



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE NUTRICIÓN

EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DEL *Nasturtium officinale* “BERRO” SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE MALONDIALDEHIDO HEPÁTICO EN *Rattus rattus var. albinus* TRATADOS CON PARACETAMOL

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN NUTRICIÓN

AUTOR:

DIOSES LARRREA, EDSON EDUARDO

ASESORES:

Dr. DIAZ ORTEGA, JORGE LUIS

Dra. OTINIANO GARCIA, NELIDA MILLY ESTHER

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES NO TRASMISIBLES

Trujillo – Perú

2018

JURADO CALIFICADOR

Mg. Cinthya Stephany Neglia Cermeño

Presidente.

Mg. Huanalaya Alama Dhyana Giri

Secretario.

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Vocal.

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mis padres por su amor, esfuerzo y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

A Mis Asesores que me brindaron su apoyo, en especial al Dr. Jorge Díaz, por su tiempo y dedicación, y la Dra. Milly Otiniano, por sus conocimientos y orientación.

A todos los docentes de la Universidad por compartir sus conocimientos y enseñanzas en estos cinco años de estudio.

A nuestra Universidad Cesar Vallejo por brindarnos sus laboratorios de investigación para la realización de esta tesis, como también a sus respectivos docentes de laboratorio.

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

yo **Edson Eduardo Dioses Larrea** con documento nacional de identidad n° **46649753** a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el reglamento de grados y títulos de la universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas - Escuela de Nutrición, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la universidad César Vallejo.

Trujillo, Diciembre 2018

Edson Eduardo Dioses Larrea

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DEL *Nasturtium officinale* “Berro” SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE MALONDIALDEHIDO HEPÁTICO EN *Rattus rattus var. albinus* TRATADOS CON PARACETAMOL, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de nutrición.

El autor.

ÍNDICE

Tabla de contenido

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	v
PRESENTACIÓN	vi
ÍNDICE	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Realidad Problemática	1
1.2 Trabajos Previos	3
1.3 Teorías relacionadas al tema	5
1.4 Formulación del Problema	7
1.5 Justificación del estudio	7
1.6 Hipótesis	8
1.7 Objetivos	8
II. METODO	9
2.1 Diseño de Investigación	9
2.2 Variables, Operacionalización	10
2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA	12
2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD	13
2.5 MÉTODO DE ANÁLISIS DE DATOS	16
2.6 ASPECTOS ÉTICOS	16
IV. DISCUSIÓN	19
V. CONCLUSIONES	22
VI. RECOMENDACIONES	23
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
ANEXOS	27

RESUMEN

En este trabajo de investigación se determinó el efecto del extracto hidroalcohólico del *Nasturtium officinale* “Berro” sobre la concentración de malondialdehído hepático en *Rattus rattus var. albinus* tratados con paracetamol. Se trabajó con un diseño descriptivo, comparativo y transversal. Se contó con 15 *Rattus rattus var. albinus* norvegicus holtzman de 2 meses y con un peso aproximado de 250 - 300 gr, fueron divididos aleatoriamente en 3 grupos: Grupo Control Negativo (GCN) con 5 especímenes tratados con suero fisiológico durante 10 días, en el grupo control positivo (GCP) con 5 ratas tratados con 500 mg/kg de peso de paracetamol durante 10 días y en el grupo experimental (GE) con 5 ratas tratados con 500 mg/kg de peso de paracetamol y con 400 mg/kg de peso de berro, todos los grupos recibieron alimentación balanceada más agua ad libitum. La concentración de malondialdehído se midió por el método de colorimétrico de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), siendo en el GCN tuvo un promedio de 0.19 ± 0.16 $\mu\text{mol/L}$, en el GCP tuvo un promedio de 1.97 ± 0.80 $\mu\text{mol/L}$, por último en el GE con un promedio de 0.99 ± 0.48 $\mu\text{mol/L}$. Al evaluar los datos de la concentración de malondialdehído de los distintos grupos, mediante la prueba paramétrica de análisis de varianza de un factor, se obtuvo un valor p de 0.004, por lo que se concluye que si existe diferencia significativa entre el GCP y GE, el berro tiene potencial frente a la lipoperoxidación oxidativa que se genera en el tejido hepático.

Palabras claves: *Nasturtium officinale*, malondialdehído, paracetamol

ABSTRACT

In this research work, the effect of the hydroalcoholic extract of *Nasturtium officinale* "Berro" on the concentration of hepatic malondialdehyde in *Rattus rattus var. albinus* treated with paracetamol. We worked with a descriptive, comparative and transversal design. It counted on 15 *Rattus rattus var. albinus* norvegicus cepa holtzman of 2 months and weighing approximately 250 - 300 gr, were randomly divided into 3 groups: Negative Control Group (GCN) with 5 specimens treated with physiological saline for 10 days, in the positive control group (GCP) with 5 rats treated with 500 mg / kg paracetamol weight for 10 days and in the experimental group (GE) with 5 rats treated with 500 mg / kg paracetamol weight and with 400 mg / kg watercress weight, all groups They received balanced diet plus water ad libitum. The concentration of malondialdehyde was measured by the colorimetric method of substances reactive to thiobarbituric acid (TBARS), being in the GCN it had an average of $0.19 \pm 0.16 \mu\text{mol} / \text{L}$, in the GCP it had an average of $1.97 \pm 0.80 \mu\text{mol} / \text{L}$, finally in the GE with an average of $0.99 \pm 0.48 \mu\text{mol} / \text{L}$. When evaluating the data of the malondialdehyde concentration of the different groups, by means of the parametric one-way analysis of variance, a p-value of 0.004 was obtained, so it is concluded that if there is a significant difference between the GCP and GE, cress has potential against oxidative lipoperoxidation that is generated in liver tissue.

Keywords: Watercress, malondialdehyde, paracetamol

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Realidad Problemática

Hoy en día las enfermedades hepáticas se están volviendo comunes y representan serias amenazas para la salud de los seres humanos y tienen una alta prevalencia en toda Latinoamérica, en comparación con el resto del mundo. En el Perú según datos de la situación de salud en el año 2010, la cirrosis hepática y otras enfermedades a fines con el hígado, posee una tasa de muerte de por cien mil personas, teniendo el noveno puesto, entre las fallecimientos, también es la segunda causa de decesos entre muertes registradas en edades que comprende desde los 20 a 65 años¹.

El menoscabo hepático conlleva, a una cirrosis hepática que es la causa principal de fallecimientos a nivel mundial. En ciertos países de Latinoamérica, como por ejemplo México y Chile, el daño hepático esta entre el quinto y sexto lugar como causa de mortalidad. En nuestro país, la cirrosis ocupa el quinto puesto, en las muertes en general y el segundo puesto entre las afecciones digestivas y hepatobiliares².

Se ha estimado que el daño hepático un asunto de la salud pública que necesita medidas claras en la prevención y tratamiento. Brindar opciones terapéuticas para las personas con daño hepático sería de gran soporte para estos problemas de salud. En la naturaleza coexisten gran variedad de plantas que se han utilizado hace mucho tiempo como remedio para diferentes enfermedades³.

