



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO
ACUOSO DE LAS HOJAS DE *Peumus boldus* (BOLDO)
EN HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA CON
PARACETAMOL EN *Rattus norvegicus* var. *albinus*
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL
GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER EN
FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

AUTOR

FRANCO ARGOMEDO, JOSÉ LUIS

ORCID: 0000-0002-8697-2235

ASESOR

LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

ORCID: 0000-0003-4125-3381

TRUJILLO – PERÚ

2020

AUTOR

Franco Argomedo, José Luis

ORCID: 0000-0002-8697-2235

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Estudiante de pregrado Trujillo,
Perú.

ASESOR

Leal Vera, César Alfredo

ORCID: 0000-0003-4125-3381

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Facultad de ciencias de la Salud.
Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú.

JURADO

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID: 0000-0002-6374-8732

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

PRESIDENTE

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

MIEMBRO

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

MIEMBRO

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

DOCENTE TUTOR INVESTIGADOR

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, de tipo experimental, enfoque cuantitativo y corte transversal, se realizó con el objetivo de determinar el efecto del extracto acuoso de las hojas de *Peumus boldus* (boldo) en toxicidad hepática inducida con paracetamol en *Rattus norvegicus* var. *albinus*. Para ello se utilizaron 15 ratas macho, los cuales fueron distribuidos aleatoriamente en 3 grupos. El grupo control negativo solo recibió alimento y agua *ad libitum*, al grupo control positivo y experimental se le realizó la inducción a hepatotoxicidad con paracetamol, al grupo experimental además se le administró el extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo). El extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) se administró por sonda orogástrica, 160 mg/kg al grupo experimental, 2 veces al día durante 10 días. Culminado el tratamiento se observó una reducción en los valores de GOT y GPT. Los resultados fueron sometidos a la prueba estadística de ANOVA, obteniendo un valor de $p < 0.05$ indicando una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de trabajo. Se concluye que el extracto acuoso de las hojas de *Peumus boldus* (boldo) reduce la concentración de GOT y GPT en *Rattus norvegicus* var. *albinus* con diabetes inducida.

Palabras clave: Esteatosis hepática, extracto acuoso, hepatoprotector, paracetamol, *Peumus boldus*.

ABSTRACT

The present research work, of an experimental type, quantitative approach and cross section, was carried out with the objective of determining the effect of the aqueous extract of the leaves of *Peumus boldus* (boldo) on paracetamol-induced hepatic toxicity in *Rattus norvegicus* var. *albinus*. For this, 15 male rats were used, which were randomly distributed in 3 groups. The negative control group only received food and water ad libitum, the positive and experimental control group underwent induction of hepatotoxicity with paracetamol, the experimental group was also administered the aqueous extract of *Peumus boldus* (boldo). The aqueous extract of *Peumus boldus* (boldo) was administered by oro-gastric tube, 160 mg / kg to the experimental group, twice a day for 10 days. At the end of the treatment, a reduction in the GOT and GPT values was observed. The results were subjected to the statistical test of ANOVA, obtaining a value of $p < 0.05$, indicating a statistically significant difference between the working groups. It is concluded that the aqueous extract of the leaves of *Peumus boldus* (boldo) reduces the concentration of GOT and GPT in *Rattus norvegicus* var. *albinus* with induced diabetes.

Key words: Aqueous extract, hepatic steatosis, hepatoprotective, paracetamol, *Peumus boldus*.

INDICE DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	5
2.1. Antecedentes.....	5
2.2. Bases teóricas.....	8
III. HIPÓTESIS	12
IV. METODOLOGÍA.	13
4.1. Diseño de la investigación.	13
4.2. Población y muestra.....	13
4.3. Definición y operacionalización de variables.	14
4.4. Técnicas e instrumentos.....	15
4.5. Plan de análisis.....	18
4.6. Matriz de consistencia.	19
4.7. Principios éticos.....	20
V. RESULTADOS	21
5.1. Resultados.....	21
5.2. Análisis de resultados.	23
VI. CONCLUSIONES.....	25
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
ANEXOS.....	32

I.INTRODUCCIÓN

La medicina es una necesidad esencial de todo ser humano y las plantas son su fuente principal, es por ello que desde tiempos primitivos el hombre ha recurrido a la naturaleza para tratar diversas afecciones y mejorar su salud; por medio del ensayo error aprendió a conocer el efecto beneficioso como tóxico de las plantas y transmitieron estos conocimientos a través de las generaciones, de la misma forma amplió su aprendizaje con la experiencia ⁽¹⁾.

Las plantas medicinales son una de las fuentes más importantes de sustancias activas con potencial terapéutico, siendo utilizados por el 80% de la población a nivel mundial. Nuestro país no es ajeno al conocimiento de las propiedades curativas de las plantas, en la región andina existen más de 4 400 especies con poder terapéutico ya conocidos por pobladores locales. La importancia del producto natural en la medicina se basa en sus efectos quimioterapéuticos y las posibilidades de desarrollar nuevas estructuras de medicamentos. Sin embargo, en estos últimos años su disponibilidad se está viendo afectada por la degradación constante de su hábitad ^(2,3).

Se cree que dos tercios de las especies de plantas del mundo tienen importancia medicinal, y casi todas poseen un excelente potencial antioxidante. El interés en los antioxidantes vegetales exógenos fue primero evocado por el descubrimiento y posterior aislamiento del ácido ascórbico de las plantas. Desde entonces, el potencial antioxidante ha recibido una gran atención, esto debido a que el aumento del estrés oxidativo se ha identificado como factor causante importante en el desarrollo y

progresión de muchas enfermedades, incluidas las enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y hepáticas, que amenazan la vida de quienes la padecen ⁽⁴⁾.

