UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Nasturtium officinale* W.T. Aiton (BERRO) EN RATAS ALBINAS INDUCIDAS CON PARACETAMOL A HEPATOTOXICIDAD AGUDA

Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico

TESISTAS

Bach. MANRIQUE IZAGUIRRE KELLY ESTEFANIA

Bach. SAEZ HERRERA KARINA GLORIA

ASESORA: BRITT ALVARADO CHÁVEZ

Lima - Perú

2 0 1 9

DEDICATORIAS

Está presente investigación se la dedicó a mis padres por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad. Me formaron con reglas y con algunas libertades, pero al final de cuentas, me motivaron constantemente para alcanzar mis anhelos.

MANRIQUE IZAGUIRRE, KELLY

Le dedico este trabajo a mis familiares y amigos, principalmente a mi madre que há sido un pilar fundamental em todo mi formación professional, por brindarme la confianza, el apoyo, consejos y su amor incondicional.

SAEZ HERRERA, KARINA

AGRADECIMIENTO

A la universidad inca Garcilaso de la vega, por darme la oportunidad de desarrollar nuevos conocimientos y formarme profesionalmente a larga mi carrera profesional, así mismo a todos los docentes de la facultad de farmacia y bioquímica en el aprendizaje, por sus sabios conocimientos y consejos

A nuestra asesora de tesis Dra. Britt Alvarado Chávez por su, apoyo y orientación que permitieron la realización y culminación del presente trabajo.

A nuestros amigos por su amistad incondicional y por acompañarnos durante toda la carrera profesional, a ellos mil gracias.

Kelly y Karina

ÍNDICE GENERAL

Pág.

Dedicatoria

Agradecimiento

Índice General

Índice de Tablas

Índice de Figuras

Índice de Anexos

Resumen

Abstract

Introducción 1

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 2

1.1. Descripción de la realidad problemática 2

1.2. Formulación del problema 3

1.2.1. Problema general 3

1.2.2. Problemas específicos 3

1.3. Objetivos 3

1.3.1. Objetivo general 3

1.3.2. Objetivos específicos 4

1.4. Justificación 4

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO 5

2.1. Antecedentes 5

2.1.1. Antecedentes nacionales 5

2.1.2. Antecedentes internacionales 9

2.2. Bases teóricas 12

2.3. Formulación de hipótesis 22

2.3.1. Hipótesis general 22
2.3.2. Hipótesis específica 22
2.4. Variables 23
Operacionalizacion de variables 23
2.5. Marco conceptual 23
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA 25
3.1. Tipo de estudio 25
3.2. Diseño de estudio 25
3.3. Población 29
3.4. Muestra 29
3.5. Instrumentos de recolección de datos 29
3.6 Procesamiento de datos 29
CAPÍTULO IV: RESULTADOS y DISCUSIONES 30
4.1. Presentación de Resultados 30
4.2 Contrastación de Hipótesis 38
4.3 Discusión 42
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 45
5.1. Conclusiones 45
5.2. Recomendaciones 46
Referencias bibliográficas 47
Anexos 52

ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Composición química del berro expresado en base seca muestra entera por cada 100g 14

Tabla 2. Composición mineral del berro expresado en base seca muestra entera por cada 100g 14

Tabla 3. Composición de aminoácidos del berro contenido en mg/g. 15

Tabla 4. Grupos experimentales del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) 27

Tabla 5. Ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) 30

Tabla 6. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) 31

Tabla 7. Análisis por cromatografía para identificación de alcaloides del extracto hidroalcohólico de hojas del berro 32

Tabla 8. Análisis por cromatografía para identificación de flavonoides del extracto hidroalcohólico de hojas del berro 32

Tabla 9. Valores promedio de actividad de TGP, TGO y Fosfatasa alcalina según grupos de tratamiento del efecto hepatoprotector del berro 33

Tabla10. Valores promedio de albúmina, proteínas totales y bilirrubina total según grupos de tratamiento del efecto hepatoprotector del berro 35

Tabla11.	Análisis ANOVA según grupos de tratamiento del efecto hepatoprotector del berro	38
Tabla12.	Análisis de Tukey de TGO según grupos de tratamiento del efecto hepatoprotector del berro	39
Tabla13.	Análisis de Tukey de TGP según grupos de tratamiento del efecto hepatoprotector del berro	40
Tabla14.	Análisis de Tukey de fosfatasa alcalina según grupos de tratamiento del efecto hepatoprotector del berro	41

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Planta del berro	13
Figura 2.	Rutas Metabólicas	22
Figura 3.	Valores promedio de TGP según grupos de tratamiento	33
Figura 4.	Valores promedio de TGO según grupos de tratamiento	34
Figura 5.	Valores promedio de Fosfatasa Alcalina según grupos de tratamiento	34
Figura 6.	Valores promedio de albúmina según grupos de tratamiento	36
Figura 7.	Valores promedio de proteínas totales según grupos de tratamiento	36
Figura 8.	Valores promedio de proteínas totales según grupos de tratamiento	37

ÍNDICE DE ANEXOS

		Pág.
Anexo 1.	Matriz de consistencia	52
Anexo 2.	Testimonios fotográficos	54
Anexo 3.	Certificado de clasificación taxonómica	57
Anexo 4.	Certificado sanitario de animales de experimentación	58
Anexo 5.	Ficha de observación de marcha Fitoquimica	59
Anexo 6.	Formatos de Validación de instrumentos	60
Anexo 7.	Análisis de comparaciones múltiples Pos Hot de Tukey	65

RESUMEN

Diversas plantas como las frutas y hortalizas contienen en su composición fitonutrientes y nutraceúticos importantes para la salud, para prevención y tratamiento de enfermedades, como es el caso del berro. El objetivo central del presente estudio de investigación fue determinar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) en ratas albinas inducidas con paracetamol a hepatotoxicidad aguda. El estudio fue de tipo experimental, se realizó la marcha fitoquímica al extracto y para el experimento hepatoprotector se empleó 36 ratas albinas divididos en 6 grupos (G) a los cuales se administró por vía oral; G1: Solución salina fisiológica (SSF) 5 mg/kg; G2: SSF 5 mg/kg + Paracetamol 400 mg/kg, G3: Berro 200 mg/kg + Paracetamol; G4: Berro 300 mg/kg + Paracetamol; G5: Berro 500 mg/kg + Paracetamol y G6: Silimarina 100 mg/kg + Paracetamol. El paracetamol fue el agente inductor de toxicidad hepática aguda en la marcha fitoquímica se halló la presencia de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, saponinas, antraquinonas, esteroides y/o triterpenoides, el extracto presentó solubilidad en solventes polares como el agua y el etanol. La dosis del extracto de 500 mg/kg fue que presentó mejor efecto hepatoprotector que las otras dosis ensayadas, es decir el efecto fue dosis dependiente y significante ($p<0.05$) comparado con el grupo control, esta misma dosis (500 mg/kg) no mostró diferencia significativa al comparar con el grupo de silimarina ($p>0.05$), el efecto se evidenció por disminución de los niveles de TGO, fosfatasa alcalina, bilirrubina total, proteínas totales y aumento de albúmina. Se concluyó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) mostró tener efecto hepatoprotector en ratas albinas inducidas con paracetamol a hepatotoxicidad aguda.

Palabras clave: Hepatoprotector, *Nasturtium officinale,* Berro, ratas albinas

ABSTRACT

Various plants such as fruits and vegetables contain in their composition phytonutrients and nutraceuticals important for health, for prevention and treatment of diseases, such as watercress. The main objective of this research study was to determine the hepatoprotective effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of Nasturtium officinale W.T. Aiton (watercress) in albino rats induced with paracetamol to acute hepatotoxicity. The study was of an experimental type, the phytochemical march study was carried out on the extract and for the hepatoprotective experiment, 36 albino rats divided into 6 groups (G) were used, which were administered orally; G1: Physiological saline solution (SSF) 5 mg / kg; G2: SSF 5 mg / kg + Paracetamol 400 mg / kg, G3: Watercress 200 mg / kg + Paracetamol; G4: Watercress 300 mg / kg + Paracetamol; G5: Watercress 500 mg / kg + Paracetamol and G6: Silymarin 100 mg / kg + Paracetamol. Paracetamol was the agent that induces acute liver toxicity. Results; in the phytochemical march the presence of alkaloids, flavonoids, phenolic compounds, saponins, anthraquinones, steroids and / or triterpenoids was found, the extract showed solubility in polar solvents such as water and ethanol. The dose of the 500 mg / kg extract showed a better hepatoprotective effect than the other doses tested, that is, the effect was dose-dependent and significant ($p < 0.05$) compared to the control group, this same dose (500 mg / kg) showed no significant difference when compared with the silymarin group ($p > 0.05$), the effect was evidenced by a decrease in the levels of TGO, TGO, alkaline phosphatase, total bilirubin, total proteins and albumin increase. Conclusion, the hydroalcoholic extract of the leaves of Nasturtium officinale W.T. Aiton (watercress) showed to have hepatoprotective effect in albino rats induced with paracetamol to acute hepatotoxicity.

Key words: Hepatoprotector, Nasturtium officinale, Watercress, rats

INTRODUCCIÓN

Actualmente el consumo de frutas y verduras está en aumento ya que en ellas se encuentran fitonutrientes, además compuestos nutraceúticos en cantidades variadas importantes para conservar la salud, prevenir o tratar enfermedades, el berro es una planta que posee características importantes para la salud, se ha usado por ejemplo para purificar la sangre [1]. El berro crece en forma espontánea cercanos a los cursos de agua, dentro de sus componentes químicos se ha reportado la presencia de minerales como yodo, sodio, fósforo, manganeso, hierro, además de glucosinolatos que son los que dan sabor y aroma a la planta y se le atribuye propiedades anticancerígenas [2]. El hígado es un órgano muy complejo, cumple variadas funciones en el organismo como anabolismo y catabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos, por la bilis excreta productos de deshechos, además cumple funciones inmunológicas, para evaluar su función se realizan mediciones en sangre de niveles de bilirrubina y actividad de enzimas como las transaminasas, fosfatasa alcalina, gammaglutamil transferasa (GGT), la elevación de estos indicadores indica lesión del hígado [3]. Estas anomalías de función del hígado se centran en; magnitud de alteración de los indicadores, duración de la alteración y curso clínico en el que aparece [4]. En la presente investigación, veremos la actividad hepatoprotectora del extracto hidroalcohólico del *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) en cinco capítulos. En el primer capítulo mencionamos la formulación del problema seguido de los problemas y objetivos generales, indicando la justificación que nos llevó a realizar esta investigación. En el segundo capítulo, revisamos los antecedentes nacionales e internacionales usados para el desarrollo del trabajo que nos servirán posteriormente para comparar nuestros resultados, también se verá las bases teóricas, la formulación de hipótesis y variables. En el tercer capítulo, mencionamos la metodología usada para la parte experimental, los instrumentos de recolección de datos. En el cuarto capítulo, discutiremos los resultados y estadísticamente demostraremos la actividad hepatoprotectora de nuestro extracto. En el quinto capítulo, mencionamos las conclusiones y recomendaciones.

Finalmente, se muestran las referencias bibliográficas y los anexos

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

El hígado desempeña un papel importante en el metabolismo de la mayoría de los carbohidratos, lípidos, síntesis de proteínas etc. porque es un órgano principalmente metabólico y tiene la función de varios procesos fisiológicos y bioquímicos, ya que regula la glucemia y oxida los lípidos. En pacientes críticos, ocurren las siguientes circunstancias: La disfunción del hígado es un evento común entre los pacientes críticos que puede estar originada por una cirrosis anterior o por causas más inmediatas de insuficiencia y fallo hepático como la sepsis, fármacos, trasplante hepático [5,6]. La hepatotoxicidad asociada a fármacos es una complicación potencial de la mayoría de fármacos prescritos, consecuencia del papel central que desempeña el hígado en su metabolismo. Su incidencia va en aumento, reflejo del gran número de agentes terapéuticos nuevos utilizados, desde productos químicos a remedios de herbolario. Además es la causa común del retiro de fármacos que recién han salido al mercado para su comercialización, si bien es cierto los fármacos nuevos pasan a través de cuidadosos ensayos preclínicos y clínicos en el desarrollo de un fármaco nuevo, el retiro del mercado causa un gran impacto económico en la industria farmacéutica [7,8]. Muchas de las reacciones químicas de metabolización de los fármacos en el organismo se producen a través de enzimas especializadas ubicadas en el hígado, lo que hace que el hígado sea el principal órgano donde se producen las reacciones adversas al medicamento conocidas como RAM. Se llama hepatotoxicidad cuando el hígado es dañado perdiendo en parte su funcionalidad, esto es posiblemente causada por la exposición a un fármaco u otro agente. La reacción adversa al medicamento es nociva con efectos no deseados que se producen con su uso adecuado de los fármacos [9,10]. Se calcula que en los Estados Unidos, la enfermedad hepática toxica es inducida por fármacos y que pude producir insuficiencia hepática aguda en pacientes de un programa de trasplante de hígado. Además, según estudios estadísticos de la administración de drogas y medicamentos, la intoxicación hepática por

acetaminofén sigue siendo la causa de insuficiencia en el hígado en pacientes sin epicrisis de enfermedad hepática reportada con anterioridad [10].

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) tendrá efecto hepatoprotector en ratas albinas inducidas con paracetamol a hepatotoxidad aguda?

1.2.2 Problemas específicos

1. ¿Qué metabolitos secundarios estarán presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton (berro)?*

2. ¿Cuál será la dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) que presentará mayor efecto hepatoprotector en ratas albinas inducidas con paracetamol a hepatotoxicidad aguda?

