

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

“EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS FLORES DE OVERO *Cordia lutea* EN LA TOXICIDAD HEPÁTICA INDUCIDA POR PARACETAMOL EN RATAS HOLTZMAN MACHO”

**Tesis para optar al Título Profesional de Químico
Farmacéutico y Bioquímico**

TESISTA:

LIZ BEYDI OLIVERA RISCO

ASESOR:

Dr. PABLO ENRIQUE BONILLA RIVERA

**LIMA – PERÚ
2018**

TÍTULO:

“EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS FLORES DE OVERO *Cordia lutea* EN LA TOXICIDAD HEPÁTICA INDUCIDA POR PARACETAMOL EN RATAS HOLTZMAN MACHO”

DEDICATORIA

A mis padres por la oportunidad de darme la vida, a Dios por permitirme vivir y guiarme por el buen camino, y poner personas maravillosas en mi camino que con su incondicional apoyo de aliento me dieron la fortaleza suficiente para concluir esta maravillosa realidad.

AGRADECIMIENTO

En esta oportunidad debo Agradecer a los Doctores Edwin Alarcón La Torre, Jorge Arroyo Acevedo y en especial a mi asesor Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera, quien con su incondicional apoyo y aliento durante la investigación hizo que lo difícil fuera fácil haciendo posible los resultados obtenidos de esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

Portada
Título
Dedicatoria
Agradecimiento
Índice General
Índice de Tablas
Índice de Figuras
Resumen
Abstract

Introducción.....	1
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.1. Descripción de la realidad problemática	3
1.2. Identificación y formulación del problema	4
1.2.1. Problema general	4
1.2.2. Problemas específicos	4
1.3. Objetivos de la investigación	5
1.3.1. Objetivo general	5
1.3.2. Objetivos específicos	5
1.4. Justificación de la investigación	5
1.5. Limitaciones de la investigación.....	7
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	8
2.1. Antecedentes de la investigación.....	8
2.1.1. Antecedentes nacionales	8
2.1.2. Antecedentes internacionales	10
2.2. Bases teóricas	12
2.2.1. Flor de overo (<i>Cordia lutea</i>)	12
2.2.1.1. Características etnobotánicas	12
2.2.1.2. Uso tradicional.....	13
2.2.1.3. Propiedades terapéuticas.....	14
2.2.1.4. Metabolitos secundarios de flores de overo	14
2.2.1. El hígado.....	16
2.2.1.1. Anatomía y fisiología del hígado	16

2.2.1.2. Funciones del hígado	19
2.2.1.3. Células Kuppfer	23
2.2.1.4. Daños hepáticos.....	24
2.2.1.5. Hepatotoxicidad.....	25
2.2.1.6. Factores de riesgo y fisiopatología.....	29
2.2.1.7. Drogas que afectan al hígado	33
2.2.1.8. Biotransformación de hepatotoxicos y producción de radicales libres.....	34
2.4. Formulación de hipótesis	38
2.4.1. Hipótesis general	38
2.4.2. Hipótesis específicas	38
2.5. Operacionalización de variables e indicadores.....	39
2.5.1. Variables de estudio	40
2.6. Definición de términos básicos	40
CAPITULO III. METODOLOGÍA	42
3.1. Tipo y Nivel de investigación	42
3.1.1. Tipo de la investigación.....	42
3.1.2. Nivel de la investigación.....	42
3.2. Diseño de la investigación	43
3.3. Población y muestra de la investigación	43
3.3.1. Población	43
3.3.2. Muestra	43
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	44
3.4.1. Técnica	44
3.4.2. Instrumentos	47
3.5. Materiales y reactivos	47
3.6. Procedimiento experimental	48
3.7. Técnicas cromatográficas	51
CAPITULO IV. RESULTADOS	58
4.1. Resultados de la investigación.....	58
4.1.1. Resultados de la marcha de solubilidad	58
4.1.2. Resultado de la marcha fitoquímica.....	59

4.1.3. Resultados de la elucidación estructural de flavonas mediante espectroscopia UV-Vis	59
4.1.4. Resultados de los parámetros bioquímicos	62
4.2. Discusión de resultados	68
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	70
5.1. Conclusiones	70
5.2. Recomendaciones	71
Referencias Bibliográficas	72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 01	Clasificación taxonómica	13
Tabla N° 02	Materiales y reactivos usados en el proceso experimental	47
Tabla N° 03	Esquema de protocolo de inducción de toxicidad hepática	55
Tabla N° 04	Parámetros según la escala propuesto por Dalaklioglu.	57
Tabla N° 05	Solventes	58
Tabla N° 06	Metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico flores de Overo	59
Tabla N° 07	Concentración enzimática de ratas Holtzman macho después del tratamiento	62
Tabla N° 08	Concentración enzimática de ratas Holtzman macho después del tratamiento	63
Tabla N° 09	Concentración enzimática de ratas Holtzman macho después del tratamiento	64
Tabla N° 10	Concentración enzimática de ratas Holtzman macho después del tratamiento.	65
Tabla N° 11	Comparación de los niveles de concentración enzimática con el tratamiento farmacológico.	66
Tabla N° 12	Comparación de los niveles de concentración enzimática con el tratamiento farmacológico	67
Tabla N° 13	Resultados histopatológicos en los grupos experimentales	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 01	Posición anatómica del hígado	17
Figura N° 02	Cara anterosuperior del hígado	18
Figura N° 03	Identificación de metabolitos secundarios mediante marcha fitoquímica	49
Figura N° 04	Investigadora en plena ejecución de la siembra con capilares. TLC	51
Figura N° 05	Cubeta de cromatografía con las placas de silica gel	52
Figura N° 06	Investigadora observación de las láminas de silica gel en la lámpara de luz UV Vis	52
Figura N° 07	Lámina que contiene más de 21 componentes químicos detectados por cromatografía en capa fina	53
Figura N° 08	Muestras guardadas en viales	54
Figura N° 09	Resultados de la elucidación estructural de flavonas mediante espectroscopia UV-Vis – M1	59
Figura N° 10	Resultados de la elucidación estructural de flavonas mediante espectroscopia UV-Vis – M2	60
Figura N° 11	Resultados de la elucidación estructural de flavonas mediante espectroscopia UV-Vis – M3	60
Figura N° 12	Lectura de la imagen M1	60
Figura N° 13	Lectura de la imagen M2	60
Figura N° 14	Lectura de la imagen M3	60

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Matriz de consistencia.....	78
Anexo 2	Constancia fitoquímica de la planta.....	80
Anexo 3	Informe de análisis	81
Anexo 3.a)	Informe de análisis de grupo: Suero fisiológico.....	81
Anexo 3.b)	Informe de análisis grupo: Paracetamol y suero fisiológico.....	82
Anexo 3.c)	Informe de análisis grupo: Paracetamol más el extracto acuoso de flores de Overo 250mg/k.....	83
Anexo 3.d)	Informe de análisis grupo: Paracetamol más el extracto acuoso de flores de overo 500 mg/k	84
Anexo 4	Informe de análisis perfil bioquímico	85
Anexo 4.a)	Informe de análisis de grupo R1: Suero fisiológico	85
Anexo 4.b)	Informe de análisis grupo R2: Paracetamol y suero fisiológico ...	86
Anexo 4.c)	Informe de análisis grupo R3: Paracetamol + extracto acuoso de flores de Overo 250mg/kg	87
Anexo 4.d)	Informe de análisis Grupo R4: Paracetamol + extracto acuoso de flores de Overo 500 mg/k	88
Anexo 5	Resultados del análisis histopatológico.....	89
Anexo 6	Testimonios fotográficos	92

RESUMEN

El estudio tiene el objetivo de Identificar componentes químicos en el extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea*, y Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* en la reducción de las alteraciones de los parámetros físicos y bioquímicos producidas en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho. La metodología del estudio responde a un diseño experimental, y el Tipo y nivel: Analítico, experimental, observacional, exploratorio y descriptivo, en una muestra de 24 ratas Holtzman macho. Los métodos y técnicas empleados fueron: Método de maceración hidroalcohólica, marcha fitoquímica. Resultados: en la marcha fotoquímica se observó gran cantidad de compuestos fenólicos, comprobándose la presencia de taninos y cuatro flavonoides mediante reacciones de coloración y precipitación, por otro lado también se observó la presencia de quinonas y glicósidos, se evidenció que en el extracto hidroalcohólico a 250 mg la reducción más significativa se evidencia en TGO (Transaminasa glutámico oxalacética) y fosfatasa alcalina con 24.90U/L y 14.40U/L de reducción, con 500 mg de extracto 75.7 U/L y 236.50 U/L en reducción de las mismas enzimas lo que da una significancia en la acción hepatoprotectora y antioxidante del extracto. Así mismo se evidencia una variación en la concentración proteica comparado con el grupo R2, con 250 mg de extracto las proteínas totales muestran una diferencia de 1.24 mg/dL, por otro lado, con 500 mg de extracto se evidencian 0.61 mg/dL, 0.13 mg/dL y 0.74 mg/dL de diferencia en cada uno de los parámetros respectivamente. Del mismo modo se evidenció una variación en el peso y características de los hígados analizados y las características histopatológicas se vieron afectadas con cada una de las concentraciones del extracto. El peso corporal se redujo con la administración de Paracetamol de 290gr a 281gr. Conclusiones: En el extracto hidroalcohólico de las flores de overo (*Cordia lutea*) se encontró compuestos químicos; mediante espectroscopia uv visible; El extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (*Cordia lutea*) redujo el peso y aclaró el aspecto del hígado; El extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (*Cordia lutea*) redujo los niveles de transaminasas, enzimas y proteínas alteradas del hígado de la rata.

Palabras clave: Toxicidad hepática, extracto hidroalcohólico, flor de overo.

ABSTRACT

The objective of the study is to identify chemical components in the hydroalcoholic extract of *Cordia lutea* overo flowers, and to determine the effect of the hydroalcoholic extract of *Cordia lutea* overo flowers in the reduction of the alterations of the physical and biochemical parameters produced in the Hepatic toxicity induced by paracetamol in male Holtzman rats. The methodology of the study responds to an experimental design, and the Type and level: Analytical, experimental, observational, exploratory and descriptive, in a sample of 24 male Holtzman rats. Methods of hydroalcoholic maceration, phytochemical march. Results: in the photochemical march the great amount of phenolic compounds is shown, checking the presence of tannins and four flavonoids by reactions of coloration and precipitation, on the other hand the presence of quinones and glycosides is also presented, it is evident that in the hydroalcoholic extract at 250 mg the most significant reduction is evidenced in TGO (glutamic oxalacetic transaminase) and alkaline phosphatase with 24.90 U / L and 14.40 U / L reduction, with 500 mg of extract 75.7 U / L and 236.50 U / L in the reduction of the same enzymes which gives importance in the hepatoprotective and antioxidant action of the extract. Likewise, a variation in the protein concentration is observed compared to the R2 group, with 250 mg of extract the total proteins show a difference of 1.24 mg / dL, on the other hand, with 500 mg of extract, 0.61 mg / dL, 0.13 are evidenced mg / dL and 0.74 mg / dL difference in each of the parameters respectively. In the same way, a variation in the weight and characteristics of the analyzed livers was evidenced and the histopathological characteristics were affected with each one of the concentrations of the extract. The body weight was reduced with the administration of Paracetamol from 290gr to 281gr. Conclusions: In the hydroalcoholic extract of the flowers of overo (*Cordia lutea*) chemical compounds were found; by visible uv spectroscopy: The hydroalcoholic extract of Overo flowers (*Cordia lutea*) reduced weight and clarified the appearance of the liver; The hydroalcoholic extract of the flowers of Overo (*Cordia lutea*) reduced the levels of transaminases, enzymes and altered proteins of the liver of the rat.

Key words: Hepatic toxicity, I summarize hidroalcoholico, overo flower.

INTRODUCCIÓN

El estudio propuesto se orienta en la necesidad de dar explicación y aportar conocimiento sobre nuevas alternativas de tratamiento a base de productos naturales dirigidos a tratar diferentes enfermedades, dentro de estos las flores de overo (*Cordia lutea*). Ésta es una planta que crece en el Norte del Perú y es utilizado de manera empírica como antiinflamatorio gástrico y en enfermedades hepáticas, pero que aún no hay estudios sobre cuáles serían las propiedades que contribuirían para dicho efecto.⁽¹⁾

Más del 70% de la población mundial utiliza medicamentos sintéticos como parte de tratamiento a las diferentes patologías y dolencias, se estima que, en Estados Unidos y Europa, la hepatotoxicidad por medicamentos es la primera causa de insuficiencia hepática aguda entre los pacientes referidos a un programa de trasplante hepático. Además, según estadísticas de la FDA, la intoxicación por acetaminofén continúa siendo la primera causa de insuficiencia hepática aguda en pacientes sin antecedente de enfermedad hepática previa. La hepatotoxicidad también es uno de los motivos más frecuentes de que los fármacos sean retirados del mercado.⁽²⁾

El tratamiento de la hepatotoxicidad es inespecífico, la intervención más importante es la pronta suspensión del medicamento o el retiro de la toxina respectiva. Teniendo en cuenta que, el paracetamol es uno de los analgésicos dispensados sin receta médica más vendidos, ya que lo emplean más de 200 millones de pacientes al año, y esto se debe a que casi todo el mundo piensa que el paracetamol es seguro, pero lo cierto es que puede provocar graves daños al hígado e incluso hasta llega a insuficiencia hepática aguda si se toma en dosis altas.⁽³⁾

Por tal motivo el siguiente estudio se planteó en la siguiente interrogante: lo que éste estudio se propuso ¿El extracto acuoso de las flores de overo (*Cordia lutea*) tendrá efecto en la toxicidad Hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho? En este contexto el desarrollo de la investigación tiene la siguiente distribución estructural:

En el *capítulo I* se realiza el planteamiento y formulación del problema de estudio

En el *capítulo II* se presentan los antecedentes nacionales e internacionales, y las bases teóricas que corresponden a las variables de estudio respectivamente, así mismo se realiza la definición de términos relacionados.

En el *capítulo III* se plantea la Metodología de la investigación, se explican las técnicas e instrumentos de recolección de datos y fundamento de los equipos utilizados en la investigación. Así mismo el procesamiento y análisis de los datos estadísticos.

En el *capítulo IV* se detalla la discusión de los resultados y se realiza la comprobación de la hipótesis

Y como última parte de la investigación se presenta el *Capítulo V* donde encontramos las Conclusiones y Recomendaciones.

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

El área de la toxicidad hepática relacionada con drogas se encuentra con documentación todavía limitada, tal vez porque es difícil construir un diagnóstico establecido. Según un estudio francés, 10 de 100 pacientes padecen de hepatotoxicidad. No obstante, el paracetamol es una de las drogas más usual. En Estados Unidos, el 40% de la hepatotoxicidad es causada por el consumo de drogas, Además de ser responsables (entre el 2 % y 5%) de las ictericias en pacientes “del 10% de todos los casos de hepatitis aguda y del 40% de los casos en mayores de 50 años”.⁽⁴⁾

Es numerosa la cantidad de medicamentos y plantas medicinales que pueden contribuir con una enfermedad hepática producida por drogas. Los antiinflamatorios son los más frecuentes en producir hepatotoxicidad. Por otro lado, la cocaína y el éxtasis son la principal causa en los jóvenes.⁽⁵⁾

El tratamiento para este tipo de problema (toxicidad hepática) es casi nulo, a excepción del valproato y el paracetamol, pues contribuye con el uso de carnitina y N- acetil. Los principales mecanismos “involucrados en el efecto hepatoprotector de estos productos naturales, la inhibición del citocromo P450 2E1 (CYP450 2E1) y su acción antioxidante y estabilizadora de membrana”.⁽⁶⁾

El hígado tiene a padecer inflamaciones, infecciones víricas, toxicidad por fármacos, drogas, metabolitos, entre otros. Puesto que, este órgano se encarga de metabolizar las sustancias tóxicas y que estas puedan ser expulsadas con facilidad.⁽⁷⁾

En este sentido la investigación tiene como propósito encontrar una acción positiva de las flores de overo *Cordia lutea* frente a la Hepatotoxicidad producida como efecto adverso de los medicamentos antiinflamatorios que tanto uso tienen hoy en día.

La realidad problemática descrita anteriormente se conduce en la orientación que se puede agravar si no se investiga nuevas formas de tratamiento para tratar o mejor aún prevenir la Toxicidad Hepática en nuestro país, y así contribuir a la información disponible sobre las plantas con efectos terapéuticos favorables para el hombre.

1.2 IDENTIFICACIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1 Problema general

¿Qué componentes químicos presentes en el extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* tendrá efecto en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho?

1.2.2 Problemas específicos

1. ¿Qué componentes químicos presentara El extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* que puedan reducir la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho?
2. ¿El extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* reducirá las alteraciones de los parámetros físicos producidas en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho?
3. ¿El extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* reducirá las alteraciones de los parámetros bioquímicos producidas en

la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho?

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 Objetivo general

Identificar componentes químicos en el extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* y determinar la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Identificar algunos componentes químicos en el extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea*.
2. Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* en la reducción de las alteraciones de los parámetros físicos producidas en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho.
3. Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* en la reducción de las alteraciones de los parámetros bioquímicos producidas en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho.

1.4 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El estudio se justifica teóricamente ya que los resultados que se encuentren en él, sumarán al estado del arte del overo que es un árbol que crece en el Norte del Perú y posee diversos compuestos activos, identificados mediante técnicas cromatográficas diversas.

El efecto hepatoprotector se refiere a la regeneración de células hepáticas mediante la estimulación de la función natural del hígado de reemplazar células dañadas. En el campo de la medicina tradicional a la especie *Cordia lutea* se le atribuyen propiedades curativas como antiasmática, antitusígenas, eliminación de cálculos biliares, ictericia y afecciones hepáticas⁽⁸⁾

Metodológicamente el estudio y las diferentes pruebas experimentales se llevaron a cabo en el laboratorio de Farmacognosia y Farmacología de la facultad de Farmacia y bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Mediante las diferentes técnicas e instrumentos necesarios para la purificación de la muestra, obtención de los metabolitos secundarios e inducción a la toxicidad hepática por paracetamol a los animales de experimentación en los cuales se determinaron los posibles efectos terapéuticos de la planta.

Este estudio es útil porque a partir de los datos que se desarrollen en él, otros investigadores podrán complementar los estudios al respecto de la problemática descrita, buscar nuevos metabolitos de esta planta nativa del Perú, y permitirá que los organismos de salud tengan una herramienta de información referente, del mismo modo los pacientes puedan informarse y acceder a ello.

Los análisis de las pruebas experimentales que se llevaron a cabo en el estudio permitirán tener evidencia científica sobre los efectos terapéuticos de las flores de overo frente a la Hepatotoxicidad, ya que a la escasez de estudios del empleo de flores de overo como alternativa terapéutica para el manejo de toxicidad hepática nos coloca en posición ventajosa al permitir a los químicos farmacéuticos en participar activamente en procedimientos de relevancia clínica directa, esto contribuirá a implementar nuevas formas de tratamiento y a la invención de nuevos medicamentos de origen natural para la población en general que lo necesite.

Finalmente permitirá plantear nuevos protocolos de atención que no presenten las desventajas de los tratamientos actuales, aspecto actualmente de gran trascendencia no sólo para nuestros pacientes sino también para el equipo de salud, en la medida en que se pueda establecer nuevas medidas terapéuticas que permitan el manejo de la enfermedad, protegiendo al organismo de los efectos adversos, propios de la medicina convencional, permitiéndole al clínico ampliar su bagaje terapéutico para la atención de esta patología.