Las enfermedades hepáticas son una gran preocupación en todo el mundo. Dado que el hígado es un órgano primario involucrado en la biotransformación de alimentos y drogas, por tanto, está continuamente expuesto a diferentes tipos de enfermedades como la hepatitis, la cirrosis, el hígado graso, el cáncer y la lesión por varios compuestos químicos. Además de ello, es importante mencionar los daños que producen algunas enfermedades metabólicas como la diabetes mellitus, la cual es considerada como un problema de salud cada vez mayor en nuestra sociedad. Además de las bien conocidas complicaciones cardiovasculares, renales y oftalmológicas de la diabetes, las complicaciones relacionadas con el hígado ocurren comúnmente y con frecuencia no se reconocen ⁽⁵⁾.

Las afecciones hepáticas, son un problema cada vez más recurrente en nuestra sociedad, el sobrepeso y la resistencia a la insulina son factores predeterminantes en esteatosis hepática. La fisiopatología del hígado graso no está bien dilucidada; por las muchas causas que promueven el cúmulo de grasas en las células hepáticas, varios mecanismos pueden coadyuvar esta enfermedad como el aumento de radicales libres por incremento de la β - oxidación de ácidos grasos ⁽¹⁾.

Peumus boldus (boldo), árbol dioico de la familia Monimiaceae, cuyas hojas tiene uso en la medicina tradicional, crece en Chile, Perú y Ecuador, su infusión es usado como digestivo casero y coadyuvante en enfermedades crónicas del hígado. Se le confieren características de activación de la producción de bilis y de ayudar a secretar la bilis contenida en la vesícula biliar. Dichas características las tienen los principios activos

de la especie vegetal, aceites esenciales monoterpénicos y alcaloides isoquinolénicos como la boldina, a la cual se le atribuye el efecto hepatoprotector. El extracto acuoso del boldo también contiene antioxidantes como los flavonoides solubles en agua ⁽⁶⁾.

- El motivo para la realización del trabajo de investigación de lo antes descrito fue comprobar la propiedad terapéutica del extracto acuoso de las hojas de *Peumus boldus* (boldo) como hepatoprotector, con el fin de aportar alternativas fitoquímicas a los tratamientos convencionales de enfermedades hepáticas. Es por ello, que se planteó el siguiente problema de investigación ¿Tendrá efecto protector el extracto acuoso de las hojas de *Peumus boldus* (boldo) en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en *Rattus norvegicus* var Albinus?

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto acuoso de las hojas de *Peumus boldus* (boldo) en *Rattus rattus var. novergicus* con hepatotoxicidad inducida.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la concentración de GOT y GPT en los diferentes grupos de trabajo después del tratamiento con el extracto acuoso de las hojas de *Peumus boldus* (boldo) en *Rattus rattus var. novergicus* con hepatotoxicidad inducida.
- Comparar el efecto del extracto acuoso de las hojas de *Peumus boldus* (boldo) a dosis de 160mg/Kg con los demás grupos sobre la concentración GOT y GPT en *Rattus norvegicus var. albinus* con hepatotoxicidad inducida.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 Antecedentes

Veloz D, Ecuador, 2013, Determinación de la actividad hepatoprotectora de *Peumus boldus* en *Rattus norvegicus* con intoxicación hepática inducida por paracetamol, objetivo determinar el efecto hepatoprotector de *Peumus boldus* en hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus norvegicus*. Según los resultados obtenidos se concluyó que el extracto acuoso de *Peumus boldus* tiene efecto hepatoprotector, según las pruebas bioquímicas de transaminasas ⁽⁷⁾.

Panocca R, Qqenta Y, 2014, Perú en su estudio Efecto protector y regenerativo del extracto puro de apio (*Apium graveolens*) en *Rattus norvegicus* con daño hepático inducido por tetracloruro de carbono. Tuvo como objetivo comparar los niveles de transaminasas (TGO y TGP) antes y después de haber suministrado el extracto puro de *Apium graveolens* e inducido daño hepático con tetracloruro de carbono, evaluar el daño histopatológico en los grupos experimentales. Tuvo como objetivo determinar transaminasas en sangre después de los tratamientos. Los resultados arrojaron que a la dosis de 2 ml. El apio tiene efecto protector en hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono ⁽⁹⁾.

Machaca R, Jimenez J, 2015, Perú, en su estudio Efecto protector del extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) frente a la inducción de cirrosis Hepática con paracetamol y fenobarbitalo en ratas, comparada con silimarina. Objetivo: Determinar el efecto protector del extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) a través de la lectura de los niveles de perfil hepático y estudio anatomopatológico de los hígados de los animales

de experimentación. Se concluyó que el extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo), tiene efecto hepatoprotector frente a injuria provocada por el fenobarbital y paracetamol según parámetros bioquímicos y anatomopatológicos ⁽⁸⁾.

Según Arellano M. et al, 2017, Perú, en su estudio Efecto regenerador del consumo del extracto acuoso de *Camellia sinensis* (TÉ VERDE) en ratas con daño hepático inducido por paracetamol, tuvo como objetivo estimar las concentraciones del extracto acuoso de té verde para los diferentes pesos de las unidades experimentales y determinar el efecto del té verde sobre el daño hepático a través del análisis histopatológico del hígado de todos grupos experimentales. Muestra: 22 ratas divididas en cinco grupos. Se concluyó que el extracto acuoso de té verde ayuda a disminuir los efectos hepatotóxicos del paracetamol ⁽¹⁰⁾.