3. ¿Qué indicadores bioquímicos evidenciarán el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) en ratas albinas inducidos con paracetamol a hepatotoxicidad aguda?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Determinar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) en ratas albinas inducidas con paracetamol a hepatotoxicidad aguda

1.3.2 Objetivos específicos

1. Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro)
2. Determinar la dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) que presentará mayor efecto hepatoprotector en ratas albinas inducidas con paracetamol a toxicidad aguda
3. Determinar los indicadores bioquímicos que evidencian el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) en ratas albinas inducidas con paracetamol a hepatotoxicidad aguda

1.4 Justificación

La presente investigación pretende dar a conocer los beneficios de las hojas de berro ante los problemas hepáticos, ya que esta planta tiene una gran variedad de metabolitos primarios y secundarios que aportan muchos beneficios a nuestra salud. El Perú es un país de variedad y diversidad biológica donde hay muchas especies que aún no han sido descubiertas o investigadas. Tiene una riqueza de especies y su distribución depende de la latitud, el clima y la disponibilidad de agua y es uno de los centros mundiales de recursos genéticos y variabilidad genética con unas 182 especies de plantas registradas [11]; es importante estudiar al berro porque aportará nueva información sobre el conocimiento de sus propiedades terapéuticas del extracto hidroalcóholico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro), sobre hepatotoxicidad aguda inducida con paracetamol en ratas albinas con el fin de mejorar su estado

hepático, ya que el berro contiene vitaminas, minerales y nutrientes; tiene efecto antioxidante y nos protege de variadas enfermedades. Normalmente, el berro es utilizado como un alimento y poco como terapia de enfermedades, contiene principios activos los cuales aportan propiedades terapéuticas muy importantes, como antivirales, tratamiento para la bronquitis, expectorantes y mucoliticos, aumentan la diuresis, función depurativa, controlan la diabetes [12].

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

2.1.1 Antecedentes nacionales

Carbonel V. [13] 2017. Realizó su trabajo titulado "efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Gentianella nitida* (hercampuri) en un modelo experimental inducido por paracetamol". Usaron paracetamol para inducir el daño hepático, Realizaron marcha fitoquimica para identificar fenoles y flavonoides en el extracto acuoso. Emplearon 24 ratas hembras y dividieron en 4 grupos de 6 ratas cada uno. Al grupo experimental del extracto acuoso de *Gentianella nítida*, recibió una dosis oral de 200 mg/kg de peso corporal por el lapso de siete días; en los siguientes 4 días, se le administró al grupo paracetamol, la dosis de 300 mg/kg de peso corporal. Para el siguiente grupo, recibió silimarina 50 mg/kg de peso, fue el grupo control positivo. Extrajeron el hígado de los animales y preparó una mezcla homogénea para medir las enzimas presentes en el hígado como la catalasa, TBARs entre otras y las proteínas totales. El resultado de la capacidad antioxidante equivalente de ácido ascórbico y de trolox fue de 56 μg AA/mg ss y 87,7 μg trolox/mg ss respectivamente. Los resultados de la marcha fitoquimica fue de 65.8 μg EAG/mg ss para fenoles totales y de 11,7 μg EQ/mg ss para flavonoides. El grupo experimental del extracto acuoso tuvo resultados estadísticamente significativos (hubo un incremento) en la actividad de la enzima superoxido dismutasa para las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, tuvo como resultado el valor de $p < 0,05$ lo cual evidenció un incremento del TBRAs. Para el análisis de la actividad de la enzima glutatión S-transferasa y glutatión, tuvo como resultado un valor de $p < 0,05$ lo cual evidenció una disminución de la

enzima estudiada; por lo tanto, el extracto de *Gentianella nitida* tiene propiedades antioxidante, Esto debido al contenido de metabolitos como de fenoles, ya que estos actúan protegiendo las enzimas antioxidantes que posee el hígado previniendo el daño hepático frente al daño de las especies de oxígeno reactivas mitocondriales (ROS) producidas por la inducción del paracetamol.

Machaca R, et al. [14] 2016. Realizaron un estudio "efecto hepatoprotector del zumo de *Smallanthus sonchifolius* (Yacón), en ratas albinas Wistar con intoxicación hepática inducida por paracetamol". Formaron 5 grupos de 5 ratas cada uno. Los grupos fueron; grupo control, grupo experimental I, grupo experimental II, grupo experimental III y grupo experimental IV. En la primera etapa del estudio experimental, se administró paracetamol para producir una intoxicación en el hígado de las ratas. Una vez inducido el daño hepático se midió la enzima Transaminasa glutámica pirúvica (TGP) y la enzima deshidrogenasa láctica (LDH), resultando el valor comprendido entre 4.4 a 5 Unidades por litro (U/L) y 115 a 192 Unidades por litro (U/L) respectivamente para cada enzima. Luego, se continuó con los grupos I y II a los que se les administró la dosis de 500 mg/kg de paracetamol, a los grupos experimentales III y IV se les administró 750 mg/kg de paracetamol durante el lapso de 15 días para ambas dosis. Luego, se tomó la segunda muestra de las enzimas transaminasa glutámica piruvica TGP y enzima deshidrogenasa láctica LDH obteniendo un valor comprendido entre 46 a 56 U/L y 300 a 500 U/L, respectivamente, para cada enzima .En la segunda etapa, se administró el extracto del zumo de Yacon como tratamiento para los grupos inducidos al daño hepático por paracetamol; al grupo experimental I y III se administró la dosis del extracto 2.5 mL/kg; y a los grupos II y IV se le administró la dosis de 5 mL/kg. Hallaron que el valor de p fue menor a 0.05 por lo que se acepta la hipótesis alterna la cual indica que el extracto del zumo de yacón posee efecto hepatoprotector. Los resultados indicaron que a mayor dosis administrada del extracto mayor es el efecto hepatoportector por lo que existe una relación dosis efecto en el extracto experimental de yacon. La dosis de 5 mL/kg de peso evidenció el mayor efecto hepatoprotector.

Cruzado G. [15] 2016. Realizó el estudio "efecto hepatoprotector del *Peumus boldus* en hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus rattus var albinus*". Para el estudio indujeron hepatotoxicidad con paracetamol, formaron dos grupos de ocho ratas cada uno: el grupo I recibió paracetamol y el grupo II recibió paracetamol más *Peumus boldus*. Determinaron los niveles de enzimas hepáticas; transamina glutámico oxalacetica (TGO), hallaron que fue mayor en el grupo I respecto al grupo II. También evaluaron la enzima fosfatasa alcalina (FA), hallaron que en el grupo I fue mayor que los valores del grupo II; observaron que el peso de las ratas del grupo I disminuyo en relación al grupo II pero la diferencia no fue significante. Se observó que el peso del hígado del grupo I aumentó significativamente en comparación con el grupo II. En el estudio histológico del hígado del grupo I se observó vacuolización perilobulillar, esto hace que la forma del hepatocito cambie alterando su forma normal causando congestión vacuolar y dilatación sinusoidal, en cambio en el grupo II, se observó la forma normal de los hepatocitos. Concluyen que *Peumus boldus* tiene efecto hepatoprotector en el daño hepático causado por paracetamol en ratas.

Sánchez C, et al. [16] 2015. Realizaron el estudio "efecto hepatoprotector del zumo de fruta del *Opuntia ficus indica* (tuna) variedad morada, en ratas con intoxicación hepática inducidas por paracetamol". Usaron el paracetamol para producir daño hepático a ratas. Usaron 36 ratas procedentes de la Universidad Agraria, dividieron en 6 grupos de 6 ratas cada uno. Al grupo I se le administró 10 mL/kg de suero fisiológico vía oral; el grupo II recibió 10 mL/kg de suero fisiológico durante 6 días; luego, se administró paracetamol 400 mg/kg durante 4 días más; el grupo III recibió silimarina 100 mg/kg durante 6 días, luego se administró paracetamol 400 mg/kg, vía oral durante 4 días más, a los grupos experimentales IV, V y VI se les administró el zumo de tuna vía oral a dosis de 2,5; 5 y 10 mL/kg respectivamente, durante 10 días, en el día 6, se administró paracetamol a la dosis de 400 mg/kg, vía oral. Hallaron, en el grupo de silimarina más paracetamol redujo la actividad de la enzima, el cual es un

marcador de daño hepático respecto al grupo dos que solo recibió paracetamol. Pero, los grupos que recibieron el tratamiento del zumo de tuna redujeron la actividad de las tres enzimas marcadoras de daño hepático superando al grupo tratado con silimarina más paracetamol. En los grupos que no tuvieron tratamiento para el daño hepático la albumina
sérica se redujo de manera significativa. Se pudo observar que el zumo de tuna tiene efecto hepatoprotector, ya que disminuye las enzimas marcadoras de daño hepático, además que aumento los niveles de albumina sérica de manera similar a la silimarina.

Vargas N. [17] 2012. Realizó el estudio "efecto hepatoprotector y antioxidante del extracto y los principios activos de *Geranium shiedeanum*". Formaron 5: el grupo I fue el control, al grupo II se indujo daño hepático con tioacetamida; al grupo III se trató con tioacetamida más el extracto 100 mg/kg, al grupo IV se le administró tioacetamida más acetonil geraniina, que es un flavonoide extraído del extracto; al grupo V se le administró tioacetamida más arabinofuranosido, que es un flavonoide purificado del extracto; y al grupo VI fue tratado con tioacetamida más ácido elagico el cual es un flavonoide adquirido comercialmente. La tioacetamida es un hepatotóxico de gran potencia y por eso es usado como estándar para experimentar el daño hepático confiable. Hallaron que el extracto de *G. shideanum* favoreció los niveles de enzima del sistema de defensa antioxidante endógeno, también redujo los marcadores de daño hepático como la enzima aspartato amino transferasa, Alanina aminotransferasa y Bilirrubinas totales. Concluyen que el extracto de *G. shideanum* posee principios activos como flavonoides que tienen una alta actividad antioxidante con efecto hepatoprotector.

Navarro A. [18] 2008. Realizó el estudio "evaluar el efecto antioxidante del berro (*Nasturtium officinale*)". Prepararon un extracto oleoso y otro alcohólico; realizaron ensayo antioxidante de los dos extractos dando como resultado que el extracto oleoso tuvo mayor efecto antioxidante que el extracto alcohólico, también, realizaron estudio cinético de oxidación del ácido linoleico y

demostraron que el extracto alcohólico contiene menos productos de oxidación en comparación al extracto oleoso, por lo que se demuestra su poca actividad oxidante. El análisis de espectro de los dos extractos demostró la presencia de carbonos aromáticos, amidas secundarias. Se demostró que ambos extractos tienen actividad antioxidante y estos se produjeron por compuestos hidrolizados de la clorofila.

2.1.2 Antecedentes internacionales

Quisi R. [19] 2013. Realizó el estudio "estudio comparativo de la actividad hipoglucemiante del extracto de Ortiga (*Urtica dioica*), extracto berro (*Nasturtium officinale*), y extracto de nogal (*Juglans regia*), en ratas (*Rattus novergicus*) con hiperglucemia inducida". En extracto del berro la marcha fitoquimica dio positivo para cumarinas, compuestos grasos, resinas, saponinas, taninos, flavonoides, antocianidinas. El análisis bromatológico del berro fue; fibra 24.72 por ciento y para proteínas 13.01 por ciento. Tuvo una humedad de 89.41 por ciento y de cenizas totales 2.34 por ciento. Se indujo a la glucemia a ratas con sacarosa a una dosis de 150 g/mL durante 14 días. Se utilizó como control positivo de tratamiento de la glucemia al fármaco glibenclamida; a los 15 días de realizado el experimento, la mayor actividad hipoglucemiante fue para el extracto de nogal que logró disminuir la glucemia a 70 mg/dL en comparación con la glibenclamida que disminuyó la glucemia a 87 mg/dL; el extracto del berro disminuyó la glucemia a 90 mg/dL, quedando el extracto de nogal con mejor efecto hipoglucemia. Concluyen que los tres extractos presentaron efecto hipoglucemiante. Para medir la glucemia, se utilizó el Medidor de Glucosa ACCU-CHEK Active de la marca Roche y el extracto no produjo daño ni efectos adversos en los animales demostrando que los extractos no son tóxicos.

Redroban K. [20] 2012. Realizó el estudio "comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*Plantago major*) en ratones (*Mus musculus*)". En el ensayo experimental

depilaron el dorso de las ratas con cremas marca depilatoria Veet®; luego realizaron herida mediante un corte con bisturí aplicaron tres extractos de berro y llantén a las dosis siguientes: 60 por ciento berro y 40 por ciento llantén; 40 por ciento berro y 60 por ciento llantén, 50 por ciento berro y 50 por ciento llantén. La determinación de concentración de flavonoides resultó 1.93 por ciento para el berro y 1.02 por ciento para el llantén. El tamizaje fitoquimico evidenció que el extracto de berro contiene alcaloides, flavonoides, esteroides, quinonas, antocianinas y resinas. De las tres concentraciones de extractos aplicados a los ratones, el que tuvo mejor efecto fue la concentración 50 por ciento berro y 50 por ciento llantén, el cual demoró en cicatrizar 6 días a diferencia de los demás tratamientos que demoraron más días en la cicatrización. Se dedujo que el efecto es debido a la concentración de flavonoides del berro y su efecto antibacterial y el llantén produce un sinergismo en el efecto cicatrizante. El grupo control tratado con eterol que es un medicamento antiséptico y cicatrizante para heridas tuvo resultado similar al grupo berro 40 por ciento y llantén 60 por ciento pero ambos tratamientos demoraron nueve días en cicatrizar y su efecto fue más antiséptico que cicatrizante, el grupo tratado con alcohol 50 por ciento evito la infección de la herida y tardo 10 días en cicatrizar y el grupo que no tuvo ningún tratamiento llamado blanco demoro 12dias en cicatrizar. Se concluyó que los extractos administrados de forma tópica no tuvieron efectos adversos en los animales de experimentación, además que los extractos de llantén con berro poseen efecto cicatrizante en la piel de animales de experimentación.

Seifollah R. [21] **2007.** Realizó el estudio “efecto de los extractos hidroalcohólicos de hojas de *Nasturtium officinale* sobre el perfil de lípidos en ratas con dieta rica en grasas”. Para valorar el efecto del berro sobre el perfil lipídico realizaron mediciones de colesterol total en la sangre (TC), triglicéridos (TG), colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) y colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C). También se evaluó las actividades de las enzimas de aminotransferasas alanina y aspartato para medir los daños en las células hepáticas. Administraron el extracto de berro a dosis de 500 mg/kg

de peso corporal a los grupos de ratas con colesterol elevado en la sangre por el lapso de 10 días. Observaron que disminuyó los valores de TC sérico, triglicéridos TG y lipoproteinas LDL-C en 34.2, 30.1 y 52.9 por ciento, respectivamente, mientras que el nivel de HDL aumentó el nivel en un 27.0 por ciento después de 10 días de tratamiento. Así mismo se observó el aumento de alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) en comparación con los grupos con alimentación alta en grasas. Por lo tanto, se concluye que el extracto de berro tiene un potencial efecto cardioprotector.