1.5 LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

- a) La investigación se limita a informar aspectos tales como: composición fitoquímica, la hepatotoxicidad y los efectos curativos de las flores de overo.
- b) La investigación solo se limita a realizar la investigación *in vivo* utilizando animales de experimentación mas no se utilizaron material *in vitro* ni microbiológico.
- c) El presupuesto se limita solo al estudio de una planta usando el método de maceración hidroalcohólica.
- d) El desarrollo del proceso de experimentación se llevó a cabo en los laboratorios de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM previa coordinación con el área encargada.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1. Antecedentes nacionales

García M. (2016) realizó un estudio de investigación, titulado “Efecto de los flavonoides totales de hojas de *Cordia lutea* Lam. Sobre hepatotoxicidad inducida por Tetracloruro de carbono en *Rattus norvegicus* var. *Albinus*”, su objetivo principal fue “determinar el efecto protector de los flavonoides totales de las hojas de *Cordia lutea* Lam”. Para la muestra utilizó “32 ratas albinas, machos adultos, con peso entre 300 g, los cuales fueron distribuidos al azar en 4 grupos, de 8 animales cada uno: Grupo I (Blanco: NaCl 0.9%), II (Control: CCl₄), III (Problema I: 10mg/Kg p.c. flavonoides totales + CCl₄) y IV (Problema II: 20mg/Kg p.c. flavonoides totales + CCl₄)”. La metodología fue la siguiente “Cada tratamiento se administró en ayunas, por vía oral durante 15 días mediante sonda nasogástrica. En los grupos III y IV primero se administró la dosis de flavonoides y luego de 2h se administró 0.1mL CCl₄ 10% en aceite de oliva. Se determinaron valores séricos basales y post-estímulo (luego de 15 días) de ALT, BT, BD y BI. Se realizó el estudio histopatológico a los hígados de todos los grupos experimentales, analizándose los parámetros microscópicos. En el grupo II (control) se observó toxicidad hepática evidente al aumentar significativamente los niveles de ALT y bilirrubinas y producir mayor alteración en la estructura de hepatocitos. En el grupo III con una dosis 10mg/Kg de flavonoides totales de

hojas de *Cordia lutea* Lam”. Los resultados del trabajo de investigación son los siguientes: “Se muestran niveles séricos de ALT, BT, BD y BI elevados, con respecto a sus valores basales respectivos ($p < 0.05$) que se corresponden con la alteración histopatológica. Mientras que el grupo IV con una dosis 20mg/Kg de flavonoides totales se muestran niveles séricos de ALT, BT, BD y BI similares a sus valores basales respectivos ($p > 0.05$)”.⁽⁹⁾

Medina Z.,V.L. (2015) Ejecutó una investigación titulada “Estudio farmacognóstico y cuantificación de flavonoides totales de las flores de *Cordia lútea* (flor de overo) proveniente de Cormot distrito de Compín provincia de Gran Chimú región La Libertad”. El objetivo principal de esta investigación fue la determinación de las características farmacognósticas de la flor de *Cordia lútea*, la cuantificación de flavonoides totales Material y Métodos: Para la descripción de las características farmacognósticas se emplearon análisis de calidad macromorfológicos, organolépticos, físico-químicos y fitoquímicos para drogas vegetales según las Normas Ramales de Salud Pública (Cuba). Para la cuantificación espectrofotométrica de flavonoides se utilizó como patrón quercetina y las lecturas se realizaron a 256 nm según el método descrito por Miranda (2000). Resultados: La flor de *Cordia lútea* se definió como una flor de corola Gamopétala acampanada, Cáliz Tubuloso; posee 4 sépalos, 9 estambres, 1 carpelo y un único pétalo; presentó un peso promedio de 0,1127 g, ancho de 2,3 cm y largo de 2,9 cm. Dentro de las características organolépticas se describe como una flor amarilla, con olor suigéneris, sabor ligeramente amargo y de textura lisa. El estudio fotoquímico reveló la presencia de compuestos terpénicos y fenólicos; tales como flavonoides y leucoantocianidinas de los cuales el compuesto mayoritario corresponde a rutina, con un Rf de 0,39. El contenido de flavonoides totales expresados en quercetina fue de 1.5 %. “Conclusiones: Se determinaron las características Farmacognósticas de las flores de *Cordia lútea* “flor de overo”, las cuales comprenden características macromorfológicas, organolépticas, físico-químicas y fitoquímicas. Se determinó su concentración de flavonoides totales expresados en quercetina cuyo valor fue de 1.5%”.⁽¹³⁾

Guillén F. (2016) desarrolló una investigación titulada “Efecto hepatoprotector del *Peumus boldus* “Boldo” en la hepatotoxicidad inducida por Paracetamol en *Rattus rattus* Var Albinus”. El objetivo de la investigación es “evaluar el efecto hepatoprotector del *Peumus boldus* en hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus rattus* var albinus”. La muestra de la investigación experimental fue de “16 ejemplares de *Rattus rattus* var albinus del grupo paracetamol y 8 del grupo paracetamol más boldo a quienes se realizó dosaje de TGO, TGP, FA, PT y F, BT y F”. El resultado de la investigación arrojó los siguientes resultados; “El TGO es mayor en el grupo de paracetamol, lo mismo para la FA, el descenso de peso en gramos de *Rattus rattus* var albinus fue mayor en el grupo de solo paracetamol, pero no fue significativo”. Con respecto al peso del hígado “este fue significativamente mayor en el grupo paracetamol, no hubo diferencias significativas en relación a largo, ancho y altura del hígado”.⁽¹⁴⁾

2.1.2. Antecedentes internacionales

Bermúdez D. et al (2014) en el trabajo de investigación, llamada “Evaluación del potencial hepatoprotector de la *Mentha piperita* L previo a la inducción de hepatotoxicidad con acetaminofén”. La muestra que se utilizó para esta investigación fueron “ratones adultos machos NMRI a los que se administró por vía oral extractos blandos de la planta a dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg, tres días consecutivos previos a la inducción de la hepatotoxicidad”. Los indicadores utilizados fueron “signos clínicos de toxicidad, parámetros bioquímicos hepáticos y el análisis morfológico del hígado”. Los resultados obtenidos indican lo siguiente “diferencias altamente significativas, pero ninguno de los dos grupos presentó un comportamiento similar al grupo control no tratado. No se confirmaron alteraciones macroscópicas del hígado. A nivel Microscópico, los grupos en estudio con *Mentha piperita* L. presentaron daños de leves a moderados con diferencias significativas respecto al grupo control no tratado”. En conclusión, se puede señalar que “según la evaluación del potencial hepatoprotector del extracto de *M. piperita* L. a las dosis estudiadas no se comportó como agente hepatoprotector”.⁽¹²⁾

Asqui M. (2013) en su trabajo de investigación, llamado “Actividad Hepatoprotectora del Extracto de Diente de León (*Taraxacum officinale*) en Ratas (*Ratus norvegicus*) con Hepatotoxicidad Inducida por Tetracloruro de Carbono”. Este trabajo se llevó a cabo en “los laboratorios y el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia – ESPOCH. Su objetivo principal es “comprobar la actividad hepatoprotectora del diente de león, utilizó el extracto de diente de león al cuál se realizó el control de calidad y tamizaje fitoquímico”. Para la realización del trabajo se dividieron a las ratas en tres grupos, los cuales recibieron extracto, a una concentración de 100%, 50% y 25% respectivamente por 9 días, al octavo día se administró tetracloruro de carbono. “Se realizaron pruebas de ASAT y ALAT y se extrajo los hígados para el análisis histopatológico. Para el análisis de datos se utilizó el test ANOVA. En el tamizaje fitoquímico se encontró flavonoides, alcaloides, compuestos fenólicos, y principios amargos. En la prueba de ASAT y ALAT en el grupo GA se elevaron en un promedio de 6,81% del valor normal; GB aumentó un 51,71% y GC un 67,37%. Como resultados el autor evidencio en el examen histopatológico el GA tuvo 40% de destrucción hepática, GB 90% y GC 95%”. En el análisis estadístico “se comprobó que las transaminasas están en proporción directa con la destrucción hepática. El diente de león es hepatoprotector ya que en las pruebas de transaminasas y en el examen histopatológico se evidenció un leve daño hepático con dosis altas del extracto”.⁽¹¹⁾

Marival E. et al (2017) investigaron el “Efecto protector del *petroselinum crispum* (perejil) frente a la hepatotoxicidad crónica inducida con etanol en ratas albinas holtzman”, tuvieron como objetivo evaluar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico sobre la inducción crónica de hepatotoxicidad con etanol en ratas albinas Holtzman jóvenes. Fue un estudio transversal, analítico y experimental. Donde las ratas fueron inducidas por 3 meses las cuales fueron divididas en: Blanco, Control Negativo recibió etanol 20%, Control Positivo etanol 20% y silimarina 25mg/kg y Tratamiento recibió etanol 20% y extracto hidroalcohólico *Petroselinum crispum* 150mg/kg. Durante el procedimiento se realizaron exámenes bioquímicos (sangre) y anatomopatológicos (hígado). Se

utilizaron las pruebas estadísticas de ANOVA y Tukey; se consideró $p < 0,05$ como significativo e intervalo de confianza 95%. Como resultados los autores encontraron que las medias de los niveles bioquímicos de ALT, AST, Bilirrubinas totales y GGT para el grupo tratamiento fueron de 51.76 ± 16.15 , 112.86 ± 56.16 , 0.26 ± 0.07 y 0.66 ± 0.14 . Mientras que las medias de los niveles bioquímicos de ALT, AST, Bilirrubinas totales y GGT para el grupo control positivo fueron de 24.55 ± 4.21 , 44.26 ± 3.85 , 0.24 ± 0.06 y 1.32 ± 0.62 . “El estudio anatomopatológico no mostró cambios relacionados a esteatohepatitis en todos los grupos. Y como conclusión mencionan que el extracto hidroalcohólico de *Petroselinum crispum* presenta nula evidencia hepatoprotectora sobre la inducción crónica de hepatotoxicidad con etanol a las dosis evaluadas, sugieren es necesario más estudios”.⁽¹⁵⁾

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 Flor de overo *cordia lutea*

2.2.1.1 Características etnobotánicas

Cordia lutea, denominada también como “flor de overo, cordia amarilla o muyuyo”, proviene de la arbórea familia de borraja (*Boraginaceae*), oriunda de las Islas Galápagos, Ecuador continental, Perú y las Islas Marquesas en Polinesia. Se utiliza para aliviar el dolor de riñón, desórdenes gastrointestinales, hepatitis.

Cordia lutea se desarrolla en árboles (ocho metros de alto). Las hojas de estos arbustos oscilan entre los cuatro y diez centímetros de largo. Sus ramas tienden a ser velludas. La parte superior de las hojas denotan una textura tosca lo áspero.⁽¹⁶⁾

“Las flores amarillas se distribuyen en racimo y son dulcemente perfumadas. Los pétalos de cada flor se funden juntos en una forma de trompeta, 2-4cm a través en la boca, que tiene de cinco a ocho lóbulos. Dentro de la flor hay cinco a ocho estambres. Después de la fertilización, forma (una drupa), de 8–12 milímetros de diámetro que contiene de una a cuatro semillas. La fruta tiene una pulpa carnosa

que al exprimirse produce un material viscoso que se vuelve pegajoso al ambiente”.⁽¹⁷⁾

2.2.1.2 Uso tradicional

Sus semillas son duras y leñosas sin dispersa, la madera es resistente, los frutos mucilaginosos, sirven para pegar como goma o engrudo. Se usa el mucilago de los frutos en cataplasmas externas y en jarabes diluidos en agua caliente, el mucilago y el cocimiento de las hojas sirven como hemostático.

Las hojas frescas o secas se emplean en decocción como expectorante, y en infusión la planta es usada en los niños una tasa en la mañana y en la noche costra el susto, pero el uso más común es el caso de las flores, para enfermedades hepáticas y en dolor de riñones.

Tabla N° 1. Clasificación taxonómica

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Boraginaceae

Subfamilia: Cordioideae

Género: Cordia

Especie: Cordia lutea

Fuente: Jardín Botánico-Lima Perú.

Un estudio filogenético molecular en 2005 “sugiere que *Cordia lutea* está más estrechamente relacionado con *C. dentata*, tanto desde el Nuevo Mundo, y que estos dos son emparentadas con un gran clado de especies del Viejo Mundo, formando el clan Myxa dentro del género. Se sugiere que el origen del clado estaba en el

Nuevo Mundo, desde donde fue dispersado a África y más allá por las aves”.⁽¹⁷⁾

2.2.1.3 Propiedades terapéuticas

Usada tradicionalmente para:

- Recuperar la belleza y color de la piel.
- cuidar el hígado.
- Hepatitis.
- Como infusión digestiva, para tomar luego de los alimentos (30 minutos después).
- Mejora la apariencia de la Piel, la Ictericia, así como para el cuidado de la Próstata.

Desde tiempos muy remotos nuestros ancestros utilizaban el agua de las flores de overo remojados en agua cuando presentaban enfermedades hepáticas, dentro de los cuales se logra identificar el de lograr la reducción y/o desaparición del daño hepático, mediante un estudio biológico en modelos animales experimentales inducidos a toxicidad hepática⁽¹⁸⁾

2.2.1.4 Metabolitos secundarios de flores de Overo

Los metabolitos secundarios son principios activos o compuestos químicos presentes en las fuentes botánicas. Son compuestos no esenciales para el funcionamiento y desarrollo de la planta por lo que siempre han sido de gran interés científico dar una explicación a sus funciones. Han sido aislados de los extractos o partes específica de la planta para realizar posteriormente ensayos biológicos y formulas farmacéuticas con estas sustancias.⁽²¹⁾

De las flores de overo se han estudiado los siguientes metabolitos secundarios:

Flavonoides: Compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana, constituyen uno de los subgrupos de los compuestos fenólicos más importantes debido a su actividad antioxidante, encontrándose ampliamente distribuidos en el reino

vegetal localizados en la savia vacuolar de las células como hojas, flores y raíces. Los flavonoides pueden clasificarse en seis clases, según las isomerizaciones y los grupos funcionales que les son adicionados, las chalconas, flavonas, flavonoles, antocianinas, taninos condensados y las auronas, también pueden sufrir modificaciones y convertirse en isoflavonoides o neoflavonoides.

La mayoría se caracteriza por ser hidrosolubles y estables al calor siendo susceptibles a los cambios químicos como la maduración, físicos en el procesamiento de alimentos como picado y trituración (rotura de estructuras, lixiviación y destrucción parcial en contacto con el aire) y térmicos, ya que el calor excesivo altera los pigmentos de los alimentos. Estos ejercen actividades importantes como: Antiinflamatorio, antialérgico, antiplaquetario, antiulceroso, antiosteoporótico. Pueden ser usados en el tratamiento de la enteritis, amigdalitis, bronquitis y disentería. ⁽¹⁹⁾

Taninos: Poseen un amplio grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica. “Los taninos hallados en este amplio grupo de compuestos fenólicos son metabolitos secundarios, presentan estructura química variada no nitrogenados, solubles en agua, mezclas hidroalcohólicas, acetona y tienen en común su carácter astringente (precipitan las proteínas) y antiinflamatorio, su capacidad de curtir la piel. Se encuentran repartidos en el mundo vegetal, especialmente en raíces-rizomas, cortezas, leño, hojas, frutos, etc”. ⁽²⁰⁾

El material vegetal debe ser sometido a una minuciosa inspección, en este caso, microscópica, ya que podría detectarse la presencia de algún material inoportuno, como es el caso del polvo o material, denominado como quebrado. Asimismo, la aplicación de un examen microscópico no es integral, por lo tanto, debe estar apoyada por otros métodos analíticos. Si en caso la el material de referencia evidencia que determinadas características no referidas en los requerimientos, esto podría ser considerado como un material raro.

EL agua, etanol (compuestos muy polares); cloroformo y éter (menos polares) son los disolventes utilizados para poder extraer estos compuestos. “La reacción más usual para la detección de los flavonoides en un extracto de planta es la Reacción de Shinoda, en la cual al extracto alcohólico incoloro o ligeramente amarillo se le añade un pequeño trozo de magnesio y unas gotas de HCl concentrado, donde el desarrollo inmediato de la coloración es indicativo de la presencia de: flavonas (amarillo a rojo), flavonoles (rojo a magenta), flavanonas (rojo, magenta, violeta, azul), isoflavonas (amarillo); chalconas y auronas no dan coloración”.⁽²²⁾

Obtención de un extracto hidroalcohólico.

El material vegetal seco y molido se humecta en agua durante 15 minutos y se extrae con etanol dejando macerar por 7 días. El mismo se filtra obteniéndose el extracto hidroalcohólico, hasta lograr el completo agotamiento de la droga. Los extractos hidroalcohólico así obtenidos se reúnen y concentran hasta sequedad por medio de una estufa con aire circulante y se evalúan a través de técnicas de tamizaje fitoquímico según la metodología establecida por el Manual de prácticas de laboratorio de Farmacognosia y siguiendo las especificaciones de la literatura especializada⁽²²⁾

2.2.1 El hígado

2.2.1.1 Anatomía y fisiología del hígado

“El Hígado es una glándula anexa al sistema digestivo que vierte la bilis, producto de su secreción externa, en el duodeno. Es el órgano más voluminoso del organismo, situado bajo el diafragma, sobre el duodeno y delante del estómago. La sangre que recibe viene de dos vías: la arteria hepática y la vena porta hepática, mientras que sale por la vena hepática”⁽²³⁾. Este órgano pesa aproximadamente 1,5 kilogramos. Su textura lisa y de coloración rojo oscura, ya que está contenido de sangre. No obstante, el color puede modificarse debido a las enfermedades que el la persona padezca, como es el caso de la

cirrosis, biliares, achocolatado en cánceres, bajo estas circunstancias el hígado puede volverse de color verde.

El hígado está protegido por el peritoneo, una capa protectora y el parénquima hepático, del cual se desprenden los conductos excretores de la bilis. Estas cápsulas finas y débiles envuelven el órgano.

“El hígado adulto representa la mitad superior de un cuerpo ovoide, cuyo eje mayor es oblicuo hacia arriba y a la izquierda. Posee una parte derecha muy desarrollada hacia atrás y arriba, lateral a la columna vertebral. Ocupa la concavidad diafragmática derecha. Su extremidad izquierda se adelgaza y aplanada debajo del hemidiafragma izquierdo se localiza en el Hipocondrio derecho, por debajo del diafragma y por encima del estómago, y de los vasos del intestino delgado por detrás de las vértebras torácicas”.⁽²³⁾

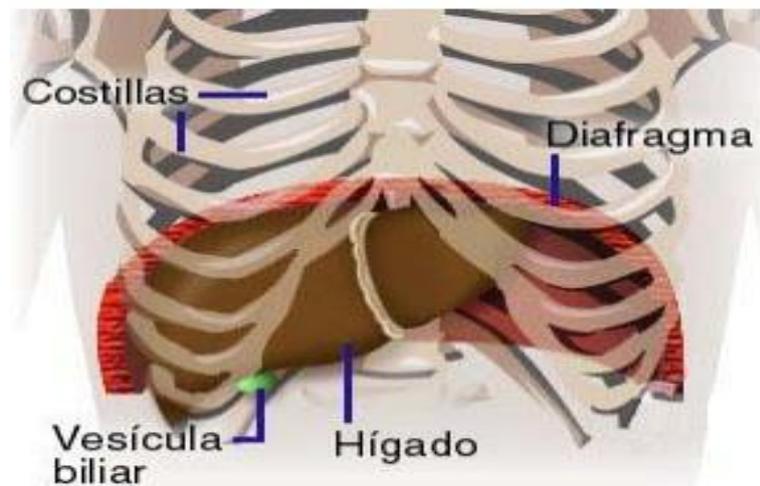


Figura N°1. Posición anatómica del hígado

Fuente: Wikipedia

“Se ubica adelante con el diafragma, separado de éste por el receso subfrénico, dividido en dos por el ligamento falciforme: a la derecha se relaciona con la cavidad pleural derecha y con la quinta costilla en la espiración forzada; a la izquierda se relaciona con la pared abdominal, con el proceso xifoides del esternón, con el pericardio y la cavidad pleural izquierda. La porción posterior de la cara

diafragmática se relaciona con el ligamento coronario, la vena cava inferior, las venas hepáticas, el lóbulo caudado y el ligamento triangular izquierdo”.⁽²⁴⁾

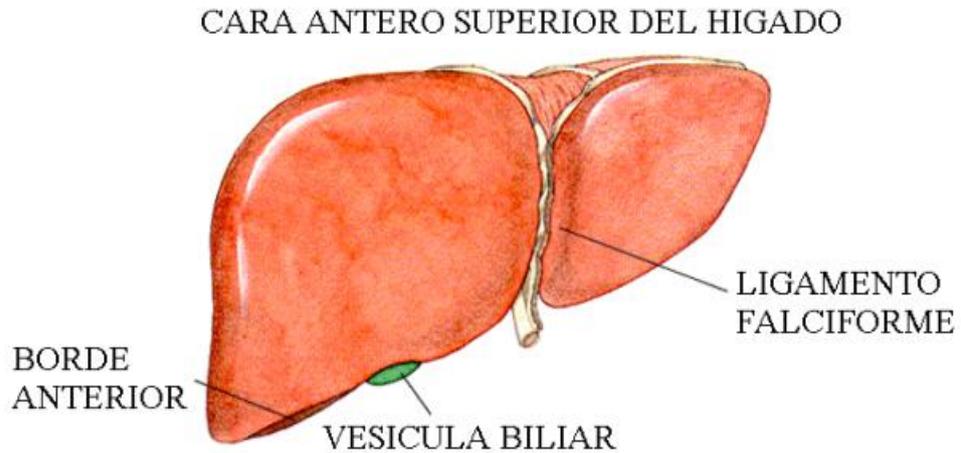


Figura N° 2. Cara anterosuperior del hígado

Fuente: Wikipedia

“Este órgano se relaciona con las vísceras supracólicas y retroperitoneales derechas. A la derecha de la porta hepática el hígado se ubica sobre la flexura cólica derecha y la parte inicial del colon transverso, así como se relaciona con el duodeno. Más atrás y medialmente se relaciona con el riñón y la glándula suprarrenal derecha. A la izquierda se relaciona por delante del omento menor con la flexura superior del duodeno, el colon transverso y la cara anterior del estómago; y por detrás del omento menor con la transcavidad de los epiplones”.⁽²⁵⁾

El hígado recibe sangre arterial para el parénquima a través de la arteria hepática, toda la sangre venosa de las vísceras abdominales por la vena porta hepática, excepto la sangre de las venas retroperitoneales, y en el feto sangre desde la placenta por la vena umbilical. Estos vasos llegan al hígado por la raíz hepática y umbilical. La sangre sale del hígado por las venas hepáticas que llegan a la vena cava inferior.⁽²⁵⁾

“La bilis elaborada en el hígado es evacuada por los conductos biliares. Los conductos son primero intrahepáticos (derecho e

izquierdo), y luego se unen en uno común. Éste recibe al conducto cístico, de la vía biliar accesoria, y forman el conducto colédoco. La vesícula biliar está al término del conducto cístico”.⁽²⁵⁾

2.2.1.2 Funciones del hígado

Este órgano tiene más de quinientas funciones, y es clave para el aparato digestivo y el sistema inmunitario, puesto que ayuda a controlar el metabolismo de las grasas y el azúcar. Asimismo, contribuye, de manera significativa, el procesamiento de los alimentos, puesto que el 90% de los nutrientes pasar por este órgano. El hígado tiene la facultad de convertir los alimentos en energía, almacena nutrientes y produce proteínas sanguíneas. “Además, actúa como filtro para eliminar sustancias nocivas de la sangre. En los fetos en formación, los hematíes se producen en el hígado”.⁽²⁵⁾

- **Metabolismo**

El hígado desempeña diferentes funciones que son vitales para el cuerpo humano, entre ellas:

- Se encarga de la regulación, ya sea por acumulación o liberación de colesterol y azúcar.

