peso de silimarina por vía orogástrica.

Cumplido el tiempo del ensayo, se procedió con su sacrificio, se extrajo sangre para determinar el perfil hepático y el hígado para el estudio anatomopatológico.

2.6.2.3 TÉCNICA PARA LA INDUCCIÓN DE DAÑO HEPÁTICO EN LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

Los 5 primeros días de experimentación se les administró al grupo control positivo, grupo experimental y grupo control negativo, 200mg/kg de paracetamol lo que indujo daño hepático que fue revertida por la administración de silimarina empleada como control.

Fundamento: El paracetamol presenta efectos tóxicos dependientes de la dosis, causando necrosis de los hepatocitos predominantemente en la región centrolobulillar. Las bases de la toxicidad por paracetamol están bien estudiadas. Al ingerir dosis grandes de la droga, el citocromo P450 (CYP2E1, CYP1A2 y CYP3A) genera cantidades de NAPQI (N-acetil-p-benzoquinonemina) capaces de agotar las reservas hepáticas de glutatión. Este metabolito tóxico se acumula fijándose por enlace covalente a aminoácidos de enzimas y otras proteínas hepáticas a las cuales inactiva, produciendo radicales libres, desarrollando necrosis hepática.

2.6.2.4 EXTRACCIÓN DE SANGRE Y ANÁLISIS DE LABORATORIO

Se determinó los niveles basales del perfil hepático, para ello se sometió a las unidades experimentales a previo ayuno de 12 horas, posteriormente se extrajo la muestra de sangre del ojo, almacenándola en tubos Eppendorf. El mismo procedimiento se realizó después de inducir daño hepático para determinar el perfil hepático.



Figura 12: Obtención de sangre de las ratas para la determinación de TGO TGP TGG



Figura 13: Muestras de sangre para determinar TGO TGP GGT

2.6.2.5 DETERMINACIÓN DE ENZIMAS HEPÁTICAS EN SANGRE

Se evaluaron los niveles de transaminasa glutámico-oxalacética (TGO), transaminasa glutámico pirúvica (TGP) y gamma glutamil transpeptidasa (GGT) al inicio después de la inducción de la hepatotoxicidad y al final del tratamiento.

Método

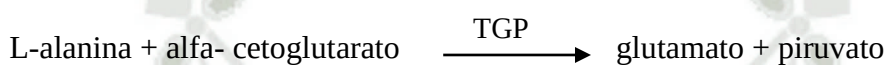
Método colorimétrico según Reitman y Frankel para la determinación de la transaminasa glutámica-oxalacética (TGO) y transaminasas glutámica pirúvica (TGP) en suero.

Fundamento del método:

La TGO cataliza la siguiente reacción:



La TGP cataliza la siguiente reacción:



El piruvato o el oxalacetato formado, reacciona con la 2,4-dinitrofenilhidrazina produciendo en medio alcalino, un compuesto coloreado que se mide a 505 nm.

Preparación de reactivos y procedimiento:

Sustrato TGO: solución conteniendo 100mmol/L de L-aspartato y 2mmol/L de alfa-cetoglutarato en buffer fosfato 100mmol, pH 7,4.

Reactivo 2,4-DNFH: solución conteniendo 1mmol/L de 2,4 DNFH en HCl 1mmol/L listo para usar.

Diluyente para enzimas concentrado: solución de Na(OH) 0,4mol/L, preparar diluyendo a 1 litro con agua destilada según las instrucciones del rótulo. Es estable a temperatura ambiente. Estándar listo para usar.

Tabla 3: Método para la determinación de la transaminasas (TGO y TGP).

En dos tubos de fotolorímetro marcados B (blanco) y D (desconocido) colocar		
	B	D
Sustrato (TGO o TGP)	100μL	100μL
Incubar 5 minutos a 37 °C en baño maría y agregar:		
Suero	-	20μL
Agua	20μL	
Incubar 30 minutos a 37 °C en baño maría y agregar:		
Reactivo de color (2,4-DNFH)	100μl	100μL
Incubar 10 minutos a 37 °C en baño maría, luego agregar:		
NaOH 0,4mol/L	1mL	1mL
Mezclar por inversión y retirar del baño. Después de 2 minutos, leer en fotolorímetro con filtro verde (500-550nm) en espectrofotómetro a 505nm, llevando el aparato a cero D.O con agua destilada.		

Cálculo de los resultados empleando Tablas de conversión

Este cálculo se basa en la absorción del cromógeno y los valores de actividad enzimática pueden deducirse de las Tablas de conversión, siempre que las lecturas se efectúen en cubetas de caras paralelas y los aparatos que cumplan las siguientes condiciones de medida:

- Longitud de onda : 505nm
- Semiancho de banda : ≤ 8 nm
- Espesor de cubeta : 1,00 cm

2.6.2.6 DETERMINACIÓN DE Gamma-glutamyltranspeptidasa (GGT)

Método

Se usó el método Wiener para la determinación de Gamma-glutamyltranspeptidasa en suero.

Fundamento

La Gamma-glutamyltranspeptidasa es una carboxipeptidasa que cataliza la siguiente reacción:



La actividad enzimática se mide leyendo la velocidad de color amarillo de la p-nitroanilina a 405nm.

Preparación de reactivos

Buffer: Solución de glicilglicina 60mmol/L tamponada con buffer tris 0.1M para ph 8.2 (a 25°C).

Sustrato: Tubos conteniendo 12umoles de Gammaglutamiltranspeptidasa p-nitroanilina y estabilizantes. Cada tubo de sustrato permite efectuar una determinada cinética.

Tabla 4: Método para la determinación de la transaminasa (GGT)

En una cubeta mantenida a la temperatura seleccionada colocar :	
Sustrato(reconstituido)	3mL
Incubar unos 3 minutos. Luego agregar:	
Muestra	200uL
Mezclar rápidamente y proseguir de inmediato la incubación (3min). Ajustar la absorbancia a un valor de referencia (0.200 o 0.300 D.O). Registrar la absorbancia a los 1,2 y 3 min. Determinar la diferencia promedio de absorbancia restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.	

Cálculo:

$$\text{Gammaglutamiltranspeptidasa(UI/L)} = \text{AA/Min} \times 1.616$$

EXAMEN ANATOMOPATOLÓGICO POR MÉTODO DE HARRIS

a) Obtención de la muestra

Al culminar el ensayo, las ratas fueron sacrificadas mediante dislocación cervical por ser el método menos cruento en manos adiestradas. Luego se procedió a la extracción del hígado, observándose sus características macroscópicas como color, aspecto, consistencia, forma y peso.

Diagnóstico anátomo-patológico

El diagnóstico anátomo-patológico de las muestras obtenidas del hígado se realizó en el laboratorio de Anatomía Patológica de la Universidad Nacional de San Agustín.

PRUEBAS ESTADÍSTICAS UTILIZADAS

ANOVA

EL análisis de varianza sirve para comparar varias medias, y a diferencia de la prueba T, ANOVA, es utilizado para comparar varios grupos a la vez, y ver si existen diferencias significativas entre ellos.

Si al realizar la prueba se obtiene una significancia baja, es decir, menos a 0.05 quiere decir que hay una diferencia significativa

PRUEBA TUKEY

Tukey es un test de comparaciones múltiples. Permite la comparación de las medias de la t niveles de un factor después de haber rechazado la Hipótesis de igualdad de medias mediante la técnica ANOVA. Es, por lo tanto, un test que trata de perfilar, especificar, una Hipótesis alternativa genérica como la de cualquiera de los Test ANOVA Se calculan todas las diferencias de medias muestrales entre los t niveles del factor estudiado. Las diferencias que estén por encima de ese umbral se considerarán diferencias significativas, las que no lo estén se considerarán diferencias no significativas

CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar el efecto hepatoprotector de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) en animales de experimentación, debido a que los mecanismos de toxicidad hepática son múltiples y existe ausencia de eficacia en el tratamiento farmacológico, siendo la medicina tradicional una alternativa terapéutica.

Phyllanthus niruri (chancapiedra), es una especie de la familia *Euphorbiaceae* se ha utilizado como hipoglicemiente, antiviral, contra la disentería, influenza, vaginitis, como diurético y para eliminar cálculos renales⁴⁰. Este producto natural, contiene en sus hojas concentraciones de alcaloides, flavonoides, fenoles, terpenos⁴¹ y lignanos como filantina y la hipofilantina.

Para la realización de esta investigación, se utilizaron hojas, tallo y raíz los cuales fueron llevados a un proceso de desecación luego se micropulverizaron en un molino de martillo. El polvo obtenido se almacena en una botella de color caramelo hasta el día de su utilización.

Se procedió a la obtención del extracto etanólico de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) mediante el método de extracción (Soxhelt), por ser una técnica que extrae un amplio rango de principios, evitando los inconvenientes principales de la extracción como son tiempo y cantidad de disolvente consumido⁴², este

procedimiento se realizó en el laboratorio H-103 de la Universidad Católica de Santa María.

Los resultados que se observan en la Tabla 5 son las características organolépticas del extracto etanólico de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra), siendo su aspecto líquido de color verde oscuro por la presencia de la clorofila que es un pigmento verde las plantas, sabor amargo y olor característico de la planta. Se debe de indicar que los parámetros organolépticos no tienen estándares de referencia con los cuales se puede comparar, ya que estos tienen sus propias características dependiendo de cada especie.

Tabla 5 Características organolépticas del extracto etanólico de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra).

PARÁMETROS	EXTRACTO
Aspecto	Líquido
Color	Verde oscuro
Olor	Sui géneris
Sabor	Amargo

3.1. MÉTODO GRAVIMÉTRICO DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DEL EXTRACTO

Terminada la extracción de los principios activos por el método de Soxhlet, se llevó a concentración en el rotavapor hasta la obtención de un soluto se determinó su % de rendimiento realizando los cálculos porcentuales basados en la diferencia de pesos.

El extracto etanólico de la muestra de *Phyllanthus niruri* por el método de Soxhlet mostró un rendimiento de 12,6%, 14,3% y 15,6% donde alcanzó mayor porcentaje en la última extracción como se evidencia en la Tabla 6.

Tabla 6: Rendimiento del extracto de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra).