Según Olivera L. 2018, Perú, en su estudio Efecto del extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas holtzman macho. Objetivo: Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* en la reducción de las alteraciones de los parámetros bioquímicos producidas en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho. Según los resultados se evidencia que la dosis de mayor efectividad es la de 500mg. Conclusión: El extracto hidroalcohólico de las flores de overo (*Cordia lutea*) redujo los niveles de transaminasas, enzimas y proteínas alteradas del hígado de las ratas ⁽¹¹⁾.

Llapo M, Boy F. 2018, Perú, En su estudio Efecto de los extractos acuosos de inflorescencias de *Tessaria integrifolia* sobre hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus norvegicus* var. *Albinus*. Tuvo como objetivo evaluar el efecto

del infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia* Ruiz et Pavon sobre hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus norvegicus* Var. *albinus* , Método: La muestra estuvo conformada por 4 grupos de 6 especímenes cada grupo. Resultado: La administración de extractos acuosos de *tessaria integrifolia* Ruiz et Pavon reducen significativamente las concentraciones de las enzimas GOT/GTP y FAL que son marcadores de daño hepático. Conclusiones: El infuso de inflorescencias y el decocto de *Tessaria integrifolia* Ruiz et Pavon presenta efecto hepatoprotector frente a la intoxicación aguda por paracetamol en *Rattus norvegicus* var *albinus*, El infuso de las inflorescencias de *Tessaria integrifolia* Ruiz et Pavon tiene un efecto hepatoprotector mayor que el decocto de tallos de *Tessaria integrifolia* Ruiz et Pavón ⁽¹²⁾.

Sifuentes F. 2018. Perú. En su estudio para evidenciar el Efecto hepatoprotector de *Curcubita* máxima en *Rattus norvegicus* tratados con isoniácida, Trabajó con tres grupos de 10 ratas cada uno, al primer grupo se le administró isoniácida 50mg/kg/día via intraperitoneal; al segundo grupo silimarina 100 mg/kg/día e isoniácida 50 mg/kg/día; al tercer grupo silimarina 800mg/kg/día e isoniácida 50mg/kg/día, evidenciando una disminución significativa de transaminasas en los grupos problema, llegando a la conclusión que existe efecto hepatoprotector de *Curcubita* máxima frente a injuria con isoniácida ⁽¹³⁾.

De la cruz G, Jaico M, Trujillo 2018, Efecto del decocto de *Baccharis genistelloides* (carqueja) sobre hepatotoxicidad en *Rattus norvegicus* var. *albinus*, objetivo: Determinar el efecto de los extractos acuosos de inflorescencias y tallos de *Tessaria integrifolia* Ruiz et pavon sobre hepatotoxicidad inducida con paracetamol, Resultado:

Disminuyo significativamente los niveles de transaminasas GPT en los grupos problema evidenciándose el efecto hepatoprotector ⁽¹⁴⁾.

Huamán I, Trujillo, 2018, Efecto hepatoprotector de los bulbos de *Allium sativum* (ajo), en *Rattus rattus* var. *albinus*, Objetivos: Evaluar la función hepática a través de las concentraciones de fosfatasa alcalina en *Rattus rattus* var *albinus*, inducir toxicidad hepática con CCl₄, evaluar el efecto del extracto de *Allium sativum* sobre la función hepática en *Rattus rattus* var *albinus* previo a la administración de CCl₄, obteniendo como resultado que el extracto de *Allium sativum* presentó la actividad hepatoprotectora ⁽¹⁵⁾.

2.2. Bases teóricas

ESTEATOSIS HEPÁTICA

La esteatosis hepática tiene marcada relación con el sobrepeso y la resistencia a la insulina, pudiendo ocurrir también en personas delgadas ⁽⁷⁾.

La esteatosis hepática abarca un espectro de patologías con distinto pronóstico clínico. La acumulación de triglicéridos en las células hepáticas, es lo menos complicado, por otro lado, está la cirrosis y el cáncer hepático primario ⁽¹⁶⁾.

El triglicérido no es hepatotóxico por sí mismo, pero sus precursores (ácidos grasos, diacilgliceroles) y subproductos metabólicos (radicales libres) pueden dañar los hepatocitos ⁽¹⁷⁾.

La lipotoxicidad también inicia otros factores como citocinas inflamatorias, que alteran la función de los hepatocitos en condiciones normales. El resultado es la muerte

de los hepatocitos, al morir liberan factores que activan la respuesta de cicatrización para reponer los hepatocitos perdidos. Esta reparación implica la expansión de otros tipos celulares como miofibroblastos y células progenitoras que generan hepatocitos sustitutos, que, a su vez atraen células inmunitarias que liberan factores liberadores de la lesión y reparación hepáticas. La esteatosis hepática no alcohólica, es la manifestación morfológica de la lipotoxicidad y las respuestas de cicatrización de lesiones resultantes. La recuperación hepática normal es un proceso muy complejo, hay muchas oportunidades para la pérdida de regulación y por lo tanto la heterogeneidad patológica. Las estrategias actuales se abocan en evitar la reparación anómala por medio de prevención o disminución de la lesión hepática ⁽¹⁷⁾.

HEPATOTOXICIDAD CON PARACETAMOL

Paracetamol tiene buena biodisponibilidad, su concentración máxima se presenta de treinta a sesenta minutos después de su administración oral y su tiempo de vida media es de dos horas. ⁽¹⁵⁾.