El órgano opera de la siguiente manera: Al ingerir los alimentos, el hígado lo detecta y transforma la glucosa en glucógeno, el mismo que utilizará pronto. Por otro lado, cuando el cuerpo requiera de energía el glucógeno volverá a su estado anterior (glucosa). A este procedimiento se le denomina gluconeogénesis.

El hígado es el encargado de regular el almacenamiento de las grasas, a través de la conversión de los aminoácidos de la comida digerida en ácidos grasos, como los triglicéridos; el cuerpo humano al no poseer suficiente azúcar, el hígado convierte los ácidos grasos en cetonas, las cuales pueden utilizarse como energía. “Además, controla la producción, el metabolismo y la excreción del colesterol, el cual es un componente fundamental de las membranas celulares y determinadas hormonas”⁽²⁶⁾

- **Almacenamiento**

El hígado tiene en su poder a vitaminas como A, D, B-9 (folato) y B12. Asimismo, contiene hierro. El exceso de numerosos medicamentos, como el paracetamol y anti-VIH pueden afectar seriamente este órgano, lo cual originaría que los medicamentos ingresen a la sangre. Por ello, se recomienda mucho cuidado al efectuar combinaciones entre fármacos o plantas.⁽²⁶⁾

- **Síntesis de las proteínas**

Entre las funciones principales del hígado se encuentra la de sintetizar las hormonas, enzimas, factores inmunitarios y de coagulación. Las enzimas hepáticas aminotransferasas o transaminasas se encargan de la descomposición de los aminoácidos de la comida digerida y los utilizan para elaborar nuevas proteínas necesarias para el organismo. “Cuando las células hepáticas están inflamadas o dañadas, estas enzimas pueden liberarse y acumularse en grandes cantidades en la sangre; es posible determinar su concentración mediante un sencillo análisis de sangre”.⁽²⁶⁾

La albúmina es una proteína importante para que correcta actividad de la sangre, esta proteína es sintetizada por el hígado, del mismo modo las proteínas correspondientes al transporte de minerales, grasas, hormonas y vitaminas. “Los factores de coagulación producidos por el hígado son el fibrinógeno, la protrombina (Factor II) y una proteína que forma parte del proceso de coagulación (el Factor VII). Estos factores permiten a la sangre coagularse después de sufrir una herida; cuando los niveles son bajos, pueden producirse hematomas con facilidad y hemorragias prolongadas. Otras proteínas sintetizadas por el hígado son la alcalina-fosfatasa, la gamma-glutamyl-transferasa (GGT) y el factor de crecimiento insulínico”.⁽²⁶⁾

- **Desintoxicación**

El órgano tiene la vital función de desechar sustancias peligrosas que puedan afectar al cuerpo humano, por ejemplo: las drogas, medicamentos, metales pesados, alcohol. Estas sustancias son

controladas por el hígado, sin embargo, el exceso del consumo de dichos productos peligrosos puede ser fatal para el órgano, y por consiguiente para el cuerpo humano. Además, el hígado se encarga de excretar derivados tóxicos del metabolismo normal y las hormonas sobrantes.

- **Detoxificación de fármacos y toxinas**

Las membranas que rodean los sinusoides está constituido por una gran cantidad de fenestraciones o poros que permiten el paso directo de moléculas hacia los hepatocitos lo cual confiere a los hepatocitos esta capacidad de depurar fármacos, toxinas, drogas, etc. No obstante, las sustancias mencionadas no pueden ser desechadas por el cuerpo directamente por la vía renal, sino que tiene que sufrir algunos cambios para ser más asequibles para ser eliminados.⁽³¹⁾.

El proceso se divide en dos etapas: oxidación y conjugación. “La oxidación se realiza en el REL o en las mitocondrias de los hepatocitos y consiste en una serie de reacciones llevadas a cabo por las enzimas del citocromo P450 que oxidan a estas sustancias y las inactivan. La conjugación se realiza con el ácido glucurónico, la glicina, taurina o radicales sulfato. Se ha visto que el consumo prolongado de ciertos fármacos genera hipertrofia del REL y por consiguiente aumentan las enzimas encargadas de estos procesos”⁽³¹⁾

- **Metabolismo de los fármacos**

En el hígado se realizan dos etapas:

Fase I: Relacionada con reacciones de oxidación y disminución de modificación de grupos funcionales. De esta manera, esto ocasiona el acrecentamiento de la hidrosolubilidad de los metabolitos, facilitando la excreción biliar y urinaria.

Fase II: Reacciones de conjugación en las que el fármaco o un metabolito derivado del mismo se acoplan con substratos endógenos como el ácido glucurónico, acético o sulfúrico, que nuevamente generan metabolitos más solubles en medios hídricos facilitando de

esta forma su excreción. La mayoría de los mecanismos celulares implicados en la lesión hepática tóxica idiosincrásica siguen siendo desconocidos.

La hipótesis más plausible es la generación de metabolitos reactivos durante las reacciones de biotransformación hepática de fase I controladas por el citocromo P-450 (CYP450), un conjunto de enzimas microsomales bajo control genético⁽²⁹⁾.

La ausencia de un determinado CYP o la presencia de polimorfismo en uno o varios CYP determinaría bien la inactivación del compuesto original (tóxico) o bien la formación de metabolitos aberrantes (idiosincrasia metabólica).

El resultado de éste proceso es la presencia intracelular de radicales libres o compuestos electrofílicos que depleccionan el glutatión de las células, se unen covalentemente a proteínas, lípidos o ácidos nucleicos o inducen peroxidación lipídica. “La lesión citotóxica culmina en la muerte celular por necrosis o apoptosis. La necrosis es consecuencia directa de la peroxidación de los lípidos de membrana, dando lugar a la rotura celular y a la salida de componentes citosólicos al espacio extracelular”.⁽²⁸⁾

La apoptosis en cambio se caracteriza por la condensación progresiva de la cromatina nuclear, descrita sobre todo en relación con la toxicidad por ácidos biliares y mediados por un mecanismo dependiente de Fas (proteína receptora de la familia de receptores del factor de necrosis tumoral alfa). “El exceso de ácidos biliares en el citosol hepático ocasiona una traslocación del Fas citosólico a la membrana, uniéndose a su ligando fisiológico, lo cual desencadena la cascada de caspasas que culmina en la apoptosis celular. Sin embargo, el efecto citotóxico también puede ser secundario al estrés oxidativo que se genera durante el metabolismo de las toxinas”.⁽³⁰⁾

En situación de estrés oxidativo se produce una depleción de ATP, la oxidación de grupos sulfhidrilo de las proteínas, trastornos en la homeostasis iónica y un aumento sostenido en la concentración intracelular de Ca⁺⁺. Todo esto conduce en última instancia a la pérdida de la integridad celular.

En una minoría de casos el metabolito reactivo presumiblemente forma aductos con proteínas o con el propio enzima microsomal que lo ha generado, comportándose como un neoantígeno. Estos neoantígenos, formados a nivel del citosol, migran hacia la membrana celular bien vía vesicular o uniéndose a moléculas HLA de membrana, desde donde estimulan la respuesta inmune celular y humoral dirigida contra las células hepáticas originando así las reacciones idiosincrásicas inmunoalérgicas o por hipersensibilidad⁽²⁹⁾.

“En raras ocasiones la hepatotoxicidad idiosincrásica sobreviene por un fallo genéticamente condicionado en los sistemas enzimáticos de detoxificación (reacciones de fase II) encargados de neutralizar los metabolitos reactivos, los cuales pueden dar lugar a determinados síndromes como la colestasis, al inhibir transportadores específicos de la bilis, o a la esteatosis microvesicular y esteatohepatitis al alterar la β -oxidación mitocondrial”.⁽²⁹⁾

2.2.1.3 Células Kupffer

Las células Kupffer son “macrófagos específicos del hígado poseen forma estrellada y un núcleo oval grande y globoso y un núcleo visible; su citoplasma contiene una gran cantidad de lisosomas por ser de tipo fagocitaria para incorporar partículas grandes como eritrocitos y bacterias; también unen partículas pequeñas pero lo hacen a través de vesículas por pinocitosis. En estas células se expresa la enzima NADPH-oxidasa la cual participa definitivamente en el desarrollo de la lesión hepática inducida por tóxicos”.⁽³⁰⁾

“Tienen diversas funciones la principal quizá sea la de mantener la homeostasis hepática a diferentes niveles, la endocitosis es el proceso mediante el cual se mantiene la homeostasis por la captación de algunas proteínas plasmáticas y otras sustancias sanguíneas ya que su reclutamiento propicia una respuesta metabólica que lleva a producir citosinas y eicosanoides”.⁽³⁰⁾

Se observa una elevada actividad de peroxidasa en retículo endoplásmico rugoso y la envoltura nuclear. Remueven los remanentes de las LDL oxidadas del plasma, también captan las

VLDL y lipoproteína A⁽⁷⁾. “En algunas enfermedades como cirrosis biliar primaria, la ictericia obstructiva y el consumo de etanol reducen la habilidad de las células Kuppfer para formar complejos inmunitarios con la inmunoglobulina A (IgA) lo que afecta la capacidad inmunitaria del huésped. Las células Kuppfer poseen receptores para los factores de complemento los cuales se unen a las inmunoglobulinas, el DNA, las bacterias y las plaquetas”.⁽³⁰⁾

2.2.1.4 Daños hepáticos

La hepatitis B o C crónica, el consumo excesivo de alcohol y otros factores pueden causar grave toxicidad hepática. Teniendo en cuenta la cantidad de funciones vitales que realiza el hígado, no es sorprendente que las lesiones hepáticas afecten a casi todos los sistemas orgánicos, entre ellos al digestivo, endocrino, cardiovascular e inmunitario. “A medida que el hígado va sufriendo daños, el tejido normal se va volviendo fibroso (fibrosis, con cicatrices superficiales), graso (esteatosis) y con cicatrices profundas (cirrosis). Cuando el órgano está demasiado lesionado, pierde la capacidad de desempeñar sus funciones normales”.⁽²³⁾

En la cirrosis compensada, el hígado está dañado, pero todavía puede funcionar con relativa normalidad. En la cirrosis descompensada, el órgano ha sufrido tantos daños que no puede funcionar adecuadamente. El tejido cicatrizado puede impedir que la sangre fluya a través del hígado, haciéndola retroceder. Esto puede causar hipertensión portal (tensión alta), varices (vasos sanguíneos estirados y debilitados) en el esófago y el estómago y en otros órganos del sistema digestivo, e incluso hemorragias internas⁽²³⁾.

Cuando las lesiones hepáticas son graves (cirrosis descompensada) también puede aparecer ascitis (acumulación de fluidos en el abdomen), edema (inflamación de brazos y tobillos) y daños renales (en el riñón). Si el hígado no puede filtrar las toxinas y los derivados metabólicos como el amoníaco, estas sustancias químicas se acumulan en la sangre, provocando alteraciones cerebrales y mentales, cambios de personalidad⁽²³⁾

2.2.1.5 Hepatotoxicidad

En Inglaterra en el año 1966, fue reportado el primer caso reportado de toxicidad hepática por fármacos, para ser exactos el paracetamol. La toxicidad por paracetamol afecta frecuentemente a personas de mediana edad (42 años), más mayormente en mujeres. La sobredosis con paracetamol es la causa más frecuente de insuficiencia hepática aguda llegando a un 40%, seguida de las reacciones idiosincráticas (12%), desplazando a las de origen viral (HVA y HVB). En un 20% se desconoce la etiología. Acetaminofen es usado y vendido como analgésico para los alcoholistas por causar menos inflamación gástrica que la aspirina. Sin embargo, Los alcoholistas presentan un riesgo mayor de consumir paracetamol y de exceder las dosis recomendadas. Sin embargo, queda claro que esta asociación empeora la toxicidad hepática y este riesgo está pobremente reconocido por los médicos y los organismos reguladores. ⁽⁴¹⁾

En 1989 un panel de expertos de Estados Unidos y Europa definió por conceso el concepto de lesión hepática, posteriormente el concepto de lesión hepática ha sido retomado en el 2001 por una conferencia liderada por la el Centro de Evaluación e Investigación de Medicamentos de la FDA, Asociación de Investigación y Manufactura farmacéutica y por la Asociación para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas. De esta manera, se estableció que la lesión hepática se define como un aumento de más de tres veces el límite superior normal de alanino aminotransferasa (ALT), más de dos veces el límite superior normal de fofatasa alcalina o una bilirrubina total aumentada más de dos veces el límite superior normal asociada a cualquier elevación en la alanino aminotransferasa o fosfatasa alcalina. ⁽⁴¹⁾

La lesión hepática puede ser hepatocelular cuando existe una elevación inicial predominante de los niveles de alanino aminotransferasa o puede ser colestásica cuando se presenta una la elevación inicial predominante de fosfatasa alcalina. El reconocer las características de la lesión hepática puede ayudar a categorizarlas. Según el tipo de medicamento, algunos podrían mostrar un patrón hepatocelular o colestásico. Estas categorías de lesión hepática no

son mutuamente excluyentes e inclusive podrían encontrarse un patrón mixto.

En los Estados Unidos constituye una de las principales causas de insuficiencia hepática, siendo responsable de más de 56.000 casos de visitas a urgencias, 2.600 hospitalizaciones y 450 muertes al año. Un panel consultivo de la FDA ha recomendado ya varias veces (la última en 2009) incluir una advertencia en todos los productos con paracetamol sobre el riesgo de toxicidad hepática. En enero de 2004, la FDA lanzó una nueva campaña de educación pública que advertía a los consumidores de los riesgos potenciales que conlleva el consumo de paracetamol y otros analgésicos⁽⁴²⁾.

“En la actualidad, algunas compañías farmacéuticas incluyen claramente esta advertencia en los productos que lo contienen. Esto es importante, ya que es posible sufrir sobredosis involuntarias por tomar dos o más medicamentos juntos sin darse cuenta de que todos contienen paracetamol. Sin embargo, la FDA sigue sin exigir que estos productos lleven una advertencia sobre el riesgo de hepatotoxicidad”.⁽⁴²⁾

Se define como hepatotoxicidad (HTX) a la lesión o daño hepático causado por la exposición a un medicamento u otros agentes no farmacológicos. Con el término reacción medicamentosa adversa se designa a la aparición de efectos deletéreos no intencionales que se producen con dosis farmacológicas utilizadas con fines profilácticos y terapéuticos. Estas reacciones adversas que afectan al hígado son más difíciles de definir, por lo que dicho concepto ha sido establecido por reuniones de consenso e incluye, al menos, una de las siguientes alteraciones de los análisis bioquímicos hepáticos:⁽⁴³⁾

- 1) Aumento de alanino aminotransferasa superior a dos veces el límite alto de la normalidad
- 2) Aumento de la concentración de bilirrubina directa sérica más de dos veces el límite alto de la normalidad,
- 3) Aumento de aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina (FA) y la concentración total de bilirrubina, siempre que uno de ellos supere más de dos veces el límite alto de la normalidad.

Sin embargo, la definición de toxicidad hepática medicamentosa puede variar de acuerdo a la entidad, o a la literatura revisada.

En caso de “La (OMS) clasifica la intensidad de la hepatitis en: Leve (Alanina aminotransferasa <2.5 veces el límite superior normal), media (Alanina aminotransferasa 2.6 -5.0 veces el límite superior normal), moderada (Alanina aminotransferasa 5-10 veces el límite superior normal) y severa (mayor de 10 veces el límite superior normal)”.⁽⁴³⁾

Mecanismos de hepatotoxicidad

En la población de los diversos países del mundo, la lesión al hígado es muy frecuente debido al consumo desmesurado de alcohol, fármacos, de ciertos compuestos derivados de plantas y suplementos para bajar de peso, la exposición a virus como los de la hepatitis, el daño ocasionado por el ataque de los ácidos grasos libres producidos en el síndrome metabólico, procesos inflamatorios mediados por el sistema inmunológico y ciertas condiciones genéticas. Estas condiciones patológicas y las características metabólicas y de vascularización propias de este órgano lo hacen más vulnerable⁽³²⁾.

Alrededor del 75% del flujo sanguíneo hepático llega directamente del tracto gastrointestinal por la vena porta. El otro 25% es conducido por la arteria hepática. Los xenobióticos, una vez absorbidos en el intestino delgado viajan en la sangre portal para ser descargados en el hígado, por lo tanto este órgano ha tenido que desarrollar un sistema de detoxificación eficiente. En el proceso de detoxificación los compuestos son convertidos a metabolitos secundarios para ser eliminados más fácilmente del organismo, pero también pueden ser biotransformados a otros compuestos intermediarios altamente reactivos causando un daño directo al hígado⁽³²⁾

La hepatotoxicidad depende de la dosis y el tiempo de contacto, por lo general es reversible en las etapas iniciales de la intoxicación siempre y cuando se elimine la exposición al tóxico. Existen otros factores que potencializan el efecto hepatotóxico uno de ellos es la elevada concentración que alcanzan en el hígado una gran cantidad de

sustancias con naturaleza liposoluble, las transformaciones que sufren dentro del hepatocito y que el hígado es la puerta de entrada hacia los demás tejidos. “Los organelos celulares y sus funciones son los primeros en sufrir el daño, pero no solo los hepatocitos lo experimentan también los colangiocitos, células Kupffer, células de Ito, las células epiteliales sinusoidales, entre otros”.⁽³²⁾

Una gran variedad de fármacos y agentes del medio ambiente son considerados como xenobióticos hepatotóxicos que originan lesión hepática en distintas formas: En su triple aspecto (Zonal, masivo o difuso), esteatosis, colestásis, fibrosis, cirrosis, carcinoma hepatocelular y colangiocelular y alteraciones circulatorias intrahepáticas. “El acino hepático es el lugar donde llegan las especies químicas reactivas por el flujo sanguíneo producto del metabolismo de estos compuestos lo que propicia letalidad característica en zonas específicas debidas, en parte, a la expresión de enzimas y a la presencia de tóxicos en la sangre a lo largo del acino. La mayor parte de estas sustancias producen necrosis lo cual implica pérdida de la homeostasis, alteración de la morfología celular, formación de protuberancias en la membrana, rotura y por último destrucción de organelos”⁽³¹⁾.

Tipos de hepatotoxicidad

Hay dos tipos de hepatotoxicidad: Intrínseca e idiosincrásica.

La Hepatotoxicidad intrínseca, o dosis dependiente, es predecible y reproducible y ocurre con una minoría de fármacos. Mientras algunas de estas hepatotoxinas actúan directamente sobre el hepatocito, otras lo hacen a través de un compuesto tóxico generado durante su metabolismo cuyo ejemplo más característico es el acetaminofén. Otros ejemplos de hepatotoxicidad intrínseca son los producidos por el ácido acetilsalicílico, y las alteraciones hepáticas producidas por productos industriales como el tetracloruro de carbono.