SOLVENTE	PESO DEL EXTRACTO (g)	PESO DE LA PLANTA SECA (g)	PORCENTAJE DE RENDIMIENTO (%)
ETANOL 96%	1,26	10	12,6
ETANOL 96%	1,43	10	14,3
ETANOL 96%	1,56	10	15,6
Promedio			14,2
Desviación estándar			1,5044

3.2. PREPARACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Una vez obtenido el extracto se procedió a la formación de los grupos de trabajo. Se formaron cuatro grupos de 5 animales de experimentación, cuyos pesos oscilaron entre 300-340g, el promedio de peso del grupo blanco fue 309.8g, del grupo control negativo fue 319.6g del grupo experimental tratado con *Phyllanthus niruri* 318.6g y del grupo control positivo tratado con silimarina 316.4g y sus respectivas desviaciones estándar se detallan en la Tabla 7.

Los animales fueron identificados con marcas en la cabeza, cola, dorso, pata anterior derecha (pad), pata posterior derecha (ppd).

Con la prueba de ANOVA aplicada a los promedios de los grupos: blanco, control negativo, experimental y control positivo. Se demuestra que fueron homogéneos hallándose un valor de $p=0,739$ el cual indica que no obtuvieron diferencias estadísticas significativas $p>0.05$

Tabla 7: Relación de los grupos formados

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	BLANCO	CONTROL NEGATIVO	GRUPO EXPERIMENTAL	CONTROL POSITIVO
	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)
Cabeza	300	308	310	309
Cola	304	334	310	307
Dorso	308	327	310	310
Pad	310	311	335	325
Ppd	327	318	328	331
Promedio	309.8	319.6	318.6	316.4
Desviación estándar	10,35	10,87	12,03	10,85

3.3. EVALUACIÓN BASAL DE NIVELES DE TRANSAMINASAS EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.

El comportamiento de los niveles de transaminasas evaluados en su etapa basal muestra valores dentro de los límites de referencia establecidos para la especie TGO (30UI/L), TGP (15UI/L), GGT (10UI/L) según Notwark 1991. Al analizar los niveles de transaminasas entre los grupos experimentales de la TGO, TGP, GGT se aprecia que no existen diferencias estadísticas significativas, estos resultados indican el adecuado estado de salud de los animales al inicio del estudio y la adecuada distribución de los grupos experimentales. Según Tablas 8, 9 y 10

- **Niveles de transaminasa glutámico-oxalacética (TGO)**

Es una enzima utilizada en el estudio de las enfermedades hepáticas. No obstante, se encuentra presente en células de diversos tejidos, tales como el músculo esquelético y cardíaco, riñón, eritrocitos y hepatocitos, entre otros. Su elevación está generalmente relacionada a enfermedades hepáticas⁴³.

El análisis bioquímico de TGO en la etapa basal hallados en este trabajo se encuentra dentro de los límites normales Notwark 1991 (30UI/L) ⁴⁴.

Se encontró que los parámetros fueron similares a los hallados por Yobera en su trabajo de investigación efecto protector del extracto acuoso de las hojas de *Peumus*

boldus en la toxicidad inducida por izoniazida donde encontró valores de TGO en su etapa basal con promedios de (32.83 UI/L) ⁴⁵.

Tabla 8: Nivel sérico de TGO en UI/L

Etapas (Tiempo en Días)	Descripción	Nivel sérico de TGO en UI/L			
		Grupos de estudio			
		Blanco	Control (-)	Control (+)	Experimental
Basal (Día 0)	R1	31.83	33.12	31.09	30.53
	R2	32.61	34.17	32.03	31.87
	R3	29.39	29.83	27.97	26.13
	R4	30.17	30.88	28.95	27.52
	R5	31.25	32.26	30.24	29.23
	MEDIA ± D. E.	31.05 ± 1.29	32.05 ± 1.73	30.06 ± 1.62	29.06 ± 2.29

En la Tabla 8 se observa los promedios del nivel sérico de TGO en la etapa basal para el grupo blanco fue 31.05±1.29, del grupo control negativo 32.05 ± 1.73UI/L, control positivo 30.06 ± 1.62UI/L y experimental 29.06 ± 2.29UI/L dichos valores se encuentran dentro de los límites normales (30UI/L).

Los valores basales de TGO fueron similares en todos los grupos, hallándose un valor de $p=0,569$ el cual indica que no obtuvieron diferencias estadísticas significativas $p>0.05$

- **Niveles de transaminasa glutámico-pirúvica (TGP)**

La TGP se encuentra en el citoplasma de los hepatocitos y utilizan en clínica para el diagnóstico y estudio de enfermedades hepáticas. Está presente en su mayor concentración en el hígado es una prueba más sensible y específica de daño hepatocelular⁴⁶.

En las lesiones hepáticas estos valores pueden elevarse hasta 50 veces de los límites normales, esta prueba se analiza con los valores de (TGO) para confirmar el grado de lesión hepática⁴⁷.

Nuestros valores en la etapa basal se contrastaron con el trabajo realizado por Guevara Vásquez et al. En su investigación titulada efecto de la infusión de *petroselinum sativum* sobre la insuficiencia hepática inducida donde se encontraron valores basales de TGP mayores (26.32UI/L) ⁴⁸.

El examen bioquímico para la TGP en la etapa basal se encontró dentro de los límites normales según Notwark 1991 (UI/L) ⁴⁴.

La Tabla 9 muestra los promedios del nivel sérico TGP en la etapa inicial para el grupo blanco fue 15.9 ± 2.35 , del grupo control negativo 17.04 ± 3.52 UI/L, control positivo 16.34 ± 2.18 UI/L y experimental 18.24 ± 2.57 UI/L.

Al realizar el examen para la TGP en la etapa basal se encontró similitud en todos los valores de los grupos experimentales hallándose un valor de $p=0,308$ el cual indica que no obtuvieron diferencias estadísticas significativas $p>0.05$

Tabla 9: Nivel sérico de TGP en UI/L

Etapas (Tiempo en días)	Descripción	Nivel sérico de TGP en UI/L			
		Grupos de estudio			
		Blanco	Control (-)	Control (+)	Experimental
Basal (Día 0)	R1	14.08	17.14	19.03	16.54
	R2	14.96	19.36	13.57	18.35
	R3	16.03	21.41	14.89	19.92
	R4	16.87	12.59	16.43	21.42
	R5	17.72	14.73	17.76	14.98
	MEDIA $\pm$ D. E.	15.93 ± 1.45	17.04 ± 3.52	16.34 ± 2.18	18.24 ± 2.57

- **Niveles de gamma glutamil transpeptidasa (GGT)**

Es una enzima microsomal no se detecta en cantidades apreciables en el hueso ni en el musculo esquelético o cardiaco, y por eso es útil para confirmar su elevación en el tejido hepático. Su evaluación sirve para indicar la progresión de enfermedad hepática y de metástasis^{47, 49}.

Tabla 10: Nivel sérico de GGT en UI/L

Etapas	Descripción	Nivel sérico de GGT en UI/L			
		Grupos de estudio			
(Tiempo en días)		Blanco	Control (-)	Control (+)	Experimental
Basal (Día 0)	R1	12.95	13.61	16.43	18.35
	R2	13.80	14.81	17.57	19.55
	R3	14.82	15.95	18.68	20.72
	R4	15.64	11.05	13.92	15.68
	R5	16.45	12.24	15.07	16.90
	MEDIA ± D. E.	14.73 ± 1.4	13.53 ± 1.96	16.34 ± 1.9	18.24 ± 2.01

En nuestro estudio los niveles basales de GGT se encuentran elevados, esto probablemente se deba a las distintas condiciones de trabajo, la especie de los animales y el sexo³³ se ha reportado estudios como el realizado por Chávez J en su trabajo denominado efecto hepatoprotector de la especie Gamachaeta donde encontró niveles de GGT de (5,04UI/L).

En la Tabla 10 se evidencia los promedios del nivel sérico GGT para el grupo blanco fue 14.73 ± 1.40 , del grupo control negativo 13.53 ± 1.96 UI/L, control positivo 16.34 ± 1.90 UI/L y experimental 18.24 ± 2.01 UI/L.

Al realizar el examen para la GGT en la etapa basal se encontró similitud en todos los valores de los grupos experimentales hallándose un valor de $p=0,840$ el cual indica que no obtuvieron diferencias estadísticas significativas $p>0.05$

3.4. INDUCCIÓN DE DAÑO HEPÁTICO EN LA UNIDADES EXPERIMENTALES

Durante los cinco primeros días de experimentación se le administró 200mg/Kg de paracetamol al grupo control negativo, positivo y experimental para la inducción de daño hepático. La inducción de daño hepático con paracetamol incremento los niveles de transaminasas (TGO, TGP, GGT). Estos cambios nos indican el efecto toxico del paracetamol donde al ingerir dosis altas del medicamento el citocromo P450 (CYP2E1, CYP1A2 y CYP3A) genera cantidades de NAPQI que son capaces de agotar las reservas hepáticas de glutatión. Este metabolito ejerce su toxicidad al unirse de forma covalente a proteínas y produciendo radicales libres, desarrollando necrosis hepática⁴⁹. Los resultados se evidencian en las Tablas 11, 12,13.

El tratamiento con paracetamol a dosis 200mg/kg indujo un incremento de las transaminasas dado que se han reportado estudios como Daiana Silva Davila y col, el cual indujo al estrés oxidativo, a nivel hepático, con paracetamol a dosis de 200mg/kg y 300mg/kg produciendo la liberación del contenido enzimático a la sangre causado por el daño celular⁵⁰.

En las Tablas 11, 12 y 13 se muestran los valores de las pruebas bioquímicas de transaminasas evaluadas para cada grupo experimental después de haber pasado 5 días de inducción con el agente hepatotóxico (paracetamol a dosis de 200mg/kg) al finalizar la etapa de inducción de daño hepático los parámetros bioquímicos se encontraron por encima de los limites, la causa más relevante de los niveles anormales de transaminasas es el daño en los hepatocitos; cuando se produce un daño hepático estas enzimas se filtran al plasma.