Su metabolismo es hepático por conjugación glucorónica en su mayoría (60%), ácido sulfúrico (35) o cisteína (3%). En menor proporción que las vías anteriores presenta N-hidroxilación por el citocromo P-450 principalmente por el CYP 2E1 formando el N-acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQI), metabolito muy tóxico que en condiciones normales se conjuga con el glutatión y grupos sulfidrilo para su eliminación ⁽¹⁵⁾.

Cuando hay una sobredosis de Paracetamol las vías principales de conjugación se saturan, yendo entonces a la vía del citocromo P-450 Formándose un exceso de NAPQI, depletando las reservas hepáticas de glutatión; este metabolito tóxico se une

covalentemente a proteínas hepáticas inactivándolas, ocasionando lesiones hepáticas principalmente necrosis centrolobulillar ⁽¹⁶⁾.

***Peumus boldus* (boldo)**

Árbol dioico, crece en Chile, Argentina y Perú; usado como colerético (activa la producción de bilis), colagogo (facilita la expulsión de bilis) y como protector hepático. Puede llegar a medir 30 metros, de corteza rugosa y color marrón. Tiene hojas opuestas, ovaladas de textura áspera.

Contiene principios activos como alcaloides, siendo el de mayor proporción la boldina, la cual, le proporciona el olor ya la que se le asigna las propiedades de protección hepática, colerética y colagoga ⁽¹⁸⁾.

CLASIFICACION TAXONÓMICA

TAXONOMÍA	PERTENENCIA
DIVISIÓN	Fanerógama
SUBDIVISIÓN	Angiosperma
CLASE	Dicotiledonea
SUBCLASE	Dialipetas
ORDEN	Laurales
FAMILIA	Monomiaceae
GÉNERO	Peumus

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS:

Peumus boldus contiene principios activos como aceites esenciales, taninos, flavonoides; que le dan las características hepatoprotectoras. Se le atribuye al alcaloide boldina dichas propiedades.

COMPOSICIÓN QUÍMICA

Los aceites esenciales están conformados por hidrocarburos monoterpénicos como: Limoneno, γ -cineol y linalol. Flavonoides y alcaloides de los que se destaca Boldina (la tercera parte del total de alcaloides) ⁽¹⁾

TRANSAMINASAS:

Son enzimas que se almacenan en el corazón, cerebro y principalmente en el hígado, donde se producen. Si hay una elevación de éstas, nos indican la presencia de alguna afección en el hígado, que podría atribuirse a una alimentación deficiente, consumo incrementado de alcohol y algunos fármacos.

Pueden ser:

GOT: Glutamato oxalacetato transaminasa

GPT: Glutamato piruvato transaminasa

GOT Ubicado en citoplasma y mitocondria, cataliza la transferencia del grupo amino del L – Aspartato al ácido α – cetoglutarato en corazón e hígado, donde se encuentra en mayor concentración y en menos grado en riñones, músculos, páncreas, bazo y pulmón ⁽¹⁹⁾.

GPT: Se ubica en hepatocito, por eso es específico en circunstancias regulares tiene poca o ninguna actividad ⁽¹⁹⁾.

Cuando hay una dolencia hepática GOT y GPT se elevan, pero GPT en mayor grado, salvo cuando hay deterioro en la mitocondria por ejemplo en alcoholismo ⁽¹⁹⁾.

HIPÓTESIS

(H₁) HIPÓTESIS ALTERNATIVA: El extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) tiene efecto protector frente a hepatotoxicidad inducida con paracetamol.

(H₀) HIPÓTESIS NULA: El extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) no tiene efecto protector frente a hepatotoxicidad inducida por paracetamol.

III. METODOLOGÍA

4.1 Diseño de la investigación

El presente estudio es de tipo experimental, de nivel cuantitativo y corte longitudinal.

4.2 Población y muestra

Población vegetal

Constituido por la planta de *Peumus boldus* adquirido en el mercado “Unión” de la ciudad de Trujillo, que fue llevado al *Herbarium Truxillensi* para su autenticación.

Muestra vegetal

Constituida por las hojas frescas de *Peumus boldus*.

Criterios de inclusión:

Hojas frescas de *Peumus boldus* con caracteres organolépticos ideales.

Criterios de exclusión:

Hojas de *Peumus boldus* que presenten caracteres organolépticos deficiente

Material biológico

Constituido por 15 especímenes de *Rattus norvegicus* var *albinus* adquiridas en el bioterio de la Universidad Nacional de Trujillo.

4.3 Definición y operacionalización de variables:

Variables	Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicadores	Escala De Medición
<p>Independiente: Extracto acuoso de las hojas de <i>Peumus boldus</i> (boldo)</p>	<p>Extracto a base de hojas de <i>Peumus boldus</i> (boldo) usando como solvente agua.</p>	<p>Producto obtenido a través del extracto acuoso de las hojas de <i>Peumus boldus</i> (boldo).</p>	<p>Extracto a dosis de 160 mg/Kg en el grupo experimental.</p>	<p>Variable cualitativa nominal.</p>
<p>Dependiente: Efecto sobre transaminasas GPT, GOT.</p>	<p>Capacidad de una sustancia para disminuir los niveles elevados de transaminasas GPT y GOT.</p>	<p>Se determinó la disminución de los niveles de transaminasas GPT y GOT.</p>	<p>UI/L</p>	<p>Variable Cuantitativa de razón</p>

4.4 Técnicas e instrumentos

Grupo Control Negativo: Este grupo estuvo conformado por 05 animales de experimentación las cuales se encontraron biológicamente saludables, se le brindó agua y alimento *ad libitum*. El día 3 se extrajo la muestra inicial para realizar la prueba bioquímica de GOT y GPT en suero, mediante la técnica de Archer.