“Mientras que, La hepatotoxicidad idiosincrásica, ocurre de modo impredecible, no se relaciona con la dosis y no es reproducible en

animales de experimentación. Esta última a su vez se divide en idiosincrasia metabólica e inmunoalérgica”.⁽⁴⁴⁾

2.2.1.6 Factores de riesgo y fisiopatología.

La manera en la que diversos orgánulos del hepatocito se ven afectados define el patrón de la enfermedad: La interrupción de la homeostasis del calcio intracelular conduce a la disociación de las fibras de actina en la superficie del hepatocito, lo que da como resultado la aparición de protuberancias en la membrana celular, con su posterior ruptura y lisis celular.

La disociación se puede producir al lado del canalículo, la porción encargada de la excreción de bilis, hay pérdida de los procesos vellosos y la interrupción de las bombas de transporte de proteína asociada a resistencia multidroga 3 (MRP3), impidiendo la excreción de bilirrubina y otros compuestos orgánicos. “Múltiples reacciones hepatocelulares implican el citocromo P-450, generando reacciones que pueden conducir a la unión covalente del fármaco a la enzima, creando así nuevos complejos que no funcionan”.⁽⁴⁵⁾

Los complejos (enzima-droga) anteriormente mencionados migran a la superficie de la célula en vesículas para servir como inmunógenos (objetivo para el ataque por las células T citolíticas), el resultado es una respuesta inmune con participación de células T y citoquinas. E. La activación de las vías de apoptosis por el factor de necrosis tumoral o receptor Fas puede desencadenar la cascada de caspasas intracelulares, que resulta en la muerte celular programada con la pérdida de la cromatina nuclear. F. “Ciertos fármacos inhiben la función mitocondrial, tanto la β -oxidación como las enzimas que participan en la cadena respiratoria. Los ácidos grasos libres no pueden ser metabolizados, y la falta de oxígeno conduce a la acumulación de lactato y especies reactivas del oxígeno (alteran el ADN [ácido desoxirribonucleico] mitocondrial)”.⁽⁴⁵⁾

El factor de riesgo del daño hepático farmacológico va a depender de factores tanto genéticos como adquiridos. Dichos factores actuarían

presumiblemente mediante la inducción o inhibición del citocromo p450 (cyp), o mediante la interferencia con los sistemas enzimáticos detoxificadores. Los factores de riesgo comúnmente relacionados con las reacciones adversas hepáticas son:

Factores genéticos: Estos factores “Determinan la actividad de las vías metabólicas, la efectividad de los factores protectores del organismo y la regulación de la respuesta inmune. La base genética puede condicionar diferencias étnicas en cuanto a susceptibilidad para determinados fármacos, así como la afectación de varios miembros de una misma familia. La existencia de polimorfismos genéticos de los CYP y enzimas hepáticas determina una variabilidad individual en el metabolismo de los fármacos que puede conducir a la aparición de hepatotoxicidad”.⁽⁴⁶⁾

Edad: La afirmación sobre el aumento de la incidencia de HTX con la edad está siendo cuestionada en los últimos años. “Esta predisposición parece más evidente para fármacos como la isoniazida, el halotano o la nitrofurantoína y parece ser debido a un conjunto de eventos como una capacidad metabólica reducida, cambios en el flujo sanguíneo hepático y en la respuesta inmune tisular, la disminución del aclaramiento renal y la polimedicación a la que están expuestos. Sin embargo, la toxicidad hepática inducida por aspirina (síndrome de Reye) y el ácido valpróico son más frecuentes en la edad infantil”²³.

“Por otro lado, la edad no solo influye en la incidencia de reacciones adversas sino también en el pronóstico de las mismas, como ocurre en el caso de la intoxicación por paracetamol en la que la edad mayor de 40 años se ha identificado como factor de riesgo independiente para el desarrollo de fallo hepático fulminante y mortalidad”.⁽⁴⁶⁾

Sexo: Clásicamente se ha atribuido un mayor riesgo de hepatotoxicidad en el sexo femenino, “fundamentalmente en algunas variedades como la hepatitis crónica o la toxicidad producida por determinados fármacos como el halotano, la alfa-metildopa, la tetraciclina, la nitrofurantoína y el diclofenaco. “En cambio, la

hepatotoxicidad por azatioprina parece ser más frecuente en el sexo masculino”¹¹.

“Sin embargo, una publicación reciente no demuestra diferencias significativas en la incidencia de hepatotoxicidad entre ambos sexos, exceptuando un predominio del sexo masculino en edades avanzadas y una mayor frecuencia del sexo femenino en pacientes con fallo hepático fulminante”.⁽⁴⁶⁾

Factores metabólicos y hormonales: “Algunos factores metabólicos y hormonales como la obesidad, la desnutrición, la gestación y el hipertiroidismo incrementan el riesgo de toxicidad hepática por algunos fármacos”². Ejemplo de lo expuesto es el aumento del riesgo de HTX secundaria a halotano y metotrexato en pacientes obesos y/o con otros factores relacionados con la patogenia de la esteatohepatitis no alcohólica. “En cambio, la malnutrición aumenta el riesgo de intoxicación por paracetamol en probable relación con la depleción de glutatión”.⁽⁴⁶⁾

Alcohol: El consumo de alcohol incrementa el potencial hepatotóxico de medicamentos como el metrotexato, la isoniazida, el halotano, la cocaína y el paracetamol, El mecanismo es complejo y podría combinar la inducción de la isoforma CYP2E1, involucrada en el metabolismo de estas sustancias, el agotamiento intracelular de glutatión (resultado de la inhibición directa de su síntesis) y la malnutrición que suele acompañar al alcoholismo crónico.

Fármacos: Las interacciones entre fármacos pueden predisponer a la hepatotoxicidad, tanto por inducción de determinadas isoenzimas del CYP, aumentando así la tasa de producción de metabolitos reactivos, como por inhibición del mismo. “Este hecho está bien ilustrado por el mayor potencial hepatotóxico de la asociación de isoniazida con rifampicina que el de isoniazida sola. A la inversa, la inhibición microsomal del metabolismo estrogénico puede precipitar la aparición de colestasis”.⁽⁴⁶⁾

Enfermedades asociadas: La presencia de determinadas enfermedades asociadas puede aumentar el riesgo de HTX por algunos medicamentos. Por ejemplo, los pacientes con infección por

virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) son más susceptibles al efecto tóxico del timetroprim-sulfametoxazol y las sulfonamidas. “De igual modo, los pacientes con artritis reumatoide presentan un riesgo mayor de toxicidad hepática por ácido acetilsalicílico y están más predispuestos a la hepatotoxicidad con salazopirina que los aquejados de enfermedad inflamatoria intestinal”²⁵.

En general, la presencia de enfermedad hepática subyacente no parece ser un factor de riesgo de HTX, excepto para determinadas situaciones específicas como el metrotexato en la hepatopatía alcohólica, el tratamiento con antirretrovirales y antituberculosos en pacientes VIH coinfectados con los virus de hepatitis B y/o C, la administración de rifampicina como tratamiento del prurito en la cirrosis biliar primaria (resultados contradictorios en los últimos estudios realizados), “el ibuprofeno en los pacientes con hepatitis crónica C o el mayor riesgo de desarrollar una enfermedad venooclusiva hepática secundaria al tratamiento mieloablativo en estos mismos pacientes”²⁶

Independientemente de las situaciones concretas descritas, el uso de fármacos con potencial hepatotóxico y la posibilidad de un mayor riesgo de HTX en pacientes con enfermedad hepática subyacente sigue siendo un tema controvertido. “En cualquier caso, un episodio de hepatotoxicidad será de mayor gravedad en un paciente con enfermedad hepática de base, fundamentalmente cuando existe una disminución de la reserva funcional hepática”.⁽⁴⁶⁾

Dosis: Algunos fármacos producen hepatotoxicidad dependiendo de la dosis administrada. En estos casos, cuanto mayor es la dosis mayor es el riesgo de sufrir hepatotoxicidad. “El paracetamol es un ejemplo conocido de hepatotoxicidad en dosis supraterapéuticas o en pacientes susceptibles. En este tipo de fármacos el efecto hepatotóxico es dosis dependiente y, por tanto, se puede plantear una reducción de la dosis del fármaco sin suspenderlo totalmente”.⁽⁴⁶⁾

2.2.1.7 Drogas que afectan al hígado

Este órgano es uno de los más susceptibles a adquirir alguna enfermedad por el consumo de fármacos u otro tipo de drogas y alcohol, puesto que este se encarga metabolizar estas sustancias para luego ser eliminadas, de esta manera, proteger al cuerpo humano. Las enfermedades, más usuales, que sufre el hígado son; la cirrosis, esteatosis hepática, hepatitis, etc. Asimismo el cáncer al hígado se encuentra en el puesto 6 de las causas de muerte por cáncer.

Durante el 2008 se identificaron 748 300 nuevos casos de cáncer hepático y 695 900 muertes en todo el mundo. El costo para el tratamiento tiende a ser elevado, puesto que el medicamento es caro y puede complicarse.

Conjuntamente, el uso de fármacos para el tratamiento de las enfermedades hepáticas muchas veces no resulta ser el más indicado ocasionando hepatotoxicidad inducida por fármacos evento que agrava aún más la condición patológica. La medicina complementaria alternativa (CAM) de la que se ha obtenido conocimiento empírico sobre el uso de plantas en el tratamiento de infinidad de enfermedades ha sido básica para el diseño de estudios fitoquímicos cuyo principal objetivo es identificar las moléculas responsables de los efectos terapéuticos descritos, así como de los estudios biológicos en los que se intenta explicar los mecanismos de acción a través de los que dichas moléculas funcionan.

Muchas personas en todo el mundo “prefieren utilizar plantas medicinales en lugar de fármacos de patente porque sugieren que las plantas, al ser productos que ofrece la naturaleza generaran menores riesgos y complicaciones, aunado a esto tienen un menor costo. Sin embargo, es importante hacer notar que no por el hecho de ser de origen natural, su utilización no tendrá consecuencias, por esta razón es necesario Introducción ~ 18 ~ realizar los estudios toxicológicos pertinentes para establecer dosis letal media y dosis terapéuticas, esto permitirá con mayor seguridad utilizar de forma adecuada las plantas medicinales”.⁽²⁹⁾

2.2.1.8 Biotransformación de hepatotóxicos y producción de radicales libres

El hígado es capaz de eliminar toxinas de origen endógeno o exógeno a través del sistema de óxido-reducción monooxigenasa de función mixta dependiente del citocromo P- 450 (CYP450). Este sistema consiste en una super familia que implica más de 13 000 genes encontrados en todos los reinos biológicos; catalizan un amplio número de reacciones de monooxigenación: Hidroxilación, epoxidación, desaminación, sulfuración, N-desmetilación, O-desalquilación, S-oxidación y deshalogenación oxidativa.

Más del 50% de las sustancias que ingresan al organismo son biotransformadas por este sistema. El CYP450 es una hemoproteína conformado por un grupo hemo y una cadena polipeptídica de 45 a 55 kD. El grupo hemo lo constituye una protoporfirina IX con un átomo de hierro localizado al centro del anillo protoporfirínico, el cual tiene cuatro ligandos insertos a los grupos pirrolicos y dos ligandos axiales.⁽³⁴⁾

El sistema enzimático P-450 consiste en dos componentes proteicos: la hemoproteína CYP450 y una flavoproteína NADPH citocromo P-450 reductasa. El CYP450 es el lugar de unión del sustrato y del oxígeno molecular, la reductasa sirve como transportador electrónico enviando electrones desde NADPH hacia el complejo CYP450 al sustrato, ya que el transporte de estos electrones es sumamente importante para que lleve a cabo las actividades de monooxigenación. En las células eucariotas el CYP450 se localiza en el retículo endoplasmico liso (microsomas) y en la mitocondria de los hepatocitos con mayor concentración en la región que rodea la vena central, por esto es común observar necrosis perivenosa producto del contacto con los metabolitos reactivos resultantes de la transformación de xenobióticos ⁽³⁴⁾

Generalmente los hepatocitos reaccionan frente al daño por medio de la expresión y activación de sus mecanismos de defensa incluyendo hipertrofia del retículo endoplasmico, inducción de la expresión génica de enzimas antioxidantes, aumento del glutatión y síntesis de

proteínas de fase aguda y choque térmico. Sin embargo, la exposición continua al estrés oxidativo promueve una serie de alteraciones bioquímicas y morfológicas representadas por formación de protuberancias en la membrana celular que consecuentemente pueden alterar la permeabilidad celular y el funcionamiento de la bomba de calcio dependiente de ATP anclada a la membrana lo que genera aumento del calcio citosólico⁽³⁴⁾.

El aumento del calcio intracelular activa diferentes enzimas como las endonucleasas que degradan el DNA. La perturbación de la homeostasis involucra otros eventos como la disrupción del cito esqueleto, activación de enzimas degradativas (fosfolipasa A2 y proteasas) y la estimulación de la poli-(ADP-ribosa) polimerasa. Estos eventos son precedentes activadores de las rutas metabólicas que culminan en muerte celular por apoptosis o necrosis. Cuando la lesión afecta el mantenimiento de los programas celulares, la célula opta por la vía apoptótica. La necrosis inicia a nivel citosólico e implica hinchamiento y pérdida de la integridad de la membrana celular, mitocondrial y nuclear con la concomitante dilatación del retículo endoplásmico. La apoptosis determina la condensación citoplasmática y nuclear con fragmentación sin ruptura de la membrana celular. La apoptosis inducida por fármacos es irregular mientras que la necrosis es zonal⁽³⁴⁾

Diagnóstico de la hepatotoxicidad

Hay varios síntomas inespecíficos como anorexia, náusea, fatiga y franca ictericia, en el contexto de uso de medicación o suplementos dietéticos, que puede ayudar a la sospecha de hepatotoxicidad por fármacos. Para el diagnóstico se deben descartar otras causas de daño hepático incluyendo los diferentes tipos de hepatitis, problemas hemodinámicos o desórdenes del árbol biliar.

Se deben hacer estudios serológicos para los 4 tipos de hepatitis virales, estudios de imagen para determinar si no existe obstrucción o infección del árbol biliar, también si se tiene historia de consumo de alcohol y un AST más del doble que ALT se debe pensar en una

hepatitis alcohólica. También se piensa en daño hepático autoinmune si hay anticuerpos antinucleares o anti músculo liso e hiperglobulinemia⁽³⁹⁾

Situaciones hemodinámicas como shock o fallo cardíaco podrían presentar daño hepático. Se deben descartar desórdenes genéticos y metabólicos (hemocromatosis, deficiencia de α 1-antitripsina, enfermedad de Wilson). Si no hay una causa aparente podría tratarse de hepatotoxicidad farmacológica pero se necesita información de la historia y exámenes en suero que den evidencia química adicional. Hay métodos que le dan punteo a factores claves y la suma da un diagnóstico de hepatotoxicidad con varios niveles de evidencia. La presentación clínica es como lesión hepatocelular aguda (malestar, dolor abdominal e ictericia), ALT elevado y fosfatasa alcalina normal. La aparición de estos síntomas en menos de 26 semanas después de la enfermedad en un paciente sin cirrosis es el distintivo para fallo hepático agudo.

Prevención: El proceso de desarrollo del medicamento es la primera oportunidad para prevenir la hepatotoxicidad provocada por medicamentos. Los estudios con animales son útiles para confirmar las causas predecibles de hepatotoxicidad sin embargo los más importantes son los realizados en humanos ya que se puede detectar la incidencia de casos impredecibles o poco comunes. Los estudios de fase 1 permiten identificar por primera vez hepatotoxicidad relacionada al medicamento en los humanos, están limitados a un número pequeño de participantes expuestos a dosis bajas del medicamento. Durante la prueba de eficacia del medicamento se incluyen más participantes por lo que hay una mayor posibilidad de encontrar nuevos casos de hepatotoxicidad.

La vigilancia post-marketing: Cuando ya fue aprobada la droga, es la fase más importante por lo que se debe reportar a la FDA (US Food and Drug Administration) o la respectiva autoridad reguladora del país de origen del medicamento, cualquier caso de sospecha de hepatotoxicidad relacionada la dosis del medicamento, aun cuando no

sea un medicamento aprobado por ellos (plantas medicinales o medicina alternativa).

En la práctica clínica se deben realizar pruebas hepáticas (niveles de enzimas hepáticas que revelen casos de hepatotoxicidad impredecibles o poco comunes) y lo más importante es que el paciente pueda reconocer síntomas relacionados a hepatotoxicidad (náusea, anorexia, malestar general, fatiga, molestias en el área abdominal superior, prurito e ictericia). “Se debe tomar en cuenta antecedentes de ingesta de medicamentos medicinales o alternativos, y la aparición de ictericia después de un daño hepatocelular”.⁽³⁹⁾

Es adecuado la obtención de imágenes del árbol biliar, a través de la ecografía, tomografía computarizada o resonancia magnética para el estudio cuando se sospecha alguna anormalidad del tracto biliar. El uso de la colangiopancreatografía retrógrada endoscópica permite acoplar al procedimiento diagnóstico intervenciones terapéuticas para aliviar la obstrucción. Una enfermedad autoinmune se debe sospechar si se produce daño hepático en la presencia de anticuerpos anti-nucleares o anti-músculo liso, o de niveles elevados de globulina. El antecedente de alteraciones hemodinámicas, como el shock cardiovascular o insuficiencia cardíaca, puede causar daño hepático. En esta situación, una historia de hipotensión o síncope es común y también debe hacer sospechar una causa isquémica o hemodinámica de la hepatopatía. “Sin embargo en ocasiones la toxicidad puede ocurrir por una suma de mecanismos como en el caso de la cocaína, donde la injuria por hipertermia e isquemia se suma a la toxicidad directa mediada por radicales provenientes de la norcocaína derivada de su metabolización por la CYP3A4, la cual puede ser inducida por algunos anticonvulsivantes y la nevirapina con el consiguiente aumento de la toxicidad de la cocaína”.⁽⁴⁰⁾

“La aparición de síntomas inespecíficos que van desde la anorexia, náuseas, fatiga o de síntomas evidentes como la ictericia con el antecedente de la utilización de medicamentos de venta libre o suplementos dietéticos debería plantear la sospecha de hepatotoxicidad relacionada con drogas. Cuando otras causas de

hepatotoxicidad se han excluido finalmente se debe sospechar como posible agente causante a los fármacos que haya recibido el paciente en los últimos meses”.⁽⁴⁰⁾

Es importante establecer una relación temporal entre la exposición a la droga y la aparición de daño. En el caso que la hepatotoxicidad se deba a un fármaco, la dificultad en definir la causalidad e identificar al agente responsable puede ser mayor cuando se están administrando muchos medicamentos, como es común en el caso de pacientes en tratamiento anti-neoplásica o con antirretrovirales.

El enfoque tradicional ha sido la de retirar selectivamente las drogas sobre la base de suposiciones, en función de experiencias pasadas sobre el perfil de toxicidad de las mismas. “Pero este manejo no siempre es fácil, sobre todo cuando un nuevo medicamento entra en el mercado. Así, diversos instrumentos han sido creados para ayudar con el análisis de causalidad”.⁽⁴⁰⁾

En cuanto al manejo, es sabido que en la mayoría de los casos, no existe un tratamiento eficaz que no sea la suspensión de la droga y las medidas de soporte general. “Las únicas excepciones son la inmediata utilización de N-acetilcisteína en la intoxicación con paracetamol y la administración de carnitina intravenosa para la injuria mitocondrial hepática inducida por ácido valproico aún con niveles dentro del rango terapéutico, en pacientes con alteraciones del nivel de conciencia”.⁽⁴⁰⁾

2.4 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

2.4.1 Hipótesis general

El extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* presenta componentes químicos que reducen la Hepatotoxicidad inducida por paracetamol en ratas Hotzman macho.

2.4.2 Hipótesis específicas

1. El extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* tiene componentes que pueden reducir la toxicidad hepática.

2. El extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* reduce las alteraciones de los parámetros físicos producidas en la Toxicidad Hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho.
3. El extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* reduce las alteraciones de los parámetros bioquímicos producidas en la Toxicidad Hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho.

Se definieron y delimitaron las variables a fin de medir el efecto del extracto acuoso de las flores de overo *Cordia lutea* en la toxicidad hepática inducida por paracetamol de acuerdo a los siguientes criterios.