Los resultados expresados en la Tabla 11 muestran que los niveles séricos de TGO incrementaron hasta $87.14 \pm 2.91\text{UI/L}$, $92.17 \pm 3.79\text{UI/L}$ y $88.16 \pm 4.04\text{UI/L}$ en los grupos; negativo, positivo y experimental debido a que se indujo daño hepático con 200mg/kg.

Tabla 11: Nivel sérico de TGO en UI/L después de la inducción de daño hepático con paracetamol

ETAPA	Nivel sérico de TGO en UI/L				
	Grupos de estudio				
Etapa de Inducción 5 días (Día 5)	Inducido con	Agua	paracetamol	paracetamol	Paracetamol
	R1	33.69	88.87	94.51	85.40
	R2	35.29	90.64	96.69	88.70
	R3	28.71	83.36	87.31	90.69
	R4	30.31	85.13	89.58	93.04
	R5	32.26	87.70	92.74	82.96
	MEDIA $\pm$ D. E.	32.05 $\pm$ 2.62	87.14 $\pm$ 2.91	92.17 $\pm$ 3.76	88.16 $\pm$ 4.04

Tabla 12: Nivel sérico de TGP en UI/L después de la inducción de daño hepático con paracetamol

Etapa de Inducción 5 días (Día 5)	Inducido con	Agua	paracetamol	paracetamol	paracetamol
	R1	19.11	83.70	100.60	94.08
	R2	20.77	92.19	107.84	104.93
	R3	13.63	102.01	114.85	114.50
	R4	15.36	110.55	84.75	123.56
	R5	17.34	118.70	92.05	84.64
	MEDIA $\pm$ D. E.	17.24 $\pm$ 2.85	101.43 $\pm$ 13.98	100.02 $\pm$ 12.02	104.34 $\pm$ 15.54

Los resultados observados en la Tabla 13 indican que hubo un aumento de los niveles de GGT hasta 54.91 ± 4.98 UI/L, 59.53 ± 6.77 UI/L y 55.92 ± 6.54 UI/L en el grupo control negativo, positivo y experimental respectivamente. Estos resultados son comparables con Guevara et al. Quienes realizaron un trabajo de hepatoprotección del perejil frente al paracetamol durante 3 días concluyendo que se provoca daño hepático a esa dosis ⁴⁸.

Tabla 13: Nivel sérico de GGT en UI/L después de la inducción de daño hepático con paracetamol

ETAPA	Nivel sérico de GGT en UI/L				
	Grupos de estudio				
Etapa de Inducción 5 días (Día 5)	Inducido con	Agua	paracetamol	paracetamol	paracetamol
	R1	15.76	48.57	50.93	47.61
	R2	16.77	51.59	55.04	51.58
	R3	12.43	55.24	59.88	56.25
	R4	13.48	58.13	63.93	60.18
	R5	14.72	61.03	67.87	63.99
	MEDIA $\pm$ D. E.	14.63 $\pm$ 1.73	54.91 $\pm$ 4.98	59.53 $\pm$ 6.77	55.92 $\pm$ 6.54

En resumen los datos obtenidos después de haber inducido daño hepático podemos decir que la intoxicación con paracetamol a la dosis de 200mg/kg en animales de experimentación evidencia un aumento de la actividad enzimática de TGO, TGP y GGT.

3.5. ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO

En la administración del tratamiento se demostró que los animales de experimentación que recibieron tratamiento con el extracto etanólico de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) (160mg/kg) presentaron una disminución de los valores promedio de TGO (38 ± 2.9) TGP (17.5 ± 1.7), GGT (18.6 ± 1.5). Según Tablas 14, 15 y 16 se demostró que dichos resultados presentaron acción hepatoprotectora en daño hepático concordando con los autores Arroyo J et. al (2012)², Coaquira y Orellano N (2011)⁵¹, Troncoso Ly Guija E, (2007)⁵². Quienes realizaron trabajos de investigación para determinar el efecto hepatoprotector de los principios activos de las diversas plantas que existen en la naturaleza.

Según Arroyo J et. al en su trabajo de investigación con extracto etanólico de las hojas de matico (*Piper aduncum*) demostró que disminuyeron los valores de TGP

($p < 0,621$), bilirrubina total ($p < 0,385$) y bilirrubina directa ($p < 0,283$) e incrementaron las proteínas totales ($p < 0,539$) y albúmina ($p < 0,114$), similar al grupo silimarina².

Troncoso L. y Guija E., encontraron que el perejil ejerce mayor defensa que el FHP (hepatoprotector farmacológico), frente a la acción nociva del paracetamol, evaluado por AST (aspartato aminotransferasa), ALT (alanina aminotransferasa) y GGT (gamma glutamil transferasa)⁵².

Ochoa C, Granda C, Chapañan M, et al en su trabajo de investigación efecto protector de *Peumus Boldus* en ratas con toxicidad hepática inducida por Paracetamol, quienes concluyeron que el tratamiento con extracto acuoso de boldo a dosis de 160mg/kg posee mayor efecto protector comparado con los grupos que recibieron 120mg/kg y 80mg/kg⁵³.

La silimarina ha sido estudiada como hepatoprotectora en diversos trabajos de investigación. Es así que en el estudio realizado por Olivares,⁵⁴ se halló reversión significativa del daño hepático en los grupos a los que se les aplicó silimarina. Estos resultados se atribuyen a la disminución de niveles de transaminasas, los resultados de este estudio corroboran que la silimarina inhibe diversas isoformas del citocromo P450, potencia la capacidad antioxidante del hígado e inhibe la síntesis de citoquinas proinflamatorias.

En el presente trabajo se demostró que la administración de silimarina disminuyó los niveles de transaminasas como se corrobora con estudios realizados por Coaquira R. y Orellano N. (2011) encontraron disminución significativa en la actividad de la TGO y TGP en dos grupos experimentales que recibieron vía oral *Silybum marianum* (cardo mariano) a dosis de 10 y 20mg/kg/día⁵¹.

En la tercera etapa se realizó un tratamiento hepatoprotector a los grupos; positivo con silimarina y experimental con chancapiedra donde se observó que los niveles séricos de TGO disminuyeron hasta $34.07 \pm 2.46 \text{ UI/L}$ y $38.08 \pm 2.97 \text{ UI/L}$ respectivamente. Nuestros resultados concuerdan con lo encontrado por Troncoso L. y Guija E., que evidenciaron disminución en los valores de TGO en el grupo tratado con acetaminofén más perejil (experimental)⁵², sin embargo nosotros observamos

una disminución en los grupos control positivo y experimental. Según Tabla 14, Figura 14.

Tabla 14: Nivel sérico de TGO en UI/L durante tratamiento

ETAPA	Nivel sérico de TGO en UI/L				
	Grupos de estudio				
Etapa de Tratamiento 16 días (Día 21)	Tratado con	Agua	Agua	silimarina	chancapiedra
	R1	30.12	100.27	32.41	38.30
	R2	30.10	103.98	34.27	39.98
	R3	30.29	88.02	35.65	41.71
	R4	34.85	91.89	37.08	34.29
	R5	34.60	96.77	30.92	36.09
	MEDIA $\pm$ D. E.	31.99 $\pm$ 2.5	96.18 $\pm$ 6.38	34.07 $\pm$ 2.46	38.08 $\pm$ 2.97