Yambay P. [22] 2013. Realizó el estudio titulado "elaboración y control de calidad de una crema a base de los extractos hidroalcohòlicos de berro (*Nasturtium officinale*) y llantèn (*Plantago major*) y comprobación de su actividad cicatrizante en heridas inducidas en ratones". Elaboraron una crema al 40 por ciento del extracto hidroalcohólico de berro y llantén para evaluar su efecto cicatrizante en ratas. Usaron 15 ratas que fueron distribuidos en 5 grupos de 3 ratas por grupo. Se les indujo a la herida con ayuda de un bisturí; el grupo I, control positivo, se le aplicó óxido de zinc y calamida; el grupo II es el grupo control negativo el cual no recibió ningún tratamiento, el grupo III contiene el extracto 20 por ciento berro y 20 por ciento llantén; el grupo IV contiene el extracto 32 por ciento berro y 8 por ciento llantén; el grupo V extracto ocho por ciento berro y 32 por ciento llantén. El tamizaje fitoquimico determinó que el extracto hidroalcohólico contiene flavonoides, cumarinas, quinonas, azucares reductores, taninos, saponinas, esteroides. En los resultados se determinó que el extracto 50 por ciento berro y 50 por ciento llantén tuvo mejor efecto cicatrizante y en el tiempo de 8 días en comparación con los demás grupo, pero igual de efecto y días con el grupo control positivo. Esta actividad cicatrizante se debe a la presencia de flavonoides, el cual posee un efecto de reepitalizacion y antiséptico además de regenerador de la piel; la combinación del llantén y berro producen un efecto de sinergismo terapéutico.

2.2. Bases teóricas

2.2.1 Taxonomía del Berro (*Nasturtium officinale*)

Reino : Plantae
División : Magnoliophyta
Clase : Magnoliopsida
Orden : Brassicales
Familia : Brassicaceae
Tribu : Cardamineae
Género : Nasturtium
Especie : *Nasturtium officinale BERRO*
Nombre común : Berro

Las características principales de la planta son [23]:

- **Raíz:** Presenta raíces abundantes con nudos de color blanco con diámetro delgado.
- **Tallo**: Es hueco y mide desde 10 a 60 cm de largo, tiene ramificaciones, por lo general, están flotando en agua con poca profundidad. En dicho tallo, crecen las flores de color blanco que se alargan al final de floración).
- **Hoja.** Son de tamaño pequeño de 3.8 a 12.5 cm de longitud, presentan de 3 a 9 foliolos y, ocasionalmente, 10 lanceolados de forma ovada o de corazón.
- **Flor**. Son de tamaño diminuto actinomorfas, con 4 sépalos libres, imbricados y en 2 series. Corola de 4 pétalos iguales estrechos en la base en alternancia con los sépalos.

Figura 1. Planta del Berro

Fuente: Elaboración propia

2.2.2 Descripción morfológica

Es una planta que vive más unos dos años debido a la forma radial que tienen, es acuática o semiacuática, de una altura que está entre 10 a 60 cm; además, tiende a agruparse en grandes colonias. Las hojas poseen un color verde oscuro; son glabras, porque no presentan pelos o tricomas; bipinnadas, porque tienen el peciolo ramificado y con limbo ancho. Las flores tienen un tamaño pequeño y su color, generalmente, blanco; se reúnen en ramilletes o panículas terminales por lo que tiene una inflorescencia en forma de racimo [23].

2.2.3. Composición química

La composición química del berro se puede observar en la tabla 2 y 3; para lograr estos valores se usaron 10 muestras de berro. Estos valores nos dan

una información de la composición química que puede ser utilizada en la tecnología alimentaria [24].

Tabla 1. Composición química del berro expresado en base seca muestra entera por cada 100 g

Energía ([Kcal)	20,20
Proteína (g)	1,6
Hidratos carbono (g)	2,03
Fibra (g)	1,47
Grasa total (g)	0,30
Colesterol (mg)	0,00
Alcohol (g)	0,00
Agua (g)	94,60

Fuente. Yaque G, 2004 [24].

Tabla 2. Composición mineral del berro expresado en base seca muestra entera por cada 100 g

Calcio (mg)	180,00
Hierro (mg)	3,10
Yodo (mg)	12,00
Magnesio (mg)	34,00
Zinc (mg)	0,70
Selenio (µg)	0,90
Selenio (µg)	12,00
Sodio (mg)	12.00
Potasio (mg)	276,00
Fósforo (mg)	0.00

Fuente: Yaque G, 2004 [24].

2.2.4. Composición de aminoácidos del berro

La calidad de la proteína está representada por el porcentaje de aminoácidos esenciales que contiene. La FAO, en una de sus publicaciones, señala que una proteína es biológicamente completa cuando contiene todos los aminoácidos esenciales en cantidades similares o mayores a lo establecido

para cada aminoácido en una proteína de referencia que se usa como patrón para medir otras proteínas. Generalmente, se utilizaba como patrón de aminoácidos, las proteínas de la leche y del huevo; en la actualidad, se usa como referencia o patrón de aminoácidos se basa en los requerimientos de aminoácidos del preescolar para todas las edades mayores a un año [24]. En la tabla 3 se presenta la composición de aminoácidos del berro

TABLA 3. Composición de aminoácidos del berro contenido en mg/g.

Aspártico	130,00
Treonina	79,00
Serina	42,00
Glutámico	132,00
Prolina	67,00
Glicina	78,00
Alanina	95,00
Cistina	5,00
Valina	25,00
Metionina	14,00
Isoleucina	72,00
Leucina	120,00
Tirosona	34,00
Fenilalanina	58,00

Fuente. Yaque G. 2004 [24].

2.2.5. Metabolitos secundarios presentes en *Nasturtium officinale* (berro)

1. **Taninos**

   Los tienen propiedad de precipitar o coagular a las proteínas, crean una capa protectora sobre la piel que le confiere protección y alivio del dolor, se usa con frecuencia para control de hemorragias, quemaduras, bronquitis, inflamación, heridas, escaras y diarreas. Cuando se administra por vía oral se debe realizar con precaución ya que puede interferir con la absorción de vitaminas y minerales. En la industria se suelen emplear para para

precipitar compuestos complejos como en los vinos, cervezas, elaborar tintas, curtir la piel, así también en la industria textil [24].

2. **Flavonoides**

   Estructuralmente contienen grupos hidroxilos tipo fenólicos, tienen capacidad de quelar metales como el hierro y poseer capacidad antioxidante, son generalmente solubles en agua, presentan protección frente al daño oxidativo y tener acción en diversas enfermedades como el cáncer, problemas cardiovasculares, su acción anti radical es principalmente sobre los grupos hidroxilos y superóxido implicadas en la peroxidación de lípidos, los flavonoides deben administrarse con la dieta o en preparados ya que el organismo no es capaz de sintetizarlos [24].

3. **Fenoles**

   Los fenoles una vez aislados tienen forma cristalina y poseen propiedades como antiséptico, cicatrizante o para síntesis de nuevos compuestos como el ácido acetil salicílico, poseen efecto antioxidante, existen derivados de fenoles como el catecol que es biológicamente activo en el sistema nervioso. Estos compuestos confieren sabor amargo débil, se agrupan en especial con grupos carboxilos, en el maíz se encuentran fenoles totales con amplio poder antioxidante y mayor que el arroz, avena y el trigo. El ácido ferúlico representa el 85% de los fenoles totales y es biológicamente activo se ubican en el pericarpio del grano en forma libre o esterificado en la pared de la célula del grano del maíz [25].

2.2.6. Propiedades farmacológicas de los taninos

Los taninos tienen propiedades astringentes, por tanto, son antidiarreicos y vasoconstrictores, porque producen constricción de los tejidos y precipitan las proteínas que se encuentran en las secreciones. Así mismo poseen propiedades antimicrobianas, antifúngicas e inhibidores enzimáticos. Son usados como antídotos de alcaloides y metales pesados, ya que interfieren en la absorción se sustancia en el tubo digestivo. Aunque presentan efectos

adversos, su acción positiva justifica su uso en emergencias [24]. Se usan también en la cicatrización de heridas y de protección de la piel, ya que detienen el sangrado mediante el mecanismo de unirse a las proteínas de la sangre para así formar una costra y crean un medio seco [24]. El uso inadecuado de los taninos puede producir toxicidad por lo que el empleo terapéutico solo es en dosis pequeñas para el tratamiento de variadas enfermedades [24].

2.2.7. Acción farmacológica de flavonoides

Los flavonoides protegen a las plantas de los rayos solares como la luz ultravioleta. Una clase de flavonoides se forman en las raíces de las plantas y presentan acciones frente a infecciones causadas por hongos patógenos que puedan dañar la planta [24]. Los flavonoides han mostrado experimentalmente tener acción en modelos “in vitro” como: antioxidantes, antiinflamatorias, antialérgicas, antibióticas, antidiarreicas y en el cáncer. Algunos estudios experimentales indican que una dieta rica en flavonoides disminuye el riesgo de cáncer [24].

2.2.8. Acción farmacológica de fenoles

Algunos tipos de fenoles contribuyen a la asimilacion del calcio, disminuyen el estreñimiento, favorecen la formación de la vitamina del complejo B, ayudan en la respuesta del sistema imnunológico, disminuyen las posisbilades de la aparición del cáncer al colon y calma los problemas gastroinstestinales [25].

2.2.9. Hígado

El hígado tiene la función de metabolizar a través de sus enzimas no solo la sangre que llega de los intestinos y del estómago, sino también de los fármacos ingeridos; mantiene la homeostasis y el ph sanguíneo. Una de sus funciones es secretar la bilis que son células hepáticas y es de gran importancia para la digestión de grasas; participa en la síntesis de proteínas plasmáticas; tiene la función desintoxicante y almacenamiento de vitaminas y glucógeno. El hígado también elimina de la sangre distintas sustancias que

puedan resultar tóxicas para el organismo, entre ellas el alcohol. La ausencia de hígado o una falla en este es incompatible con la vida [26].

2.2.10. Funciones del hígado

El hígado cumple función de regular los niveles de sustancias químicas de la sangre y secreta bilis, que ayuda al transporte de desechos desde el hígado y lo almacena en las glándulas biliares. El hígado procesa, metaboliza, descompone y regula sustancias de la sangre; además, sintetiza nutrientes como vitaminas y metaboliza a los medicamentos de forma que el cuerpo pueda activar el fármaco para su funcionamiento en el organismo sin que resulten tóxicos. El hígado posee alrededor de 500 funciones vitales, algunas de las más importantes son las siguientes [26]:

- La producción de bilis, ayuda a transportar los desechos y a digerir las grasas en el intestino delgado a través de la liberación de bilis por la vesícula biliar durante la digestión.
- Producción de proteínas como la albumina, importante para el plasma sanguíneo.
- Producción de colesterol y proteínas especiales como la transferrina, que ayuda al transporte de hierro por todo el cuerpo.
- Conversión del exceso de glucosa en un polisacárido, el glucógeno para la reserva energética. El glucógeno vuelve a transformarse en glucosa regulado por las hormonas glucagón y adrenalinas; estas equilibran y fabrican glucosa a medida que se necesita.
- Formación de la hemoglobina que es esencial ya que el hierro se asocia al grupo hemo de esta para mantener la homeostasis.
- Conversión del amoníaco tóxico que proviene del uso de los aminoácidos en úrea, que es uno de los metabolitos finales del metabolismo de las proteínas que pasan por el torrente sanguíneo y luego a los riñones para ser excretada en la orina.

2.2.11. Enfermedades hepáticas

Tenemos diversas enfermedades que se presenta en el hígado como: ocasionadas por virus (hepatitis A, B, C), ocasionados por toxinas y/o alcohol como la cirrosis, hígado graso; de origen hereditario como hemocromatosis (absorción aumentada de hierro que resulta tóxico para el organismo), enfermedad de Wilsonet (incapacidad de eliminación de cobre el cual resulta tóxico para el hígado y cerebo). El daño hepático puede ocasionar síntomas como hinchazón del abdomen, cambios de coloración de la orina, heces, otros como color amarillento de los ojos, ictericia [26].

Para mejorar la salud del hígado se recomienda aumentar consumo de lecitina como el pescado, brócoli, coliflor, legumbres, yema de los huevos. Así también disminuir el consumo de azúcar, los alimentos industriales, ya que contienen altas proporciones de sales conservantes y edulcorantes los cuales producen daño hepático, evitar los suplementos de hierro a menos bajo prescripción médica, porque la ingesta excesiva puede resultar tóxica para el organismo, puede ser consumido como parte de un multivitamínico; consumir alimentos que contengan antioxidantes como los carotenos, vitamina C, zinc y selenio, ya que ayudan a proteger al hígado; consumir vitamina B12 ya que su deficiencia afecta el funcionamiento correcto del hígado [26].

2.2.12. Evaluación hepática

Para evaluar el daño hepática se realiza con frecuencia exámenes de actividad enzimática de: Transaminasas (alanino aminotransferasa – TGP aspartato aminotransferasa – TGO) bilirrubina, bilirrubina total, fosfatas

alcalina. El aumento de estos indicadores por encima de los valores normales indica alteración funcional del hígado los cuales pueden estar asociados a enfermedades como cirrosis hepática, ictericia, colestasis, cirrosis alcohólica, hepatitis viral, hepatopatías por depósito [27,28,29].

2.2.13. Paracetamol

El paracetamol, también conocido como acetaminofén, es un analgésico empleado para el control del dolor leve, cefaleas, fiebre y dolores causados por la vacunación, no tiene efecto antiinflamatorio. En su farmacocinética se observa absorción rápida y completa administrada por vía oral. La vida media aumenta en pacientes con daño hepático. El antídoto ante intoxicación por paracetamol es la acetilcisteina, una sobredosis de paracetamol puede causar daño hepático. Su mecanismo de acción es incierto, pero se postula que inhibe a la ciclooxigenas del sistema nervioso central, pero no la síntesis de prostaglandinas en tejidos periféricos, razón por el cual no posee efecto antinflamatorio. El efecto antipirético que tiene el paracetamol se debe a que bloquea el pirógeno en el hipotálamo inhibiendo la síntesis de prostaglandinas y regulando la temperatura [30].