La organización mundial de la salud (OMS), detalla que las plantas se han utilizado para fines médicos y de salud durante muchos miles de años. La cantidad de especies de plantas en la Tierra es de aproximadamente 250 000. Se estima que entre 35 000 y 70 000 especies han sido utilizadas, en algunas culturas con fines medicinales. La mayoría de la población mundial de los países en desarrollo todavía depende de las hierbas medicinales para satisfacer sus necesidades de salud. Las hierbas medicinales a menudo se utilizan para proporcionar servicios de salud

básicos y de primera línea, tanto a las personas que viven en áreas remotas donde es el único servicio de salud disponible, como a las personas que viven en áreas pobres donde ofrece el único remedio asequible. Incluso en áreas donde la medicina moderna está disponible, el interés por las hierbas medicinales y su utilización han aumentado rápidamente en los últimos años.

Las plantas medicinales son fuentes importantes para la fabricación farmacéutica. Las plantas medicinales y las hierbas medicinales representan un porcentaje significativo del mercado farmacéutico. Por ejemplo, en China, las plantas medicinales y sus productos tuvieron una participación del 33,1% en el mercado farmacéutico en 1995⁴.

Desde hace mucho tiempo la humanidad ha utilizado las plantas para curar sus males y aliviar sus dolores, conociendo infinidad de especies vegetales las propiedades medicinales y dar uso a los productos que de ellos extraen⁵.

Los antioxidantes son componentes que en muy disminuidas concentraciones, tienen la amplitud de retardar elocuentemente el desarrollo de oxidación molecular mediante la peroxidación. Estos componentes poseen una amplia progresión de aplicaciones que van desde la industria del plástico hasta la de los alimentos. Hoy en día se ha generado un interés por el estudio de antioxidantes de origen natural, que se ha probado una correlación entre la deglución de este tipo de alimentos y la previsión del llamado estrés oxidativo que padecen las células del cuerpo⁵.

Esta hortaliza crece en hábitats acuáticos prefiriendo aguas claras y frías de corriente lenta.

La autoterapia es una revelación del autocuidado del humano hacia su salud, sin embargo es capaz de llevar a realidades negativas, así también la polifarmacia por la poca comunicación del especialista conduce a un daño hepático⁶.

1.2 Trabajos Previos

Debido a la deficiencia de estudios, a continuación se presenta algunos realizados a nivel internacional y nacional relacionados con el presente estudio.

Casanova N, et al.⁷ (2017). En su trabajo de investigación evaluaron el efecto modulador del jugo de berro sobre el estrés oxidativo inducido por ciclofosfamida en ratones. Los biomarcadores que fueron investigados: actividad de superóxido dismutasa, función de catalasa, peroxidación lipídica y balance de glutatión. Los roedores fueron administrados con diferentes dosis de jugo (500 y 1000 mg/kg/peso) por alimentación forzada durante 15 días seguidos antes de la inyección intraperitoneal con ciclofosfamida (100 mg/kg/peso). La administración de berro antes de la ingesta de ciclofosfamida mejoró la actividad de SOD en los eritrocitos sin efecto sobre la actividad de la catalasa. En médula ósea e hígado, el jugo de berro contrarrestó el efecto deletéreo de la ciclofosfamida. En todas las matrices, el balance de glutatión fue mayor y la oxidación de lípidos menor que los valores encontrados en los grupos control. Los resultados demostraron que el berro es un tiene propiedades beneficiosas para la salud o como agente protector contra el daño oxidativo celular.

Yazdanparast y Bahramikia.⁸ (Irán 2008). En esta investigación estudiaron el efecto del extracto hidroalcohólico *Nasturtium officinale* (NOE) sobre los lípidos séricos con ello trabajo sobre el colesterol total en suero (TC), triglicéridos (TG), colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) y alta densidad. Las lipoproteínas del colesterol (HDL-C) estaban entre los parámetros investigados. También evaluaron las actividades de la aspartato aminotransferasa sérica. (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) como una medida de los daños en las células hepáticas. Arrojaron resultados que la administración intragástrica de NOE (500 mg/kg de peso corporal por día) a grupos de ratas hipercolesterolémicas durante 10 días redujo su suero TC, TG y LDL-C en 34.2, 30.1 y 52.9%, respectivamente, mientras que elevó el nivel de HDL-C en suero en 27.0% después de 10 días de tratamientos. El tratamiento con NOE redujo los niveles séricos de ALT y AST en comparación con los grupos de dieta alta en grasas. Concluyen que el berro tiene un gran potencial cardioprotector al realizar un estudio en ratas alimentadas con

dieta alta en grasas, aumentando significativamente los niveles de enzimas antioxidantes en los tejidos hepáticos.

Sadaghi H, et al.⁹ En su investigación estudió las propiedades antiinflamatorias del berro en extracto hidroalcohólico, utilizaron las ratas para inducir las con carragenina o formalina produciendo la inflamación. Posteriormente, realizaron una biopsia de la pata u oreja para la evaluación patológica. Se obtuvo como resultados las pruebas de toxicidad aguda de *N. officinale* en ratas establecieron una DL50 oral de $> 5 \text{ g kg}^{-1}$. El extracto de berro (250, 500 y 750 mg kg⁻¹) inhibió significativamente el edema de la pata inducido por carragenano 1, 2, 3 y 4 h después del desafío con carragenano ($p < 0,001$). El extracto (500 mg kg⁻¹) también mostró una actividad considerable contra el edema de pata evocado por formalina durante un período de 24 h ($p < 0,001$). Además, la aplicación tópica de *N. officinale* (5 mg / oreja) redujo el edema de oído inducido por TPA ($p < 0,05$). Histopatológicamente, el extracto disminuyó la hinchazón y el daño tisular inducido por carragenina o TPA. Concluyendo que los hallazgos indican una potente actividad antiinflamatoria de *N. officinale* en la aplicación sistémica y tópica, y proponen su potencial como un agente antiinflamatorio para el tratamiento de afecciones inflamatorias.

Huaman O, et al.¹⁰ (2013). En su investigación sobre el efecto de los extractos acuoso y hidroetanólico de las hojas de *Bixa Orellana* (achiote) sobre los indicadores no enzimáticos de la hepatotoxicidad por paracetamol en ratas. Trabajo con 35 ratas machos de 3 meses de edad que se distribuyó aleatoriamente en 5 grupos, recibieron administración por la vía oral por 10 días: NaCl 0,9% los controles positivo y negativo, silimarina 300 mg/kg, extracto acuoso 500 mg/kg y extracto hidroetanólico 500 mg/kg. Previo ayuno de 24 horas, En el 5to día se administró paracetamol (400 mg/kg) vía oral, excepto al control negativo. Bajo anestesia con éter, se realizó punción cardiaca para extraer sangre. Principales medidas de resultados: Ratio hepático (peso hígado/ peso animal x 100), bilirrubina total (BT), directa (BD) e indirecta (BI), hepatomegalia, especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en hígado y suero. Los efectos que obtuvieron en el tratamiento con extracto acuoso solo disminuyó los indicadores bilirrubina total y bilirrubina indirecta ($p < 0,01$), tiobarbiturico en suero ($p < 0,05$) y hubo disminución

de la masa hepática de -13,2% ($p < 0,01$). En el grupo que recibió el extracto hidroetanólico se redujo la bilirrubina total, Bilirrubina indirecta ($p < 0,01$), bilirrubina directa ($p < 0,05$), tiobarbiturico en hígado ($p < 0,01$) y la masa hepática -9,37%. Se concluyó en esta investigación que los diferentes extractos que se administraron presentaron un efecto hepatoprotector frente al paracetamol.