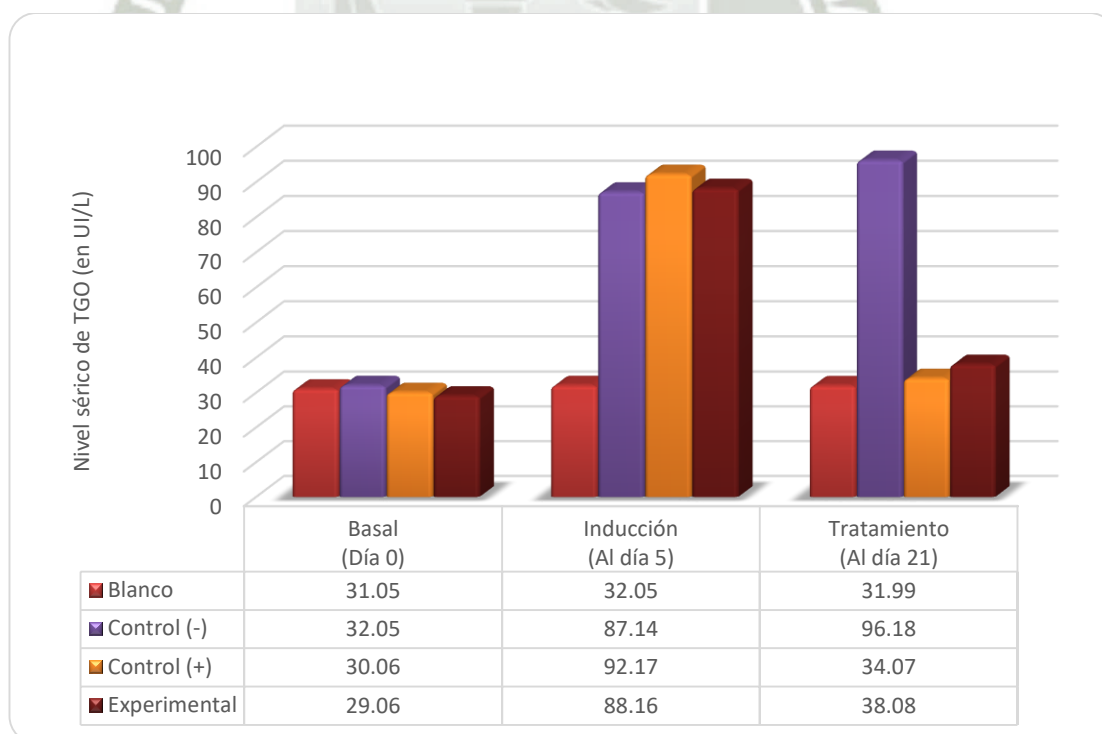


Figura 14: Promedios nivel sérico (TGO) según etapas

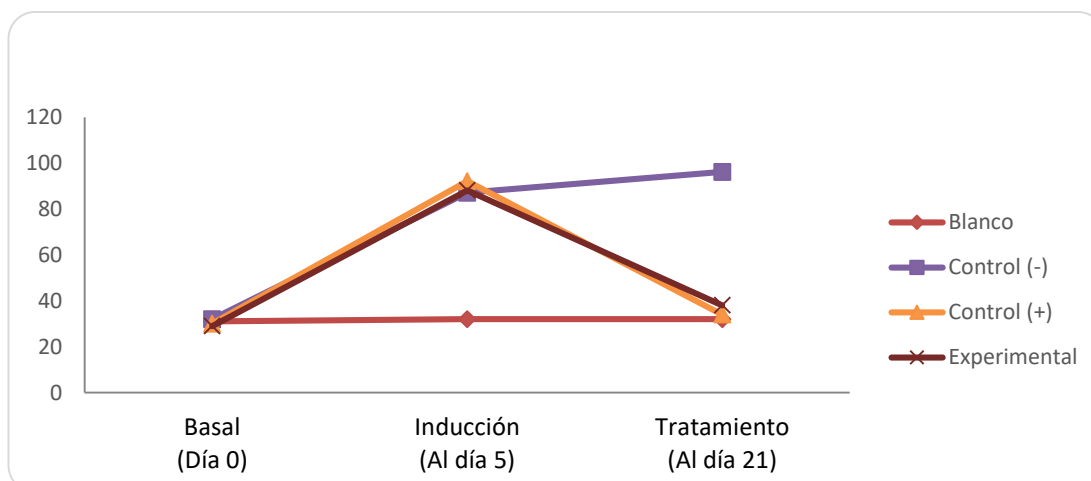


Figura 15: Nivel sérico (TGO)

En la Figura N° 15 se muestra la evolución por etapas del nivel sérico promedio de (TGO) que se llevó del día 0 al día 21; donde se evidencia cambios en los diferentes grupos de trabajo en cuanto el grupo blanco no se observaron cambios significativos, para el grupo control negativo, positivo y experimental se evidencia un aumento de los niveles de transaminasas posterior a la inducción del daño hepático se administró tratamiento con silimarina y *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) donde se evidencio una disminución de los niveles de (TGO)

Tabla 15: ANOVA (TGO) PARA LA ETAPA DE TRATAMIENTO

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad Valor p
Entre grupos	14267.1794	3	4755.7265	307.7357	0.0000
Dentro de los grupos	247.2629	16	15.4539		
Total	14514.44231	19			

La Tabla 15 muestra el análisis de varianza para los niveles de TGO observado en los animales de experimentación después de haber aplicado los tratamientos de 16 días en los 4 grupos de estudio, hallándose una diferencia altamente significativa ya que los valores de $p=0.000 < 0.01$.

Tabla 16: TUKEY PARA TGO

		Blanco agua	Control (+) silimarina	Experimental chancapiedra	Control (-) agua
Blanco 31.9900	Tukey valor - p				
Control (+) 34.0664	Tukey valor - p	0.8351 0.4159			
Experimental 38.0752	Tukey valor - p	2.4475 0.0263	1.6124 0.1264		
Control (-) 96.1846	Tukey valor - p	25.8196 0.0000	24.9844 0.0000	23.3721 0.0000	

La Tabla 16 muestra las comparaciones simultaneas de Tukey de los niveles séricos de TGO observado en ratas después de haber aplicado los tratamientos de 16 días, donde se observa una diferencia altamente significativa del grupo control negativo con los demás grupos; blanco, control positivo (silimarina) y experimental (chancapiedra) todos con valor $p < 0.01$. No se halló diferencia significativa entre el grupo experimental con el control positivo $p = 0.1264 > 0.05$ dichos datos son comparables con lo hallado por Asqui Mercedes de Jesús quien evaluó la actividad hepatoprotectora del extracto de diente de león (*Taraxacum officinale*) en ratas con hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono⁵⁵, quien no halló diferencia significativa en el grupo control positivo y experimental $p = 0.077 > 0.05$.

Tabla 17: Nivel sérico de TGP durante tratamiento

ETAPA	Nivel sérico de TGP en UI/L				
	Grupos de estudio				
Etapas de Tratamiento 16 días (Día 21)	Tratado con	Agua	agua	silimarina	chancapiedra
	R1	18.84	79.98	14.90	17.64
	R2	12.96	87.09	15.94	18.62
	R3	14.39	93.06	11.46	19.60
	R4	16.03	98.86	12.55	15.40
	R5	17.47	73.94	13.81	16.42
	MEDIA $\pm$ D. E.	15.94 $\pm$ 2.35	86.59 $\pm$ 9.95	13.73 $\pm$ 1.79	17.54 $\pm$ 1.68

Guevara Vásquez et al. En su investigación titulada efecto del infusión de *petroselinum sativum* sobre la insuficiencia hepática inducida en ratas⁴⁸. Quien demostró una disminución significativa de las actividades de TGP con la administración del perejil después de la toxicidad hepática. Asimismo se observó en nuestro trabajo que a los niveles de TGP después de aplicar los tratamientos a los grupos positivo con silimarina y experimental con chancapiedra disminuyeron hasta $13.73 \pm 1.79 \text{ UI/L}$ y $17.54 \pm 1.68 \text{ UI/L}$ respectivamente. Los grupos blanco y negativo fueron tratados con agua; el grupo blanco presentó una ligera disminución en el promedio del nivel sérico de TGP hasta $15.94 \pm 2.35 \text{ UI/L}$ y en el grupo negativo disminuyó hasta $86.59 \pm 9.95 \text{ UI/L}$. Según Tabla 17 y Figura 16.

Los resultados expresados en la figura 17 muestran que los niveles de TGP han ido aumentando los 5 primeros días después de haber inducido daño hepático como consecuencia de la liberación de la enzima al plasma. En la etapa de tratamiento se evidencia la disminución de los niveles de TGP en el grupo experimental y el control positivo debido a que estos grupos recibieron un tratamiento con *Phyllanthus niruri* y silimarina.

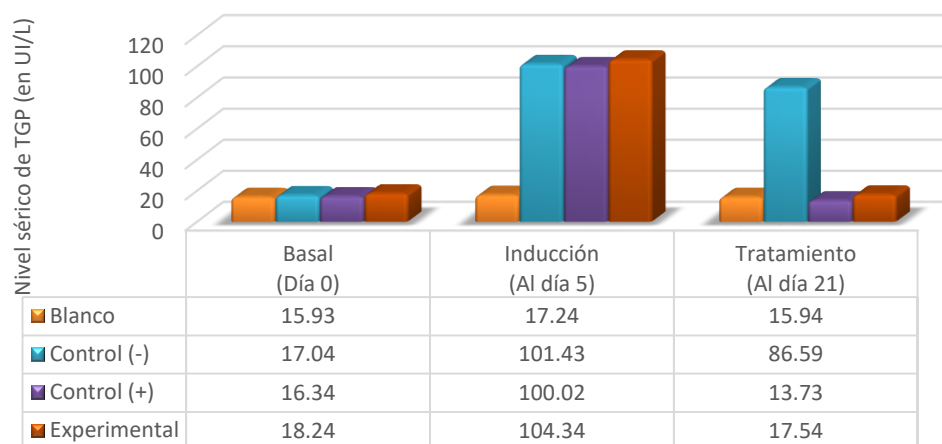


Figura 16: Promedios nivel sérico de (TGP) según etapas

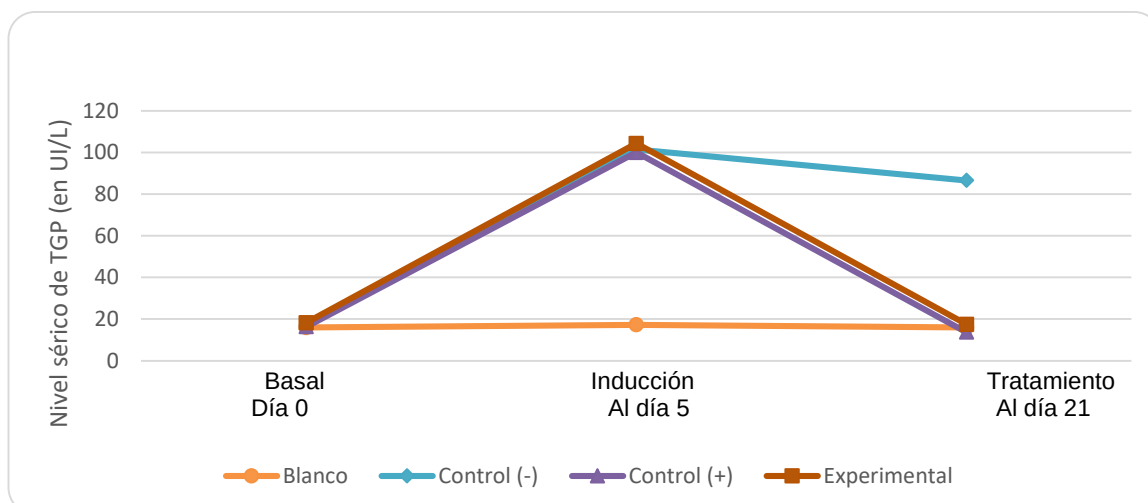


Figura 17: De nivel sérico (TGP)

Tabla 18: ANOVA (TGO) PARA LA ETAPA DE TRATAMIENTO

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad Valor p</i>
Entre grupos	18861.6072	3	6287.2024	227.3425	0.0000
Dentro de los grupos	442.4832	16	27.6552		
Total	19304.0905	19			

La Tabla 18 muestra el análisis de varianza para los niveles de TGP observado en los animales de experimentación después de haber aplicado los tratamientos de 16 días en los 4 grupos de estudio, hallándose una diferencia altamente significativa ya que los valores de $p=0.000 < 0.01$.

Tabla 19: Tukey TGP

		Control (+) sillimarina	Blanco agua	Experimental chancapiedra	Control (-) agua
Control (+) 13.7306	Tukey valor – p				
Blanco 15.9369	Tukey valor - p	0.6633 0.5166			
Experimental 17.5362	Tukey valor - p	1.1442 0.2694	0.4809 0.6371		
Control (-) 86.5867	Tukey valor - p	21.9052 0.0000	21.2419 0.0000	20.7610 0.0000	

Al observar la Tabla 19 notamos mediante la prueba de Tukey que los valores de la TGP en el grupo control positivo y experimental no mostraron diferencia significativa ya que su valor de p es $0.2694 > 0.05$ estos datos fueron comparados con Osorio D. quien evaluó el “efecto hepatoprotector del extracto de las hojas de alcachofa (*Cynara scolymus*) en ratas con hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono en el cual se halló un valor de $p = 0.414$ no existió una diferencia estadística significativa⁵⁶.