El paracetamol debe ser administrado con precaución; en el embarazo solo si el medico lo recomienda, porque cruza la barrera placentaria y el feto no tiene la capacidad de metabolizarlo. En la lactancia se excreta en leche materna, pero no se ha demostrado que cause daño al lactante. En pacientes con alcoholismo y enfermedades víricas como la hepatitis, tienen un mayor riesgo de sufrir hepatotoxicidad por el consumo de paracetamol, ya que el hígado no puede metabolizarlo por completo, la administración debe ser dada por un especialista a dosis bajas. Las personas con deficiencia de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa tienen un mayor riesgo de hemólisis por lo que su uso debe ser controlado. En pacientes asmáticos que sean sensibles a la aspirina se debe administrar con precaución, ya que pueden causar broncoespasmos moderados. No se debe administrar paracetamol en pacientes que van a tener exámenes de detección de glucosa, ya que este reduce en un 120% [30]. Dependiendo de la concentración de paracetamol en sangre, los síntomas van desde una ausencia total de síntomas, hasta vómitos, dolor abdominal e incluso fallo hepático y muerte.

La sobre dosis de paracetamol por lo general no provoca síntomas inmediatos. Si la sobredosis es muy importante, los síntomas se desarrollan en 4 fases:

fase 1 (al cabo de varias horas), el paciente puede vomitar, pero no parece estar enferma. En muchos casos, no aparecen síntomas en la fase 1. En la fase 2 (al cabo de 24 a 72 horas) pueden aparecer náuseas, vómitos y dolor abdominal. En esta fase, los análisis de sangre revelan que el hígado está funcionando de manera anormal. En la fase 3 (a los 3 o 4 días), empeoran los vómitos. Los análisis revelan una función hepática escasa y aparecen ictericia (piel y ojos amarillentos) y hemorragias. A veces, los riñones fallan y el páncreas se inflama (pancreatitis). En la fase 4 (después de 5 días), o bien el intoxicado se recupera rápidamente o bien experimenta una insuficiencia hepática y de otros órganos que puede ser mortal [30].

En un cuadro de intoxicación aguda, la glucuronidación y sulfatación se saturan, siendo la principal vía de metabolización la del citocromo P-450. Por lo tanto, hay un aumento en la síntesis de proteínas hepáticas como la NAPBQ y la siguiente acumulación del metabolito tóxico, que aumenta la capacidad de regeneración en el hígado del glutatión. La gran reactividad de las proteínas hepáticas NAPBQ le permite unirse con enlaces covalente a las proteínas de la superficie de membrana en los hepatocitos, lo que causa daño del tejido [30].

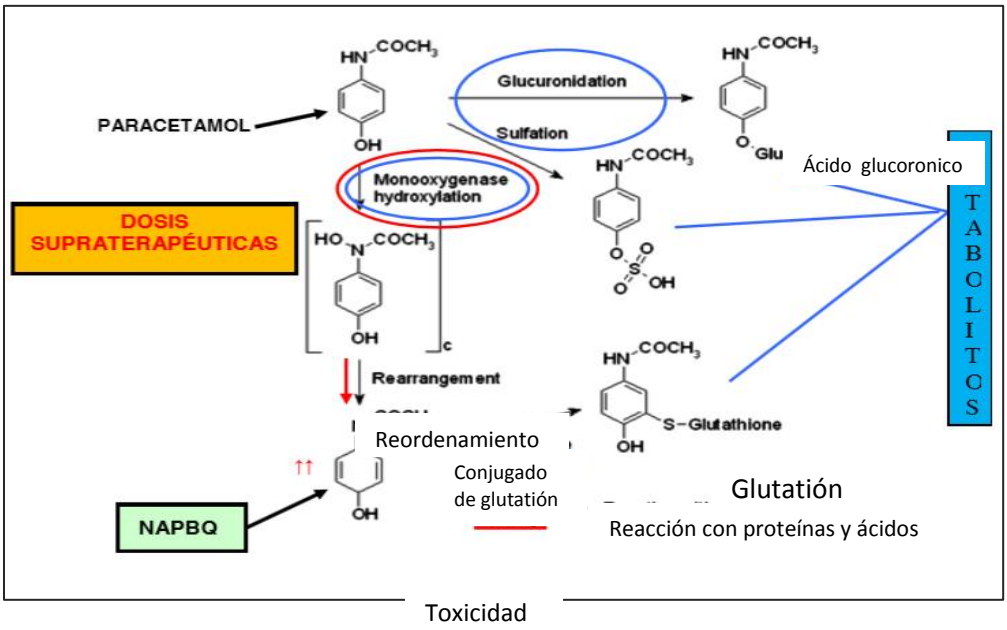

Figura 2. Rutas Metabólicas

Fuente: Amigo C. 2015 [30].

2.3. Formulación de las hipótesis

2.3.3. Hipótesis general

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton (berro)* tiene efecto hepatoprotector en ratas albinas inducidas con paracetamol a hepatotoxicidad aguda

2.3.4. Hipótesis específicas

1. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) son flavonoides, alcaloides y compuestos fenólicos
2. La dosis del extracto hidroalcóholico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) que presenta mayor efecto hepatoprotector en ratas albinas inducidos con paracetamol a hepatotoxicidad aguda es 500 mg/kg de peso
3. Los indicadores bioquímicos que evidencian el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) en ratas albinas inducidos con paracetamol a hepatotoxicidad aguda son disminución de los valores de TGO, TGP, fosfatas alcalina, bilirrubina total y proteínas

2.4. Variables

Operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	dimensiones	indicadores
Independiente: Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro)	Es el producto obtenido a través de la maceración de una especie vegetal con una solución hidroalcoholica la cual es sometida a sequedad	Producto destinado a ser utilizado en afecciones fisiológicas o a ser analizado para determinar sus metabolitos secundarios	Fitoquimica	Prueba de solubilidad (+ -) Muy soluble Soluble Poco soluble insoluble Marcha fitoquimica (+ -) Presenta No presenta
Dependiente: Efecto hepatoprotector	Capacidad que tienen un producto para proteger las funciones del hígado	Producto obtenido para administrar y prevenir las dolencias hepáticas	Prueba de función hepática	TGO TGP Fosfatasa alcalina Bilirrubina Proteínas totales Albúmina

2.5. Marco conceptual

1. **Aborígenes**: El concepto de aborigen menciona a alguien o algo originario del suelo en que vive. En este sentido, puede nombrar a una persona [23].

2. **Biodiversidad:** La biodiversidad o diversidad biológica es la variedad de la vida. Este reciente concepto incluye en varios niveles de la organización biológica [23].

3. **Colorimetría:** Es la ciencia que estudia la medida de los colores y que desarrolla métodos para la cuantificación de la percepción del color [24].

4. **Extracto:** Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra cosa por diversos procedimientos [20].

5. **Estabilidad:** Es la tendencia de un objeto a conservar su posición en reposo o su velocidad angular, firmeza y seguridad en el espacio [17].

6. **Febrífugas:** Sustancias capaces de calmar la fiebre [9].

7. **Grasas**: Sustancia orgánica, que se forma cuando los ácidos grasos se unen a la glicerina. Estas grasas forman parte de varios tejidos de animales y plantas, se pueden clasificar en grasas insaturadas y grasas saturadas [19].

8. **Herbolario:** o fitoterapia se encuentra incluida dentro del ámbito de la medicina y tiene que ver con el desequilibrio tanto físico como espiritual [20].

9. **Hidroalcohólico:** Formado por una mezcla de agua y alcohol para extraer los metabolitos de las plantas para fines de investigación y terapéuticos [13].

10. **Lipoproteínas:** Complejos macromoleculares compuestos por proteínas y lípidos que transportan grasas por todo el organismo [15].

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Tipo de Investigación

El tipo de investigación es experimental, prospectivo y transversal. Es experimental porque manipuló a la variable independiente, por ejemplo la dosis y luego observar el efecto sobre la variable independiente, así también se trabajó con grupos controles. Es prospectivo por que el experimento se realizó y observó en el paso del tiempo, es transversal porque al final del experimento se realizó una única medida de los indicadores bioquímicos en sangre.

3.2 Diseño del estudio

1. Recolección de las hojas del berro (Método CYTEC, 1995 [31])

Las hojas del berro se recolectaron en la provincia de Tarma, departamento de Junín, se recolectó 1 kg de hojas frescas, con la ayuda del sr. Pedro un tarmeño de nacimiento quien nos ayudó a extraer la planta de la sequía, las que fueron embaladas en cajas de cartón previa selección y limpieza, luego se trasladaron a laboratorio de la facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la universidad Inca Garcilaso de la Vega.

2. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas del berro (Método CYTEC, 1995 [31])

Las hojas recolectadas se secaron a la estufa a 40 ºC durante 5 días, luego se trituró hasta polvo, seguido se pesó 200 g de polvo seco y se maceró en etanol 70% durante 10 días con agitación dos veces por día, pasado este tiempo se filtró, el líquido filtrado se colocó a la estufa a 40 ºC hasta eliminación total del solvente y obtención de un extracto seco. El extracto seco obtenido se pesó y se acondicionó en frasco boca ancha color ámbar, luego se colocó a refrigeración hasta posterior uso.

3. Ensayo de solubilidad (Método Lock O. 2016 [32])

Se pesó 5 mg de extracto seco, se colocó al fondo de cada tubo de ensayo, luego se añadió 1 mL de los siguientes solventes: Agua destilada, Etanol, cloroformo, éter de petróleo, butanol, metanol, ciclohexano

4. Marcha fitoquímica (Método Lock O. 2016 [32])

Se pesó 50 mg de extracto seco y se disolvió en agua, de la solución obtenida se colocó 1 mL en diferentes tubos de ensayo, luego se añadió 5 gotas de diferentes reactivos específicos para observar la presencia de metabolitos secundarios:

Carbohidratos : Molish, Fehling, Antrona
Compuestos fenólicos : $FeCl_3$
Taninos : Gelatina
Flavonoides : Shinoda
Antocianinas : Rosenhein
Aminoácidos : Ninhidrina 1% en etanol
Alcaloides : Dragendorff, Mayer, Bertrand, Somneschein
Antraquinonas : Bortranger
Triterpenoides y/o esteroides: Lieberman – Burchard
Saponinas : Agua, producción de espumas
Cumarinas : NaOH al 10%

4. Ensayo del efecto hepatoprotector (Método Guevara A, et al. 2014 [33] modificado en la dosis del paracetamol)

Se usaron 36 ratas albinas hembras cepa Holtzman con peso entre 200 ± 10 g adquiridos del Instituto Nacional de Salud (INS), fueron aclimatados 5 días, a temperatura de 23 ºC, humedad 60%, 12 horas luz y 12 horas oscuridad. Se alimentaron con alimento balanceado obtenido del INS, antes de realizar el experimento ayunaron 12 horas con libre acceso al agua. La toxicidad hepática fue inducida con paracetamol 400 mg/kg durante 7 días, el cual se

administró por vía intra peritoneal 30 minutos luego de administrar los tratamientos según el siguiente diseño experimental:

Tabla 4. Grupós experimentales del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nastrurtium officinale w.t. Aiton* (berro)

Grupos	tratamiento	n
G1	Solución salina fisiológica vía oral 5 mg/kg	6
G2	Solución salina fisiológica vía oral 5 mg/kg + Paracetamol	6
G3	Berro 200 mg/kg vía oral + Paracetamol	6
G4	Berro 300 mg/kg vía oral + Paracetamol	6
G5	Berro 500 mg/kg vía oral + Paracetamol	6
G6	Silimarina 100 mg/kg + Paracetamol	6

n : número de animales

SSF **:**solución salina fisiologica

Fuente. Elaboración propia

Luego de la administración de los tratamientos se sacrificaron a los animales con sobre dosis de Pentobarbital (100 mg/kg), seguido se obtuvo muestra de sangre entre 3 a 4 mL por punción cardiaca. Posteriormente se determinó los valores de los siguientes indicadores: TGO, TGP, bilirrubina total, fosfatasa alcalina, proteínas totales y albúmina, los mismos que se midieron según técnicas de laboratorio clínico.

5. Materiales, equipos y reactivos

a. Materiales

Beacker de vidrio de 100 mL

Algodón CKF 200 g

Gasa Médica 20 x 20 cm

Papel de filtro whatman Nº 40

Varilla de vidrio

Gotero de plástico

Frasco de vidrio color ámbar de 2 L

Fuente de vidrio Pyirex

Guantes de látex descartable

Mascarilla descartable}

Gorro descartable

Pipeta de vidrio 1 mL, 2 mL, 5 mL y 10 mL

Propipeta

Mortero y pilón de porcelana

Espátula de metal

Tubos de ensayo de vidrio 13 x 100 mL

Probeta de 100 mL

Cocinilla eléctrica

Sonda orogástrica para ratas

Jaula de metal para ratas

Jeringa de insulina graduada 1 mL Terumo

b. Equipos

Balanza semi analítica

Balanza analítica

Balanza triple brazo

Estufa marca Memmert

Campana extractora

Molino casero

c. Reactivo

Acetato de etilo

Agua destilada

Benceno

Cloroformo

Etanol

n-butanol

n. Hexano

Metanol

Mayer

Draguendorff

Tricloruro férrico
Gelatina más cloruro de sodio
Fehling A y Fehling B
Tricloruro de aluminio
Shinoda
Ninhidrina
Liebermann – Burchard
Paracetamol Q.P.
Kit para pruebas de función hepática
Extracto hidroalcohólico de las hojas de berro

3.3 Población y muestra de la investigación

1. Población

La población estuvo conformada por ratas cepa Holtzman con peso entre 200 ± 10 g

2. Muestra

La muestra fue de 36 ratas divididos en 6 grupos a los que se administraron distintos tratamientos, al final se obtuvo 36 muestras de sangre para valores los indicadores de función hepática[33].

3.4. Técnica e instrumento de recolección de datos

Los datos fueron recolectados en forma manual mediante una ficha elaborada y validadas en la ficha de obserbacion para tal fin, la técnica fue la observación directa, los datos se presentan en tablas y figuras.