1.3 Teorías relacionadas al tema

El berro es una planta que concierne a la familia de las crucíferas. Es común en otros continentes y en América; es conocido desde tiempos remotos, creciendo frecuentemente en las cercanías de casi todos los cursos de agua. Presenta principios activos como glucosinolatos, Estos contribuyen al aroma y sabor de la planta y tienen un potencial como anticarcinogénicos.

El botánico inglés Brown R en el año 1810 le dispuso el nombre científico de "Nasturtium officinale". Alució referencias en el mundo clásico, en el que refieren su uso en la alimentación de personas que efectuaban trabajos intensos vehementes. El sabor a picante le ha valido el nombre de Nasturtium (del latín nasi tortium = nariz torcida). Las culturas antiguas han considerado el berro como afrodisiaco, estimulante de la mente, problemas de intoxicación sanguínea, vieron muchos beneficios en ella¹¹.

Esta planta herbácea pertenece a las crucíferas acuáticas con tallo carnoso y grueso, las hojas son pequeñas y compuestas de sabor agradable, las flores son blancas y pequeñas. El berro se cultiva en otros países en balsas¹¹.

El berro puede prevenir el cáncer: debido a que contiene glucosinolato que previene el desarrollo de células cancerosas. Estos no son únicos de los berros sino que aparecen en diferentes plantas como las coles, el brocoli, las coles de Bruselas, los nabos, los rábanos y la mostaza, etc¹¹.

El hígado es el órgano más importante del cuerpo, brinda un papel importante en la función metabólica, cauterizante, digestiva, inmunológica y de depósito, tiene un flujo de 1500 ml de sangre por minuto. Sus células hepáticas son llamadas

hepatocitos, éstos purifican la sangre, expelen los residuos, toxinas y acumulan los nutrientes para que sean utilizados cuando se requiera¹¹.

El hígado ejerce 500 tareas entre ellas funciones metabólicas de varios nutrientes, bilis, hormonas, almacén de hierro y vitaminas, produce factores de coagulación y también se ve perjudicado por muchos procesos inflamatorios tales como infecciones, toxicidad por fármacos y sus metabolitos, desarrollos autoinmunes y diferentes fallos genéticos¹¹.

Este órgano metaboliza los fármacos utilizando 2 fases. La fase I consiste en reacción de oxidación y reducción que modifica o crea nuevos grupos funcionales, así como reacciones de hidrólisis que rompen los enlaces ésteres y amidas, liberando también nuevos grupos funcionales. Estos permutaron se siguen de un aumento de la hidrosolubilidad de los metabolitos, lo cual facilita su excreción biliar y urinaria. En la fase II se realiza conjugación en las que el metabolito se acopla a substratos endógenos como por ejemplo el Glutatión (GSH), generando metabolitos más solubles para facilitar su excreción. El resultado de estos procesos genera radicales libres o compuestos electrofílicos que causan peroxidación lipídica¹².

La toxicidad hepática se concreta como daño hepático provocado por la manifestación a un fármaco u otros agentes no farmacológicos. Su efecto medicamentoso no intencional que son utilizadas con fines profilácticos y terapéuticos.¹³

El paracetamol es una droga analgésica-antipirética es uno de los fármacos más consumido en niños. Este fármaco posee propiedades parecidas a las de la ácido acetilsalicílico.¹⁵

Las consecuencias de la toxicidad por aminofen radican en la lesión del hígado¹⁶. Cuando el paracetamol es ingerido, se metaboliza el 95% en el hígado y el resto se elimina vía renal, gran parte es metabolizada por el hígado en la que sufre conjugación con ácido gluconico o sulfatos y el resto es metabolizado por los citocromos específicamente el P450 en un metabolito tóxico: n-acetil-p benzoquinoneimina (NAPQI), este metabolito es rápidamente metabolizado gracias a la conjugación con glutatión (GSH) ¹⁷. El estrés oxidativo es un proceso de

inestabilidad oxidante el cual la cantidad de radicales libres generados endógena y exógenamente sobrepasa la cantidad de los sistemas antioxidantes, provocando daños en su estructura celular y sobre el ADN ¹⁷.

La interacción de los RL con los lípidos séricos y tisulares se le llama peroxidación lipídica, proceso que da lugar a varios metabolitos de degradación, uno en particular llamado malondialdehído (MDA) el único biomarcador usado para el estrés oxidativo¹⁸.

Existen investigaciones en ratas y ratones que indican que el paracetamol tiene la propiedad de inducir lipoperoxidación y daño irreversible en el hepatocito, probablemente causadas por radicales libres^{19, 20}.

1.4 Formulación del Problema

¿Cuál es el efecto del extracto hidroalcohólico del *Nasturtium officinale* “Berro” sobre la concentración de malondialdehído hepático en *Rattus rattus var. albinus* tratados con paracetamol?

1.5 Justificación del estudio

Nasturtium officinale es una planta silvestre que crece en la sierra peruana, y que los hierberos lo consideran como un potente hepatoprotector, reductor de colesterol, diurético y desintoxicante. Desde el virreinato fue usado como un producto fitoterapéutico.

La variedad de estudios científicos establecen el respaldo para avalar su consumo como una alternativa a la medicina occidental y los resultados del estudio de hepatoprotección de *Nasturtium officinale* se aprovechará a la población peruana.

Los resultados de esta investigación serán importantes para promover su consumo, además de velar por la no extinción de esta especie, conservando sus principios activos en cantidad y calidad.

1.6 Hipótesis

El efecto del extracto hidroalcohólico del *Nasturtium officinale* “Berro”, disminuye la concentración de malondialdehído hepático en *Rattus rattus var. albinus* tratados previamente con paracetamol.

1.7 Objetivos

Objetivo general

- ✓ Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico del *Nasturtium officinale* (Berro) sobre la concentración de malondialdehído hepático en *Rattus rattus var. Albinus* tratado con paracetamol.

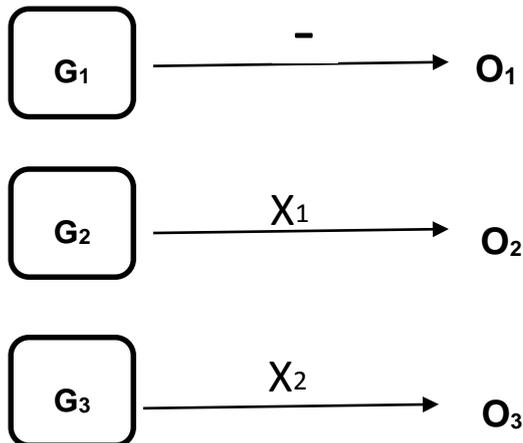
Objetivos específicos

- ✓ Evaluar la concentración de malondialdehído en el grupo control negativo de *Rattus rattus var. albinus*.
- ✓ Evaluar la concentración de malondialdehído en el grupo control positivo de *Rattus rattus var. albinus* inducido a hepatotoxicidad con paracetamol.
- ✓ Comparar la concentración de malondialdehído entre los grupos con hepatotoxicidad inducida con paracetamol y sin tratamiento con extracto hidroalcohólico.