Tabla 20: Nivel sérico de GGT durante tratamiento

ETAPA	Nivel sérico de GGT en UI/L				
	Grupos de estudio				
Etapa de Tratamiento 16 días (Día 21)	Tratado con	Agua	agua	silimarina	chancapiedra
	R1	16.79	65.64	20.86	20.42
	R2	13.01	52.76	16.94	16.78
	R3	13.93	55.88	17.89	17.66
	R4	15.02	59.67	19.05	18.75
	R5	15.91	62.64	19.95	19.57
	MEDIA $\pm$ D. E.	14.93 $\pm$ 1.51	59.32 $\pm$ 5.15	18.94 $\pm$ 1.57	18.64 $\pm$ 1.45

La disminución fue significativa con la actividad de la GGT (γ glutamiltranspeptidasa) y nuestros resultados son comparables a los de Troncoso y Guija, quienes demostraron el efecto hepatoprotector del perejil usando una dosis de 200mg/kg de acetaminofén en ratas⁵².

Se evidencian que los grupos experimentales tratados con silimarina y chancapiedra disminuyeron hasta 18.94 ± 1.57 UI/L y 18.64 ± 1.45 UI/L respectivamente. Los grupos blanco presentó una ligera variación en el promedio del nivel sérico de GGT hasta 14.93 ± 1.51 UI/L y en el grupo control negativo se incrementó hasta 59.32 ± 5.15 UI/L debido a que este grupo no recibió tratamiento. Según Tabla 20 y Figura 18

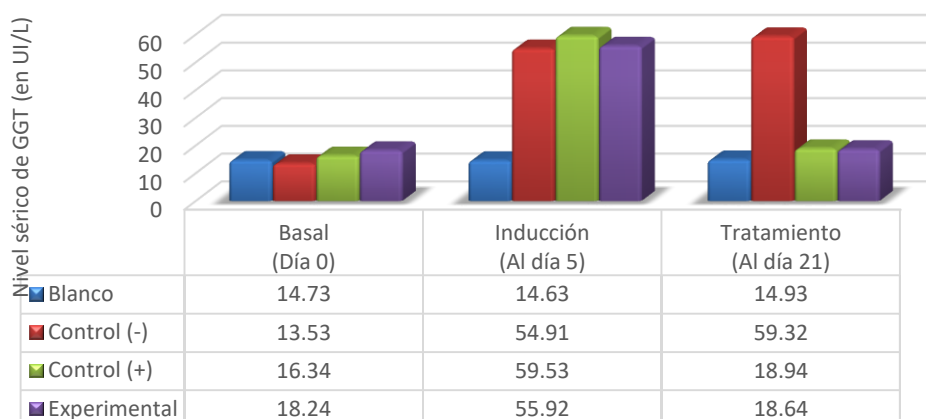


Figura 18: Nivel sérico (GGT)

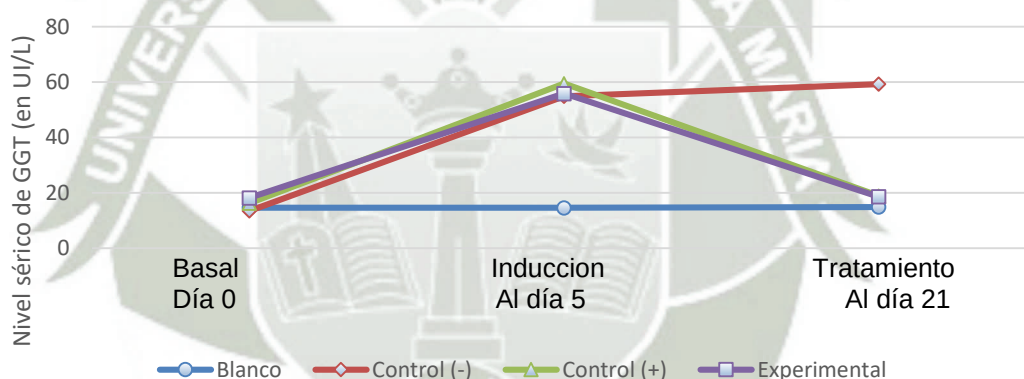


Figura 19: Nivel sérico de GGT (en UIL)

En la figura 19 se evidencia un aumento importante de los niveles de GGT después de la inducción de daño hepático con 200mg/kg de paracetamol los 5 primeros días como consecuencia de la liberación de la enzima al plasma. En la etapa de tratamiento se evidencia la disminución de los niveles de GGT en el grupo experimental y el control positivo puesto que estos grupos recibieron un tratamiento con *Phyllanthus niruri* y silimarina

Tabla 21: ANOVA (GGT) para la etapa de tratamiento

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad Valor p
Entre grupos	6607.5247	3	2202.5082	264.2571	0.0000
Dentro de los grupos	133.3555	16	8.3347		
Total	6740.88021	19			

La Tabla 21 muestran el análisis de varianza para los niveles de GGT observado en los animales de experimentación después de haber aplicado los tratamientos de 16 días en los 4 grupos de estudio, hallándose una diferencia altamente significativa ya que los valores de $p=0.000 < 0.01$

Tabla 22: Tukey

	Blanco agua	Control (+) silimarina	Experimental chancapiedra	Control (-) agua
Blanco 14.9312	Tukey valor - p			
Control (+) 18.6368	Tukey valor - p	2.0295 0.0594		
Experimental 18.9379	Tukey valor - p	2.1944 0.0433	0.1649 0.8711	
Control (-) 59.3198	Tukey valor - p	24.3106 0.0000	22.2811 0.0000	22.1162 0.0000

En la Tabla 22 No se observó cambios significativos, en el grupo experimental al ser comparados con el control positivo hallándose un valor $p=0.8711 > 0.05$. Nuestros resultados concuerdan con lo encontrado por Arnao y colaboradores quienes evaluaron el efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Smallanthus sonchifolius* (yacón)⁵⁷ en un modelo de intoxicación con acetaminofén donde la disminución fue significativa con la actividad de la γ glutamiltranspeptidasa.

Después de finalizar el estudio bioquímico de los niveles de transaminasas se sacrificó a los animales de experimentación para observar los cambios histopatológicos se procedió a la extracción del hígado.

En la evaluación histopatológica se observó una mejoría de grado moderado y leve con el tratamiento de *Phyllanthus niruri* chanca piedra a dosis de 160mg/kg y silimarina a dosis 150 mg/kg respectivamente concordando con Coaquira R. y Orellano que a dosis de 10 y 20mg/kg/día de *Silybum marianum* (cardo mariano) presentando una mejoría de grado severo a moderado en la evaluación histológica⁵¹.

Tanto a nivel clínico, bioquímico e histopatológico los efectos producidos por la silimarina fueron comparables a los del extracto de *Phyllanthus niruri*. Posiblemente el efecto hepatoprotector de *Phyllanthus niruri* (chanca piedra) se debe a que posee componentes fitoquímicos tales como: lignanos, flavonoides, terpenos y alcanos, esteroides, taninos.

Tabla 23: Cambios histopatológicos

GRUPOS	GRADO DE DAÑO HEPÁTICO	EXAMEN MICROSCÓPICO
BLANCO	Ausente	Arquitectura hepática normal. La disposición celular es pareja. No existe necrosis. La disposición de los hepatocitos mantiene un patrón.
CONTROL NEGATIVO	Severa	Se observa necrosis, destrucción de los hepatocitos con áreas necróticas y hemorrágicas.
CONTROL POSITIVO	Moderada a leve	Presenta ligeros signos de necrosis. Regeneración de hepatocitos binucleados
EXPERIMENTAL	Moderada	Presenta signos de necrosis moderada. Recuperación de la disposición de los hepatocitos.

En Tabla 23 se evidencia que el control negativo presenta un grado de destrucción hepática severa, se observa necrosis con destrucción de los hepatocitos con áreas necróticas y hemorrágicas, mientras que el grupo control positivo presentó un grado de destrucción hepática de moderada a leve con ligeros signos de necrosis regeneración de hepatocitos binucleados, al igual que el grupo experimental presenta un grado de destrucción hepática moderada con signos de necrosis moderada y recuperación de la disposición de los hepatocitos

Podemos concluir, de todo lo observado en el presente estudio de investigación, que el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) en comparación con el efecto hepatoprotector de la silimarina evidenciado a través de pruebas bioquímicas para transaminasas y observaciones histopatológicas no se observa diferencia significativa ($p > 0.05$); sin embargo, es recomendable que se realicen estudios que demuestren la dosis exacta para ejercer su efecto hepatoprotector. Es necesario hacer más estudios para demostrar el mecanismo de acción del efecto hepatoprotector que probablemente sea debido a la presencia de lignanos y flavonoides.

CONCLUSIONES

PRIMERA:

Se determinó el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) en comparación con el efecto hepatoprotector de la silimarina según el análisis de las pruebas bioquímicas e histopatológicas.

SEGUNDA:

Se determinó que el extracto de *Phyllanthus niruri* chancapiedra posee actividad hepatoprotectora, según el análisis de las pruebas bioquímicas de transaminasas en los animales de experimentación que se indujeron daño hepático.