3.5. Procesamiento de datos

Para procesar los datos se empleó el programa estadístico SPSS y se realizaron análisis de varianza, para determinar las diferencias estadísticas de los grupos experimentales se realizó el test de Tukey, prueba de Dunnett, la significancia fue del 95% ($p<0.05$)

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Ensayo de solubilidad

El extracto hidroalcohólico de las hojas *de Nastrurtium officinale W.T. Aiton* (berro) presentó muy buena solubilidad en etanol y agua, poco soluble en metanol, e insoluble en cloroformo, éter de petróleo, butanol y ciclohexano, como se aprecia en tabla 5

Tabla 5. Ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nastrurtium officinale W.T. Aiton* (berro)

Solvente	Solubilidad
1. Etanol	**+++**
2. Agua	**+++**
3. Metanol	**+**
4. Cloroformo	**--**
5. Éter de petróleo	**--**
6. Butanol	**--**
7. Ciclohexano	**--**
Leyenda: Muy soluble (+++), Soluble (++), Poco soluble (+), Insoluble (-)	

Fuente. Elaboración propia

4.1.2. Marcha fitoquímica

En extracto hidroalcohólico de las hojas *de Nastrurtium officinale W.T. Aiton* (berro) se realizó el análisis cualitativo de identificación de metabolitos secundarios, se encontró la presencia de carbohidratos,

taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas, alcaloides, antraquinonas y saponinas, tal como se aprecia en la tabla 5.

Tabla 6. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas *de Nastrurtium officinale W.T. Aiton* (berro)

METABOLITO	REACTIVOS	REACCIÓN POSITIVA	RESULTADOS
CARBOHIDRATOS	Molish	Anillo violeta	--
	Antrona	Coloración verde	--
	Fehling	Coloración rojo ladrillo	+
COMPUESTOS FENÓLICOS	$FeCl_3$	Coloración verde o azul	+
TANINOS	Gelatina	Precipitado denso blanco	+
FLAVONOIDES	Shinoda	Color anaranjado	+++
ANTOCIANINAS Y FLAVONOIDES CATÉQUICOS	Rosenheim	Color rojo oscuro	+
AMINOÁCIDOS LIBRES Y GRUPOS AMINO	Ninhidrina(0.1% en etanol)	Coloración violácea	--
ALCALOIDES	Dragendorff	Precipitadonaranja	++
	Mayer	Precipitado blanco	+
	Bertrand	Precipitado blanco	+
	Sonnenschein	Precipitado amarillo-verdoso	+
NAFTAQUINONAS, ANTRAQUINONAS Y ANTRANONAS	Borntrager	Coloraciónroja	+
TRITERPENOIDES Y ESTEROIDES	Lieberman-Burchard	Esteroides: verde-azul Triterpenoides: rojo-naranja	+
SAPONINAS	Generación de espuma	Formación de 0.5 a 1 cm de espuma estable por 15 min.	++
GLICÓSIDOS	Baljet	Coloración anaranjada	--
CUMARINAS	NH_4OH cc ó NaOH 10%	Fluorescencia celeste	--

Fuente. Elaboración propia

Los metabolitos secundarios encontrados en la marcha fitoquimica en mayor cantidad fueron flavonoides (+++) y saponinas (++) y alcaloides (+)

Tabla 7. Análisis por cromatografía para identificación de alcaloides del extracto hidroalcohólico de hojas del berro

MUESTRA	CÁLCULO DEL Rf	COLOR
Estándar de Cafeína	Rf 2.5/8 = 0.31	Café amarillo
Extracto de berro M1	Rf 2.8 / 8 = 0.35	Amarillo verdoso
Extracto de berro M2	Rf 3.1 / 8 = 0.38	amarillo

Fuente: Elaboración propia, 2018

Los resultados del cálculo del Rf se encuentran muy cerca a los del estándar indicando la presencia de alcaloide.

Tabla 8. Análisis por cromatografía para identificación de flavonoides del extracto hidroalcohólico de hojas del berro

MUESTRA	CÁLCULO DEL Rf	COLOR
Estándar de Rutina	Rf 5.5/8 = 0.687	Amarillo
Extracto de berro M1	Rf 5.8 / 8 = 0.725	Amarillo
Extracto de berro M2	Rf 6.2 / 8 = 0.775	Amarillo

Fuente: Elaboración propia

Los resultados del cálculo del Rf se encuentran muy cerca a los del estándar indicando la presencia del flavonoide.

4.1.3. Ensayo del efecto hepatoprotector

En la tabla 9, figura 3, 4 y 5 se aprecia los promedios de los valores de las transaminasas TGO, TGP y actividad de la fosfatasa alcalina, se encontró que existen diferencias significativas ($p<0.05$) entre los grupos tratados con el extracto con el grupo control positivo

Tabla 9. Valores promedio de actividad de TGP, TGO y Fosfatasa alcalina según grupos de tratamiento del efecto hepatoprotector del berro

Perfil Hepático	TGP (U/L)	TGO (U/L)	Fosfatasa Alcalina (U/L)
Tratamiento	**Promedio ± DE**	**Promedio ± DE**	**Promedio ± DE**
SSF	23,88 ± 2,0	31,81 ± 2,0	55,64 ± 4,8
SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	128,64 ± 7,2	143,25 ± 5,2	109,35 ± 5,6
Berro 200 mg/kg + Paracetamol	53,71 ± 5,1	79,38 ± 3.1	79,42 ± 1,8
Berro 300 mg/kg + Paracetamol	43,06 ± 5,4	55,19 ± 4,9	72,74± 5,7
Berro 500 mg/kg + Paracetamol	29,65 ± 2,7	39,45 ± 3,1	62,37 ± 4,0
Silimarina + Paracetamol	25,86 ± 3,8	38,62 ± 2,3	54,49 ± 6,6

SSF = Solución salina fisiológica

Fuente. Elaboración propia

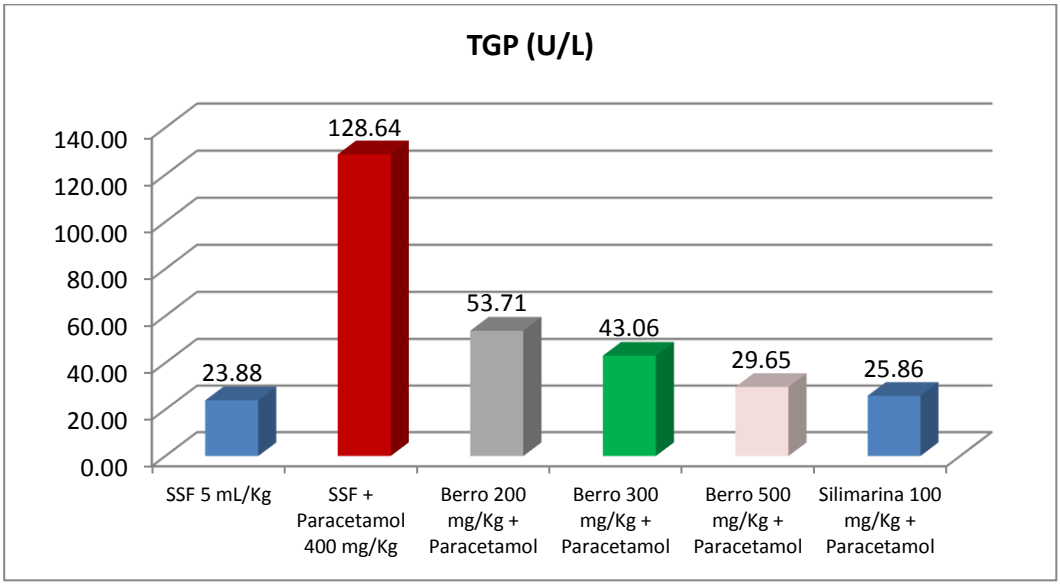

Figura 3. Valores promedio de TGP según grupos de tratamiento

Fuente. Elaboración propia

En la figura 3 se observa disminución significativa de la actividad de TGP del extracto del berro respecto al grupo control paracetamol 400 mg/kg de peso.

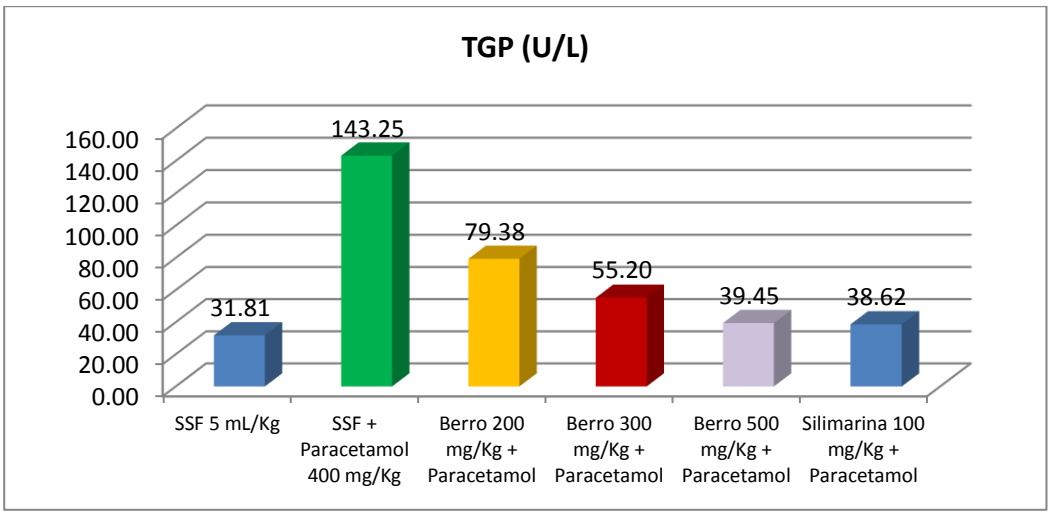

Figura 4. Valores promedio de TGO según grupos de tratamiento

Fuente. Elaboración propia

En la figura 4 se aprecia que el efecto del berro dosis 500 mg/kg es similar al grupo de silimarina ($p>0.05$) y respecto al grupo paracetamol 400 mg/kg el efecto es significante ($p<0.05$)

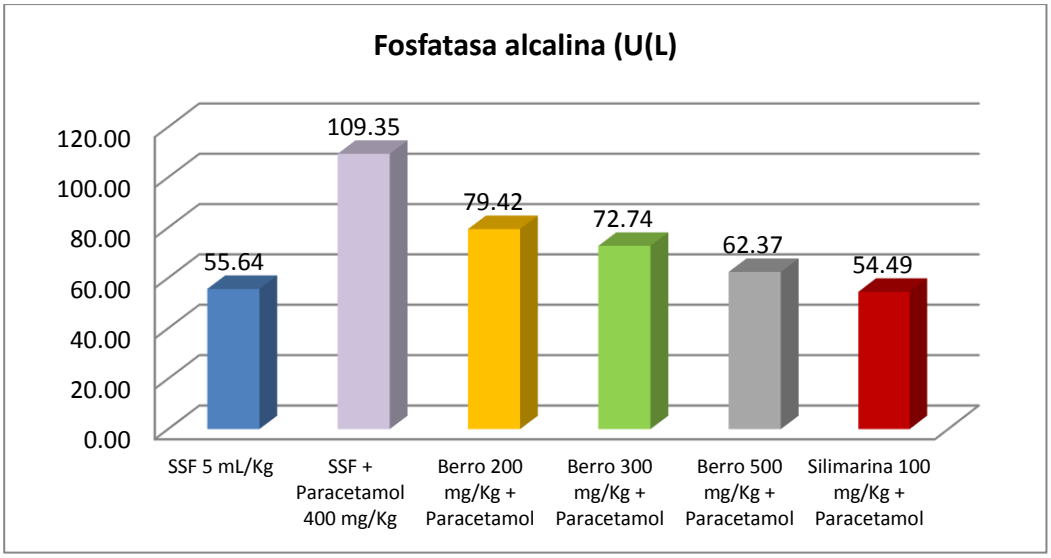

Figura 5. Valores promedio de Fosfatasa Alcalina según grupos de tratamiento

Fuente. Elaboración propia

En la figura 5 se aprecia que los valores promedios de la fosfatasa alcalina disminuyeron con los tratamientos comparado con respecto al grupo de paracetamol 400 mg/kg.

En la tabla 10 figura 6, 7 y 8 se observa que los niveles de albúmina aumentaron en los grupos tratados con el extracto del berro, el efecto aumentó conforme aumentó la dosis, con la similarina el aumento fue mayor del promedio de albúmina, efecto similar fue con el indicador de bilirrubina total. En el indicador de proteínas totales aumentaron los promedios con los grupos tratados con extracto del berro y silimarina con respecto al grupo control de paracetamol ($p<0.05$)

Tabla 10. Valores promedio de albúmina, proteínas totales y bilirrubina total según grupos de tratamiento del efecto hepatoprotector del berro

Perfil Hepático	**Albúmina (g/dL)**	**Proteínas totales (g/dL)**	**Bilirrubina total (mg/dL)**
Tratamiento	**Promedio ± DE**	**Promedio ± DE**	**Promedio ± DE**
SSF	3,67 ± 0,1	5,00 ± 0,1	0,98 ± 0,3
SSF + Paracetamol	1,96 ± 0,2	7,89 ± 0,4	3,88 ± 0,2
Berro 200 mg/kg + Paracetamol	2,45 ± 0,4	7,07 ± 0,5	3,04 ± 0,2
Berro 300 mg/kg + Paracetamol	2,95 ± 0,2	6,12 ± 0,4	2,16 ± 0,2
Berro 500 mg/kg + Paracetamol	3,55 ± 0,2	5,04 ± 0,5	1,75 ± 0,3
Silimarina + Paracetamol	3,92 ± 0,2	5,17 ± 0,3	0,94 ± 0,1