II. METODO

2.1 Diseño de Investigación

La investigación será mediante un diseño experimental, comparativo, grupo control y experimental; y medición.



Donde:

G₁: Es el Grupo control negativo.

G₂: Es el grupo control positivo.

G₃: Es el grupo experimental.

O₁: Medición de la concentración de malondialdehido hepático en $\mu\text{mol/L}$.

O₂: Medición de la concentración de malondialdehido hepático en $\mu\text{mol/L}$.

O₃: Medición de la concentración de malondialdehido hepático en $\mu\text{mol/L}$.

- : Tratamiento con suero fisiológico.

X₁: Tratamiento con paracetamol.

X₂: Tratamiento con paracetamol y Berro.

Tipo de Estudio

La investigación será según el fin que persigue es descriptivo, según el tiempo será longitudinal.

2.2 Variables, Operacionalización

VARIABLE INDEPENDIENTE

Extracto hidroalcoholico del berro

VARIABLE DEPENDIENTE

Malondialdehido Hepático

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
<p style="text-align: center;">VARIABLE INDEPENDIENTE: EXTRACTO DE BERRO</p>	<p style="text-align: center;">Es una planta que pertenece a la familia de las crucíferas. Común en la sierra peruana, crece en riachuelos donde hay fluido de agua²³.</p>	<p style="text-align: center;">Consumo del Extracto administró de por sonda orogástrica</p>	<p style="text-align: center;">Grupo control negativo suero fisiológico 0.8 mg por rata. Grupo control positivo paracetamol 500 mg/kg/peso Grupo experimental berro 400 mg/kg/peso y paracetamol 500 mg/kg/peso</p>	<p style="text-align: center;">Cuantitativa</p>
<p style="text-align: center;">VARIABLE DEPENDIENTE: MALONDIALDEHIDO</p>	<p style="text-align: center;">El malondialdehido se forma por la peroxidación lipídica de ácidos grasos insaturados y es un marcador de la degradación oxidativa de la membrana celular²⁴.</p>	<p style="text-align: center;">La hepatotoxicidad se definirá a través de la presencia de malondialdehido por el método del TBA (Ácido tiobarbiturico)</p>	<p style="text-align: center;">μmol/L</p>	<p style="text-align: center;">Cuantitativa de razón</p>

2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACIÓN

La población corresponde a los especímenes *Rattus rattus var. albinus* certificados del bioterio del Instituto Nacional de Salud (INS). Anexo 6

Las plantas de berro (*Nasturtium officinale*) fueron obtenidas en el mercado mayorista "Hermelinda".

Criterios de inclusión:

- Ratas de 2 meses de vida.
- Ratas de raza albina.
- Que tengan pesos de entre 200-250 gr.
- Animales machos.

Se verificó que los ratones no hayan sido manipulados, así mismo se verificó que no presentaran alguna patología, previos a la investigación.

MUESTRA

Se trabajó con una muestra de 15 ejemplares de especímenes de *Rattus rattus var. albinus* norvegicus cepa Holtzman procedentes del bioterio INS. Estuvieron distribuidos aleatoriamente en 3 grupos de 5 ratas cada uno (2 grupos control y 1 grupo experimental). Dichos animales fueron alimentados con purina; y agua ad libitum durante el tiempo que dure el experimento.

MUESTREO

Se seleccionó los especímenes de *Rattus rattus* variedad *albinus* norvegicus cepa Holtzman para cada grupo mediante el muestreo no probabilístico por conveniencia.

2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La presente investigación utilizó como técnica la observación.

La inducción de la hepatotoxicidad se realizó químicamente en *Rattus rattus var. albinus* con paracetamol por sonda orogástrica.

La concentración de malondialdehído se determinó a través del método colorimétrico de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).

SELECCIÓN DE GRUPOS DE ESTUDIO

a) Grupo control negativo

Estuvo conformado por 5 especímenes, a las que solo se le administró suero fisiológico (NaCl 0.9%) durante el periodo de 10 días.

b) Grupo control positivo

Contó con 5 especímenes, a los cuales se les administró gotas de paracetamol (APAP), 500 mg/kg por vía oral (Sonda orogastrica), por un lapso de 10 días, una vez al día, a un mismo horario comprendido entre las 4:00 p.m y 5:00 p.m.

c) Grupo experimental con Paracetamol y Berro

Estuvo constituido por 5 especímenes, a las cuales se les administró gotas de paracetamol a 500 mg/Kg por vía oral, por un lapso de 10 días, una vez al día, a un mismo horario comprendido entre las 3:00 p.m y 4:00 pm. Posteriormente a ellos se le administró 400 mg/kg de extracto de *Nasturtium officinale* "Berro" por un periodo de 10 días, una vez al día, en un horario comprendido de 6:00 p.m y 7:00 pm.

PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DEL *NASTIRTIIUM OFFICINALE* “BERRO”

Se presentó este proyecto de investigación al asesor de tesis, para su aprobación, también la autorización de las instalaciones de laboratorio. Anexo 7

El extracto hidroalcoholico se preparó a partir de la recolección y selección de las mejores plantas provenientes del mercado mayorista “Hermelinda”. Se procedió a realizar el respectivo lavado de las plantas y se colocó en un recipiente limpio.

Se procedió a seleccionar solo las hojas en buen aspecto, se dejó las que presentan rupturas, manchas y material extraño. Posteriormente se desinfecto con dióxido de cloro al 10%, luego se llevó a deshidratar en autoclave a 40 ° C durante un periodo de 4 días, completado los días se procedió a pulverizar y pesar la muestra de berro obteniendo 12.5 gr, se colocó en un frasco ámbar con tapa rosca de 500 ml de capacidad, después se agregó el solvente etanol/agua en una relación 83.3 ml/16.7 ml), luego se maceró durante 7 días, luego se filtró por gravedad (embudo/frasco ámbar), papel filtro (filtración media 20-30 μ mol), Inmediatamente se llevó a la medición con un refractómetro “ATAGO” para medir los grados Brix obteniéndose 16.8°. La solución etanólica filtrada se midió arrojando 74 ml, se llevó a concentrar en un autoclave a 40° C durante 15 días, luego de completado los días se midió la muestra arrojando 45 ml obteniendo la cantidad necesaria, también se midió en refractómetro 16° Brix, la muestra concentrada se guardó en un frasco ámbar de 250 ml de capacidad y por último se refrigeró durante todo el proceso de la ejecución.