TERCERA:

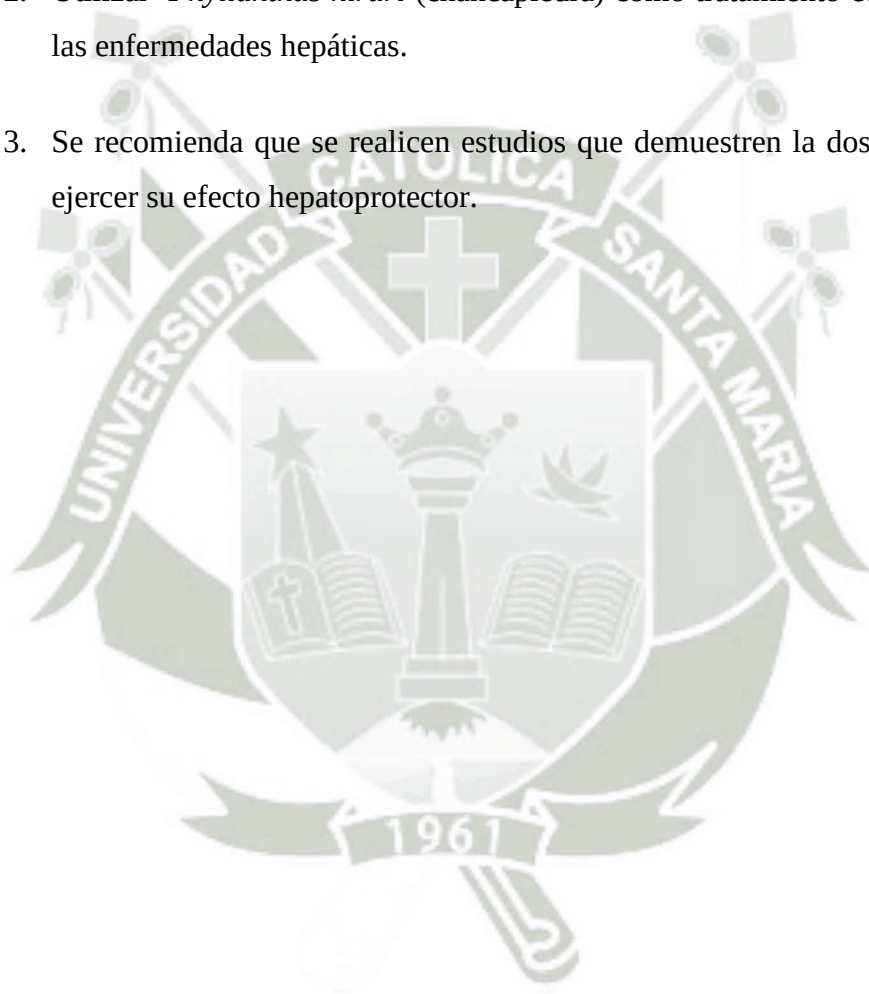
Se evidencio que el extracto de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) posee actividad hepatoprotectora, según el análisis histopatológico en los animales de experimentación que se indujeron daño hepático.

CUARTA:

Se determinó que el efecto hepatoprotector del extracto de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) a una dosis de 160mg/kg en comparación con el efecto hepatoprotector de la silimarina a una dosis de 150mg/kg, no se observa diferencia significativa con un valor ($p > 0.05$).

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda continuar con la investigación de *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) para ver sus efectos farmacológicos y la presencia de sustancias tóxicas en sus componentes que puedan alterar el normal funcionamiento de los órganos.
2. Utilizar *Phyllanthus niruri* (chancapiedra) como tratamiento coadyuvante en las enfermedades hepáticas.
3. Se recomienda que se realicen estudios que demuestren la dosis exacta para ejercer su efecto hepatoprotector.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tejada F. Hepatotoxicidad por Fármacos. Rev Clin Med Fam 2010 Oct; 3(3): 177-191.
2. Arroyo J. et al. Efecto protector en cirrosis hepática inducida en ratas del extracto etanólico de las hojas de Piper aduncum comparado con Silimarina. Anales de la Facultad de medicina. [Internet]. 2012 [citado el 20 de abril del 2015]; 73 (2): pp. 85-91.
3. Bustios C, Davalos M, Roman R, Zumaeta E. Características Epidemiológicas y Clínicas de la Cirrosis Hepática en la Unidad de Hígado del HNERM Es Salud. Rev. gastroenterol. Perú [online]. 2007, vol.27, n.3 [citado 2015-09-21], pp. 238-245
4. Castillo V, Segundo F, Castillo S, Felix E, Alfaro R, Cecilia E. Efecto diurético de Phyllanthus niruri “chancapiedra” y niveles de excreción de sodio en Rattus rattus var. Albinus. Rev UCV-SCIENTIA. 2011; 3(1): 253.
5. Cabieses F. Apuntes de Medicina Tradicional. 2da edición. Lima: A&B S. A; 1993. p. 2002.
6. Calixto J, Santos A, Cechinel F, Yunes A. Review of the plants of the genera Phyllanthus: their chemistry, pharmacology and therapeutic potential. Med. Res. Rev. 18(4): 225-258. 1998.
7. Martínez M, Figueroa J. Estudio Farmacognóstico de Phyllanthus orbicularis HBK, especie endémica de Cuba. Tesis de Doctorado. La Habana, Cuba. Universidad de la Habana, 2011.
8. Rengifo E. Las Ramas Floridas Del Bosque: Experiencias En El Manejo de plantas medicinales Amazónicas. 1ra edición. Iquitos: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana; 2007. p.36.
9. Thyagarajan SP, Thirunalasundari T, Subramanian S, Venkateswaran PS, Blumberg BG. efecto de phyllanthus amarus EN portadores crónicos del virus de hepatitis B. Rev The Lancet . 1988; 332(8614): 764 -766.
10. David A, Cañas A, López A, Forero J. Evaluación de la actividad antiviral in vitro de cuatro extractos de las especies Caryodendron orinocense y Phyllanthus niruri de la familia Euphorbiaceae contra los virus herpes bovino

- tipo 1 y herpes simplex tipo. Rev VITAE, facultad de química farmacéutica. 2007; 14(1): 55-60
11. Raintree Nutricion. Database entry for Chanca Piedra - *Phyllanthus niruri*: [Internet]. Raintree Nutrition: Texas, 2000. [actualizado 02 Mar 2010; citado 28 Mar 2016]. Disponible en: <http://www.rain-tree.com/Chanca.htm>
 12. Buchaul, R. *Phyllanthus niruri* – Euphorbiaceae. Saúde com as plantas medicinais. Ciência e Sabedoria Popular se afinam na Fitoterapia. [Internet]. Brasil: 2001. [actualizado 18 Nov 2016; citado 01 Ag 2016]. Disponible en: http://www.geocities.com/buchaul/plest_phyllanthus.htm
 13. Herbal Secrets of the Rainforest. Sage Press. Technical Data Report for chancapiedra “Stone Breaker” (*Phyllanthus niruri*); Austin 2003. 2nd edition.
 14. Correa, C; Ming, L. Cultivo de plantas Medicinales, Condimentares e Aromáticas. Paraná. 1991. EMATER- 114 p.
 15. Bruneton J. Farmacognosia Fitoquímica Plantas medicinales. 2da edición. España : Acribia; 1991. p. 200 –700.
 16. Rodas C. CHANCAPIEDRA. Jardín Botánico. Lima: 2010. Inka Plus
 17. Jimenez M. Establecimiento del protocolo de micropropagación para la planta medicinal *phyllanthus niruri* (euphorbiaceae). Dirección de proyectos. Costa Rica: Instituto Tecnológico de Costa Rica; 2002.
 18. Shen C, Cheng X, Li D, & Meng Q. Investigation of rifampicin-induced hepatotoxicity in rat hepatocytes maintained in gel entrapment culture. Cell Biol Toxicol. Rockville. 2009 Jun; 25(3):265-74.
 19. Kuklinski C. Farmacognosia. 1era edición. Barcelona: Omega; 1999. p. 300.
 20. Castillo E, Martínez I. Manual de Fitoterapia. España: MASSON; 2007. p.269.
 21. Veloz D. Determinación de la actividad hepatoprotectora de (*Peumus boldus*) en ratas (*Rattus norvergicus*) con intoxicación hepática inducida por paracetamol. Riobamba-Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2013.
 22. Velázquez L. Farmacología Básica y Clínica. 18^a edición. Madrid: Medica Panamericana; 2008. p. 523.
 23. Goodman L, Gilman A. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11edición. México: MCGRAW-HILL INTERAMERICANA; 2007. p.720.

24. Ross MH, Pawlina W. Histología Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular. Buenos Aires: Medica Panamericana; 2008.
25. Viso J. Nomenclatura Anatómica Moderna. Venezuela: SAPDRO, UCV; 1998.
26. Gray H. Bases Anatómicas de la Medicina y la Cirugía. 38° Edición. Madrid: Elsevier; 1998.
27. Tortora G J, Grabowski S R. Principios de Anatomía y Fisiología. 9° Edición. Mexico: Oxford University Press; 2003.
28. Fernández J A. Fisiología Humana. 4ª Edición. México DF: McGraw-Hill Interamericana; 2010.
29. Segarra E. Fisiología de los Aparatos y Sistemas. Cuenca; Impresión de facultad de medicina; 2006.
30. Tresguerres J A F. Fisiología Humana. 2ª Edición. España: McGraw-Hill Interamericana; 1999.
31. Buritt G, Young B, Heath J. Histología Funcional Wheater. 3ra edición. Madrid: Churchill Livingstone; 1996. p. 274.
32. Bernard J. Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 20° Edición. España: MARBÁN libros; 2005.
33. Chávez J, Fernánde J, Estudio del efecto hepatoprotector de la especie gamachaeta queto queto en animales de experimentación, Arequipa - 2008. Tesis de Pregrado. Arequipa, Perú. Universidad Católica de Santa María, 2008. 45 pp.
34. Kumar V, Abbas A, Fausto N, Aster J. Patología estructural y funcional. 7a edición. España: Elsevier; 2007. p. 907.
35. Kumar V, Abbas A, Fausto N, Aster J Patología estructural y funcional. 8ª edición. España: Elsevier; 2010. p. 858.
36. Valeria Risso M. “Hepatotoxicidad” enfoque clínico toxicológico. [Trabajo de investigación]. Buenos Aires: Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires; 2008.
37. H. J. Zimmerman. The adverse effects of drugs and other chemicals on the liver. Hepatotoxicity. EUA. 1999. Second Edition