SSF = Solución salina fisiológica

Fuente. Elaboración propia

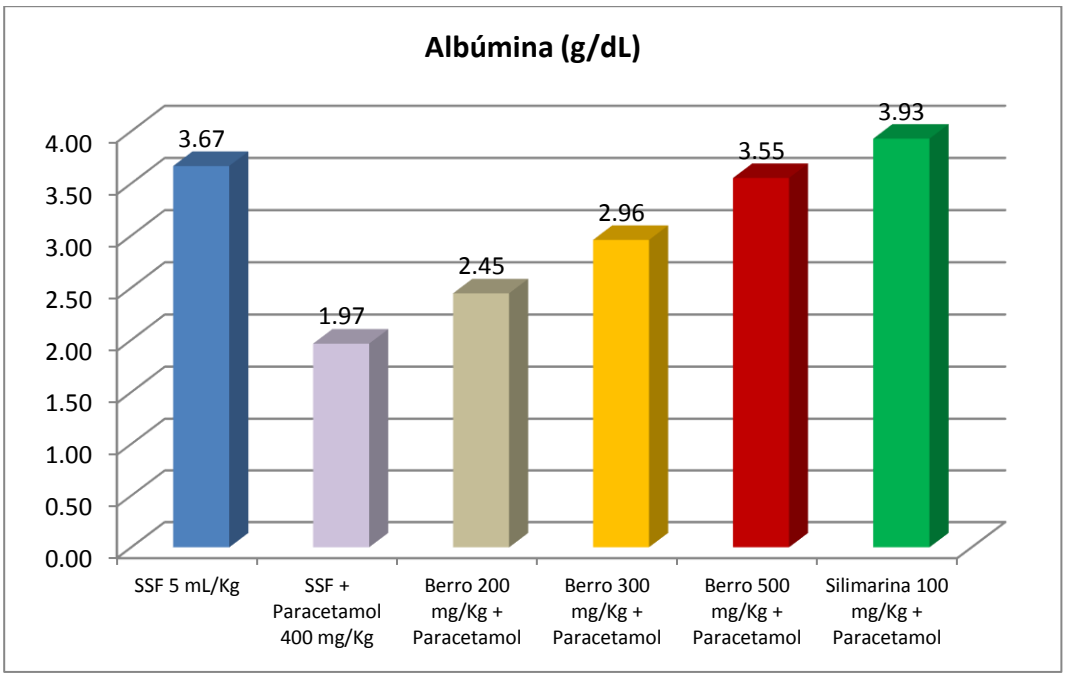

Figura 6. Valores promedio de albúmina según grupos de tratamiento

Fuente. Elaboración propia

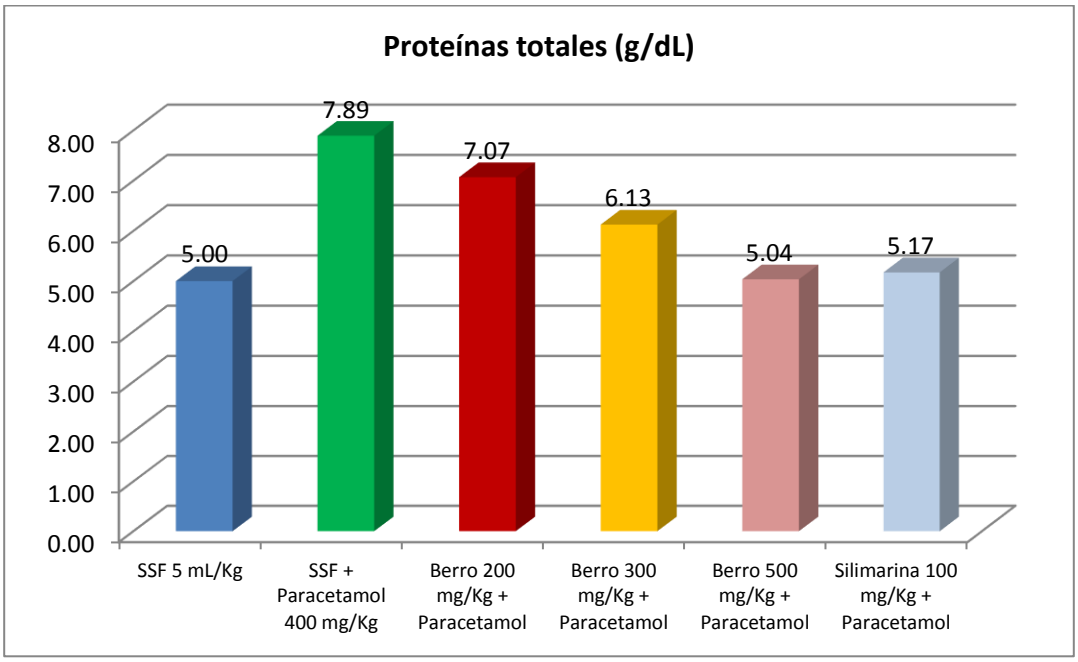

Figura 7. Valores promedio de proteínas totales según grupos de tratamiento

Fuente. Elaboración propia

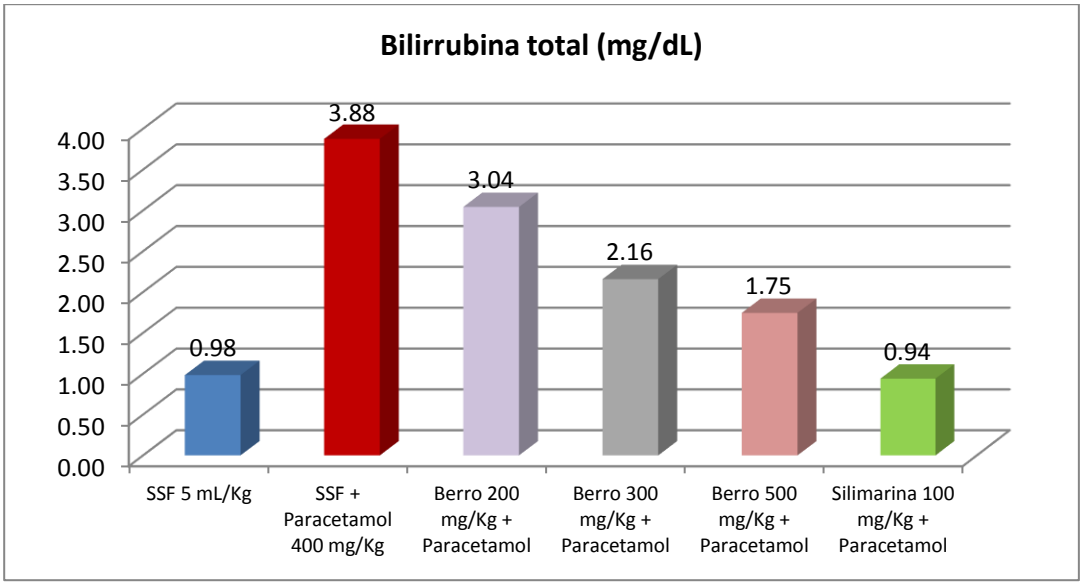

Figura 8. Valores promedio de proteínas totales según grupos de tratamiento

Fuente. Elaboración propia

En la figura 6 se aprecia aumento significativo de los niveles de albúmina en sangre de ratas conforme aumenta la dosis dl extracto del berro comparado con el grupo control paracetamol.

En la figura 7 y 8 se observa disminución de los valores promedios proteínas totales y bilirrubina total, la diferencias entre los grupos son significantes con respecto al grupo control ($p<0.05$).

En la tabla 11 observamos que según el análisis de varianza ANOVA la diferencia entre los grupos de tratamiento son significantes ($p<0.05$), el estadístico F representa la variación de los promedios inter e intra grupos lo cual relaciona a los grados de libertad y el nivel de significancia.

Tabla 11. Análisis ANOVA según grupos de tratamiento del efecto hepatoprotector del berro

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Albumina g/dL	Inter-grupos	17.671	5	3.534	80.078	.000
	Intra-grupos	1.324	30	.044		
	Total	18.995	35			
Proteínas totales g/dL	Inter-grupos	44.030	5	8.806	56.490	.000
	Intra-grupos	4.677	30	.156		
	Total	48.707	35			
TGO U/L	Inter-grupos	53254.471	5	10650.894	799.522	.000
	Intra-grupos	399.647	30	13.322		
	Total	53654.119	35			
TGP U/L	Inter-grupos	47525.438	5	9505.088	429.475	.000
	Intra-grupos	663.956	30	22.132		
	Total	48189.394	35			
Fosfatasa alcalina U/L	Inter-grupos	12703.921	5	2540.784	100.954	.000
	Intra-grupos	755.033	30	25.168		
	Total	13458.954	35			
Bilirrubina total mg/dL	Inter-grupos	40.535	5	8.107	141.567	.000
	Intra-grupos	1.718	30	.057		
	Total	42.253	35			

gl = grados de libertad Sig = Significancia F = Estadístico

Fuente. Elaboración propia

4.2. CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

4.2.1. Hipótesis general

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) tiene efecto hepatoprotector en las ratas albinas inducidos con paracetamol a hepatotoxicidad aguda

Hipótesis nula (H0): La valoración de promedios son similares, $p>0.05$.

Hipótesis alterna (H1): La valoración de promedio son diferentes, $p<0.05$.

Tabla 12. Análisis de Tukey de TGO según grupos de tratamiento del efecto hepatoprotector del berro

TGO U/L							
			Subconjunto para alfa = 0.05				
	Grupo	N	1	2	3	4	5
Tukey	SSF 5 mL/Kg	6	31.8083				
	Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	6		38.6217			
	Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	6		39.4483			
	Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	6			55.1983		
	Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	6				79.3817	
	SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	6					143.2517
	Sig.		1.000	.999	1.000	1.000	1.000

SSF = Solución salina fisiológica Sig. = Significancia

Fuente. Elaboración propia

Observamos en la tabla 12 que según el análisis de Tukey para la prueba de TGO los valores de los grupos de silimarina y berro 500 mg/kg tienen efectos similares ($p>0.05$), es decir no son significantes, así también los valores de berro 500, 300 y 200 mg/kg tienen promedios diferentes comparados con el grupo control SSF + Paracetamol 400 mg/Kg ($p<0.05$)

Tabla 13. Análisis de Tukey de TGP según grupos de tratamiento del efecto hepatoprotector del berro

TGP U/L						
	Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
			1	2	3	4
Tukey	SSF 5 mL/Kg	6	23.8767			
	Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	6	25.8617			
	Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	6	29.6533			
	Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	6		43.0583		
	Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	6			53.7083	
	SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	6				128.6367
	Sig.		.301	1.000	1.000	1.000

SSF = Solución salina fisiológica Sig. = Significancia

Fuente. Elaboración propia

Observamos en la tabla 13 que según el análisis de Tukey para la prueba de TGP los valores de los grupos de SSF 5 mL/kg, silimarina 100 mg/Kg y berro 500 mg/kg tienen efectos similares ($p>0.05$), es decir no son significantes, así también los valores de berro 500, 300 y 200 mg/Kg tienen promedios diferentes comparados con el grupo control SSF + Paracetamol 400 mg/kg ($p<0.05$)

Tabla 14. Análisis de Tukey de fosfatasa alcalina según grupos de tratamiento del efecto hepatoprotector del berro

Fosfatasa alcalina U/L							
	Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
			1	2	3	4	5
Tukey	Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	6	54.4900				
	SSF 5 mL/Kg	6	55.6367				
	Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	6	62.3700				
	Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	6		72.7383			
	Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	6		79.4217			
	SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	6			109.3533		
	Sig.		.101	.223	1.000		

SSF = Solución salina fisiológica Sig. = Significancia

Fuente. Elaboración propia

Observamos en la tabla 14 que según el análisis de Tukey para la prueba de fosfatasa alcalina los valores de los grupos de SSF 5 mL/kg, silimarina 100 mg/kg y berro 500 mg/kg tienen efectos similares ($p>0.05$), es decir no son significantes, así también los valores de berro 500, 300 y 200 mg/kg tienen promedios diferentes comparados con el grupo control SSF + Paracetamol 400 mg/kg ($p<0.05$)

Según el análisis de Tukey los promedios del extracto del berro son diferentes comparados con el grupo control SSF 5 ml/kg + Paracetamol 400 mg/kg ($p<0.05$); además presentan efecto similar, en especial la dosis del extracto 500 mg/kg con el grupo de silimarina 100 mg/kg.

Dado que el valor de p es menor a 0.05 se rechaza la hipótesis nula, es decir que no hay una igualdad en los promedios obtenidos, sino que, existe al menos un tratamiento con efecto hepatoprotector diferenciado.

4.3. Discusión

Las plantas medicinales sintetizan diversas variedades de componentes bioactivos o también llamados metabolitos secundarios, los cuales poseen la capacidad de presentar efectos tóxicos o farmacológicos en las personas y/o animales que los consumen, sirven de sustrato para elaboración de fitofármacos, su acción lo ejercen por diferentes vías bioquímicas que se asocian por ejemplo a inhibir actividad de ciertas enzimas [34]. En nuestro estudio se halló la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, saponinas, compuestos fenólicos, antraquinonas, esteroides y/o triterpenoides (tabla 5), resultados compatibles con lo reportado por Yaque G [24], Redrobán K [20], Saavedra G [1]. Por otro lado, los compuestos hallados presentan características polar, el cual es compatible con la prueba de solubilidad (tabla 4), se muestra la solubilidad en solventes polares como el agua y el etanol, esto se debe a que en los metabolitos secundarios como flavonoides o compuestos fenólicos presentas grupos hidroxilos o los alcaloides que presentan nitrógeno, estos grupos tienen la capacidad de formar puentes de hidrógeno con el solvente polar como el agua y el etanol, características similar tienen los esteroides y/o triterpenoides que en su estructura pueden contener grupos cetónicos, ácidos carboxílicos e hidroxilos el cual nuestros resultados es consistente en lo descrito por Lock O [32].

Para inducir toxicidad aguda al hígado de ratas se han empleado variadas sustancias como el tetracloruro de carbono vía oral 0,5 mL/100 g (Ortíz J [35]), isoniazida, rifampicina a dosis de 50 mg/kg (Paredes R [36]), paracetamol 400 mg/kg vía oral (Sotomayor G [37]). En nuestro estudio se usó el paracetamol como fármaco para inducir hepatotoxidad aguda. El paracetamol es un fármaco muy prescrito por personal médico para tratar problemas de dolor o

fiebre, se metaboliza en el hígado por conjugación entre 90 a 93% y el resto se metaboliza por el citocromo P450 (CYP3A, CYP2E1, CYP1A2), el cual produce NAQQI (N-acetil-para-benzoquinona-imina) es un metabolito tóxico, es eliminado por el glutatión, por tanto cuando disminuye los niveles de glutatiónocasiona intoxicación hepática por muerte celular o necrosis [38].

El paracetamol puede inducir hepatotoxicidad a dosis terapéuticas en pacientes con consumo abundante de etanol ya que podría disminuir los niveles de glatatión, otros fármacos inductores de CYP2E1 que podrían aumentar los efectos tóxicos del paracetamol tenemos a los barbitúricos como el fenobarbital, carbamazepina, fenitoína, rifampicina, ritonavir, el tabaco; ya que aumentan el metabolismo oxidativo [39]. El metabolismo oxidativo produce sustancias altamente oxidantes como son los radicales libres, como los derivados del oxígeno (peróxidos, oxidrilos, anión superóxidos), estos compuestos suelen dañar a los ácidos grasos poliinsaturados de la membrana celular y aumentar la peroxidación lipídica, y con ello dañar a los hepatocitos [40].