2.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES

Variables	Dimensiones	Indicadores	Escala
VI Componentes del Extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (<i>Cordia lutea</i>)	<i>Estudio Fitoquímico</i>	Identificación de metabolitos secundarios	Presencia Ausencia
VD Efecto de la Reducción de la Toxicidad Hepática en ratas Holtzman macho	<i>Análisis histopatológico del hígado</i> <i>Análisis bioquímico del daño hepático</i>	Macroscopía: Microscopía: Niveles de enzimas hepáticas	Peso Color a) núcleos picnóticos y vacuolización perinuclear de hepatocitos b) congestión vascular en sinusoides y dilatación sinusoidal (TGO y TGP), Fosfatasa alcalina proteínas totales bilirrubina directa bilirrubina indirecta bilirrubina total albumina globulinas

2.5.1 Variables de estudio

V.I: Componentes del Extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea*.

V.D: Efecto de la reducción de la Toxicidad Hepática en ratas Holtzman macho.

2.6 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICO

- **Toxicidad.** Es la capacidad de alguna sustancia química de producir efectos perjudiciales sobre un ser vivo, al entrar en contacto con él.
- **Biopsia hepática.** Una biopsia del hígado es un examen en donde se toma una muestra de tejido de este órgano para su análisis.
- **Cirrosis:** Es una enfermedad crónica, progresiva e irreversible que afecta al hígado y que consiste en la muerte progresiva del tejido hepático normal, que es sustituido por un tejido fibroso o cicatricial incapaz de ejercer las funciones del hígado.
- **Esteatosis:** Es la acumulación anormal de grasa, mayoritariamente en forma de triglicéridos, en el citoplasma de células parenquimatosas como por ejemplo hepatocitos.
- **Esteatosis hepática:** Es la acumulación de vacuolas de grasa en el citoplasma de los hepatocitos y se caracteriza por presentar unas lesiones hepáticas similares a las producidas por el alcohol en sujetos que no consumen cantidades tóxicas de éste.
- **Fibrosis:** La fibrosis es el evento que antecede a la cirrosis hepática. Los detonantes más frecuentes de este padecimiento son los virus de la hepatitis tipo B y C, abuso de alcohol, fármacos, ciertas drogas y la enfermedad biliar crónica, entre otros.

- **Hepatocitos:** Son las células que desempeñan las funciones metabólicas características del hígado. La organización celular de los hepatocitos define tres regiones diferenciadas en su membrana.
- **Tóxico:** Cualquier sustancia, artificial o natural, que posea toxicidad (es decir, cualquier sustancia que produzca un efecto dañino sobre los seres vivos al entrar en contacto con ellos). El estudio de los tóxicos se conoce como toxicología.

CAPÍTULO III METODOLOGÍA

3.1 TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN

3.1.1 Tipo de la investigación

Además de manipular la variable independiente y de medir su efecto sobre la variable dependiente, una situación experimental lleva a que el tipo de investigación realizada sea de carácter experimental. Del mismo modo debido al escaso precedente de referencia en investigación, sobre los efectos in vivo del extracto hidroalcohólico de las flores de Overo sobre la hepatotoxicidad el presente estudio se realizó en condición de Investigación exploratoria.

Por lo tanto, la investigación es de tipo analítico, experimental, observacional, exploratorio y descriptivo.

3.1.2 Nivel de la investigación

La presente investigación según su propósito es una Investigación Aplicada, ya que se busca dar solución y explicación a un problema común como es la toxicidad hepática.

Según su enfoque la presente investigación es una Investigación Cuantitativa ya que se busca dar respuestas objetivas y puntuales del objeto de estudio.

Investigación Transversal; ya que la investigación se propuso evaluar una única vez a cada unidad muestral, es decir se medirá el peso, apariencia del

hígado y perfil hepático de la rata por única vez una vez finalizada la inducción a hepatotoxicidad.

3.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Esta investigación responde a un diseño experimental, en la cual se manipula las variables deliberadamente, es decir se trata de estudio donde se hace variar en forma intencional las variables para ver su efecto sobre otra variable. En un diseño experimental se manipulan deliberadamente una o más variables, vinculadas a las causas, para medir el efecto que tienen en otra variable de interés y las pruebas controladas para entender los procesos causales.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

3.3.1 Población

La población de estudio está constituida por 28 ratas Holtzman machos del criadero del Instituto Nacional de Salud 4 grupos (n=7) distribuidas aleatoriamente cada uno con peso promedio de 280 ± 300 gr, sujeto a los resultados farmacólogo

3.3.2 Muestra

De las 24 ratas de la población, solo se eligió 24 ratas Holtzman machos del criadero del Instituto Nacional de Salud 4 grupos (n=6) distribuidas aleatoriamente cada uno con peso promedio de 280 ± 300 gr.

Criterios de Inclusión

- Ratas con peso promedio (280 ± 300 gr)
- Ratas procedentes de un bioterio
- Ratas entre 6 y 8 meses

Criterios de Exclusión

- Ratas preñadas
- Ratas con bajo peso

- Ratas infectadas
- Ratas con mal formaciones

3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.4.1 Técnica

Método de maceración hidroalcohólica

Cuando la maceración se realiza en alcohol o en vinagre, vino y otras bebidas alcohólicas (extracto hidroalcohólico). En este caso el proceso puede alargarse desde varias semanas a varios meses. A veces hace falta años para conseguir una maceración completa. “Este tipo de preparaciones están totalmente contraindicadas en personas con alcoholismo. Una vez macerado el producto, se debe colar y guardarse en un recipiente opaco de cristal (no se debe conservar nunca el alcohol en botellas de plástico). Existen unos recipientes especiales de cristal para realizar y guardar estas preparaciones en herboristerías y tiendas especializadas. Son maceraciones algunas preparaciones medicinales como las tinturas o el vinagre de los cuatro ladrones”.⁽⁴⁶⁾

Marcha fitoquímica

Es una técnica utilizada en farmaconogía que ayuda a determinar que metabolitos están presentes en los extractos de las plantas, utilizando en el procedimiento varios reactivos, cuyas reacciones como presipitados, cambios de color etc., indican la presencia de flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, alcaloides etc.⁽⁴⁷⁾

Cromatografía de capa fina

La cromatografía en capa fina es una técnica analítica rápida y sencilla, muy utilizada en un laboratorio de Química Orgánica. Entre otras cosas permite:

- Determinar el grado de pureza de un compuesto. Se puede determinar así, por ejemplo, la efectividad de una etapa de purificación.

- Comparar muestras. Si dos muestras corren igual en placa podrían ser idénticas. Si, por el contrario, corren distinto entonces no son la misma sustancia.
- Realizar el seguimiento de una reacción.

“Es posible estudiar cómo desaparecen los reactivos y cómo aparecen los productos finales o, lo que es lo mismo, saber cuándo la reacción ha acabado. La muestra a analizar se deposita cerca de un extremo de una lámina de plástico o aluminio que previamente ha sido recubierta de una fina capa de adsorbente (fase estacionaria). Entonces, la lámina se coloca en una cubeta cerrada que contiene uno o varios disolventes mezclados (eluyente o fase móvil). A medida que la mezcla de disolventes asciende por capilaridad a través del adsorbente, se produce un reparto diferencial de los productos presentes en la muestra entre el disolvente y el adsorbente”.⁽⁴⁸⁾

La cromatografía en capa fina se utiliza para observar el comportamiento de la separación colorimétrica en tintas, para separar y cuantificar compuestos de una muestra preparada previamente, si bien no se han publicado estudios que valide su estandarización para la determinación del tiempo de la corrida cromatográfica, número de confetis extraídos y la cantidad de sustancia extraída de la disolución confetis-piridina para su análisis en la cromatoplaca, entre otros.⁽⁴⁸⁾

Evaluación histopatológica (Evaluación de tejido del hígado de la rata)

Se realizó con el objetivo de analizar la severidad del daño tisular, y cuantificar el número de células infectadas e infiltrado inflamatorio. Se utilizaron muestras de tejido hepático de las ratas. Finalmente, utilizando un aumento de 400x en el microscopio, se determinó la magnitud y características del daño tisular, el número de células inflamatorias y la eventual presencia de tejido fibroso, en 50 campos elegidos al azar.⁽⁴⁹⁾

Análisis bioquímico

Los análisis de la función hepática son un grupo de pruebas que se utilizan para evaluar lesiones, infecciones e inflamación del hígado. El hígado cumple funciones importantes: almacena la energía proveniente de los

alimentos, produce proteínas y ayuda a eliminar toxinas. El hígado también fabrica la bilis, un líquido que ayuda a hacer la digestión ⁽⁵⁰⁾

Los análisis de la función hepática evalúan lo siguiente:

La alanina aminotransferasa (ALT). Esta enzima, presente en el hígado, cumple una función en el metabolismo (el proceso que convierte los alimentos en energía). Si el hígado se lesiona, se libera ALT en el torrente sanguíneo. Los niveles de ALT son particularmente elevados cuando existe una hepatitis aguda. ⁽⁵⁰⁾

- Fosfatasa alcalina (ALP). Esta enzima se encuentra en el hígado, los huesos, los intestinos, los riñones y otros órganos. Tanto los niños como los adolescentes tienen niveles de ALP más elevados que los adultos, aun cuando están sanos, a causa del crecimiento óseo. Pero los niveles de ALP también pueden aumentar como consecuencia de infecciones virales, enfermedades hepáticas y el bloqueo de los conductos biliares. ⁽⁵⁰⁾

Aspartato aminotransferasa (AST). Esta enzima, que desempeña un papel en el procesamiento de proteínas, está presente en el hígado, el corazón, los músculos y los riñones. Cuando el hígado se lesiona o inflama, los niveles de AST en la sangre suelen ser elevados. ⁽⁵⁰⁾

- Bilirrubina total y bilirrubina directa. “La bilirrubina es un derivado de la degradación de los glóbulos rojos. Por lo general, pasa a través del hígado y es eliminada del organismo. Pero si esto no ocurre, a causa de una enfermedad hepática, los niveles de bilirrubina en la sangre suelen aumentar y la piel se torna amarillenta (ictericia). Los análisis de bilirrubina pueden ser total (miden el nivel de toda la bilirrubina en sangre) o directa (miden solamente la bilirrubina que ha sido procesada por el hígado y como resultado se ha unido a otras sustancias químicas)” ⁽⁵⁰⁾
- Albúmina y proteína total. “La proteína es necesaria para formar y mantener los músculos, los huesos, la sangre y el tejido de los órganos. A veces, cuando hay un problema con el hígado, éste no puede producir proteínas y, por lo tanto, los niveles de proteínas disminuyen. Los análisis de las funciones hepáticas miden específicamente la albúmina (la proteína más importante de la sangre

producida por el hígado) y la cantidad total de todo tipo de proteínas en la sangre”.⁽⁵⁰⁾

3.4.2 Instrumentos

Espectrofotómetro UV- visible Hewlett Packard

Equipo de Cromatografía en capa fina

Lámpara de luz ultravioleta 265

Balanzas analíticas sensibles

Balanza electrónica

Estufa

3.5 MATERIALES Y REACTIVOS

Tabla N° 2. Materiales y Reactivos usados en el proceso experimental

Materiales	Reactivos
Frascos ámbar	Agua destilada
Baguetas de vidrio	Reactivo Molish
Mortero	Reactivo Fehling
Molino de cuchillas	Reactivo Mayer
Embudos de vidrio,	Reactivo Berthrand
Pipetas de vidrio	Reactivo Dragendorff
Beckers	Reactivo Ninhidrina
Fiolas	Reactivo FeCl ₃
Matraces	Reactivo Shinoda
Papel filtro whatman N° 40	Suero fisiológico
Sonda orogástrica	Cloroformo
Jeringas de insulina	Butanol
Jeringas de 5 ml	Metanol
Aguja N°27	Etanol
	Hematoxilina-eosina

Recolección e identificación de la planta

La planta fue recolectada en los campos del distrito de Cajaruro, provincia de Utcubamba, departamento de Amazonas, fue Identificada y certificada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos donde fue clasificada como flores de overo *Cordia lutea*, se limpió, deseco y molió las flores.

Criterios de inclusión de las flores

- Flores en buen estado frescas
- Flores procedentes de un vivero

Criterios de exclusión

- Flores en mal estado
- Flores caídas antes de cosecha
- Flores picadas por insectos.

3.6 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Preparación del extracto hidroalcoholico

Se obtuvo el extracto hidroalcohólico de flores de overo *Cordia lutea* al 16% mediante el método de maceración según la Fundación para el Desarrollo Socioeconómico y Restauración Ambiental (FUNDESYRAM), Para ello primero se dejaron secar las hojas durante dos días en una estufa con aire circulante, a 38°C de temperatura. Luego, se pesaron 100 gramos de flores secas en una balanza electrónica, la cual fue calibrada en 00.00 luego de pesar un pedazo de papel aluminio, en el cual fueron colocadas las flores. Posteriormente, éstas fueron molidas en un molino de cuchilla hasta obtener un polvo fino. El cual se diluyó en 1 Ltr. de alcohol de 96°C y se dejó macerar por 7 días. Luego se filtró y se colocó a la estufa alrededor de 40°C hasta eliminación del solvente y obtención de peso constante, obteniéndose el extracto seco a una concentración de 16g/ml y se almacenó debidamente en un envase de vidrio color ámbar.

Marcha de solubilidad: Se usó 1mL de solventes de polaridad creciente y 3 mg de extracto de flores de overo, para medir la solubilidad.



Figura N° 3. Identificación de metabolitos secundarios mediante marcha fitoquímica

Identificación de metabolitos secundarios mediante marcha fitoquímica

Se utilizó 5 mg del extracto acuoso de flores de overo y gotas de los reactivos cromogénicos para la identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto, con reacciones de caracterización química de coloración y precipitación.

a) Determinación de flavonoides

En un tubo de ensayo se colocó 1mL de las muestras con R. Shinoda. Con 1 limadura de magnesio pequeña, con un gotero se añadió 3 gotas de HCl concentrado. Se observó un intenso burbujeo por la reacción de las limaduras y la solución fue adquiriendo una débil coloración naranja al principio; conforme fue reaccionando más, la coloración naranja se fue intensificando, hasta que después de 10 minutos la solución tuvo un color anaranjado intenso.

b) Determinación de quinonas

En un tubo de ensayo se introdujeron 5 ml de cada muestra, se añadió 0,2mL de etanol y 0,4mL de NaOH al 5%. Se evidencio una ligera coloración que va del amarillo pasando por el rojo al violeta, por lo que se concluye que hay presencia de quinonas en ambas concentraciones del extracto.

c) Determinación de alcaloides

Se disolvió 8g de Bi (NO₃)₃.5H₂O en 20 mL de HNO₃ (Reactivo de Dragendorff) se mezcló con 50 mL de muestras conteniendo 27,2 g de KI, se dejó reposar la solución, se decantó el sobrenadante y diluyo a un volumen de 100 mL. Al agregar unas cuantas gotas de este reactivo a una solución ácida de la muestra se observó la aparición de un precipitado que va del naranja al rojo.

También se realizó la prueba con el reactivo de Mayer el cual contiene HgCl₂ en agua destilada + KI.

e) Determinación de aminoácidos: Se colocó en un tubo de ensayo 10 gotas de ambos extractos con 2 gotas del reactivo de ninhidrina. La coloración violácea se consideró negativa.

f) Determinación de compuestos fenólicos: Se colocó en un tubo de ensayo 10 gotas de los extractos con 2 gotas de Fe Cl₃ (tricloruro de hierro). La presencia del precipitado rojo oscuro o marrón se consideró positivo.

Después de la identificación de metabolitos secundarios, realizó la cromatografía en capa fina y para el aislamiento se utilizó como fase fija silicagel F La estructura química fue elucidada utilizando el equipo correspondiente se leyó a una longitud de onda de 765 nm en el Espectrofotómetro UV-visible, los valores totales fueron expresados como mg/Equivalentes.

g) Determinación de taninos: Se colocó en un tubo de ensayo 10 gotas de los extractos con 2 gotas de Gelatina. La presencia del precipitado blanco se consideró positiva.

h) Determinación de glicosidos: Se colocó en un tubo de ensayo 10 gotas de los extractos con 2 gotas Reactivo de Baljet. La presencia de coloración naranja se consideró positivo

3.7 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

Cromatografía en capa fina

-Se preparó láminas de silica gel de 5x20 cm y se activaron para luego realizar la siembra de la muestra con capilares.

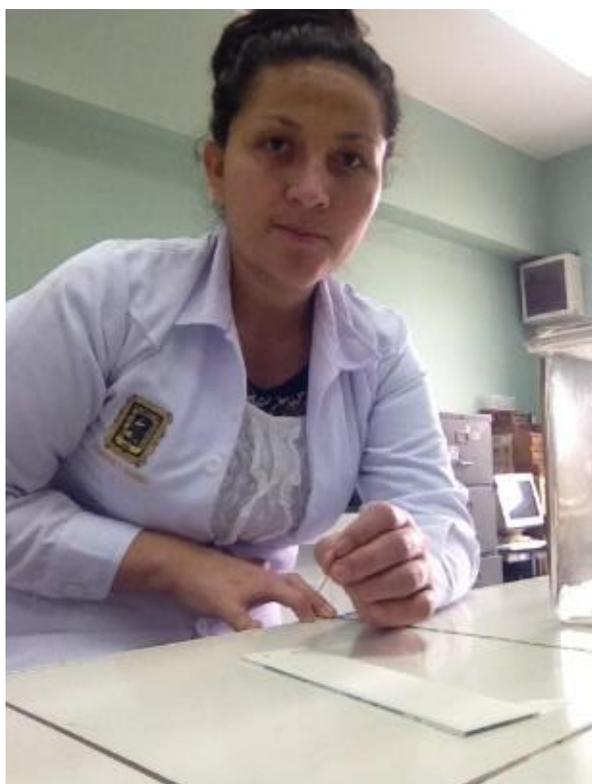


Figura N° 4. Investigadora en plena ejecución de la siembra con capilares. TLC

-Se preparó el sistema de solventes cloroformo: metanol 3:1 y se agregó a la cubeta de cromatografía, luego se colocó la cromatoplaaca sembrada para su desarrollo por el sistema de solventes escogido.



Figura N° 5. Cubeta de cromatografía con las placas de silica gel

Se dejó correr la cromatoplaaca hasta su término durante 2 horas, se revelo a la lámpara de luz UV- Vis.



Figura N° 6. Investigadora observación de las láminas de silica gel en la lámpara de luz UV Vis

-Se observó que la lámina tenía aproximadamente 21 manchas que corresponderían a 21 componentes químicos detectados por cromatografía en capa fina, las manchas correspondientes se desorbieron con etanol y se guardaron en viales para posteriormente ser leídos en el espectrofotómetro UV- Vis con la ayuda de un experto en espectrofotometría, como es el Dr. Pablo Bonilla.



Figura N° 7. Lámina que contiene más de 21 componentes químicos detectados por cromatografía en capa fina



Figura N° 8. Muestras guardadas en viales

Efecto de la toxicidad hepática:

Inducción de la toxicidad Hepática en ratas Holtzman macho usando paracetamol

El Paracetamol (15 tabletas de 500mg) se obtuvo en la farmacia Mifarma del laboratorio Farminindustria. Se diluyó cada cápsula de paracetamol, previamente molido, en suero fisiológico hasta alcanzar una concentración de 200 mg/ml.

Las 24 ratas Holtzman machos obtenidas del criadero del Instituto Nacional de Salud se dividieron en 4 grupos (n=6) distribuidas aleatoriamente cada uno con peso promedio de 280 ± 300 gr de peso a las cuales se les administro el medicamento diluido mediante copulación orogástrica durante 5 días.

Durante el proceso de inducción estas fueron habituadas en cajas de polipropileno y alimentadas con alimento comercial y agua ad libitum con ciclos de 12 h de luz y control de temperatura durante el tiempo establecido.

Los animales tuvieron un periodo de aclimatización de 7 días antes de iniciado el experimento, con ciclos alternados de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, en un ambiente estándar con temperatura constante ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) y $55 \pm 5\%$ de humedad. Los rangos de temperatura fueron mantenidos mediante la utilización de un calefactor. La temperatura y humedad fueron

controladas mediante un higrotermómetro electrónico. Se alimentaron a las ratas con agua ad libitum y 20 gramos de ratina al día (dieta normocalórica y normoproteica) Posteriormente los animales fueron divididos en 4 grupos homogéneos y equitativos de manera aleatoria. Antes del inicio del experimento, las ratas fueron pesadas y tratadas diariamente por 5 días utilizando el siguiente protocolo:

Grupo R1: este grupo estuvo constituido por 6 ratas y se le administró una dosis orogástrica diaria de suero fisiológico (1ml/kg).