Grupo Control: Este grupo estuvo conformado por 05 animales de experimentación a quienes se les brindó agua y alimento *ad libitum*. La dosis que se empleó fue seleccionada a partir de estudios previos diseñados para obtener la dosis efectiva del modelo experimental de hepatotoxicidad aguda por paracetamol. Los animales de experimentación fueron aclimatados en un bioterio con 12 horas de luz y 12 horas a la oscuridad. Se retiró la alimentación 12 horas antes de la administración del producto de ensayo. El agente hepatotóxico utilizado fue paracetamol tabletas, se pulverizó y solubilizo las tabletas en solución salina (NaCl) al 0,9 %, garantizando una dosis de 600 mg/kg de peso corporal. El día 3 se extrajo la muestra inicial para realizar la prueba bioquímica de GOT y GPT en suero, mediante la técnica de Archer ⁽²³⁾.

Grupo Experimental: Formado por 5 animales de experimentación, a los que se les inducirá hepatotoxicidad aguda por paracetamol y posterior administración vía oral de 160 mg/kg. p.c del extracto acuoso de *Peumus boldus* 1 vez al día al día, durante 10 días.

OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO

Para la obtención del extracto acuoso de *Peumus Boldus* se siguió el método tradicional de decocto. Las hojas fueron secadas en una estufa del laboratorio a 38°C de temperatura por dos días. Luego de lo cual se pesaron 80 gramos de ésta en una balanza electrónica, previamente calibrada. Posteriormente, éstas fueron molidas en un molino de café hasta obtener un polvo fino, el cual se diluyó en 500 cc de agua a 100°C por 30 minutos. De dicha manera, se obtuvo un extracto acuso de Boldo a una concentración de 160 mg/ml. Se administrará durante los diez días de duración del

experimento.

INDUCCIÓN DE LA TOXICIDAD HEPÁTICA:

Se pesará 10 tabletas de paracetamol de 500 mg, haciendo una dilución con 60 ml de agua. Se obtendrá una solución de 83,3 miligramos por mililitro fluida. Luego se administrará con sonda orogástrica 600 mg por kilogramo de peso corporal, durante el día 2, 3,4 en ayunas Los animales serán mantenidos con agua y comida a voluntad ⁽²¹⁾.

EXTRACCIÓN DE SANGRE PARA ANÁLISIS BIOQUÍMICO

Antes de la administración de tratamientos, se determinaron los niveles basales del perfil hepático, para ello se sometió a las unidades experimentales a previo ayuno de 12 horas, y se extrajo la muestra de sangre de la cola por el método de Archer, en el cual se limpió la cola de la rata con alcohol puro y algodón, luego se calentó la cola con agua a 40°C para provocar vasodilatación de la vena caudal y mediante movimientos tipo peristálticos se extraerá la sangre almacenándola en capilares (en el día 1, día 5 y día 10) para determinar el perfil hepático ⁽²⁴⁾.

DETERMINACION DE LAS ENZIMAS HEPATICAS EN SANGRE

Método colorimétrico: se determinó mediante un kit de reactivos del laboratorio Wiener; método para la determinación cuantitativa enzimática calorimétrica de aspartato amino transferasa en suero o plasma. Según Reitman y Frankel para la determinación de la transaminasa Aspartato Aminotrasferasas (AST) y Alanina Aminotransferasa (ALT) en suero ⁽²⁵⁾.

La AST cataliza la siguiente reacción:

L - aspartato + alfa - cetoglutarato TGO → glutamato + oxalacetato

La ALT cataliza la siguiente reacción:

L - alanina + alfa - cetoglutarato TGP → glutamato + piruvato

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

PROCEDIMIENTO PARA LECTURA

EQUIPOS

- Espectrofotómetro "THERMO" RA - 50
- Centrífuga "HETTCH-EBA 20" Serie D- 78532
- Equipo de baño María "MEMMERT" Serie AL 35260
- Refrigerador "SAMSUNG" RT 43EASW!/SAM Serie 42014GRX150058Y

REACTIVOS

- Kit de transaminasas Wiener Lab.

PROCEDIMIENTO

En dos tubos rotulados B (Blanco) y D (Desconocido) Colocar:

	B	D
Reactivo A (GOT O GTP)	0,5 ml	0,5 ml

Colocar en baño María a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 5 minutos

Suero	-	100 μl
-------	---	-------------------

Mezclar por agitación suave e incubar exactamente 30 minutos y agregar:

4.6 Matriz de consistencia

Investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo y diseño de investigación	VARIABLES	Definición	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de <i>Peumus boldus</i> (boldo) en esteatosis hepática inducida con paracetamol en <i>Rattus norvegicus</i> var. <i>Albinus</i>	¿Tendrá efecto protector el extracto acuoso de las hojas de <i>Peumus boldus</i> (boldo) en la esteatosis hepática inducida por paracetamol en <i>Rattus norvegicus</i> var. <i>Albinus</i> ?	<p>OBJETIVO GENERAL</p> <p>- Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto acuoso de las hojas de <i>Peumus boldus</i> (boldo) en <i>Rattus rattus</i> var. <i>novergicus</i> con hepatotoxicidad inducida.</p> <p>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</p> <p>- Evaluar la concentración de GOT y GPT en los diferentes grupos de trabajo después del tratamiento con el extracto acuoso de las hojas de <i>Peumus boldus</i> (boldo) en <i>Rattus rattus</i> var. <i>novergicus</i> con hepatotoxicidad inducida.</p> <p>- Comparar el efecto del extracto acuoso de las hojas de <i>Peumus boldus</i> (boldo) a dosis de 160mg/Kg con los demás grupos sobre la concentración GOT y GPT en <i>Rattus norvegicus</i> var. <i>albinus</i> con hepatotoxicidad inducida.</p>	<p>HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H₁): El extracto acuoso de <i>Peumus boldus</i> (boldo) tiene efecto protector frente a esteatosis hepática inducida con paracetamol.</p> <p>HIPÓTESIS NULA (H₀): El extracto acuoso de <i>Peumus boldus</i> (boldo) no tiene efecto protector frente a esteatosis hepática inducida por paracetamol.</p>	El trabajo de investigación fue de tipo experimental, de enfoque cuantitativo y corte transversal	<p>Variable Independiente:</p> <p>Extracto acuoso de las hojas de <i>Peumus boldus</i> (boldo)</p> <p>Variable dependiente:</p> <p>Efecto sobre transaminasas GPT, GOT.</p>	<p>Extracto a base de hojas de <i>Peumus boldus</i> (boldo) usando como solvente agua.</p> <p>Capacidad de una sustancia para disminuir los niveles elevados de transaminasas GPT y GOT.</p>	<p>Variable cualitativa nominal</p> <p>Variable cuantitativa de razón</p>	Para el análisis de datos se utilizó el programa Microsoft Excel. Los resultados se obtendrán, de los grupos de estudios que se presentarán en las tablas. Las pruebas estadísticas serán ANOVA para ver la significancia entre las muestras, analizados en la base estadística del SPSS VERSION 20.0.

4.7 Principios éticos

En la presente investigación, se contemplaron las normas de bioseguridad en laboratorio, teniendo en cuenta los protocolos de seguridad de laboratorios y talleres ⁽²⁶⁾.

“El cuidado de los animales utilizados en esta investigación se rigió por los principios éticos y normativos establecidos por el código de ética para la investigación de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, versión 001, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos ⁽²⁷⁾.

Protección a los animales, los especímenes se alojaron en jaulas suficientemente grandes y en un entorno adaptado asegurando su salud y comodidad, de tal manera que sus patrones metabólicos y de comportamiento se mantuvieron normales y estables, logrando resultados confiables. Los métodos de sacrificio evitaron el dolor, el sufrimiento y la angustia de los animales ⁽²⁷⁾.

Beneficencia y no maleficencia, la conducta del investigador en el proceso de la investigación respondió a las siguientes reglas generales: no causar daño, disminuir los posibles efectos adversos y maximizar los beneficios” ⁽²⁷⁾.

IV. RESULTADOS

5.1 Resultados

Tabla 1. Evaluación de la concentración de transaminasa GOT sérica en los diferentes grupos de trabajo después del tratamiento con el extracto acuoso de las hojas de *Peumus boldus* (boldo) en *Rattus rattus var. novergicus* con hepatotoxicidad inducida.

GRUPOS DE TRATAMIENTO	$\bar{X} \pm D.S$ GOT BASAL U/L (Post inducción a hepatotoxicidad)	$\bar{X} \pm D.S$ GOT DÍA 5 U/L (Post tratamiento con <i>Peumus boldus</i>)	$\bar{X} \pm D.S$ GOT DÍA 10 U/L (Post tratamiento con <i>Peumus boldus</i>)	ANOVA Sig. (P)
Grupo Blanco	52 ± 7.5	55 ± 4.5	54 ± 5.2	
Grupo Control (Paracetamol)	50 ± 6.7	59 ± 7.9	94 ± 1.2	
Grupo Experimental (Paracetamol + extracto <i>Peumus boldus</i> 160mg/kg)	51 ± 5.9	68 ± 8.2	74 ± 6.7	0.000*

*Prueba ANOVA (P<0.05)

Fuente: Paquete estadístico SPSS 20.0 sobre los datos obtenidos en la investigación.

Tabla 2. Evaluación de la concentración de transaminasa GPT sérica en los diferentes grupos de trabajo después del tratamiento con el extracto acuoso de las hojas de *Peumus boldus* (boldo) en *Rattus rattus var. novergicus* con hepatotoxicidad inducida.

GRUPOS DE TRATAMIENTO	~X̄ D.S GPT BASAL U/L (Post inducción a hepatotoxicidad)	~X̄ D.S GPT DÍA 5 U/L (Post tratamiento con <i>Peumus boldus</i>)	~X̄ D.S GPT DÍA 10 U/L (Post tratamiento con <i>Peumus boldus</i>)	ANOVA Sig. (P)
Grupo Blanco	23 ± 4.2	22 ± 7.4	24 ± 6.6	
Grupo Control (Paracetamol)	25 ± 5.2	34 ± 6.2	49 ± 6.7	
Grupo Experimental (Paracetamol + extracto <i>Peumus boldus</i> 160mg/kg)	22 ± 5.5	36 ± 7.4	34 ± 7.2	0.000*

*Prueba ANOVA (P<0.05)

Fuente: Paquete estadístico SPSS 20.0 sobre los datos obtenidos en la investigación.