DETERMINACION DE LA CONCENTRACIÓN DE MALONDIALDEHIDO

Se utilizó el método descrito por Buege y Aust (1978), se da en la medición espectrofotométrica de las sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBAs), basándose en la reacción estequiométrica de dos moléculas de TBA con una molécula de MDA para formar un producto rosado el cual tiene su máximo de absorbancia a una longitud de onda de 532 nm en solución ácida, pH= 2.²⁵

Los especímenes se sacrificaron, previamente anestesiados con Ketamina a la dosis de 100 mg/Kg p.c. por vía intraperitoneal. Cuando hizo efecto el fármaco se pusieron las ratas en una tabla abiertas y luego se rasuró todo el abdomen para hacer la incisión adecuadamente, luego se procedió a extraer el órgano de interés, el hígado, el cual fue decepcionado en un frasco de 50 ml de capacidad con suero fisiológico a 5°C para evitar la descomposición y tirando tejidos extraños, después se trituró en un homogeneizador "Tissue - Tearor" y puestos en un frasco previamente refrigerado, posteriormente se centrifugó a 6000 rpm durante 10 min, se retiró 1 µl del sobrenadante usando una micropipeta 100 µl y puso en un tubo de ensayo con rosca, luego se adicionó Butilhidroxitolueno (BHT) 1 µl, inmediatamente se agregó Tricloruro de hierro (FeCl₃) 1 µl, posteriormente se adicionó Disolución tampón de HCl – Glicina 1.5 ml y por último se agregó ácido tiobarbitúrico (TBA) 1.5 ml. Se homogenizo en el tubo.

Se mantuvo la mezcla de la reacción por 60 minutos a 5° C, luego se llevó a ebullición a 100°C por 60 minutos, para desarrollar coloraciones. Enfriar los tubos en hielo, luego se agregó 2.5 ml de butanol y 0.5 ml de agua destilada, mezclar agitando por 1 minuto y centrifugar a 4000 rpm x 10 minutos.

Se extrajo las capas superiores que contienen los tubos (TBA-MDA) con el uso de una micropipeta en un tubo limpio y se procedió a las lecturas de las absorbancias, en el espectrofotómetro a 532 nm frente a un blanco de reactivos.

2.5 MÉTODO DE ANÁLISIS DE DATOS

Se usó el paquete estadístico SSPS ver. 22 para procesar los datos. Según los datos obtenidos se procedió a decretar si hay desigualdad entre los niveles de concentración de malondialdehído un análisis de estudio se empleó la prueba de comparaciones múltiples utilizando la diferencia mínima significativa de la prueba estadística de Kruskal Wallis con un valor de significancia ($p < 0.01$).

2.6 ASPECTOS ÉTICOS

En esta investigación se cumplió con la todas las normas de bioseguridad en el manejo ético de animales de experimentación y al trabajo con el material químico. Las condiciones de vida que tuvieron en cuanto a un ambiente agradable con una temperatura de 20°C a 25°C con iluminación natural, libre de olores molestos y ruidos, con alimentación y agua ad libitum a los diferentes grupos de trabajos y una limpieza apropiado de los desechos.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Concentración de malondialdehído en el grupo control negativo de *Rattus rattus* var. *albinus*.

GRUPO CONTROL NEGATIVO (Suero fisiológico)	MDA ($\mu\text{mol/L}$)
1	0.02
2	0.65
3	0.08
4	0.06
5	0.12
\bar{X}	0.19
DS	0.16

Tabla 2. Concentración de malondialdehído en el grupo control positivo de *Rattus rattus* var. *albinus*.

GRUPO CONTROL POSITIVO(paracetamol)	MDA ($\mu\text{mol/L}$)
1	1.30
2	2.71
3	1.73
4	1.19
5	2.91
\bar{X}	1.97
DS	0.80

Tabla 3. Concentración de malondialdehido en el grupo experimental de *Rattus rattus* var. *albinus*.

GRUPO EXPERIMENTAL (PARACETAMOL+Berro)	MDA ($\mu\text{mol/L}$)
1	0.16
2	0.68
3	0.87
4	0.55
5	0.083
\bar{X}	0.99
DS	0.48

Tabla 4. Comparación de la concentración de malondialdehido entre grupo control negativo, grupo con hepatotoxicidad inducida con paracetamol y grupo con hepatotoxicidad tratado con extracto hidroalcohólico de *Nasturtium officinale* (berro).

GRUPOS	PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CONCENTRACIÓN DE MALONDIALDEHIDO	SIGNIFICANCIA
Control negativo	0.19 \pm 0.16	
Paracetamol	1.97 \pm 0.80	0,004**
Paracetamol + EHA Berro	0.99 \pm 0.48	

****p<0.01; Prueba estadística Kruskal Wallis**

Leyenda: EHA: Extracto hidroalcohólico

IV. DISCUSIÓN

Los productos naturales son fuentes notables de moléculas biológicamente activas que podrían modular el estrés oxidativo. Verduras crucíferas como el brócoli, la col, la coliflor, las coles de Bruselas y el berro, entre otros, han sido ampliamente estudiadas en relación con su capacidad para mejorar o prevenir las lesiones causadas por la oxidación en las células vivas. En particular, el berro es rico en vitamina C, vitamina A y α -tocoferol. Contiene altas concentraciones de glucosinolatos, así como carotenoides, polifenoles y clorofila.

En este presente trabajo, se buscó determinar el efecto del extracto hidroalcohólico del *Nasturtium officinale* sobre la concentración de malondialdehído hepático en *Rattus rattus var. albinus* con agente hepatotóxico.

En la tabla 1 se observa la evaluación de la concentración de malondialdehído hepático en el grupo control negativo siendo el promedio de 0.19, como se evidencia en el trabajo de Casanova⁷. En su investigación nos comenta que las ratas del grupo control sometidas con solución salina presentaron un nivel bajo de malondialdehído.

En la tabla 2, se observa la evaluación de la concentración de malondialdehído hepático en el grupo control positivo en donde el promedio arrojó 1.97 $\mu\text{mol/L}$. Estos datos son corroborados en el trabajo de Huaman¹⁰, en su investigación nos indica que las ratas sometidas por solo paracetamol presentan una elevada concentración de TBARS demostrando la forma de inducción a daño hepático es correcta. En la investigación de Wang²⁹ demostraron que el metabolismo (glutatión reducido (GSH)) hepáticos, y alteración en el sistema enzimático antioxidante desencadena el estrés oxidativo, y los resultados en la peroxidación lipídica, que es responsable para la lesión hepática. Además, el la activación metabólica de paracetamol conduce a la desintegración de la membrana, agotamiento de ATP (trifosfato de adenosina), la fragmentación del ADN y culmina en la necrosis de la célula del

hígado. Se establece que un fracción de APAP se convierte a través de la vía CYP450 a un metabolito altamente tóxico, NAPQI. Una vez que se ha formado el NAPQI, reacciona fácilmente con la hepática. GSH y el aducto de GSH resultante se excreta en la bilis con la proteína de resistencia a múltiples fármacos 2 (Mrp2), que media El transporte hepatobiliar de una amplia gama de aniones orgánicos, incluidos los conjugados GSH-S (por ejemplo, leucotrienos C4 y 2,4-dinitrofenil-SGSH), y GSSG.

En la tabla 3, se muestra la evaluación de la concentración de malondialdehído hepático en el grupo experimental, podemos observar que el promedio $0.99 \mu\text{mol/L}$, nos da a entender que la administración de berro en dosis altas de paracetamol reduce considerablemente el daño en el tejido hepático. Estos datos tienen relación en el efecto del berro en otras investigaciones como el de Casanova⁷ y Sadaghi⁹ ambos corroboran que el berro es un poderoso alimento frente al daño hepático.