En el presente trabajo de investigación se observó que con la administración de paracetamol a ratas (grupo SSF + Paracetamol) aumentó los niveles de transaminasas, bilirrubina, fosfatasa alcalina y proteínas totales así como disminución de los niveles de albúmina son indicadores de daño hepático, este aumento fue significativo ($p<0.05$) con respecto al grupo que sólo recibió solución salina fisiológica (tabla 8 y tabla 9). En los grupos tratados con extracto hidroalcohólico de hojas de berro y silimarina los niveles de los indicadores de función hepática disminuyó según grupos de tratamiento. El mejor efecto del extracto de hojas de berro fue con la dosis de 500 mg/kg, luego fueron la dosis de 300 mg/kg y 200 mg/kg, es decir el efecto depende de la dosis. El efecto hepatoprotector se evidenció por disminución de los niveles de TGO, TGP, fosfatasa alcalina, proteínas totales, bilirrubina total y aumento de los niveles de albúmina, en el grupos de silimarina este efecto fue mejor comparado con el extracto del berro, aunque con la dosis de 500 mg/kg del extracto de hojas de berro el efecto fue similar ($p>0.05$) como se indica en las tablas 12, 13 y 14.

En extracto de hojas de berro se halló la presencia de flavonoides el cual tienen propiedades antioxidantes, se ha postulado que esta propiedad lo realizan por inhibición de ciertas enzimas oxidasas como xantina oxidasa, lipooxigensa, fosfolipasa A, ciclooxigenasa y la propiedad de quelar al hierro secuestrando a componentes de radicales libres como las derivadas del oxígeno y los hidroxiperóxidos orgánicos, también han mostrado acción sobre la superóxido dismutasa y la catalasa [41]. Así mismo se halló presencia de compuestos fenólicos que también se le atribuye propiedades antioxidantes, los compuestos fenólicos antioxidantes naturales presentes en las plantas se clasifican en familias como: ácidos fenólicos, alcoholes, cumarinas, ácidos cinámicos, flavonoides (isoflavonas y flavonas, flavononas, flavonoles) además de otros componentes fenólicos [42].

Como se indicó líneas arriba el paracetamol induce el metabolismo oxidativo, por tanto se cree que la propiedad antioxidante de los flavonoides y compuestos fenólicos hallados en el extracto del berro contribuya al efecto hepatoprotector evidenciado en el experimento, este efecto puede ser sinérgico con los componentes como los alcaloides, esteroides y/o triterpenoides. Se concluye que el extracto hidoralcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) tiene efecto hepatoprotector en ratas albinas inducidas con paracetamol a hepatotoxicidad aguda y que el efecto es a dosis dependiente.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

1. Lo metabolitos secundarios que presentó el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) según marcha fitoquímica y análisis de cromatografía fueron flavonoides, alcaloides, saponinas, compuestos fenólicos, antraquinonas, esteroides y/o triterpenoides

2. La dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) que presentó tener mayor efecto hepatoprotector en ratas albinas inducidas con paracetamol a toxicidad aguda fue 500 mg/kg de peso, seguido de la dosis de 300 mg/kg y 200 mg/kg, la dosis 500 mg/kg tuvo un efecto similar al grupo de silimarina 100 mg/kg

3. Las pruebas bioquímicas que evidenciaron el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) en ratas albinas inducidas con paracetamol a toxicidad aguda fue disminución de los valores promedios de TGO, TGP, fosfatasa alcalina, proteínas totales y bilirrubina total, así también hubo aumento de los valores promedios de albúmina en sangre de las ratas albinas

5.2 RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios histopatológicos de muestras de hígado de ratas para evidenciar efectos a nivel celular del extracto de las hojas de berro en el efecto hepatoprotector
2. Realizar estudios preclínicos sobre el efecto colerético y/o colagogo del extracto de hojas de berro
3. Realizar estudios de toxicidad sub aguda para mostrar probables efectos adversos a nivel bioquímico y hematológico del extracto de hojas de berro
4. Realizar estudios de elucidación de estructura química de los componentes activos de las hojas del berro

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Saavedra G, Blanco C, Pino M. Aspe C. Hortalizas saludables: el Berro. En línea. Fecha de acceso 28 abril 2019. URL disponible en: http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/ta/NR38086.pdf
2. Navarro A, Padilla A, Dávila R, Pérez M, Sosa R. Evaluación de la actividad antioxidante del berro (*Nasturtium officinale*). Rev Soc Quim Perú. 2008; 74(1): 40-45
3. Moreira V, Garrido E. Pruebas de función hepática: B, AST, ALT, FA y GGT. Revista española de Enfermedades Digestivas. 2015. En línea. Fecha de acceso 28 abril 2019. URL disponible en: http://scielo.isciii.es/pdf/diges/v107n10/infopaciente.pdf
4. Cortés L, Montoro M. Datos de laboratorio: pruebas hepáticas alteradas. En línea. Fecha de acceso 28 abril 2019. URL disponible en: https://www.aegastro.es/sites/default/files/archivos/ayudas-practicas/48_Datos_laboratorio_Pruebas_hepaticas_alteradas.pdf
5. Lorenzo G, et al. Metabolismo en el ayuno y la agresión. Su papel en el desarrollo de la desnutrición relacionada con la enfermedad. Nutrición Hospitalaria. 2013; 6(1).
6. Castro A, Bruguera M. Enfermedades Hepáticas, concejos prácticos. Publicaciones Permanyer, Barcelona. 2007
7. Francisco T. Hepatotoxicidad por Fármacos. Revista clinica de medicina de familia. 2010; 3(3).
8. Román R, Dávalos M, Bustios C, Zumaeta E. Características epidemiológicas y clínicas de la cirrosis hepática en la unidad de hígado del HNERM Es-Salud. Rev. Gatroenterol. Perú. 2007; 27(3): 238-245
9. Fernández A, et al. Intoxicación por Acetaminofén. Revista Med. 2010; 18(2).
10. Cabezas C. Hepatitis viral B y Delta en el Perú: epidemiología y bases para su control. Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública. 2007; 24(4): 378-97
11. Guevara T. Panorama de los recursos genéticos en Perú. UNAM. 2017 mayo; 2(1).
12. Mis Remedios. Remedios caseros para vivir mejor cada día. En línea. Fecha de acceso 03 octubre 2018. URL disponible en: https://misremedios.com/sustancias/berro-nasturtium-officinale/.

13. Carbonel V. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Gentianella nitida* en un modelo experimental inducido por paracetamol. Tesis magistral. Lima: Facultad de Medicina Humana. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017
14. Machaca R, Quispe A. Evaluación del efecto hepatoprotector del zumo de *Smallanthus sonchifolius* (Yacón), en ratas albinas Wistar con intoxicación hepática inducida por paracetamol. Facultad de Nutrición. Universidad Nacional del Altiplano, Puno. 2016
15. Cruzado G, et al. Efecto hepatoprotector del *Peumus boldus* en hepatotoxicidad inducida por paracetamol en Rattus rattus var albinus. Tesis. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Cesar Vallejo. 2016
16. Sánchez C, Sotomayor G. Efecto Hepatoprotector del Zumo de Fruta de la *Opuntia Ficus* Indica (Tuna), variedad morada, en ratas con Intoxicación hepática Inducida por paracetamol. Escuela de Nutrición, Universidad Mayor de San Marcos. 2015
17. Vargas N. Efecto hepatoprotector y antioxidante del extracto y los principios activos de *Geranium shiedeanum*. Instituto de Ciencias y Salud. Universidad Autonoma del Estado de Hidalgo. 2012
18. Navarro A. et al. Evaluación de la actividad antioxidante del berro (Nasturtium officinale). Revista de la sociedad química del Perú. 2008 enero; 74(1).
19. Quisi R. Estudio comparativo de la actividad hipoglucemiante del extracto de Ortiga (*Urtica dioica*), extracto berro (*Nasturtium officinale*), y extracto de nogal (*Juglans regia*), en ratas (*Rattus novergicus*), con hiperglucemia inducida". Escuela de Bioquímica y Farmacia. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2012
20. Redroban K. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*Plantago major*) en ratones (*Mus musculus*). Escuela de Bioquímica y Farmacia. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2012

21. Seifollah R. Efecto de los extractos hidroalcohólicos de hojas *de Nasturtium officinale* sobre el perfil de lípidos en ratas con dieta rica en grasas. Diario de Etnofarmacología. 2008; 115(1).
22. Yambay P. Elaboración y control de calidad de una crema a base de los extractos hidroalcohólicos de berro (*Nasturtium officinale*) y llantèn (*Plantago major*) y comprobación de su actividad cicatrizante en heridas inducidas en ratones. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2013
23. Márquez S. Evaluación agronómica de dos variedades de Berro (Nasturtium officinale R. Br. Y Lepidium sativum) en cultivo sin suelo en el centro experimental de cota – cota. Tesis. Universidad Mayor de San Andres:, Facultad de Agronomia; 2017
24. Yaque G. Componentes químicos presentes en el extracto etanólico del Cáliz de las flores. Malvaceae. 2004; 16(3).
25. Castillo D. Identificación química de compuestos fenólicos por cromatografía de HPLC con detector UV de extractos etanólicos de propóleos recolectados en la zona Córdoba-Orizaba.. DOCPLAYER. 2009.
26. Highleyman L, Francisco A. Introducción sobre el hígado. HCV ADVOCATE. 2012: 1-4
27. Moreno M, Fernández E, Moreno I, Fernández J. Aproximación al diagnóstico de enfermedades hepáticas por el laboratorio clínico. Medina y Laboratorio. 2008; 14(11): 533-546
28. Montoro M, Cortés L. Datos de Laboratorio: pruebas hepáticas alteradas. Unidad de Gastroenterología y Hepatología, Hospital de San Jorge, Huesca. 2017.
29. Salmerón J, Planas R. Enfermedades hepáticas. Consejos Prácticos. Asociación Española para el estudio del Hígado. Publicaciones Penmanyer. En Línea. Fecha de acceso 01 mayo 2019. URL disponible en. http://www.owlmetabolomics.com/enfermedades-hepaticas.aspx
30. Amigo C. Paracetamol: restricciones de uso a nivel mundial situación en Uruguay. Departamento de Farmacología y Terapéutica. 2015; 6(3)

31. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación; 1995.
32. Lock O. Investigación Fitoquímica. Tercera Edición. Lima: Editorial Fondo Pontificia Universidad Católica del Perú. 2016
33. Guevara A. Marín C, Mantilla E, Ybañez R. Efecto del infuso de *Petroselinum sativum* sobre la insuficiencia hepática inducida en Rattus norvegicus var. albinus. Revista Farmaciencia. 2014; 2(1): 39-47
34. Vélez M, Campos R, Sánchez H. Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la mutagénesis ruminal. Tropical and Subtropical Agroescosystems. 2014: 489-499
35. Ortiz J, Pablo S, Favari L, Arce C, Soto C, Meléndez M. Efectos hepatoprotector y antioxidante de Toraxacum officinalle en el daño hepático agudo inducido por el tetracloruro de carbono en la rata. Rev Mex Cien Farm. 2013; 44(4): 53-61
36. Paredes R, Goñi A, Mezones L, Lara R, et al. Efecto hepatoprotector del Asparagus officinalis (espárrago verde) en daño inducido por fármacos antituberculosos. Revista de Medicina Integrativa. 2016; 1(3): 19-26
37. Sotomayor G, Sánchez C. Efecto hepatoprotector del zumo de fruta de la Opuntia ficus indica (tuna), variedad morada en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol. Escuela académico profesional de Nutrición. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2015
38. Estado de Veracruz. Guía de diagnóstico y tratamiento de intoxicación por paracetamol. En línea. Fecha de acceso 05 mayo 2019. URL disponible en: https://www.ssaver.gob.mx/citver/files/2014/03/Intoxicaci%C3%B3n-por-Paracetamol.pdf
39. Farré M, Abanades S, Álvarez Y, Barral D, Roset P. Paracetamol. En línea. Fecha de acceso 05 mayo 2019. URL disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Magi_Farre/publication/287337779_Paracetamol/links/5679d32e08aeaa48fa4ad9dc.pdf?origin=publication_detail

40. Moncol J, Cronin M, Valko M, Leibfritz D, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Biol. 2007; 39: 44-84
41. Guevara J, Escamilla C, Cuevas E. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Rev Fac Med UNAM. 2009; 52(2):73-75
42. Maestro R, Borja R. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. En línea. Fecha de acceso 5 mayo 2019. URL disponible en: http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012057928

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
GENERAL 1 ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale W.T. Aiton* (berro) tendrá efecto hepatoprotector en ratas albinas inducidas con paracetamol a hepatotoxidad aguda? **ESPECÍFICOS** 1. ¿Qué metabolitos secundarios estarán presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale* W.T. Aiton (berro)? 2. ¿Cuál será la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale* W.T. Aiton (berro) que presentará mayor efecto hepatoprotector en ratas albinas inducidas con paracetamol a hepatotoxicidad aguda? 3. ¿Qué pruebas bioquímicas evidenciarán el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de	GENERAL 1. Determinar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de Nasturtium officinale W.T. Aiton (berro) en ratas albinas inducidas con paracetamol a hepatotoxicidad aguda **ESPECÍFICOS** 1. Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de Nasturtium officinale W.T. Aiton (berro) 2. Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de Nasturtium officinale W.T. Aiton (berro) que presentará mayor efecto hepatoprotector en ratas albinas inducidas	**GENERAL** 1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de Nasturtium officinale W.T. Aiton (berro) tiene efecto hepatoprotector en ratas albinas inducidas con paracetamol a hepatotoxicidad aguda **ESPECÍFICAS** 1. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale* W.T. Aiton (berro) son flavonoides, alcaloides y compuestos fenólicos 2. La dosis del extracto hidroalcóholico de las hojas de Nasturtium officinale W.T. Aiton (berro) que presenta mayor efecto hepatoprotector en ratas albinas inducidos con paracetamol a hepatotoxicidad aguda es 500 mg/Kg de peso	**VI** Extracto hidroalcohólico de las hojas de Nasturtium officinale W.T. Aiton (berro) **VD** Efecto hepatoprotector	Fitoquímica Prueba de función hepática	Prueba de solubilidad Marcha fitoquimica flavonoides, esteroides y/o triterpenoides, alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, azúcares reductores, aminoácidos TGO TGP Fosfatasa alcalina Bilirrubina Proteínas totales Albúmina	G1: Solución salina fisiológica vía oral 5 mg/Kg G2: Solución salina fisiológica vía oral 5 mg/Kg + Paracetamol G3: Berro 200 mg/Kg vía oral + Paracetamol G4: Berro 300 mg/Kg vía oral + Paracetamol G5: Berro 500 mg/Kg vía oral + Paracetamol G6: Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol

las hojas de *Nasturtium officinale* W.T. Aiton (berro) en ratas albinas inducidos con paracetamol a hepatotoxicidad aguda?	con paracetamol a toxicidad aguda albinos 3. Determinar las pruebas bioquímicas que evidencian el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale* W.T. Aiton (berro) en ratas albinas inducidas con paracetamol a hepatotoxicidad aguda	3. Las pruebas bioquímicas que evidencian el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Nasturtium officinale* W.T. Aiton (berro) en ratas albinas inducidos con paracetamol a hepatotoxicidad aguda son disminución de los valores de TGO, TGP, fosfatas alcalina, bilirrubina total y proteínas totales				
	Enfoque: Cuantitativo **Diseño:** Experimental **Tipo:** Aplicado	**Población:** ratas cepa Holtzman con peso entre 200 ± 10 g **Muestras:** 36 ratas dividida en 6 grupos, al final se obtuvo 36 muestras de sangre para valores los indicadores de función hepática	**Técnica:** Observación **Instrumento:** Ficha de observación	**Diseño de Investigación:** Experimental, prospectivo, transversal		