Grupo R2: este grupo estuvo constituido por 6 ratas que recibieron 1 dosis orogástrica diaria de paracetamol (200 mg/kg) y una hora después suero fisiológico

Grupo R3: este grupo estuvo constituido por 6 ratas que recibieron 1 dosis diaria de paracetamol (200 mg/kg) por canulación gástrica y 1 hora después extracto acuoso de Flores de Overo (250 mg/kg) por canulación gástrica.

Grupo R4: este grupo estuvo constituido por 6 ratas que recibieron 1 dosis diaria de paracetamol (200 mg/kg) por canulación gástrica y 1 hora después extracto acuoso de Flores de Overo (500 mg/kg) por canulación orogástrica.

Tabla N° 3. Esquema de protocolo de inducción de toxicidad hepática

Grupo R1	Grupo R2	Grupo R3	Grupo R4
Solución Salina	Solución Salina	EAFO 250 mg/kg	EAFO 500 mg/kg
Después de 1	HORA		
	P(200mg/kg)	P(200mg/kg)	P(200mg/kg)
Después de una hora: Realimentación			

Análisis bioquímico

Con la colaboración y supervisión de un personal experto en obtención muestra sanguínea de ratas, perteneciente al Departamento de Bioquímica de la UNMSM, se obtuvieron las muestras necesarias al final del experimento para el análisis de enzimas hepáticas:

- TGO (Transaminasa glutámico oxalacética)
- TGP (Transaminasa glutámico purúvica)
- Fosfatasa alcalina
- Proteínas totales
- Bilirrubina directa
- Bilirrubina indirecta
- Bilirrubina total
- Albumina
- Globulinas

Se utilizó el método de punción cardiaca, para lo que se introdujo la cabeza del animal en un frasco que contenía un pedazo de algodón embebido en éter con el fin de anestesiarlo por unos segundos. Luego se procedió a punzar en la región precordial con aguja N°27 y jeringa de 5 cc, se aspiró hasta obtener un mínimo de 4mL de sangre, el cual fue colocado en un tubo seco sin heparina y fueron llevados al laboratorio de análisis clínico de la UNMSM para ser analizada.

El tratamiento de los animales se realizó de acuerdo a los términos de la NOM-062-ZOO-1999. Especificación para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. El manejo de los desechos biológicos fue realizado de acuerdo a la NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.

Análisis histopatológico

Para el análisis del hígado todos los animales fueron sacrificados a las 24 h por degollamiento después del tratamiento con el extracto acuoso. Se

obtuvieron los hígados intactos. Los hígados fueron lavados con suero fisiológicos y se valoraron los parámetros macroscópicos como lo sigue:

1. **Peso:** se colocaron los hígados en una balanza electrónica previamente calibrada.
2. **Color:** se observó y anotó el color de los hígados (claro, oscuro, marrón)

Posteriormente cada hígado fue cortado y se obtuvieron 4 pedazos representativos y pertenecientes al mismo lóbulo de cada uno, los cuales fueron separados en casetes individuales y embebidos en formol neutro por 48 horas. Finalmente fueron procesados, cortados y embebidos en parafina para su estudio histopatológico y se colorearon con Hematoxilina-eosina (HE). Se obtuvo 1 lámina representativa de cada muestra de tejido hepático y se observaron un promedio de 10 campos a 400X de cada lámina. Dicho proceso fue realizado con ayuda de un personal calificado en corte y tinción de láminas histológicas del Instituto de Patología de la UNMSM.

El análisis histopatológico fue realizado con ayuda y supervisión de un médico Anatómo Patólogo del Departamento de Patología de la UNMSM. Y se valoraron los siguientes parámetros, según la escala propuesto por Dalaklioglu.⁴⁷

Tabla N° 4. Parámetros según la escala propuesto por Dalaklioglu

Escala de Valoración histopatológica de daño hepático	Puntaje
Núcleos picnóticos y vacuolización perinucleolar	0 (conservación de núcleos) 1 núcleos hiperocrómicos 2 zona vaculado en proceso de intoxicación
Congestión vascular sinusoidal y dilatación sinusoidal	1 conductivos hemorrágicos 2 venas centro lobulillar congestionada

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1 RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

4.1.1 Resultados de la marcha de solubilidad

Tabla N° 5. Solventes

REACTIVO	RESULTADO
Cloroformo	+
Butanol	-
Metanol	+
Etanol	++
Agua	+++

Leyenda:

Abundante (+++)

Bastante (++)

Poco (+)

Ausencia (-)

4.1.2 Resultado de la marcha fitoquímica

Tabla N° 6. Metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico flores de Overo

ENSAYO	REACTIVO	RESULTADO
Aminoácidos	Ninhidrina	-
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	+++
Flavonoides	Shinoda	++
Alcaloides	Dragendorff	++
Alcaloides	Mayer	+
Taninos	Gelatina	+
Quinonas	NaOH	++
Glicosidos	Acido sulfurico+Molish	++

Leyenda:

Abundante (+++)

Bastante (++)

Poco (+)

Ausencia (-)

4.1.3 Resultados de la elucidación estructural de flavonas mediante espectroscopia UV-Vis

- M1:

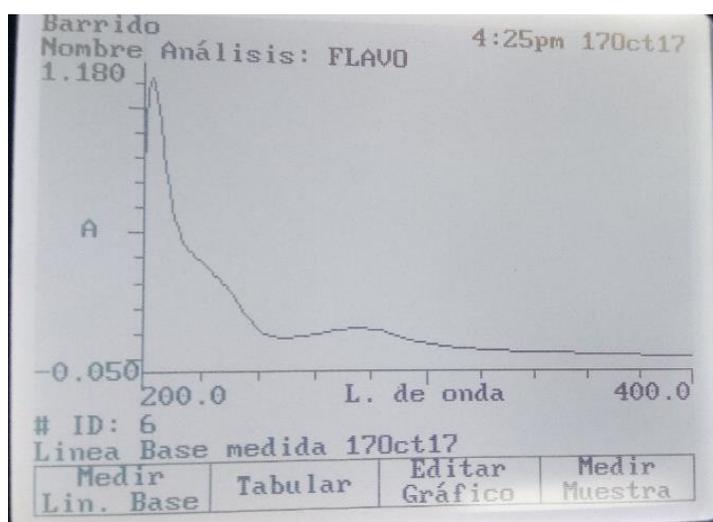


Figura N° 9. Resultados de la elucidación estructural de flavonas mediante espectroscopia UV-Vis – M1

- M2

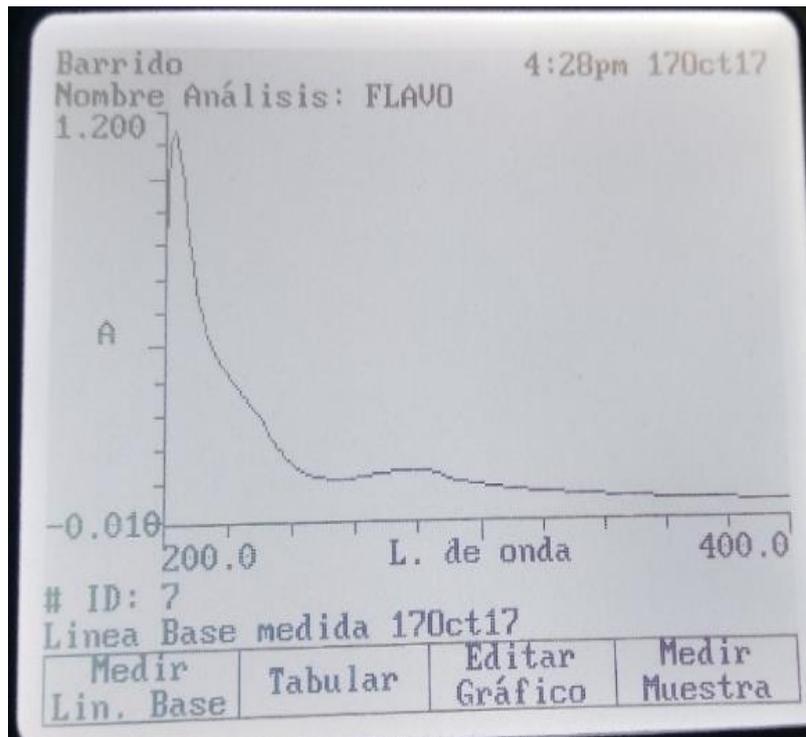


Figura N° 10. Resultados de la elucidación estructural de flavonas mediante espectroscopia UV-Vis – M2

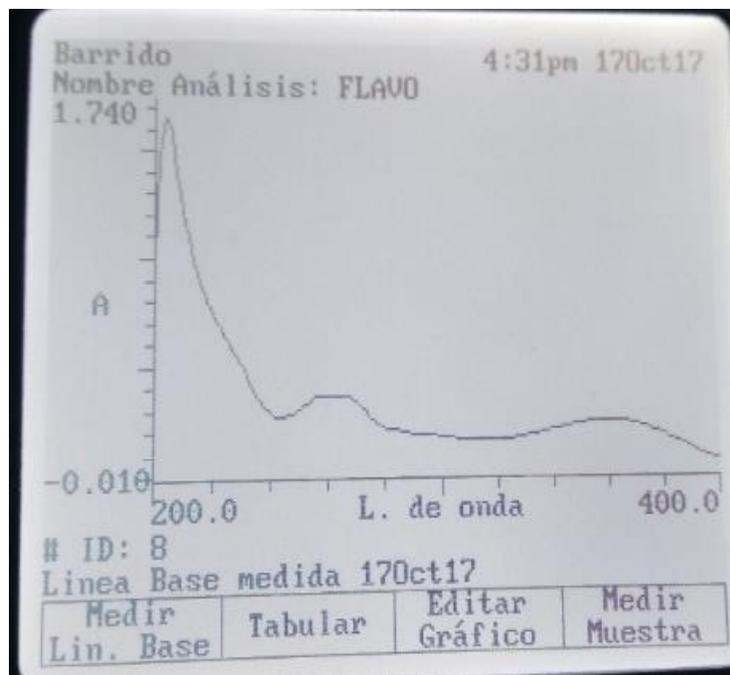


Figura N° 11. Resultados de la elucidación estructural de flavonas mediante espectroscopia UV-Vis – M3

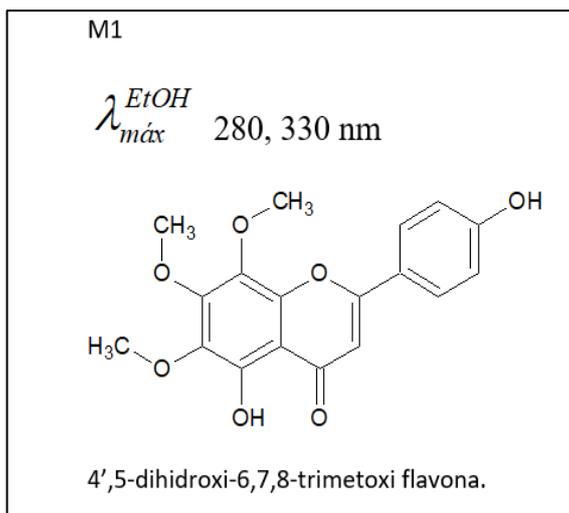


Figura N° 12. Lectura de la imagen M1⁽⁴⁷⁾

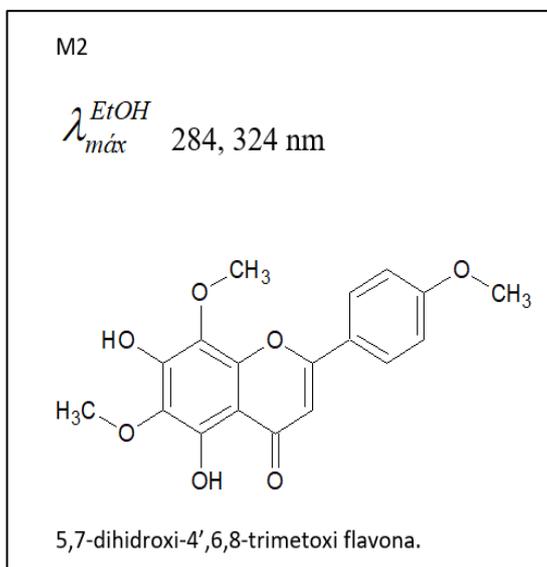


Figura N° 13. Lectura de la imagen M2⁽⁴⁷⁾

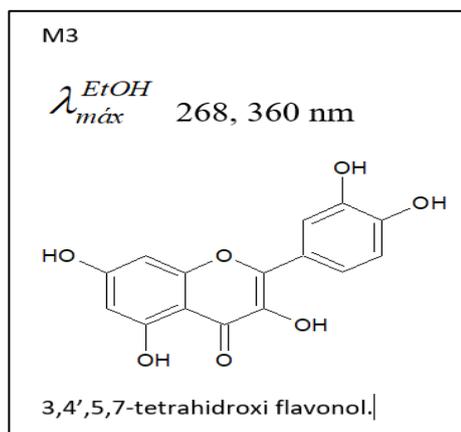


Figura N° 14. Lectura de la imagen M3⁽⁴⁷⁾

4.1.4 Resultados de los parámetros bioquímicos

Tabla N° 7. Concentración enzimática de ratas Holtzman macho después del tratamiento

Grupo R1

Enzimas hepáticas	Valor de concentración enzimática después del tratamiento
	mg/dl - U/L
TGO (Transaminasa glutámico oxalacética)	182.20 U/L
TGP (Transaminasa glutámico purúvica)	75.86 U/L
Fosfatasa alcalina	411.00 U/L
Bilirrubina total	0.18 mg/d/L
Bilirrubina directa	0.09 mg/d/L
Bilirrubina indirecta	0.09 mg/d/L
Proteínas totales	6.90 mg/d/L
Albumina	3.41 mg/d/L
Globulinas	3.49 mg/d/L

La Tabla 7 muestra la lectura de las observaciones de Perfil hepático, en los niveles séricos de TGO, TGP y Fosfatasa Alcalina y demás enzimas en el grupo de R1: Solución Salina Fisiológica (SSF).

Tabla N° 8. Concentración enzimática de ratas Holtzman macho después del tratamiento

Grupo R2

Enzimas hepáticas	Valor de concentración enzimática después del tratamiento
	Mg/DI
TGO (Transaminasa glutámico oxalacética)	214.30 U/L
TGP (Transaminasa glutámico purúvica)	130.60 U/L
Fosfatasa alcalina	518.30 U/L
Bilirrubina total	0.35 mg/d/L
Bilirrubina directa	0.13 mg/d/L
Bilirrubina indirecta	0.22 mg/d/L
Proteínas totales	8.09 mg/d/L
Albumina	4.03 mg/d/L
Globulinas	4.06 mg/d/L

La Tabla 8 refleja los valores medios de los parámetros bioquímicos en suero sanguíneo de ratas, en el grupo control Paracetamol y Solución Salina Fisiológica donde se visualiza un aumento significativo en las enzimas TGO, TGP, fosfatasa alcalina y bilirrubinas. Así mismo se observa la disminución de los niveles de proteínas, albumina y globulinas debido al daño hepático causado por el paracetamol.

Tabla N° 9. Concentración enzimática de ratas Holtzman macho después del tratamiento

Grupo R3

Enzimas hepáticas	Valor de concentración enzimática después del tratamiento
	Mg/DI
TGO (Transaminasa glutámico oxalacética)	189.40 U/L
TGP (Transaminasa glutámico purúvica)	129.30 U/L
Fosfatasa alcalina	503.90 U/L
Bilirrubina total	0.36 mg/d/L
Bilirrubina directa	0.19 mg/d/L
Bilirrubina indirecta	0.17 mg/d/L
Proteínas totales	9.33 mg/d/L
Albumina	4.85 mg/d/L
Globulinas	4.48 mg/d/L

En la Tabla 9 se detallan los valores de concentración enzimática y proteica en los diferentes parámetros después del tratamiento con paracetamol y el extracto Acuoso de 250 mg de concentración después de los 5 días de tratamiento, se puede observar la variación que presentaron las tres enzimas hepáticas con respecto a la toma basal y posterior al tratamiento. Las comparaciones realizadas fueron hechas en base a la diferencia encontrada entre el valor final y el valor inicial de cada enzima, esto debido a que a pesar que los animales de experimentación fueron aclimatados los valores basales de las enzimas presentan ligeras variaciones, lo cual se puede considerar como error inherente al material experimental, por ello se trabajó

con la variación reportada en los niveles de las enzimas luego de someter al animal a hepatotoxicidad.

Tabla N° 10. Concentración enzimática de ratas Holtzman macho después del tratamiento

Grupo R4

Enzimas hepáticas	Valor de concentración enzimática después del tratamiento
	mg/Dl
TGO (Transaminasa glutámico oxalacética)	138.60 U/L
TGP (Transaminasa glutámico purúvica)	100.70 U/L
Fosfatasa alcalina	281.80 U/L
Bilirrubina total	0.16 mg/dL
Bilirrubina directa	0.08 mg/dL
Bilirrubina indirecta	0.08 mg/dL
Proteínas totales	7.48 mg/d/L
Albumina	4.16 mg/d/L
Globulinas	3.32 mg/d/L

En la Tabla 10 se observan los Parámetros de concentración de cada enzima para la dosis de 500 mg/kg del extracto acuoso, Se detallan los valores de concentración enzimática y proteica en los diferentes parámetros después del tratamiento con respecto a la toma basal y posterior al tratamiento. Las comparaciones realizadas fueron hechas en base a la diferencia encontrada entre el valor final y el valor inicial de cada enzima, esto debido a que a pesar que los animales de experimentación fueron aclimatados los valores basales de las enzimas presentan ligeras

variaciones, lo cual se puede considerar como error inherente al material experimental, por ello se trabajó con la variación reportada en los niveles de las enzimas luego de someter al animal a hepatotoxicidad

Tabla N° 11. Comparación de los niveles de concentración enzimática con el tratamiento farmacológico

Enzimas hepáticas	Tratamiento Grupo R1	Tratamiento Grupo R2	Tratamiento Grupo R3	Tratamiento Grupo R4	Diferencia en el grado de reducción en los índices enzimáticos: Extracto 250 mg/kg	Diferencia en el grado de reducción en los índices enzimáticos: Extracto 500 mg/kg
TGO	182.20 U/L	214.30 U/L	189.40 U/L	138.60 U/L	24.9 U/L	75.7 U/L
TGP	75.86 U/L	130.60 U/L	129.30 U/L	100.70 U/L	1.3 U/L	29.90 U/L
Fosfatasa alcalina	411.00 U/L	518.30 U/L	503.90 U/L	281.80 U/L	14.40 U/L	236.50 U/L
Bilirrubina total	0.18 mg/d/L	0.35 mg/d/L	0.36 mg/d/L	0.16 mg/d/L	0.1 mg/d/L	0.19 mg/d/L
Bilirrubina directa	0.09 mg/d/L	0.13 mg/d/L	0.19 mg/d/L	0.08 mg/d/L	0.6 mg/d/L	0.05 mg/d/L
Bilirrubina indirecta	0.09 mg/d/L	0.22 mg/d/L	0.17 mg/d/L	0.08 mg/d/L	0.5 mg/d/L	0.14 mg/d/L

En la Tabla 11, representa los parámetros de comparación entre el grupo R1 (grupo R2), grupo R3 y grupo R4 (muestra inducida a hepatotoxicidad + extracto 500 mg) donde se evidencia una reducción en la concentración enzimática.

Tabla N° 12. Comparación de los niveles de proteínas plasmáticas con el tratamiento farmacológico

Proteínas totales en plasma	Tratamiento Grupo R1	Tratamiento Grupo R2	Tratamiento Grupo R3	Tratamiento Grupo R4	Grado de aumento en los índices proteicos: Extracto 250 mg	Grado de aumento en los índices proteicos: Extracto 500 mg
Proteínas totales	6.90 mg/d/L	8.09 mg/d/L	9.33 mg/d/L	7.48 mg/d/L	1.24 mg/d/L	0.61 mg/d/L
Albumina	3.41 mg/d/L	4.03 mg/d/L	4.85 mg/d/L	4.16 mg/d/L	0.82 mg/d/L	0.13 mg/d/L
Globulinas	3.49 mg/d/L	4.06 mg/d/L	4.48 mg/d/L	3.32 mg/d/L	0.42 mg/d/L	0.74 mg/d/L

En la Tabla 12, representa los parámetros de comparación de las proteínas plasmáticas entre el grupo R1 (grupo de muestra con suero fisiológico), grupo R2 (muestra inducida a hepatotoxicidad con Paracetamol), grupo R3 (muestra inducida a hepatotoxicidad + extracto 250 mg) y grupo R4 (muestra inducida a hepatotoxicidad + extracto 500 mg).