En la tabla 4, se muestra los diferentes grupos trabajados, se observa que en el grupo control (negativo) presenta una relación $0.19 \pm 0.16 \mu\text{mol/L}$, en el grupo paracetamol (positivo) $1.97 \pm 0.80 \mu\text{mol/L}$ con $p < 0.004$ y en el grupo experimental (paracetamol + berro) con un $0.99 \pm 0.48 \mu\text{mol/L}$. Estos resultados tienen relación el trabajo de Casanova⁷, en su investigación realizada para demostrar el efecto modulador del berro contra el estrés oxidativo inducido por ciclofosfamida en ratones. En su trabajo, refleja que dando dosis de 1g/kg de peso logró el efecto deseado, atenuando la peroxidación inducida por el fármaco.

Los datos que se obtuvieron en esta investigación, aseguran la relación con lo que sostiene Yazdanparast⁸, quien en su trabajo denominado *Nasturtium officinale* reduce el grado de oxidación y mejora la capacidad antioxidante en ratas hipercolesterolémicas, mencionan que el berro administrándose 500 mg/kg de peso mejora los mecanismos de acción de antioxidantes endógenos como la catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión reducido (GSH) en los tejidos del hígado reduciendo significativamente la peroxidación lipídica.

En el gráfico 1, se observa la variación de la concentración de malondialdehído en los 3 grupos. En el grupo negativo se obtuvo un $\bar{x} = 0.19 \mu\text{mol/L}$, en el grupo de paracetamol $\bar{x} = 1.97 \mu\text{mol/L}$ y por último el grupo de paracetamol + berro con un $\bar{x} = 0.99 \mu\text{mol/L}$. El paracetamol es un fármaco que es glucoronizado y sulfatado en 95% y luego excretado por vía renal. Caso de sobredosis produce daño hepático. El daño incluye la generación de radicales libres de oxígeno (ROS), la cual ataca el ácido araquidónico destruyendo las membranas fosfolípicas de las células con una estabilidad de la misma y después corte celular generando aldehídos que lo usamos como marcadores de lipoperoxidación ocasionado por RL. En la investigación se administró una dosis de paracetamol 500 mg/kg/peso produciéndose un aumento de TBARs, los cuales se forman fundamentalmente de la lipoperoxidación. En dosis altas de paracetamol genera necrosis hepática en tan solo 12 horas, al administrar dosis altas la familia de los citocromos como por ejemplo el CYP2E1, CYP1A2 y CYP3A producen un número elevado de NAPQI ocasiona vaciamiento de las reservas hepáticas de GSH.

V. CONCLUSIONES

- El consumo del berro disminuye la concentración de malondialdehído hepático en *Rattus rattus* var. *albinus*.
- La concentración de malondialdehído en el grupo control negativo, sin inducción hepatotóxica, es correspondiente 0.19 ± 0.16 $\mu\text{mol/L}$.
- La concentración de malondialdehído en el grupo control positivo, con inducción hepatotóxica por paracetamol es correspondiente 1.97 ± 0.80 $\mu\text{mol/L}$.
- Se comparó la concentración de malondialdehído de los grupos control negativo, positivo y experimental que fueron tratados con suero fisiológico, paracetamol y berro entre ellos encontramos una significancia ($p=0.004$).

VI. RECOMENDACIONES

- Los resultados obtenidos en este estudio nos permiten recomendar el consumo del Berro tanto en la zona rural como la urbana, dónde no es muy conocida, con la intención de aprovechar sus propiedades nutricionales y beneficios para la salud, se puede consumir al natural como también en diferentes preparaciones.
- El berro es una crucífera que está en peligro de extinción en nuestro país, incentivaría a la siembra de este producto para la comercialización y abundancia en todo el año.
- Es muy importante incentivar el estudio de todas las propiedades nutricionales del Berro, tanto como micronutrientes, como polifenoles con el objetivo de dar a conocer verazmente los beneficios de esta planta.
- Promover la comparación del efecto del berro en las diferentes regiones del país como internacionales, con la finalidad de evaluar si tiene significativa o no la tiene

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MINSA, dirección general de epidemiología. Análisis de la situación del cáncer en el Perú. Estudio realizado en el Perú [Internet]. 2013[18 de agosto del 2016]1(1):35-52.
2. Arroyo J. et al. Efecto protector en cirrosis hepática inducida en ratas del extracto etanólico de las hojas de *Piper aduncum* comparado con Silimarina. Anales de la Facultad de medicina. [Internet]. 2012 [citado el 20 de abril del 2015]; 73 (2): pp. 85-91.
3. Bustios C, Davalos M, Roman R, Zumaeta E. Características Epidemiológicas y Clínicas de la Cirrosis Hepática en la Unidad de Hígado del HNERM Es Salud. Rev. gastroenterol. Perú [online]. 2007, vol.27, n.3 [citado 2015-09-21], pp. 238-245.
4. OMS (1998). Directrices para el uso apropiado de plantas medicinales. Serie del pacifico occidental No.23. 88 páginas Fuente internet. <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Jh2945e/>
5. Ochoa A, Lopes T. Uso de las plantas medicinales: caracterización preliminar de comunidades rurales del municipio guamá. Universidad de Oriente y Bioeco. 2017.
6. Carbonel K. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso del *Gentianella nítida* en un modelo experimental inducido por paracetamol. [Tesis para obtener el grado académico de magister en Bioquímica]. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
7. Casanova N, et al. Efecto modulador del berro sobre el estrés oxidativo inducido por ciclofosfamida en ratones. MEDICINA (Buenos aires) 2017; 77: 201-206
8. Yazdanparast R, Bahramikia S, Ardestani A. Nasturtium officinale reduces oxidative stress and enhances antioxidant capacity in hypercholesterolaemic rats. Chemico-Biological Interactions 172 (2008) 176–184.
9. Sadeghi H, Mostafazadeh M, Sadeghi H, Naderian M, Jafari M, Sharif M, et al. In vivo anti-inflammatory properties of aerial parts of *Nasturtium officinale*. Pharm Biol, 2014; 52(2): 169–174.