Anexo 2: Testimonios fotográficos

Foto 1. Extracto seco delas hojas del berro

Foto 2. Preparación de placas cromatográficas

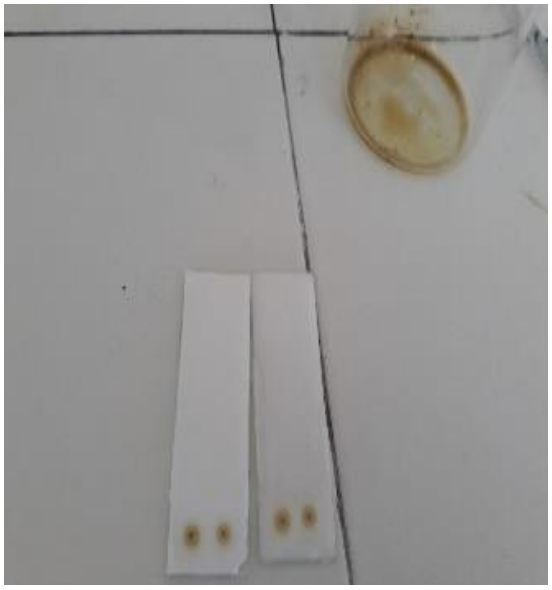

Foto 3. Sembrado de muestras en placas

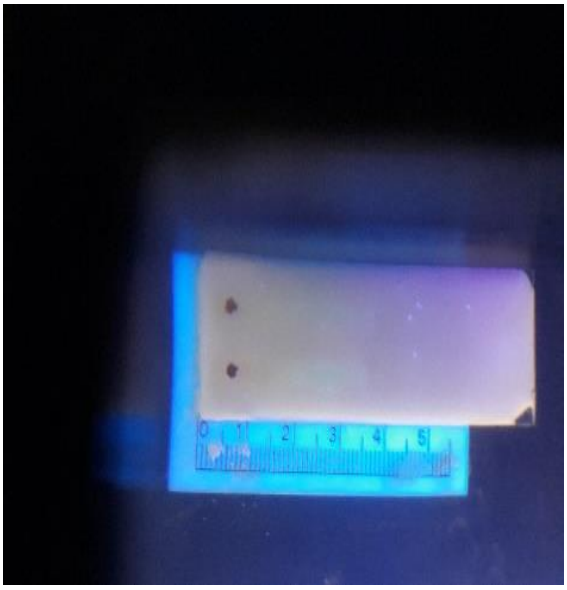

Foto 4. Revelado de placas para flavonoides

Foto 5. Extracto de las hojas del berro

Foto 6. Ensayo de marcha fitoquímica

Foto 7. Proceso de pesado de ratas albinas

Foto 8. Kit de función hepática

Foto 9, 10, 11, 12. Viaje a Junín – Tarma de donde se trajeron las hojas de berro.

Anexo 3: Certificado de clasificación taxonómica

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta conocida como "BERROS" proporcionada por las Srtas. KELLY ESTEFANIA MANRIQUE IZAGUIRRE y KARINA GLORIA SAEZ HERRERA ha sido estudiada científicamente y determinada como ***Nasturtium officinale*** y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Dillenidae
Orden:	Capparales
Familia:	Brassicaceae
Genero:	***Nasturtium***
Especie:	***Nasturtium officinale*** W.T.Aiton

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

Lima, 21 noviembre 2017

Blgo. Hamilton Beltrán

Hamilton Wilmer Beltran Santiago
Biologo - Botánico
CBP. 2719

Anexo 4: Certificado sanitario de animales de experimentación

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLOGICOS
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO Nº 132-2018

Producto	: Rata Albina	Lote Nº	: R – 05- 2018
Especie	: *Rattus norvegicus*	Cantidad	: **36**
Cepa	: Holtzman	Edad	: 2 mes ½ a
Peso	: 200 g.	Sexo	: hembra
G.R..	: 035770	Destino	: **UIGV**
Lima	: 03-05-2018		

El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo **Rosales Fernández**. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias •.

•Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 03 de mayo del 2018
(Fecha de atención y emisión del certificado)

M.V. Arturo Rosales Fernández
C.M.V.P. 1586

NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.

Anexo 5. Ficha de observación de observacion de marcha fitoquimica

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

Nº:

FICHA DE OBSERVACIÓN DE MARCHA FITOQUÍMICA

EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Nasturtium officinale w.t. Aiton* (BERRO) EN RATAS ALBINAS INDUCIDAS CON PARACETAMOL A HEPATOTOXICIDAD AGUDA

METABOLITO	REACTIVOS	REACCIÓN POSITIVA	RESULTADOS
CARBOHIDRATOS	Molish	Anillo violeta	
	Antrona	Coloración verde	
	Fehling	Coloración rojo ladrillo	
COMPUESTOS FENÓLICOS	$FeCl_3$	Coloración verde o azul	
TANINOS	Gelatina	Precipitado denso blanco	
FLAVONOIDES	Shinoda	Color anaranjado	
ANTOCIANINAS Y FLAVONOIDES CATÉQUICOS	Rosenheim	Color rojo oscuro	
AMINOÁCIDOS LIBRES Y GRUPOS AMINO	Ninhidrina(0.1% en etanol)	Coloración violácea	
ALCALOIDES	Dragendorff	Precipitadonaranja	
	Mayer	Precipitado blanco	
	Bertrand	Precipitado blanco	
	Sonnenschein	Precipitado amarillo-verdoso	
NAFTAQUINONAS, ANTRAQUINONAS Y ANTRANONAS	Borntrager	Coloraciónroja	
TRITERPENOIDES Y ESTEROIDES	Lieberman-Burchard	Esteroides: verde-azul Triterpenoides: rojo-naranja	
SAPONINAS	Generación de espuma	Formación de 0.5 a 1 cm de espuma estable por 15 min.	
GLICÓSIDOS	Baljet	Coloración anaranjada	
CUMARINAS	NH_4OH cc ó NaOH 10%	Fluorescencia celeste	

Anexo 6. Formatos de Validación de instrumentos

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

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO
CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Nasturtium officinale w.t. Aiton* (BERRO) EN RATAS ALBINAS INDUCIDAS CON PARACETAMOL A HEPATOTOXICIDAD AGUDA

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

Menos de
50-60-70-80-90-100

1. ¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograran los objetivos propuestos?
   ……( ) ( ) ( ) ( ) ( ) ( )
2. ¿En qué porcentaje estima que los ítems están referidas a los conceptos del tema?
   ……( ) ( ) ( ) ( ) ( ) ( )
3. ¿Qué porcentaje de un ítem planteado cree que son suficientes para lograr los objetivos?
   ……( ) ( ) ( ) ( ) ( ) ( )
4. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?
   ……( ) ( ) ( ) ( ) ( ) ( )
5. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?
   ……( ) ( ) ( ) ( ) ( ) ( )
6. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras?
   ……( ) ( ) ( ) ( ) ( ) ( )

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?
   ---
2. ¿Qué ítems estima que deberían eliminarse?
   ---
3. ¿Qué ítems considera que deberían reformularse o precisarse mejor?

Fecha 8 noviembre 2018 validado por:……..

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

Hoja de validación del instrumento
Cuestionario AD-HOC de recolección de datos

EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Nasturtium officinale w.t. Aiton* (BERRO) EN RATAS ALBINAS INDUCIDAS CON PARACETAMOL A HEPATOTOXICIDAD AGUDA

Después de revisado el instrumento, es valiosa es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

Menos de
50-60-70-80-90-100

1 ¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograran los objetivos propuestos?
…….( ) ( ) ( ) ( ) ( ) ( )

2 ¿En qué porcentaje estima que los ítems están referidas a los conceptos del tema?
…….( ) ( ) ( ) ( ) ( ) ( )

3 ¿Qué porcentaje de un ítem planteado cree que son suficientes para lograr los objetivos?
…….( ) ( ) ( ) ( ) ( ) ( )

4 ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?
…….( ) ( ) ( ) ( ) ( ) ( )

5 ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?
…….( ) ( ) ( ) ( ) ( ) ( )

6 ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras?
…….( ) ( ) ( ) ( ) ( ) ( )

Sugerencias

1. **¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?**

   ---

2. **¿Qué ítems estima que deberían eliminarse?**

   ---

3. **¿Qué ítems considera que deberían reformularse o precisarse mejor?**

   ……

Fecha: 07 de noviembre del 2018 validado por:…….

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

INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACIÓN – EFECTO HEPATOPROTECTOR

EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Nasturtium officinale w.t. Aiton* (BERRO) EN RATAS ALBINAS INDUCIDAS CON PARACETAMOL A HEPATOTOXICIDAD AGUDA

Perfil Hepático	**TGP (U/L)**	**TGO (U/L)**	**Fosfatasa Alcalina (U/L)**
Tratamiento	**Promedio ± DE**	**Promedio ± DE**	**Promedio ± DE**
SSF SSF + Paracetamol 400 mg/Kg Berro 200 mg/kg + Paracetamol Berro 300 mg/kg + Paracetamol Berro 500 mg/kg + Paracetamol Silimarina + Paracetamol			

Perfil Hepático	**Albúmina (g/dL)**	**Proteínas totales (g/dL)**	**Bilirrubina total (mg/dL)**
Tratamiento	**Promedio ± DE**	**Promedio ± DE**	**Promedio ± DE**
SSF SSF + Paracetamol Berro 200 mg/Kg + Paracetamol Berro 300 mg/Kg + Paracetamol Berro 500 mg/Kg + Paracetamol Silimarina + Paracetamol			

Firma: .....

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

Hoja de validación del instrumento
Cuestionario AD-HOC de recolección de datos

EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE *Nasturtium officinale w.t. Aiton* (BERRO) EN RATAS ALBINAS INDUCIDAS CON PARACETAMOL A HEPATOTOXICIDAD AGUDA

Después de revisado el instrumento, es valiosa es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

Menos de
50-60-70-80-90-100

1. ¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograran los objetivos propuestos?
   ……..( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (x)
2. ¿En qué porcentaje estima que los ítems están referidas a los conceptos del tema?
   ……..( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (x)
3. ¿Qué porcentaje de un ítem planteado cree que son suficientes para lograr los objetivos?
   ……..( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (x)
4. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?
   ……..( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (x)
5. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?
   ……..( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (x)
6. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras?
   ……..( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (x)

Sugerencias

1. **¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?**

   ……

2. **¿Qué ítems estima que deberían eliminarse?**

   ……

3. **¿Qué ítems considera que deberían reformularse o precisarse mejor?**

   ……

Fecha: 07 de noviembre del 2018 Validado por: ……..

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

Hoja de validación del instrumento
Cuestionario AD-HOC de recolección de datos

EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Nasturtium officinale w.t. Aiton* (BERRO) EN RATAS ALBINAS INDUCIDAS CON PARACETAMOL A HEPATOTOXICIDAD AGUDA

Después de revisado el instrumento, es valiosa es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

Menos de
50-60-70-80-90-100

1. ¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograran los objetivos propuestos?
…….( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (x)

2. ¿En qué porcentaje estima que los ítems están referidas a los conceptos del tema?
…….( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (x)

3. ¿Qué porcentaje de un ítem planteado cree que son suficientes para lograr los objetivos?
…….( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (x)

4. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?
…….( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (x)

5. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?
…….( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (x)

6. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras?
…….( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (x) ( )

Sugerencias

1. **¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?**

   ……..

2. **¿Qué ítems estima que deberían eliminarse?**

   ……..

3. **¿Qué ítems considera que deberían reformularse o precisarse mejor?**

   ……..

Fecha: 07 noviembre 2018 Validado por: …….

Anexo 7. Análisis de comparaciones múltiples Pos Hot de Tukey

Comparaciones múltiples				
Variable dependiente		(I) Grupo	(J) Grupo	Sig.
Albumina g/dL	HSD de Tukey	SSF 5 mL/Kg	SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.930
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.287
		SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.005
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.005
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.003
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.003
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.930
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.043
		Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.287
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.043
Proteínas totales g/dL	HSD de Tukey	SSF 5 mL/Kg	SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	1.000

			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.972
		SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.012
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.012
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.003
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.003
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.001
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.003
		Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	1.000
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.001
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.990
		Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.972
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.003
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.990
TGO U/L	HSD de Tukey	SSF 5 mL/Kg	SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.012
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.032
		SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			SSF 5 mL/Kg	0.000

		Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.012
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.999
		Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.032
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.999
TGP U/L	HSD de Tukey	SSF 5 mL/Kg	SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.301
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.976
		SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.006
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.006
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.301
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.729
		Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.976
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000

			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.729
Fosfatasa alcalina U/L	HSD de Tukey	SSF 5 mL/Kg	SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.216
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.999
		SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.223
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.223
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.014
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.216
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.014
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.101
		Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.999
			SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.101
Bilirrubina total mg/dL	HSD de Tukey	SSF 5 mL/Kg	SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	1.000
		SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
			Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
			Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000

	Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
		SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
	Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
		SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.056
		Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
	Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	0.000
		SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.056
		Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
	Silimarina 100 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	SSF 5 mL/Kg	1.000
		SSF + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 200 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 300 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000
		Berro 500 mg/Kg + Paracetamol 400 mg/Kg	0.000