Tabla N° 13. Resultados histopatológicos en los grupos experimentales

Resultados histopatológicos después de 5 días de tratamiento	Peso de la rata	Peso del hígado	Color	Congestión vascular sinusoidal y dilatación sinusoidal	Núcleos picnóticos y vacuolización perinucleolar
Grupo R1 solución salina (BLANCO)	290 gr	30 gr	Claro	Conductivo hemorrágico	Núcleos grandes hipercrómicos
Grupo R2 paracetamol (200mg/kg)	281.8 gr	25 gr	Marrón	Conductivos hemorrágicos	Zona vaculado en proceso de intoxicación
Grupo R3 eafo 250 mg/kg	285.5 gr	27 gr	Oscuro	Conductos y conductillos	Conservación de núcleos y con necrosis hepática focal
Grupo R4 eafo 500 mg/kg	287.2 gr	27 gr	Oscuro	Venas centro lobulillar congestionada	Núcleos hipercrómicos

La Tabla 13, representa la variación en el peso de los animales en los diferentes grupos (R1, R2, R3, R4), del mismo modo se evidencio una variación en el peso y características de los hígados analizados y las características histopatológicas se vieron afectadas con cada una de las concentraciones del extracto.

4.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La Tabla 5, representa a la marcha de solubilidad, llegándose a demostrar que el extracto es más soluble en agua.

La Tabla 6, representa los metabolitos identificados en la marcha fotoquímica se observó gran cantidad de compuestos fenólicos, comprobándose la presencia de cuatro flavonoides mediante reacciones de coloración y precipitación, los que fueron aislados por cromatografía en capa fina a escala preparativa, elucidándose sus estructuras mediante espectroscopía UV visible con reactivos de desplazamiento.

La Tabla 11, representa los parámetros de comparación entre el grupo R1 (grupo de muestra con suero fisiológico), grupo R2 (muestra inducida a hepatotoxicidad con Paracetamol), grupo R3 (muestra inducida a hepatotoxicidad + extracto 250 mg) y grupo R4 (muestra inducida a hepatotoxicidad + extracto 500 mg) donde se evidencia una reducción en la concentración enzimática comparado con el grupo R2: Con 250 mg de extracto la reducción más significativa se evidencia en TGO y fosfatasa alcalina con 24.90 y 14.40 de reducción, con 500 mg de extracto 75.7 y 236.50 en reducción de las mismas enzimas lo que da una significancia en la acción hepatoprotectora del extracto siendo de mayor efectividad la dosis mayor de 500 mg.

La Tabla 11, representa los parámetros de comparación de las proteínas plasmáticas entre el grupo R1 (grupo de muestra con suero fisiológico), grupo R2 (muestra inducida a hepatotoxicidad con Paracetamol), grupo R3 (muestra inducida a hepatotoxicidad + extracto 250 mg) y grupo R4 (muestra inducida a hepatotoxicidad + extracto 500 mg) donde se evidencia una

variación en la concentración proteica comparado con el grupo R2, con 250 mg de extracto las proteínas totales muestran una diferencia de 1.24, albumina de 0.82 y globulinas de 0.42, por otro lado con 500 mg de extracto se evidencian 0.61, 0.13 y 0.74 de diferencia en cada uno de los parámetros respectivamente. Esto se debe a la alteración que sufren las proteínas totales, Albumina y globulinas frente a las dosis de tratamientos administrados del extracto siendo de mayor efectividad la dosis mayor de 500 mg.

La Tabla 12, representa la variación en el peso de los animales en los diferentes grupos (R1, R2, R3, R4), del mismo modo se evidencio una variación en el peso y características de los hígados analizados y las características histopatológicas se vieron afectadas con cada una de las concentraciones del extracto. El peso corporal se redujo con la administración de Paracetamol de 290g a 281.g el cual es recuperado considerablemente con 250 mg de extracto 285.5 g y con 500 mg de extracto 287.2 gr, El peso del hígado recupera su tamaño en comparación con el grupo R2 (Grupo con daño hepático) de 25 g a 27 g con ambas concentraciones de extracto.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

1. En el extracto extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (*Cordia lutea*) se encontró metabolitos tales como, Compuestos fenolicos, Flavonoides, Alcaloides, Taninos, Quinonas, Glicosidos; mediante espectroscopía uv visible.
- 2 El extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (*Cordia lutea*) redujo el peso y aclaro el aspecto del hígado de la rata
- 3 El extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (*Cordia lutea*) redujo los niveles de transaminasas, enzimas y proteínas alteradas del hígado de la rata.

5.2 RECOMENDACIONES

1. Se deben continuar con el estudio a fin de determinar objetivamente la propiedad, respecto de la reducción de la toxicidad hepática, del extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea*.
2. Los resultados obtenidos con el extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* en efectos de reducir la toxicidad hepática, puede tener la posibilidad de mejorar el consumo de *Cordia lutea* para la prevención de enfermedades y que podría tener un efecto antitóxico, gracias a los compuestos fenólicos, flavonoides que posee.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Medina I. Vásquez k. Estudio farmacognóstico y cuantificación de flavonoides de las flores de overo *Cordia lutea*. [Tesis de licenciatura]. La libertad, Perú, Universidad Nacional de Trujillo; 2015.
2. Fernández Barrantes, Cristina. Hepatotoxicidad por medicamentos. Revista Clínica– Hospital San Juan de Dios/ Escuela de Medicina UCR. 2015: 8(5)
3. El paracetamol y el hígado. Hoja informativa HCSP. Versión 4.2 (SP). En prensa; 2014.
4. Tejada Cifuentes, F. Hepatotoxicidad por fármacos rev clin med. Unidad de farmacia, gerencia de atención primaria de Albacete (España). 2010: 3(3).
5. Risso V. Hepatotoxicidad: Enfoque clínico toxicológico. Buenos Aires, Argentina. Universidad de Buenos Aires; 2008.
6. Gallardo I. Estudio comparativo de los posibles efectos hepatotóxicos de la administración subaguda de carbamazepina y un derivado de isoindolina mediante pfh. [Tesis]. México, Universidad Veracruzana ; 2013.
7. Cuaresma E. et al. Determinación del efecto de la *brassica olerácea* l. (brócoli) sobre la hepatotoxicidad inducida con paracetamol en animales de experimentación [Tesis] Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2013.”
8. Historia. Jardín botánico UNMSM. Consultado 10 de noviembre del 2017. Disponible en: <https://jardinbotanicoffybb.jimdo.com/>
9. García Méndez, Maritza. Efecto de los flavonoides totales de hojas de *cordia lutea* lam. sobre hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono en

rattusnorvegicusvar albinus. [Tesis de pregrado]. Perú, Universidad Nacional de Trujillo.; 2016.

10. Sánchez Torres, Carlos. Efecto hepatoprotector del zumo de fruta de la opuntia ficus indica (tuna), variedad morada, en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol. [Tesis de pregrado]. Perú, Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
11. Asqui M. Actividad hepatoprotectora del extracto de diente de león (taraxacum officinale) en ratas (ratus novergicus) con hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono [Tesis de grado]. Ecuador: Escuela superior politécnica de Chimborazo; 2013.
12. Bermúdez Toledo, D. et al. "Evaluación del potencial hepatoprotector de la mentha piperita l previo a la inducción de hepatotoxicidad con acetaminofén". ISSN. 2014; 19 (1).
13. Medina Zumarán, Lorenzo Manuel; Vásquez Villacampa, Kenjo Pascual, Estudio farmacognóstico y cuantificación de flavonoides totales de las flores de cordia lútea (flor de overo) proveniente de Cormot distrito de Compín provincia de Gran Chimú región La Libertad, Universidad Nacional de Trujillo, 2015.
14. Guillén F. Efecto hepatoprotector del peumus boldus "boldo" en la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en rattus rattus var albinus. [Tesis de grado] Lima: Universidad César Vallejo; 2016.
15. Marival E. et al. Efecto protector del petroselinum crispum (mill.) a.w. hill (perejil) frente a la hepatotoxicidad crónica inducida con etanol en ratas albinas holtzman [Tesis de grado] Lima: Universidad Ricardo Palma; 2017.
16. Catalogue of the vascular plants of ecuador (missouri botanic garden), consultado el 26 de junio de 2015.

17. Cornell university press, ed. flowering plants of the galápagos (en inglés). ithaca, new york cmullen, conley k (1999).
18. Viera, S. Etnobotánica de las especies del monte ribereño en el río Chira, Sullana. [Tesis de grado]. Piura: Universidad Nacional de Piura; 2015.
19. Cruzado R. Estudio fitoquímico de la flor de *Cordea lutea* (overo). [Tesis de grado]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 1993.
20. García B. Congreso latino americano de mujeres en ciencia “caracterización morfo taxonómica y fitoquímica de las especies florísticas” *cordia lutea* y *jathopa curcas*, reportadas como etnomedicinales en la zona reservada de tumbes Perú. Perú: 2014.
21. Cheree Andrene C. Evaluación fitoquímica y toxicológica del extracto acuoso obtenido a partir de las hojas de *capraria biflora* L. [Tesis de grado]. Santa clara: Universidad Martha Abreu; 2007.
22. Olga L. “Investigación Fitoquímica” – Métodos en el estudio de productos naturales-, PUCP – Fondo editorial, 1994, Lima.
23. Rouviere, H.; Delmas A. Anatomía humana. Anatomía clínica de netter 11.
24. Kennedy pa. Anatomía quirúrgica del hígado. Clin quir norteam 1991;57(2):233- 45.
25. Janssen, w., histopatología forense, Springer-verlag, (1977) 294-328.
26. Jan Koch-Weser; Edward M. Sellers; Harold Kalant, El diario Nueva Inglaterra de medicina, 1976; 294 (4): 757-762
27. Franciscus, Alan; Highleyman, L. Introducción sobre el hígado. Hoja informativa HCSP. 2012.

28. Vargas Mendoza, N. Efecto hepatoprotector y antioxidante del extracto y los principios activos de geranium shiedeanu. [Tesis de grado]. Tlaxiaca, México: Unversidad Autónoma del Estado de Hidalgo; 2012.
29. Vera M. nn. Células estrelladas hepáticas y hepatopatía alcohólica. Rev esp enferm dig, 2006; 98:674-684.
30. Malhi h, kaufman rj. Estrés del retículo endoplásmico en la enfermedad hepática. J. Hepatol 2011;54:795-809.
31. Malhi h, Guicciardi Me, Gores Gj. muerte de hepatocitos: un peligro claro y presente. Physiol rev 2010; 90:1165-1194.
32. Grattagliano I, bonfrate I, Diogo Cv, Wang Hh, Wang Dq, Portincasa P. mecanismos bioquímicos en la lesión hepática inducida por fármacos: certezas y dudas. Mundo j gastroenterol 2009;15:4865-4876
33. Werck-Reichhart D, Feyereisen R. Cytochromes. P450: Una historia de éxito. Genoma biol 2000;1:3003.
34. Leung I, Kalgutkar As, Obach rs. Activación metabólica en la lesión hepática inducida por fármacos. Metab rev droga 2012; 44: 18-33.
35. Sanz n, Diez-Fernandez C, Andres D, Cascales M. Hepatotoxicidad y envejecimiento: sistemas antioxidantes endógenos en hepatocitos de ratas de 2, 6, 12, 18 y 30 meses después de una dosis necrógica de tioacetamida. Biochim Biophys Acta 2002; 1587: 12-20.
36. Cascales, M. Mecanismos de defensa hepatocelular. In: Mecanismos de hepatotoxicidad. Madrid, España: Universidad Complutense de Madrid, 2001; 99-123.
37. Alshawsh Ma, Abdulla Ma, Ismail S, Amin Za. Efectos hepatoprotectores del extracto de orthosiphon stamineus sobre la cirrosis hepática inducida por

tioacetamida en ratas. Complemento basado en evid alternat med; 2011: 103039.

38. Facultad de Medicina de la Universidad Francisco de Marroquín. Fármacos: Guatemala: Universidad Francisco de Marroquín. Consultado el 15 de noviembre del 2017.

Disponible en: https://medicina.ufm.edu/wp-content/uploads/2017/02/hepatotoxicidad_por_farmacos.pdf

39. Risso V. Hepatotoxicidad: Enfoque clínico toxicológico. Buenos Aires, Argentina. Universidad de Buenos Aires; 2008. Consultado el 4 de noviembre del 2017.

Disponible en :

<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&uact=8&ved=0ahukewirqsxz3pvwahxi7sykhzfqbbiqfgg5mai&url=http%3a%2f%2fwww.fmed.uba.ar%2fdepto%2ftoxico1%2fhepatotoxicidad.pdf&usq=afqjcnets8tvpm890deawkpponsfpdvuyq>

40. Franciscus, A; Higheyman L. Guía para comprender la Hepatitis B. San Francisco: Support Project Hepatitis B.; 2008. Consultaod el 3 de noviembre del 2017.

Disponible en:

http://hcvadvocate.org/hepatitis/sp_factsheets/paracetamol.pdf

41. Franciscus, A; Higheyman L. Guía para comprender la Hepatitis B. San Francisco: Support Project Hepatitis B.; 2008. Consultaod el 3 de noviembre del 2017.

Disponible en:

http://hcvadvocate.org/hepatitis/sp_factsheets/paracetamol.pdf

42. Veiga de Cabo, J.; Martín-Pastor, B.; Calvo T.; Pablos, M. El modelo SciELO y su contribución a la difusión de las revistas de ciencias de la salud españolas: Madrid. Consultada el 6 de noviembre del 2017.

Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1699-695x2010000300006

43. Tejada Cifuentes, F. Hepatotoxicidad por fármacos Drug-induced hepatotoxicity. Rev Clin Med Fam: 2010; 3(3). Consultado el 14 de noviembre del 2017.

Disponible en http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1699-695x2010000300006

44. ISCIII – Instituto de salud Carlos III,

Disponible en:

www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ca

45. El ABC Naturista. Orientación Naturista y Dietética de Calidad. Venezuela: 2015. Consultado el 8 de noviembre del 2017.

Disponible en: <http://www.elabcnaturista.com/metodo-de-preparacion/maceraci%C3%B3n/14>

46. Dalaklioglu S, Genc G, Aksoy NH , .Akçit F, Gumuslu S. Resveratrol ameliorates methotrexate-induced hepatotoxicity in rats via inhibition of lipid peroxidation. Human and experimental Toxicol.2013;32 (6) 662-671. DOI: 10.1177/0960327112468178

47. Mabry T., Markham K., and Thomas M."The systematic Identification of flavonoids." With 325 figures, Springer - Verlag.New York.Heidelberg.Berlin,1970

Anexo 1: Matriz de consistencia

“EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS FLORES DE OVERO (*Cordia lutea*) EN LA HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA POR PARACETAMOL EN RATAS HOLTZMAN MACHO”

Problemas	Objetivos	Hipótesis	Variables	Dimensiones	Indicadores	Metodología
<p>GENERAL ¿Componentes químicos presentes en el extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (<i>Cordia lutea</i>) tendrá efecto en la toxicidad hepática inducida por Paracetamol en ratas Holtzman macho?</p> <p>ESPECÍFICOS 1. ¿Qué componentes químicos presentara El extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (<i>Cordia lutea</i>) que puedan Reducir la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho? 2. ¿El extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (<i>Cordia lutea</i>)</p>	<p>GENERAL Identificar componentes químicos en el extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (<i>Cordia lutea</i>) y Determinar la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho.</p> <p>ESPECÍFICOS 1. Identificar algunos componentes químicos en el extracto hidroalcohólico de las hojas de overo (<i>Cordia lutea</i>). 2. Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de las</p>	<p>GENERAL El extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (<i>Cordia lutea</i>) presenta componentes químicos que reducen la Hepatotoxicidad inducida por Paracetamol en ratas Holtzman macho.</p> <p>ESPECÍFICAS 1. El extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (<i>Cordia lutea</i>) tiene componentes que pueden reducir la toxicidad hepática 2. El extracto hidroalcohólico de las flores de Overo</p>	<p>VI. Componentes del Extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (<i>Cordia lutea</i>)</p> <p>VD. Efecto de la Reducción de la Toxicidad Hepática en ratas Holtzman macho</p>	<p><i>Estudio Fitoquímico</i></p> <p><i>Análisis histopatológico del hígado</i></p> <p><i>Análisis bioquímico del daño hepático</i></p>	<p>Identificación de metabolitos secundarios</p> <p>Macroscopía:</p> <p>Microscopía: Niveles de enzimas hepáticas</p>	<p>Diseño: Experimental</p> <p>Tipo y nivel: Analítico, experimental, observacional, exploratorio y descriptivo.</p> <p>Población: 24 ratas Holtzman macho del bioterio de la UNMSM Muestra</p> <p>Técnicas:</p>

<p>reducirá las alteraciones de los parámetros físicos producidas en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho?</p>	<p>flores de Overo (<i>Cordia lutea</i>) en la reducción de las alteraciones de los parámetros físicos producidas en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho</p>	<p>(<i>Cordia lutea</i>) reduce las alteraciones de los parámetros físicos producidas en la Toxicidad Hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho.</p>				
<p>3. ¿El extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (<i>Cordia lutea</i>) reducirá las alteraciones de los parámetros bioquímicos producidas en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho?</p>	<p>3. Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (<i>Cordia lutea</i>) en la reducción de las alteraciones de los parámetros bioquímicos producidas en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho</p>	<p>3. El extracto hidroalcohólico de las flores de Overo (<i>Cordia lutea</i>) reduce las alteraciones de los parámetros bioquímicos producidas en la Toxicidad Hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho.</p>				

Anexo 2: Constancia fitoquímica de la planta



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación"

CONSTANCIA N° 45-USM-201.5

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

La muestra vegetal (planta completa) proporcionada por: LIZ BEYDI OLIVERA RISCO, estudiante de la facultad de la facultad de ciencias farmacéuticas y bioquímica, ha sido estudiada y DETERMINADA COMO como: *Cordia Lutea*
De acuerdo al sistema de clasificación conquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reyno: Plantae

Clase: Magnoliopsida

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: lútea

Orden: Lámbiales

Familia: Boraginaceae

Especie: *Cordia*

Especie: *Cordia Lutea*

Se expide la presente certificación a solicitud de la interesada para fines que estime conveniente conveniente.

Lima, 09 abril 2015



Haydee Montoya Terreros
Dra. HAYDEE MONTOYA TERREROS
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Tells. (511)471-0117, 470-4471,
470-7918, 619-700C anexo 5703

Anexo 3: Informe de análisis histopatológico

3.a) Informe de análisis de grupo: Suero fisiológico

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

INSTITUTO DE PATOLOGIA

INFORME DE LÁMINAS

ALUMNA: LIZ OLIVERA RISCO

Muestras: HIGADOS

CODIFICACION:

- GRUPO: AZUL, ROJO, VERDE EXT.1 ml. , VERDE 0.5
- CODIGOS : A1, R1, V1, V5

GRUPO AZUL (A1) (sólo Suero Fisiológico)

MUESTRA : HIGADO

COLOR : HIGADO CLARO

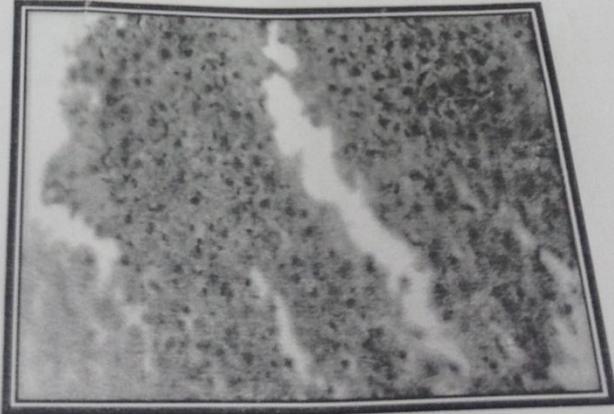
PESO : 30 GR.

A1 : Hemorrágico

Núcleos grandes hipercromicos

Conductivos hemorrágicos

Conclusión : El Hígado se encuentra hemorrágico y necrótico



3.b) Informe de análisis de grupo: Paracetamol + Suero fisiológico

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

INSTITUTO DE PATOLOGIA

INFORME DE LÁMINAS

GRUPO ROJO (R1) (Paracetamol y 1 hora después suero Fisiológico)

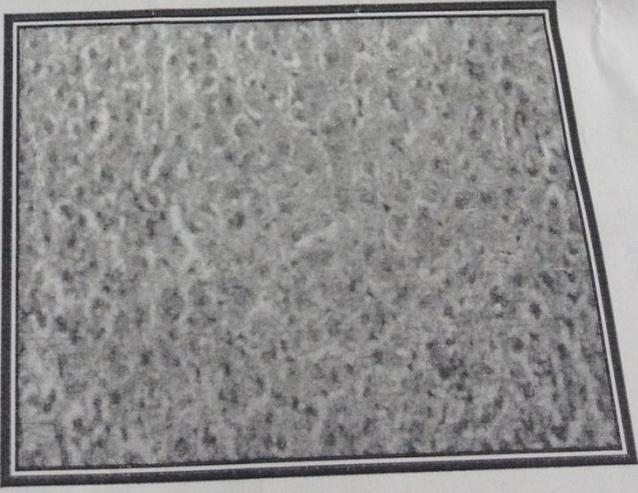
MUESTRA : HIGADO

COLOR : MARRON

PESO : 25 GR.