10. Huaman O, et al. Effect of *Bixa Orellana* (achiote) leaves aqueous and hydroethanolic extracts on non-enzymatic indicators of paracetamol hepatotoxicity in rats. *An Fac med.* 2013; 74(4): 279-83.
11. Alan Franciscus y Liz Highleyma, Introducción sobre el Hígado, HOJA INFORMATIVA HCSP, HCSP, VERSIÓN 4 (SP), Noviembre de 2012.
12. Benichou C. Criteria of drug-induced liver disorders. Report of an international consensus meeting. *J Hepatol.* 1990; 11:272-6.
13. Diana K. Russo, Paracetamol, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Belgrano, 2008. Goodman y Gilman, Las bases farmacológicas de la Terapéutica, 12da Edición, España 2012.
14. Ignacio A. Sisamón, Acerca de la hepatotoxicidad del paracetamol, *Revista del Hospital Privado de Comunidad* 2003; vol 6, nº2.
15. Mancipe Liliana, Fernández Diana, Fernández Daniel, Intoxicación por acetaminofén, *Revista Médica de Colombia* 2010, 18(2):221-227.
16. Melgarejo I. et al. Concentración de malondialdehído en sujetos que residen a gran altitud: Estudio exploratorio. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2017; 34(4):677-81.
17. Pally A. efecto protector y regenerativo del etilendiamino tretaacetato (edta) en ratas con daño hepático inducido por paracetamol, arequipa 2013. [Tesis para optar el título profesional de Médico Curijano]. Arequipa, Perú: Universidad Católica de Santa María. 2013
18. Vargas N. Efecto hepatoprotector y antioxidante del extracto y los principios activos de geranium shiedeantum. [Tesis para obtener el grado de Maestra en Ciencias Biomédicas y de la Salud]. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo: Instituto de Ciencias de la Salud, San Agustín Taxiaca Hgo. Al 3 de Diciembre de 2012.
19. Veloz D. Determinación de la actividad hepatoprotectora de boldo (*peumus boldus*) en ratas (*rattus norvegicus*) con intoxicación hepática inducida por paracetamol. [Tesis para Bioquímico Farmacéutico]. Riobamba, Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo: Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia; 2013.
20. Machaca R, Quispe A. Evaluación del efecto hepatoprotector del zumo de *Smallanthus sonchifolius* (yacón), en ratas albinas wistar con intoxicación

- hepática inducida por paracetamol, Puno 2016. [Tesis de Licenciatura]. Puno, Perú: Universidad Nacional del Altiplano, 2016.
21. Navarro A. et al. Evaluación de la actividad antioxidante del berro (*Nasturtium officinale*). Rev Soc Quím Perú. 2008, 74, N° 1 (40-45).
 22. Tejada F. Drug-induced hepatotoxicity. Rev Clin Med Fam vol.3 no.3 Albacete oct. 2010.
 23. Gibson JD, Pumford NR, Samokyszyn VM, Hinson JA. Mechanism of acetaminophen-induced hepatotoxicity: covalent binding versus oxidative stress. Department of Pharmacology and Toxicology, University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock 72205, USA. Chem Res Toxicol. 1996 Apr-May; 9(3):580-5.
 24. Carbonel K. “Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Gentianella nítida* en un modelo experimental inducido por paracetamol”. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, 2017.
 25. Frankel S. Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnostic 7ª Ed. Frakel, Reitman y Sonnenwirth, 1970. P. 123.
 26. Ramos A. Estudio del estrés oxidativo en pacientes que siguen o no un programa de rehabilitación cardiaca. Instituto de nutrición y tecnología de los alimentos “José Mataix”. Granada, 2014.
 27. GARCIA J. Et al. Comparison of tukey, Duncan, dunnett, hsu and bechhofer procedures for selection of means. Mexico 2001. 35: 79-86. Pp: 81-84.
 28. OTERO J. Análisis de varianza (Anova). Universidad Autónoma de Madrid – España. 2005. 0:9. Fecha de acceso [23 de mayo del 2018]. Disponible en: http://www.uam.es/personal_pdi/economica/eva/pdf/anova.pdf.
 29. Wang X. et al. Paracetamol: overdose-induce oxidative stress toxicity, metabolism, and protective effects of various compounds in vivo in vitro. Drug Metab Rev. 2017 Nov;49(4):395-437.

ANEXOS

Anexo 1

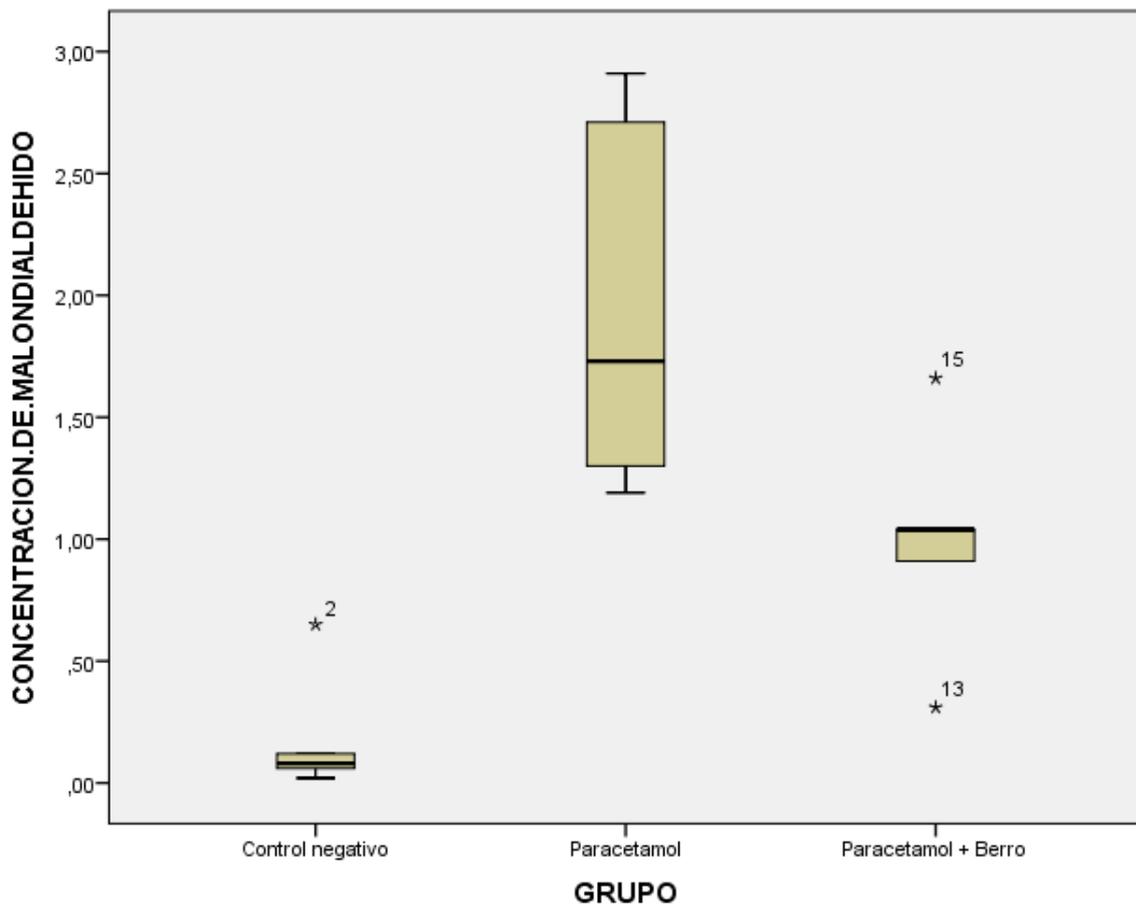
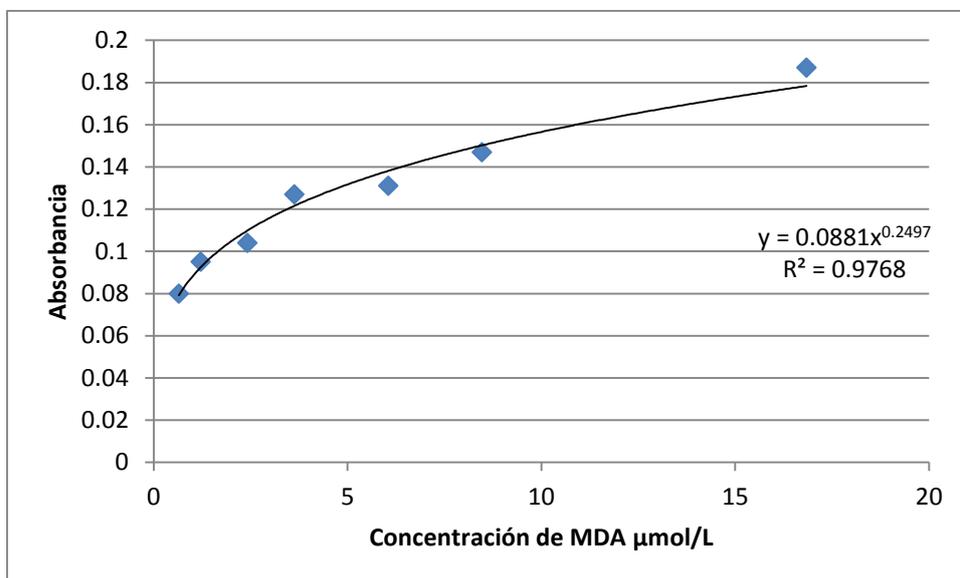