4.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS

El empleo de plantas medicinales es una práctica tan antigua como la humanidad, es así que desde tiempos inmemoriales el hombre ha utilizado los recursos naturales, entre ellos las plantas, para solucionar algún tipo de dolencia. En los últimos años la comunidad científica ha puesto mayor énfasis en los estudios de plantas con potencial terapéutico, con la finalidad de prevenir o coadyuvar en el tratamiento de las enfermedades, principalmente de índole crónica degenerativa, siendo estas propiedades atribuidas a sus componentes químicos ⁽²⁸⁾.

En la tabla 1 se observan los resultados 52 ± 7.5 U/L, 50 ± 6.7 U/L y 51 ± 5.9 U/L, para los grupos de control negativo, control positivo y grupo experimental, respectivamente; valores que se encuentran dentro del rango de referencia de la transaminasa GOT (valor referencial 10 – 40 U/L), por lo que no se evidencian diferencias importantes entre los grupos de experimentación durante los primeros días, sin embargo, al décimo día en el grupo control positivo, donde se produjo la injuria o daño hepático con paracetamol sin tratamiento, hay un aumento significativo en comparación con los otros grupos, observándose el valor 94 ± 1.2 U/L, esto se puede atribuir al daño hepático inducido por el paracetamol, ya que lesiona la membrana hepatocelular promoviendo la salida de enzimas al torrente sanguíneo produciéndose un aumento en los niveles séricos de GOT indicando un posible daño hepático ⁽²⁹⁾.

En la tabla 2 no se observa una marcada diferencia entre los grupos de estudio durante la fase experimental. En el grupo control a partir del día 5 al 10 hay un aumento importante de la enzima TGP se encuentra casi exclusivamente en el citosol del

hepatocito y TGO además del citosol y mitocondria del hepatocito, también se encuentra en el corazón, riñones, cerebro, músculo esquelético, páncreas, pulmón, eritrocitos y leucocitos.

Es marcado el efecto de *Peumus boldus* en el grupo tratamiento, dicho efecto se le atribuye a la Boldina, alcaloide de *Peumus boldus* que disminuye la toxicidad promovida por radicales libres reduciendo la peroxidación lipídica de la membrana celular usando vías enzimáticas y no enzimáticas activando catalasa y superoxididismutasa que permiten la eliminación de radicales libres del organismo.

CONCLUSIONES

- Se evaluó el efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) evidenciado por la disminución de los niveles de transaminasas en los grupos experimentales.
- La comparación de las concentraciones de transaminasas GOT y GTP entre los grupos experimental y control evidencian una disminución de los niveles de transaminasas en el grupo experimental con respecto al grupo control.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- Hacer más estudios para establecer un mecanismo de acción que probablemente sea una acción antioxidante directa.
- Hacer estudios para establecer una dosis óptima y segura de *Peumus boldus* para ejercer su efecto protector hepático.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodríguez O, Torrenegra R, Beltran A, Matulevich J, Castrillón W. Metabolitos de baja polaridad en hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn. Revista de Tecnología [Internet]. 2014 [Citado 08 Oct 2019]; 13(3): 95-108. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6041508>.
2. Huamantupa I, Cuba M, Urrunaga R, Paz E, Ananya N, Callalli M. et al. Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados de la ciudad del cusco. Rev. Perú biol. [Internet]. 2011 [citado 08 Oct 2019]; 18(3):283-292. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v18n3/a04v18n3.pdf>.
3. Vílchez G. Estudio etnobotánico de especies medicinales en tres comunidades asháninkas y su tendencia al deterioro. Chanchamayo, Junín. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017 [Citado 08 Oct 2019]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6635/-Vilchez_gg.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
4. Kasote D, Katyare S, Hegde M, Bae H. Importancia del potencial antioxidante de las plantas y su relevancia para las aplicaciones terapéuticas. Int J Biol Sci [Internet]. 2015 [Citado 10 de Octubre 2019]; 11 (8): 982-991. Disponible en: <http://www.ijbs.com/v11p0982.htm>.
5. Favari L, Arce D, Ortiz M, Pablo P, Soto C, Meléndez C. Efectos hepatoprotector y antioxidante de *Taraxacum officinale* en el daño hepático agudo inducido por el tetracloruro de carbono en la rata. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas [Internet]. 2013 [Citado 10 de Octubre 2019]; 44(4):53-61. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57930578007>.

6. C. Ochoa, C. Granda, M. Chapoñan, R. Borja, P. Borja, J. Ortiz, G. Ugaz, E. Puerta, Efecto Protector de Peumus Boldus en ratas con toxicidad Hepatica inducida por paracetamol, Cimel ciencia e investigación Médica Estudiantil Latinoamericana {en línea}, 2008. {Fecha de consulta 05 oct del 2018}, Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/717/71720914005.pdf>
7. Veloz D, Determinacion de la actividad hepatoprotectora de boldo (Peumus boldus) en ratas (Rattus norvrgicus) con intoxicación hepática inducida por paracetamol. [Tesis para optar el título de bioquímica farmacéutica], Riobamaba, Escuela superior politécnica de chimboprazo, 2013.
8. Machaca R, Jimenez J, Efecto protector del extracto acuoso de Peumus boldus (boldo) frente a la inducción de cirrosis hepática con paracetamol y fenobarbital en ratas comparado con silimarina,{Tesis para optar el título de Licenciada en nutrición humana}, Arequipa, Universidad Nacional San Agustín de Arequipa, 2015.
9. Panocca R, Qqenta Y, Efecto protector y regenerativo del extracto puro del apio (apium graveolens) en ratas (rattus novergicus) con daño hepático inducido por tetracloruro de carbono, {Tesis para optar el título profesional de Licenciada en nutrición humana}, Arequipa, , Universidad Nacional San Agustín de Arequipa, 2015.
10. Arellano M, Zanca D, Efecto regenerador del consumo del extracto acuoso de Camellia sinensis (Té verde) en ratas con daño hepático inducido por paracetamol, {Tesis para optar el título profesional de nutrición humana}, Arequipa, Universidad Nacional San Agustín de Arequipa, 2017.