R1 : Conductivo hemorrágico
Zona vaculado
Hígado en proceso de intoxicación

Conclusión : El hígado esta con muerte celular



3.c) Informe de análisis de grupo: Paracetamol + Extracto hidroalcohólico de flores de overo 250mg/kg

3

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

INSTITUTO DE PATOLOGIA

INFORME DE LÁMINAS

GRUPO VERDE (V3) 0.05 m/g (paracetamol y una hora después E.A.F.O (250 mg/kg))

MUESTRA : HIGADO

COLOR : HIGADO OSCURO

PESO : 27 GR.

V5 : Conductos y conductillos
Conservación de nucléolos y con necrosis hepática focal.

Conclusión : El hígado se encuentra dañado celularmente



J. E. R. González

Dr. José Ernesto Ruez González
Anatomopatologo

Lima, 29 de Setiembre 2017

3.d) Informe de análisis de grupo: Paracetamol + Extracto hidroalcohólico de flores de overo 500mg/kg

4

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

INSTITUTO DE PATOLOGIA

INFORME DE LÁMINAS

GRUPO VERDE (V4) 0.100 m/g (paracetamol y 1 hora después EAFB al 500mg/kg)

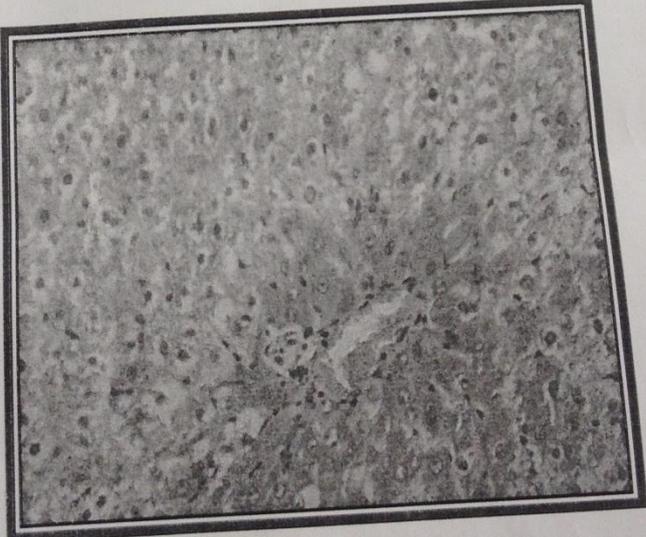
MUESTRA : HIGADO

COLOR : HIGADO OSCURO

PESO : 27 GR.

V1 : Columnas hepáticas con grandes vacuolas
Nucléolos hipercromicos
Venas centro lobulillar congestionada

Conclusión : El hígado se encuentra dañado celularmente



Anexo 4: Informe de análisis perfil bioquímico

4.a) Informe de análisis de grupo R1: Suero fisiológico

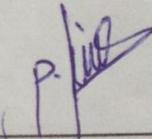
 UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

SERVICIO ACADÉMICO ASISTENCIAL DE ANÁLISIS CLÍNICOS
Jr. Huanta 1215 - Telf. 619-7000 - Anexo 4813 LIMA - PERU

Paciente : Olivera Risco ,Liz Beydi.
Edad : 28 años Ord. De Análisis N° 176970
Ind.Dr (a) : R.1

Análisis	Resultado	Valor Referencial
BILIRRUBINA TOTAL	: 0.18 mg/dL	Adulto Hasta 1,2 mg/dL R.N: Hasta 13.3 ma/dL
BILIRRUBINA DIRECTA	: 0.09 mg/dL	De 0.1 a 0.3 mg/dL
BILIRRUBINA INDIRECTA	: 0.09 mg/dL	De 0.2 a 0.8 mg/dL
TGO	: 182.20 U/L	Hasta 34 U/L
TGP	: 75.86 U/L	Hasta 36 U/L
FOSFATASA ALCALINA	: 411.00 U/L	De:20-50 años M:42-98U/L, H: 53-128 U/L >60 años M:53-141U/L, H:56-119 U/L Niños de 1-30 días: M:48-406U/L, H:75-316 U/L Niños de 1- 3 años: M:108 -317U/L, H:104- 345 U/L
PROTEÍNAS T.	: 6.90 mg/dL	De 6.1 – 7.9 mg/dL
ALBUMINAS	: 3.41 mg/dL	De 3.5 – 5.0 mg/dL
GLOBULINAS	: 3.49 mg/dL	De 2.6– 2.9 mg/dL




Director del S.A.A.A.C
GUSTAVO A. GUERRA BRIZUELA
BioQuímico - Clínico
Colegiatura: 06953 – N°Esp. A516571

Lima 11 de ~~setiembre~~ del 2017.
F/SAC-002 R-1

4.b) Informe de análisis grupo R2: Paracetamol y Suero fisiológico

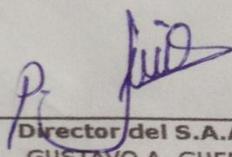

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
 (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
SERVICIO ACADÉMICO ASISTENCIAL DE ANÁLISIS CLÍNICOS
 Jr. Huanta 1215 - Telf. 619-7000 - Anexo 4813 LIMA - PERU



Paciente : Olivera Risco ,Liz Beydi. Ord. De Análisis N° 176970
 Edad : 28 años
 Ind.Dr (a) : **R. Q.**

Análisis	Resultado	Valor Referencial
BILIRRUBINA TOTAL :	0.35 mg/dL	Adulto Hasta 1,2 mg/dL R.N: Hasta 13.3 mg/dL De 0.1 a 0.3 mg/dL
BILIRRUBINA DIRECTA :	0.13 mg/dL	De 0.1 a 0.3 mg/dL
BILIRRUBINA INDIRECTA :	0.22 mg/dL	De 0.2 a 0.8 mg/dL
TGO :	214.30 U/L	Hasta 34 U/L
TGP :	130.60 U/L	Hasta 36 U/L
FOSFATASA ALCALINA :	518.30 U/L	De:20-50 años M:42-98U/L,H: 53-128 U/L >60 años M:53-141U/L, H:56-119 U/L Niños de 1-30 días: M:48-406U/L, H:75-316 U/L Niños de 1- 3 años: M:108 -317U/L, H:104- 345 U/L
PROTEÍNAS T. :	8.09 mg/dL	De 6.1 – 7.9 mg/dL
ALBUMINAS :	4.03 mg/dL	De 3.5 – 5.0 mg/dL
GLOBULINAS :	4.06 mg/dL	De 2.6– 2.9 mg/dL




Director del S.A.A.A.C
GUSTAVO A. GUERRA BRIZUELA
 BioQuímico - Clínico
 Colegiatura: 06953 – N°Esp. A516571

Lima 11 de setiembre del 2017.
 F/SAC-002 R-1

4.c) Informe de análisis grupo R3: Paracetamol + Extracto acuoso de flores de Overo 250mg/kg

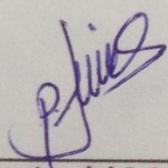
3


UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
 (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
SERVICIO ACADÉMICO ASISTENCIAL DE ANÁLISIS CLÍNICOS
 Jr. Huanta 1215 - Telf. 619-7000 - Anexo 4813 LIMA - PERU
 

Paciente : Olivera Risco ,Liz Beydi.
 Edad : 28 años análisis N° 176970
 Ind.Dr (a) : **R-3**

Análisis	Resultado	Valor Referencial
BILIRRUBINA TOTAL :	0.36 mg/dL	Adulto Hasta 1.2 mg/dL R.N: Hasta 13.3 ma/dL De 0.1 a 0.3 mg/dL
BILIRRUBINA DIRECTA :	0.19 mg/dL	De 0.1 a 0.3 mg/dL
BILIRRUBINA INDIRECTA :	0.17 mg/dL	De 0.2 a 0.8 mg/dL
TGO :	189.40 U/L	Hasta 34 U/L
TGP :	129.30 U/L	Hasta 36 U/L
FOSFATASA ALCALINA :	503.90 U/L	De:20-50 años M:42-98U/L,H: 53-128 U/L >60 años M:53-141U/L, H:56-119 U/L Niños de 1-30 días: M:48-406U/L, H:75-316 U/L Niños de 1- 3 años: M:108 -317U/L, H:104- 345 U/L
PROTEÍNAS T. :	9.33 mg/dL	De 6.1 – 7.9 mg/dL
ALBUMINAS :	4.85 mg/dL	De 3.5 – 5.0 mg/dL
GLOBULINAS :	4.48 mg/dL	De 2.6– 2.9 mg/dL




Director del S.A.A.A.C
GUSTAVO A. GUERRA BRIZUELA
 BioQuímico - Clínico
 Colegiatura: 06953 – N°Esp. A516571

Lima 11 de setiembre del 2017.
 F/SAC-002 R-1

4.d) Informe de análisis grupo R4: Paracetamol + Extracto acuoso de flores de Overo 500 mg/k

4

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
SERVICIO ACADÉMICO ASISTENCIAL DE ANÁLISIS CLÍNICOS
Jr. Huanta 1215 - Telf. 619-7000 - Anexo 4813 LIMA - PERU

Paciente : Olivera Risco ,Liz Beydi.
Edad : 28 años
Ind.Dr (a) : R.H

Ord. De Análisis N° 176970

Análisis	Resultado	Valor Referencial en humanos
BILIRRUBINA TOTAL :	0.16 mg/dL	Adulto Hasta 1,2 mg/dL R.N: Hasta 13.3 ma/dL De 0.1 a 0.3 mg/dL
BILIRRUBINA DIRECTA :	0.08 mg/dL	De 0.2 a 0.8 mg/dL
BILIRRUBINA INDIRECTA :	0.08 mg/dL	
TGO :	138.60 U/L	Hasta 34 U/L
TGP :	100.70 U/L	Hasta 36 U/L
FOSFATASA ALCALINA :	281.80 U/L	De:20-50 años M:42-98U/L,H: 53-128 U/L >60 años M:53-141U/L, H:56-119 U/L Niños de 1-30 días: M:48-406U/L, H:75-316 U/L Niños de 1- 3 años: M:108 -317U/L, H:104- 345 U/L
PROTEÍNAS T. :	7.48 mg/dL	De 6.1 – 7.9 mg/dL
ALBUMINAS :	4.16 mg/dL	De 3.5 – 5.0 mg/dL
GLOBULINAS :	3.32 mg/dL	De 2.6– 2.9 mg/dL

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Servicio Académico Asistencial de Análisis Clínicos
Facultad de Farmacia y Bioquímica

Director del S.A.A.A.C
GUSTAVO A. GUERRA BRIZUELA
BioQuímico - Clínico
Colegiatura: 06953 – N°Esp. A516571

Lima 11 de setiembre del 2017.
F/SAC-002 R-1

Anexo 5: Resultados del análisis histopatológico

INSTITUTO DE PATOLOGÍA

INFORME DE LÁMINAS

ALUMNA: LIZ OLIVERA RISCO

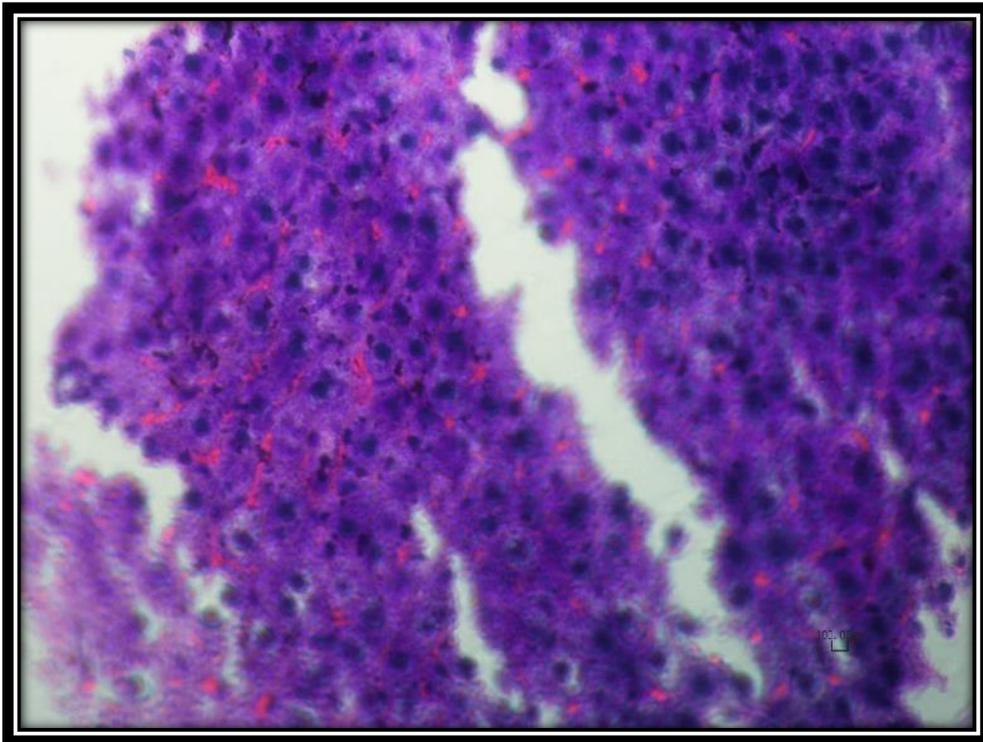
Muestras: HÍGADOS

CODIFICACIÓN:

- GRUPO: AZUL, ROJO, VERDE EXT.1 ml. , VERDE 0.5
- CÓDIGOS: A1, R1, V1, V5

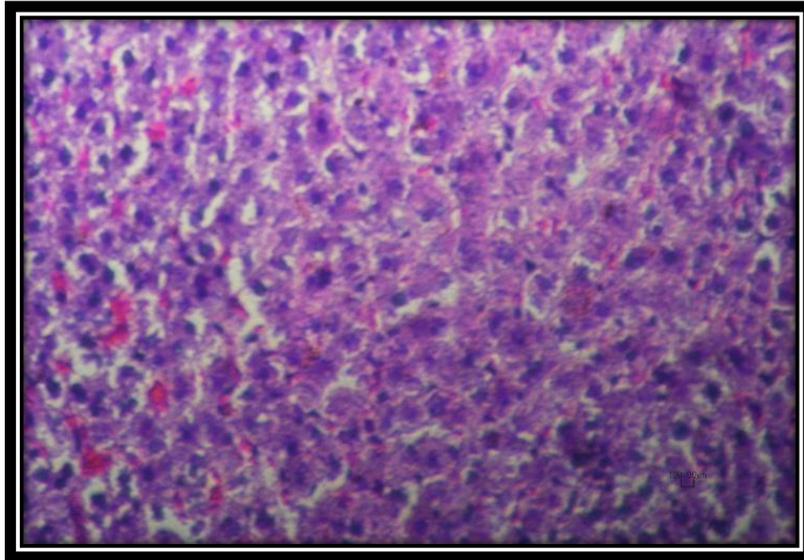
GRUPO AZUL (A1)

MUESTRA : HÍGADO
COLOR : HÍGADO CLARO
PESO : 30 GR.
A1 : Hemorrágico
Núcleos grandes hipercrómicos
Conductivos hemorrágicos
Conclusión : El Hígado se encuentra hemorrágico y necrótico



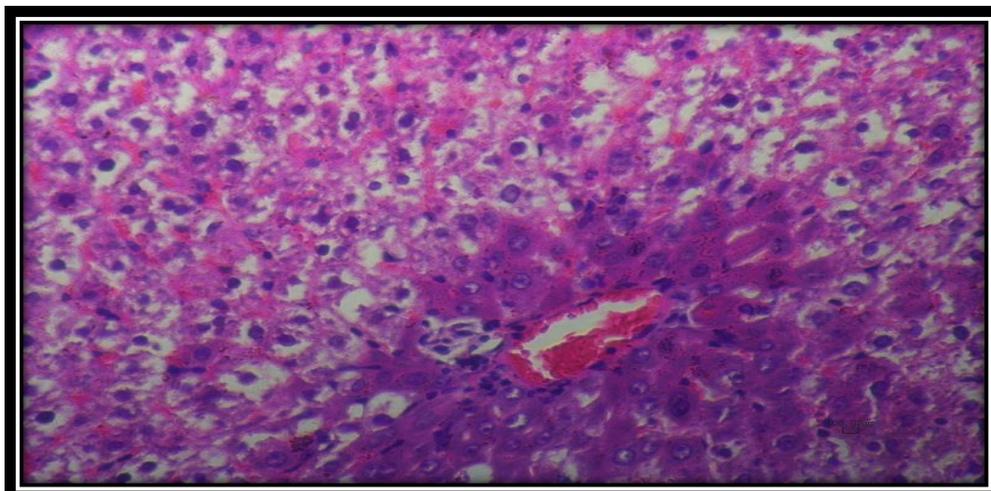
GRUPO ROJO (R2)

MUESTRA : **HÍGADO**
COLOR : **MARRÓN**
PESO : **25 GR.**
R1 : Conductivo hemorrágico
Zona vaculado
Hígado en proceso de intoxicación
Conclusión : **El hígado esta con muerte celular**



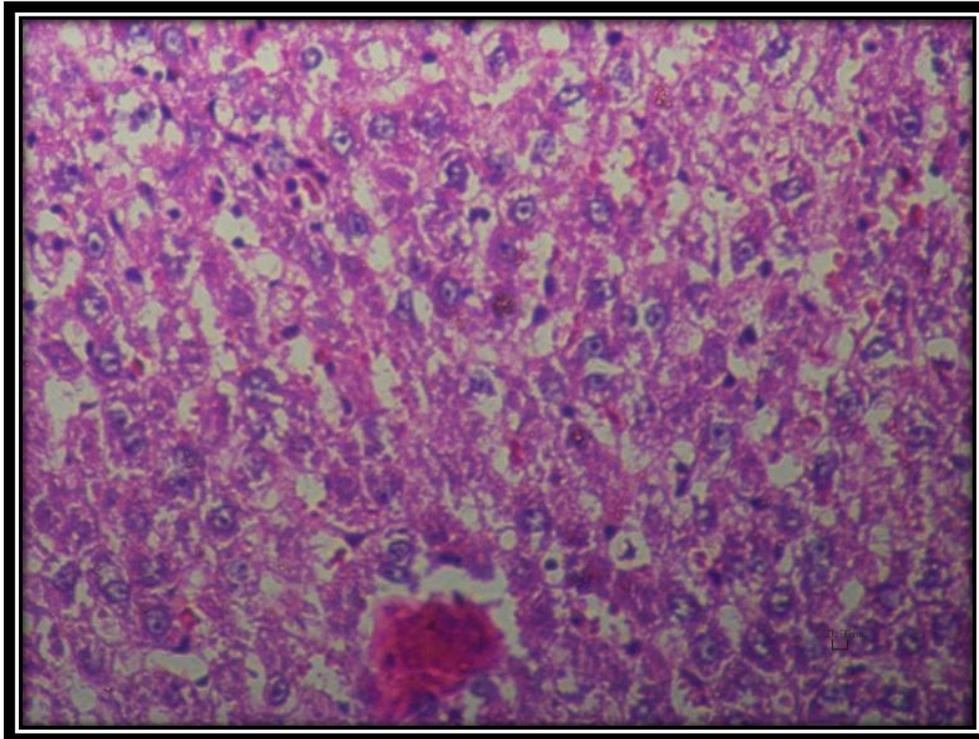
GRUPO VERDE (V3) 0.100 m/g

MUESTRA : **HIGADO**
COLOR : **HIGADO OSCURO**
PESO : **27 GR.**
V1 : Columnas hepáticas con grandes vacuolas
Nucléolos hiper Cromicos
Venas centro lobulillar congestionada
Conclusión : **El hígado se encuentra dañado celularmente**



GRUPO VERDE (V4) 0.05 m/g

MUESTRA : **HIGADO**
COLOR : **HIGADO OSCURO**
PESO : **27 GR.**
V5 : Conductos y conductillos
Conservación de nucléolos y con necrosis hepática focal.
Conclusión : **El hígado se encuentra dañado celularmente**



Anexo 5: Testimonios fotográficos

Flores de overo *cordia lutea* dissecadas y pesadas



Lectura del UV- VISIBLE con el Dr. Bonilla asesor de investigación



Extracción de sangre por punción cardiaca - rata Holtzman macho