Figura 1. Variación de la concentración de malondialdehido en los diferentes grupos de trabajo según las unidades de absorbancias.

Anexo 2. Gráfico de la curva de calibración de MALONDIALDEHIDO.



Anexo 3. Cuadro para determinar la curva de calibración de malondialdehido por el método de colorimétrico de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Concentración de MDA (μmol/L)	ABSORBANCIA
0.65	0.08
1.21	0.095
2.42	0.104
3.63	0.127
6.05	0.131
8.47	0.147
16.84	0.187

Anexo 4. Imágenes del procedimiento de la preparación del extracto hidroalcohólico del berro



Se compró el berro en el mercado
hermelinda



Se procedió a seleccionar el berro
inocuo



Se agregó dióxido de cloro al 10%
para desinfectar.



Se puso en una tina para poder
lavar



Se extrajo del desinfectante e
inmediatamente se agregó en un
recipiente de cartón



Se puso en un autoclave para
secar el berro





Se pesó el pulverizado



Se pulverizó el berro



Se procedió a hacer el extracto con alcohol y agua destilada



Frasco ambar para el extracto hidroalcoholico



Se midió la concentración de compuestos.



Se hizo el filtrado del extracto.

Anexo 5. Imágenes del procedimiento para determinar la concentración de malondialdehido hepático



Se procedió a depilar el abdomen



Se hizo la incisión en la parte del abdomen para extraer el hígado



Se trituro el hígado con un homogenizador de tejido



Se colocó el hígado en un vaso de precipitación a 5 °C

Anexo 6. Certificado sanitario del bioterio del INS

	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO
CERTIFICADO SANITARIO N° 246- 2018	
Producto : Rata Albina	Lote N° : R - 09- 2018
Especie : <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad : 24
Cepa : Holtzman	Edad : 2 meses ½
Peso : 200 a 250 g.	Sexo : machos
G.R. : 036390	Destino : Dioses Larrea, Edson E.
Lima : 07-09-2018	Trujillo
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p> <p>Chorrillos, 07 de septiembre del 2018 (Fecha de atención y emisión del certificado)</p>	
<p>NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>	 M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586

Anexo 7. Solicitud de permiso del uso de los laboratorios de investigación.



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO
"AÑO DEL DIALOGO Y LA RECONCILIACIÓN NACIONAL"

Trujillo, 18 de Setiembre de 2018

Directora de la escuela de nutrición:

Dra. Maria Gallo Ancajima

Presente:

Es grato dirigimos a Ud. para, saludarle cordialmente y al mismo tiempo manifestarle con respecto a la presente solicitud para que nos autorice hacer uso de los laboratorios con el objetivo de realizar nuestros proyectos de trabajo de investigación.

Esta actividad pertenece al curso del proyecto de investigación del X ciclo que imparten los docentes Mg. Jorge Díaz Ortega y la Dra. Milly Otiniano García quienes aprueban la realización de este trabajo. Para realizar dicha actividad se hará uso de lo siguiente:

N	Estudiante	Trabajo de investigación	Materiales/Equipos	Horario
1	Díoses Larrea Edson Eduardo	EFFECTO DEL NASTURTIUM OFFICINALE SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE MALONDIALDEHIDO HEPATICO EN RATTUS RATTUS VAR ALBINUS CON AGENTE HEPATOTOXICO	Balanza analítica, refrigerador, espectrofotometro, cocina eléctrica, rotavapor, horno eléctrico, homogenizador de tejidos, balanza de animales, centrifuga, pipetas, provetas, tubos de ensayo, vasos de precipitación, micropipetas.	LUNES Laboratorio de investigación S/N de 2:00 pm hasta las 6:20 pm y Aula V 107 de 6:20 pm a 10:00 pm MARTES V 106 3:40 pm a más.
2	Rodriguez Valderrama Lucy Meredith	EFFECTO DEL PETROCILIUM CRISPIUM SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE MALONDIALDEHIDO HEPATICO EN RATTUS RATTUS VAR ALBINUS CON AGENTE HEPATOTOXICO	Balanza analítica, refrigerador, espectrofotometro, cocina eléctrica, rotavapor, horno eléctrico, homogenizador de tejidos, balanza de animales, centrifuga, pipetas, provetas, tubos de ensayo, vasos de precipitación, micropipetas.	LUNES Laboratorio de investigación S/N de 2:00 pm hasta las 6:20 pm y Aula V 107 de 6:20 pm a 10:00 pm MARTES V 106 3:40 pm a más.

T. 18. 9. 18
Mg. Margueta Queda
Díoses Larrea
asesoramiento y
facilidades
Dr. Tepa



Atentamente,

Los testistas
Margueta Queda
Mg. Margueta Queda Pareda
RESPONSABLE DE LABORATORIOS
DE NUTRICION



Anexo 8. Preparación de reactivos

REACTIVO CATALIZADOR (FECL3)

2.7 gr de FeCl₃ → 1000 ml H₂O

X → 200 ml

X = 0.54 gr FeCl₃

ACIDO TIOBARBITURICO

5 gr TBA → 1000 ml H₂O

X → 250 ml H₂O

X → 1.25 gr TBA

REACTIVO ANTIOXIDANTE

BUTIL-HIDROXI-TOLUENO (BHT)

2.2 gr BHT → 1000 ml etanol

X → 250 ml etanol

X = 0.55 gr BHT

DISOLUCION TAMPON DE HCL – GLICOCOLA A pH: 3.5

15.01 gr → 1000 ml H₂O

X → 100 ml H₂O

X = 1.501 gr GLICINA

Dodecilsulfato de sodio

0.3 gr → 100

X → 250 ml

X = 0.75 gr (Detergente)