38. Ordorica Vargas M. A.; Velázquez Monroy M. Metabolismo de Aminoácidos y Bases Nitrogenadas [Internet]; Mexico.2009.
39. Limaylla La torre M. Perfil bioquímico hepático en pacientes ambulatorios de consultorios externos de dermatología del hospital militar central con tratamiento antimicótico oral, de setiembre 2007 a marzo 2008. [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2012
40. Bagalkotkar G, Sagineedu SR, Saad MS, Stanslas J. Phytochemicals from *Phyllanthus niruri* Linn and their Pharmacological Properties: a Review. *Journal Pharm Pharmacol* 2006; 58(12):1559-1570
41. Arboleda D, Cañas A, López A, Forero J E. evaluación de la actividad antiviral in vitro de cuatro extractos de las especies *caryodendron orinocense* y *phyllanthus niruri* de la familia *euphorbiaceae* contra los virus herpes bovino tipo 1 y herpes simplex tipo 2: *Rev Facultad De Química Farmacéutica* (Internet). 2007 (Citado el 20 de noviembre del 2016); 14(1):59.
42. Villar A. *Farmacognosia General*. 3ra edición. Madrid. Editorial Síntesis; 1999. p. 86.
43. Benítez C, Quiroga T, Bustamante V, Goycoolea M. Aumento aislado y sostenido de Aspartato aminotransferasa por presencia de macroenzimas. *Rev Med Chile*. 2016; 144: 1078-1082
44. Notwark Y, Pfuyo R. Evaluación del efecto citoprotector gástrico y efecto hepatoprotector del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Plantago major* L. (llantén) en animales de experimentación. Cusco, Perú. Universidad Nacional De San Antonio ABAD Del Cusco, 1991. 90 pp.
45. Yobera E. Efecto protector del extracto acuoso de las hojas de *Peumus boldus* “boldo” en la toxicidad hepática inducida por isoniazida en ratas holtzman hembra. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2015. 71 pp.
46. Rajender K, Long W. *Conducto hepatobiliar y páncreas*. 3ra edición. España: Elsevier; 2005. p. 8.

47. Chernecky C, Berger B. Pruebas de Laboratorio y Procedimientos Diagnósticos. 3da edición. McGraw-hill México; 1999. p. 177-608.
48. Guevara A, Tello C, Mantilla E, et al. Efecto del Infuso de *Petroselinum Sativum* sobre la Insuficiencia Hepática inducida en *Rattus Norvegicus* Var. *Albinus* . Rev Farmaciencia. 2014; 2(1): 39-45.
49. Fuentes X, Castiñeiras M, Queralto J. Bioquímica Clínica y Patología molecular. 2da edición. Barcelona: Editorial Reverté; 1998. p. 855.
50. Sisamón I. Hepatotoxicidad del paracetamol. Rev del Hospital Privado de Comunidad 2003; 6(2): 01-04.
51. Coaquira R. y Orellano N. Efectos del *Silybum marianum* (Cardo mariano) en *Rattus norvegicus* variedad Sprague dawley con daño hepático inducido por tetracloruro de carbono, Arequipa 2011. [tesis de licenciatura]. Arequipa. Universidad Nacional de San Agustín; 2011
52. Troncoso L. y Guija E. Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* (perejil) en ratas, con intoxicación hepática inducida por paracetamol. Anales de la Facultad de medicina (Lima); 2007 68(4), 333-343.
53. Ochoa C, Granda C, Chapoñan M, et al. Efecto protector de *Peumus Boldus* en ratas con toxicidad hepática inducida por Paracetamol: Rev CIMEL 2008;13(1):21-25
54. Olivares J .Efecto protector del extracto acuoso de las hojas de *Peumus boldus* “boldo” en la toxicidad hepática inducida por rifampicina en ratas holtzman hembra. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2015. 15 pp.
55. Asqui M. Actividad hepatoprotectora del extracto de diente de león (*Taraxacum officinale*) en ratas (*rattus novergicus*) con hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono. Riobamba, Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2012. 70 pp.
56. Osorio D. Efecto hepatoprotector del extracto de las hojas de alcachofa (*Cynara scolymus*) en ratas (*Rattus novergicus*) con hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono. Riobamba, Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2012. 92 pp.

57. Arnao AG, Suárez S , Trabucco J , et al. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en un modelo de intoxicación con acetaminofén. Rev Med.2012; 73(3):239-44.



ANEXOS

ANEXO 1

Ambientación de animales de experimentación (*Mus musculus*), bioterio de la universidad Católica de Santa María Junio 2016



Figura 20 Estandarización de animales de experimentación.

ANEXO 2

Obtención de sangre basal de las ratas para la determinación de TGP, TGO, GGT. bioterio de la universidad Católica de Santa María Junio 2016

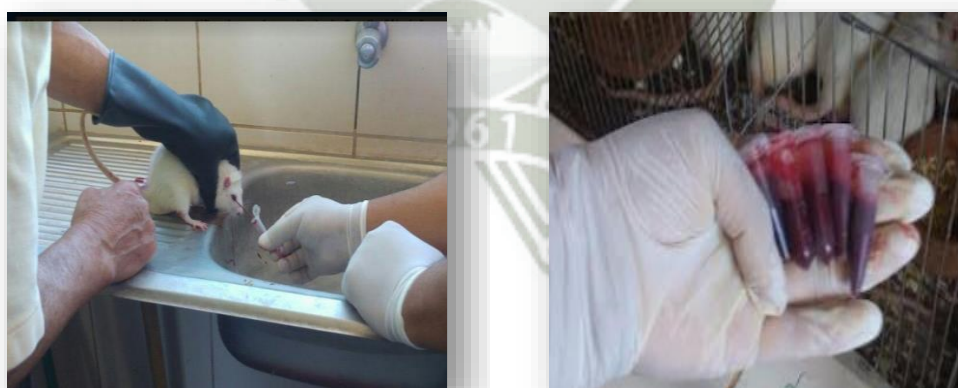


Figura 21 Obtención de sangre de las ratas para la determinación de TGO, TGP, GGT.

ANEXO 3

Preparación de solución de paracetamol en el laboratorio de la universidad Católica de Santa María junio 2016



Figura 22 Preparación de solución de paracetamol.

ANEXO 4

Administración intraperitoneal de paracetamol a animales de experimentación (*Mus musculus*) en el bioterio de la universidad Católica de Santa María



Figura 23 Administración intraperitoneal paracetamol.

ANEXO 5

TRITURACION DEL MATERIAL VEGETAL



Figura 23 Trituración del material vegetal

ANEXO 6

Obtención del extracto de Chancapiedra (*Phyllanthus niruri*). Laboratorio universidad Católica de Santa María Julio 2016



Figura 24 Obtención del extracto de Chancapiedra

ANEXO 7

Administración de tratamiento para comprobar el efecto hepatoprotector del extracto de Chancapiedra (*Phyllanthus niruri*).



Figura 25 Tratamiento para comprobar el efecto hepatoprotector del extracto de chancapiedra (*Phyllanthus niruri*)

ANEXO 8

Disección y extracción del hígado de las ratas. Bioterio de la universidad Católica de Santa María Julio 2016



Figura 26 Disección y extracción del hígado de las ratas

CORTES HISTOLÓGICOS

CORTE HISTOLÓGICO GRUPO BLANCO

1. Hepatocitos sin ningún signo de necrosis.
 2. Disposición de hepatocitos en columnas normal
- Coloración hematoxilina-eosina (10x)

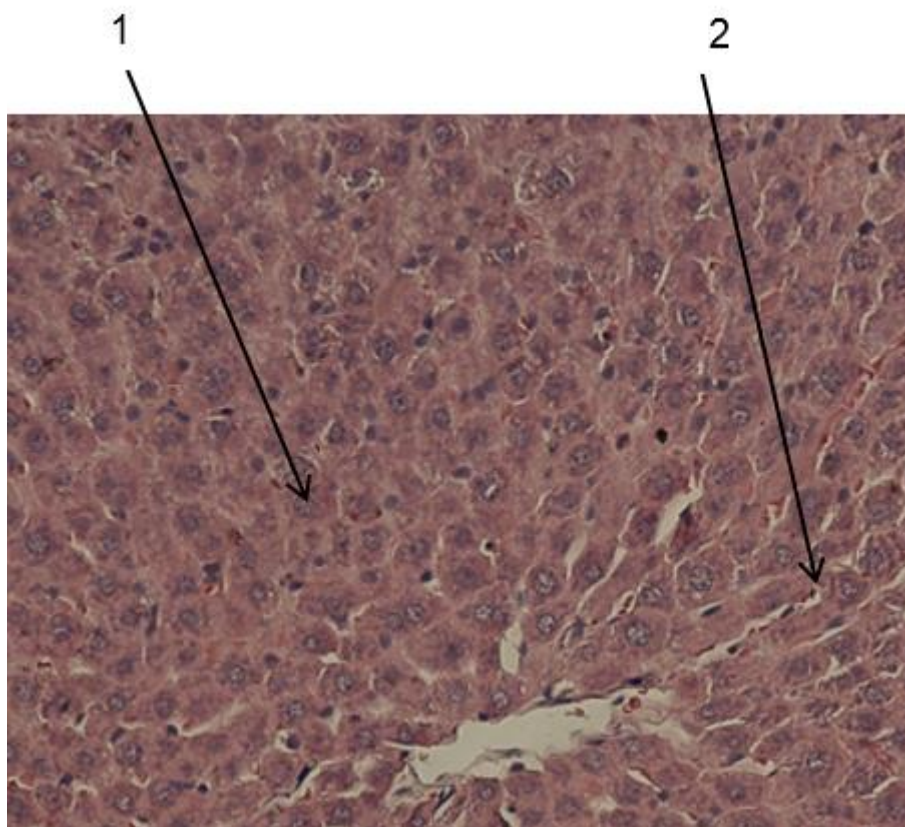


Figura 27. Hígado de rata perteneciente al Grupo Blanco (normal)

CORTE HISTOLÓGICO PERTENECIENTE A GRUPO CONTROL NEGATIVO

1. Se observa necrosis hepatocelular severa.
 2. Hipertrofia de las células de Kupffer
 3. Restos nucleares
- Coloración hematoxilina-eosina (40x)

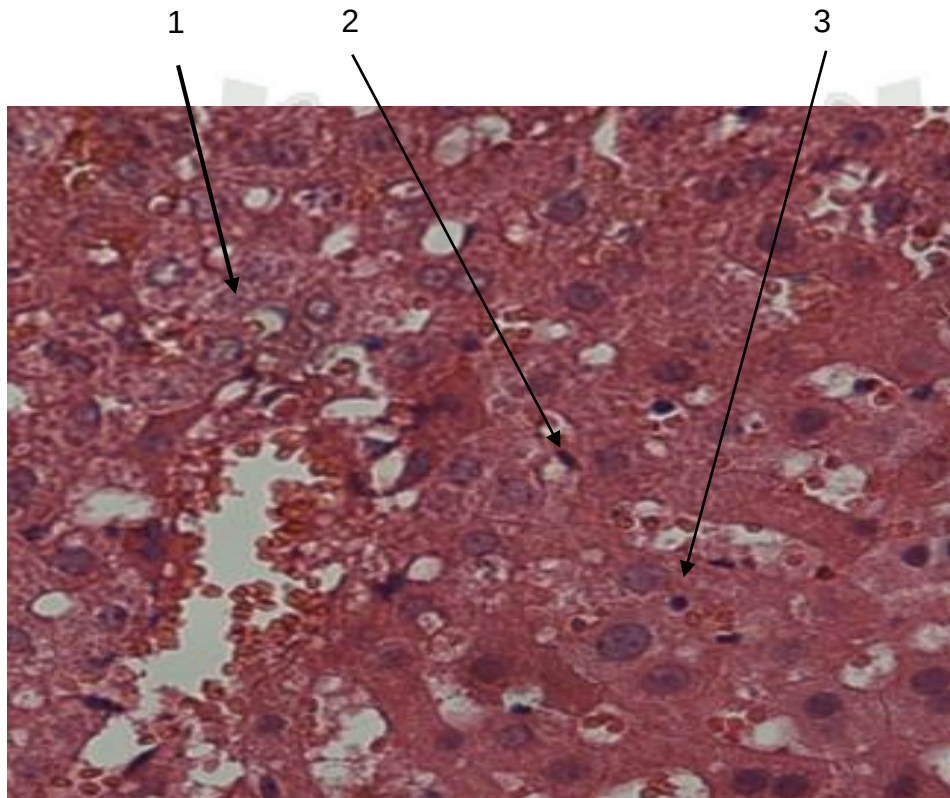


Figura 28 Hígado de rata tratado con paracetamol Grupo Control (-)

CORTE HISTOLÓGICO PERTENECIENTE A GRUPO EXPERIMENTAL

1. Necrosis ligera a moderada.
2. Signos de regeneración de hepatocitos (binucleados)
3. Células de Kupffer aparentemente normales

Coloración hematoxilina-eosina (40x)

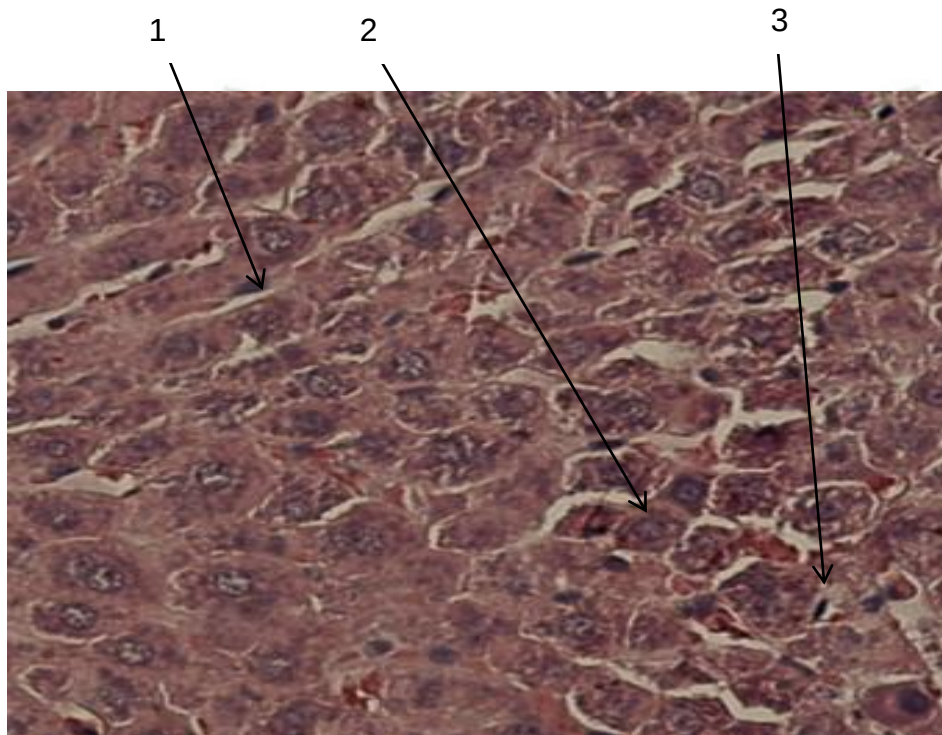


Figura 29 Hígado de rata tratado con extracto de chancapiedra

CORTE HISTOLÓGICO PERTENECIENTE GRUPO CONTROL POSITIVO

1. Necrosis ligera.
2. Disposición de los hepatocitos ligeramente normales
3. Células de Kupffer casi normales
4. Espacio portal regenerado

Coloración hematoxilina-eosina (40x)

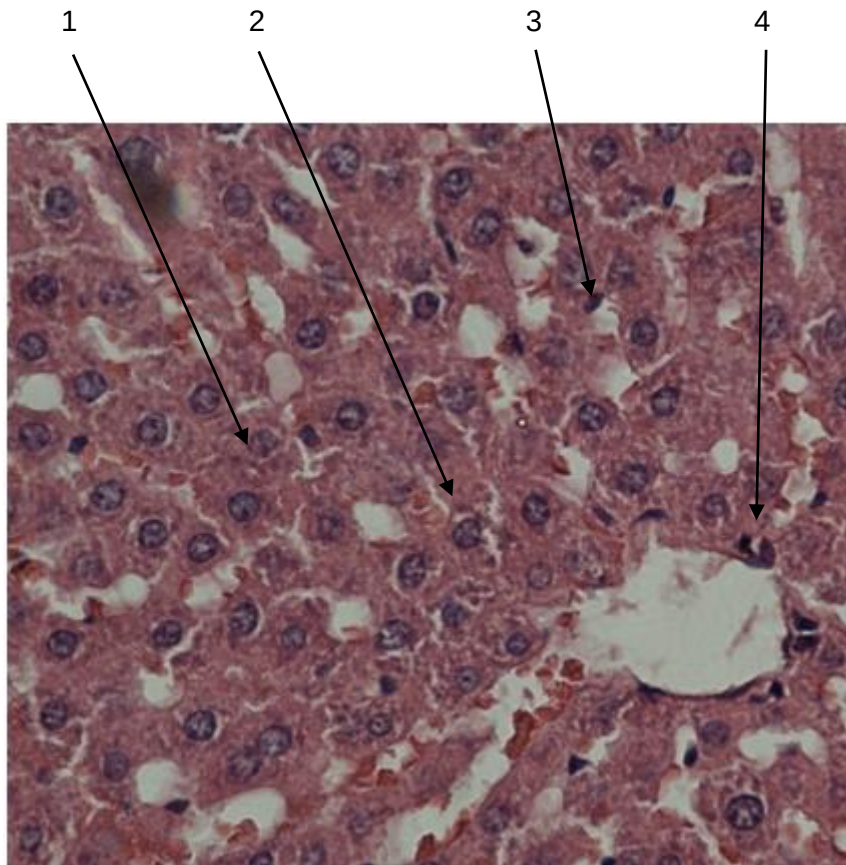


Figura 30 Hígado de rata tratado con silimarina (control +)



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



CONSTANCIA 34- 2016 HUSA

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

HACE CONSTAR:

Que las muestras frescas de frutos de la planta traída al laboratorio para el análisis botánico corresponde a la especie *Phyllanthus niruri* conocido comúnmente como "chancapiedra" de la familia Phyllantaceae. Dicha muestra fue obtenida de los campos de la localidad de Pucallpa del departamento Ucayali, para el estudio de la Tesis "Efecto hepatoprotector de *Phyllanthus niruri* L. "chancapiedra" comparado con Silimarina, en daño hepático inducido como paracetamol en ratas *Mus musculus* ejecutado por **Abarca Cari Bresia Maryory y Onofre Huamani Lourdes Marisol** para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, de la Escuela Profesional y Académica de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Santa María.

Los resultados de dicha identificación y tipificación corresponde a:

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: Rosidae

ORDEN: Malpighiales

FAMILIA: Phyllantaceae

GENERO: *Phyllanthus*

ESPECIE: *Phyllanthus niruri* L.

Se expide la presente constancia a solicitud de las interesadas para los fines que se estime conveniente.

Arequipa 15 de Diciembre del 2016




Blgo. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)

Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado
Teléfono: (054) 237755 / 984248674
Apartado Postal: 0028
AREQUIPA – PERÚ



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE MEDICINA

Av. Daniel Alcides Carrión 101. Arequipa-Perú
Apdo.1635, Fono 054-638291, E-mail cidec@unsa.edu.pe

**CENTRO DE
INVESTIGACIONES Y
DESARROLLO CIENTÍFICO
(CIDEC-UNSA)**

CONSTANCIA

Mediante la presente se hace saber, que las Srtas. Bachilleres: ABARCA CARI BRESIA MARYORY y ONOFRE HUAMANI LOURDES MARISOL han realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo Científico (CIDEC), desde el mes de junio hasta el mes de agosto del presente año, la parte experimental de su tesis de grado titulada "EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE Phyllanthus niruri (CHANCA PIEDRA), COMPARADO CON SILIMARINA, EN DAÑO HEPATICO INDUCIDO EXPERIMENTALMENTE CON PARACETAMOL EN RATAS (Mus musculus)" por lo que se le expide la presente para los fines pertinentes.

Dado en Arequipa, a los 24 días del mes de octubre del 2016



Prof. Azael Paz Aliaga Ph.D.
Director del Centro de Investigación y
Desarrollo Científico
Facultad de Medicina – UNSA