11. Olivera L, Efecto del extracto hidroalcohólico de las flores de overo cordia lutea en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas holtzman macho, {Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico}, Universidad Inca Garcilazo de la Vega, Lima, 2018.
12. Llazo M, Boy F, Efecto de los extractos acuosos de inflorescencias y tallos de *Tessaria integrifolia* Ruiz et. Pavon sobre hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus norvegicus* var. *albinus*, {Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico}, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, 2018.
13. Sifuentes F. Efecto hepatoprotector de *Curcubita máxima* en *Rattus norvegicus* tratadas con isoniacida. {Tesis para optar el grado de bachiller}. Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo. 2018.
14. De la Cruz G, Jaico M, Efecto del decocto de *Baccharis genistelloides* (carqueja) sobre hepatotoxicidad en *Rattus norvegicus* var. *albinus*. {Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico}. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. 2018.
15. Huaman I. Efecto hepatoprotector del extracto de los bulbos de *Allium sativum* (AJO) en *Rattus rattus* var. *albinus*. {Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico}. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Trujillo. 2018.
16. Mancipe L et al. Intoxicación por acetaminofén. *Rev Med* 18(2) Pp: 221-227.[Internet]. 2010. [Consultado 28 Mayo 2020]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/med/v18n2/v18n2a08.pdf>
17. Abelmalek M.,Mae A. Enfermedad por hígado graso no alcoholico y esteatohepatitis no alcoholica. En Harrison principios de Medicina Interna. 19ª Edicion. Mexico DF. McGraw Hill Interamericana. 2016. P 2054-2055.

18. Gutierrez R, Jimenez j. Efecto protector de peumus boldus (boldo) frente a la inducción de cirrosis hepática con paracetamol y fenobarbital, comparado co la silimarina. {Tesis en linea}. Arequipa. Repositorio instituci onal digital. 2015. {Visualizado 06 de oct 2018}. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/374>
19. Yovera E. Efecto protector del extracto acuoso de las hojas de Peumus boldus (boldo) en la toxicidad hepática inducida por isoniacida en ratas Holtzman hembra. {Tesis}. Lima. Repositorio UNMSM. 2015.
20. Villar del Fresno A, Gomez P. Boldo indicaciones terapéuticas. Dep Farmacolog. Fac de Farm. Univ. Complutense de Madrid. {Internet}. 2006 Abr.{Citado 12 Nov 2018} 20(4): 9-88 Disponible en:<http://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-boldo-13087207>
21. Alfaro G, Amaya A. Transaminasas en trabajadores de calzado del sector Rio seco, distrito El Porvenir-abril 2016. {Tesis para optar el grado de bachiller}. Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo. 2018.
22. Vega A. Remedios naturales. {Internet}. Madrid. Ediciones I. 2013.{consultado 07 Nov 2018}. Disponible en: <https://www.casadellibro.com/ebook-remedios-naturales-las-100-mejores-plantas-medicinales-para-tu-salud-ebook/9878494181122/2589106>
23. Guevara A. et al. Efecto del infuso de Petroselinum sativum sobre la insuficiencia hepática inducida en Rattus norvegicus var. albinus. Pharmaciencia. {Internet}. 2014. {citado el 07 de Nov 2018}. 2(1). Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/view/690/0>

24. Transaminasas. Para la determinación de transaminasas GPT y GOT. Lab. Wiener. Rosario- Argentina. {Internet}. 2000. {consultado 07 Nov 2018}. Disponible en: <http://www.wienerlab.com.ar/VademecumDocumentos/Vademecum%20espanol/transAmin>
25. Méndez RT, et al, Protective effect of *Bidens pilosa* L extract in hepatotoxicity induced by paracetamol. Rev. Cub. Farmacia 43: 87.
26. Abarca B, Onofre H. Comparación del efecto hepatoprotector de *Phyllanthus niruri* (Chancapiedra) con la silimarina en daño hepático inducido con paracetamol en animales de experimentación. Tesis de Título Profesional. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2017.
27. Protocolo de seguridad de laboratorios y talleres de la Universidad católica los Ángeles de Chimbote. Versión 007. Chimbote –Perú. [Citado 17 de Octubre 2019]. Disponible en: https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/protocolo_seguridad_laboratorios_talleres_v007pdf
28. Universidad católica los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para la investigación versión 002. [Internet]. 2019. Citado 17 de octubre 2019]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v002.pdf>
29. Human diagnostics. GOT (ASAT) IFCC Mod. Prueba liquiUV alanina aminotransferasa (EC 2.6.1.2). Alemania: Human diagnostics worldwide; 2011.

ANEXOS

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae
- Super Orden: Magnoliales
- Orden: Laurales
- Familia: Monimiaceae
- Género: **Peumus**
- Especie: **P. boldus** Molina
- Nombre común: "boldo"

Muestra alcanzada a este despacho por JOSÉ LUIS FRANCO ARGOMEDO. Identificado con DNI: 18032615, con domicilio legal en Jirón Unión N°997 - Trujillo. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del taller de investigación III: "Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de **Peumus boldus**, "boldo" frente a esteatosis hepática inducida con paracetamol en **Rattus norvegicus** var. **albinus**."

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 25 de octubre del 2019




Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT