



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

**EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL *Peumus boldus* “Boldo” EN LA
HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA POR PARACETAMOL EN *Rattus rattus Var Albinus*.**

**TESIS PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE MEDICO
CIRUJANO**

AUTORA:

GUILLÉN CRUZADO, FRANCISCA YESENIA

ASESORES:

DR. PÉREZ BALLENA, GABRIEL ANDRÉS

DR. MARCO ALFARO ANGULO

LINEA DE INVESTIGACION:

MEDICINA ALTERNATIVA

TRUJILLO – PERÚ

2016

PÁGINA DEL JURADO

.....

Mg. FREDY CABRERA DIAZ
PRESIDENTE DEL JURADO

.....

Mg. RICI ELIZABETH PONCE DE LOPEZ
SECRETARIO DEL JURADO

.....

Mg. MARCO ALFARO ANGULO
VOCAL DEL JURADO

.
FECHA DE SUSTENTACIÓN Y APROBACIÓN:

DEDICATORIA

A Dios, por estar conmigo en todo momento, por guiar mis pasos e iluminar mi camino, por darme la fuerzas necesarias para superar obstáculos y por haber puesto a aquellas personas que han sido mi apoyo y me han acompañado durante todo el periodo de estudio

A mis padres, por ser el pilar fundamental en mí vida, por brindarme su apoyo y amor incondicional, por su perseverancia para guiar mi camino y lograr hacer de mí una persona de bien, impulsándome con valores, por los sacrificios que juntos hemos pasado, y por ser los mejores padres del mundo

A mi hermano, por sus consejos, su comprensión, la motivación y por enseñarme a ser perseverante para lograr mis sueños.

A mi abuela, quien estuvo presente en mi vida desde el día que nací, por todo el amor que me brindaste, porque siempre admiré su fortaleza, dándome ejemplos dignos de superación y sé que desde el cielo me guía y la llevo siempre en mi corazón

A mis tíos, primos, amigos y a todas aquellas personas que de una u otra manera han contribuido para el logro de mis objetivos

AGRADECIMIENTO

A Dios porque sin el nada hubiese sido posible, que fue mi principal apoyo para cada día continuar y no dejarme caer ante las adversidades.

A mis padres, quienes fueron mis mayores promotores durante este proceso, quienes estuvieron en todo momento apoyándome y motivando mi formación personal y académica

A mi hermano, a quien admiro y respeto, por su perseverancia para lograr sus objetivos

A mi abuelita porque antes de partir me transmitió las enseñanzas necesarias para poder superar cualquier obstáculo que se me presente en la vida.

A la Universidad Cesar Vallejo, por ser el ente forjador de sabiduría en lo profesional y personal, gracias a su metodología de enseñanza en la que partimos de nuestra realidad. A mis docentes que con esmero, exigencia y entrega me compartieron sus conocimientos preparándome a ser cada día mejor.

A mis Asesores, por ser pacientes, comprensivos y educadores en la carrera profesional como en la vida, en especial doy gracias al Doctor Gabriel Pérez Ballena y al Doctor Marco Alfaro quien con mucha perseverancia, paciencia, afecto y apoyo me han brindado su tiempo necesario para guiarme y enseñarme a alcanzar un logro deseado y de esta manera a garantizar el éxito de mi trabajo,

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, **FRANCISCA YESENIA GUILLÉN CRUZADO**, estudiante del Programa Gestión de los Servicios de la Salud, de la Escuela de Postgrado de la Universidad César Vallejo, identificada con DNI **70271668**; con la tesis titulada: **EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL *Peumus boldus* “Boldo” EN LA HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA POR PARACETAMOL EN *Rattus rattus Var Albinus*.**

Declaro bajo juramento que:

- 1) La tesis es de mi autoría.
- 2) He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
- 3) La tesis no ha sido auto plagiado; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
- 4) Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

De identificar la falta de fraude (datos falsos), plagio (información sin citar a autores), auto plagio (presentar como nuevo algún trabajo de investigación propio que ya ha sido publicado), piratería (uso ilegal de información ajena) o falsificación (representar falsamente las ideas de otros), asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 6 de Diciembre 2016.

Guillén Cruzado, Francisca Yesenia

N° DNI: 70271668

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 HEPATOPROTECTOR DEL *Peumus boldus* “Boldo” EN LA HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA POR PARACETAMOL EN *Rattus rattus Var Albinus*, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano. Tiene como objetivo general: Determinar el efecto hepatoprotector del *Peumus boldus* en hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus rattus var albinus*. Y como objetivos específicos, determinar la función hepática en *Rattus rattus var albinus* antes y después de la administración de paracetamol y boldo, determinar la función hepática en *Rattus rattus var albinus* antes y después de la administración de paracetamol, comparar la función hepática de ambos grupos de estudio, describir la histología hepática en *Rattus rattus* después de la administración de paracetamol, describir la histología hepática en *Rattus rattus* después de la administración de paracetamol y boldo.

La Autora

Índice

	<i>Pág.</i>
PÁGINA DEL JURADO.....	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	v
PRESENTACIÓN	vi
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUCCION.....	11
1.1. Realidad Problemática.....	11
1.2. Trabajo previos	13
1.3. Teorías relacionadas al tema	15
1.4. Formulación del Problema	19
1.5. Justificación.....	19
1.6. Hipótesis	20
1.7. Objetivos	20
II. MÉTODO	21
2.1. Variables	21
2.2. Operacionalización de variables	21
2.3. Tipo de estudio	22
2.4. Diseño de investigación.....	22
2.5. Población y muestra.....	23
2.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	24
III. RESULTADOS.....	28
IV. DISCUSIÓN.....	34
V. CONCLUSIONES.....	36
VI. RECOMENDACIONES.....	37
VII. REFERENCIAS	38
VIII. ANEXOS	44
ANEXO 1	44

ANEXO 2	46
ANEXO 3	47
ANEXO 4	48
ANEXO 5	49
ANEXO 6	49
ANEXO 7	50
ANEXO 8	50
ANEXO 9	51

RESUMEN

El paracetamol es el analgésico más usado a nivel mundial, siendo la hepatotoxicidad un evento común. El boldo posee compuestos activos, entre ellos la boldina a la que algunos estudios le atribuyen propiedades hepatoprotectoras.

Con la finalidad de evaluar el efecto hepatoprotector del *Peumus boldus* en hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus rattus var albinus*, se realizó un estudio experimental en 16 ejemplares de *Rattus rattus var albinus* 8 del grupo paracetamol y 8 del grupo paracetamol más boldo a quienes se realizó dosaje de TGO, TGP, FA, PT y F, BT y F. Posteriormente se aplicó la prueba t para la comparación de medias para muestras independientes con una confiabilidad del 95%.

El estudio reportó que TGO es mayor en el grupo de paracetamol, lo mismo para la FA, el descenso de peso en gramos de *Rattus rattus var albinus* fue mayor en el grupo de solo paracetamol, pero no fue significativo. En relación al peso del hígado este fue significativamente mayor en el grupo paracetamol, no hubo diferencias significativas en relación a largo, ancho y altura del hígado. En relación a la descripción histológica, el grupo boldo más paracetamol presentó arquitectura hepática normal a diferencia del grupo paracetamol solo, en el que se observó marcada vacuolización perilobulillar alterando la normal arquitectura del hepatocito, estuvo presente también la congestión vacuolar y dilatación sinusoidal.

El estudio concluye que *Peumus boldus* posee efecto hepatoprotector en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en *Rattus rattus var albinus*.

Palabras clave: efecto hepatoprotector, *Peumus boldus*, *Rattus rattus var albinus*, paracetamol, hepatotoxicidad.

ABSTRACT

The paracetamol is the most used analgesic to world-wide level, being the hepatotoxicidad a common event. The boldo possesses compounds active, between them the boldina to which some studies attribute him properties hepatoprotectoras.

With the purpose to evaluate the effect hepatoprotector of the *Peumus boldus* in hepatotoxicidad induced by paracetamol in *Rattus rattus var albinus*, realized an experimental study in 16 copies of *Rattus rattus var albinus* 8 of the group paracetamol and 8 of the group paracetamol more boldo to those who realized dosaje of TGO, TGP, FA, PT and F, BT and F. Later it applied the proof t for the comparison of averages for independent samples with a confiabilidad of 95%.

The study reported that TGO is greater in the group of paracetamol, the same for the FA, the descent of weight in grams of *Rattus rattus var albinus* was elder in the group of alone paracetamol, but was not significant. In relation to the weight of the liver this went significantly greater in the group paracetamol, there were not significant differences in relation to long, width and height of the liver. In relation to the description histological, the group boldo more paracetamol presented normal hepatic architecture unlike the group alone paracetamol, in which it observed marked vacuolización perilobulillar altering the normal architecture of the hepatocyte, was present also the congestion vacuolar and sinusoidal dilatation.

The study concludes that *Peumus boldus* has an effect hepatoprotector in the hepatic toxicity induced by paracetamol in *Rattus rattus var albinus*.

Keywords: effect hepatoprotector, *Peumus boldus*, *Rattus rattus var albinus*, paracetamol, hepatotoxicidad.

I. INTRODUCCION

1.1. Realidad Problemática

El paracetamol es actualmente el analgésico más usado a nivel mundial (1), en España es la mayor, o que convierte a la intoxicación por paracetamol en un evento común, siendo en Estados Unidos la hepatotoxicidad más común reportada con un 39% (2).

Por razones éticas no se puede realizar estudios experimentales en humanos(3), razón por la que se utilizan animales, siendo la especie *Rattus rattus var albinus* una de las más utilizadas (4). Sin embargo existen regulaciones que impiden el sufrimiento innecesario y limitan el número de especímenes a utilizar en un determinado estudio (5).

La presente investigación se realizó en 16 especímenes de *Rattus rattus var albinus*, al grupo control se le administró paracetamol con la finalidad de ocasionar episodios de hepatotoxicidad y en el grupo experimento se trata de corregir la hepatotoxicidad con el uso concomitante de *Peumus boldus*.

En la actualidad se observa el incremento del número de casos de hepatotoxicidad asociada a la ingesta de diversos fármacos entre ellos el paracetamol(6).

Se afirma que el daño hepático inducido por fármacos se reporta como la causa frecuente de muerte por fallo hepático agudo siendo aproximadamente el 10% a nivel mundial(7). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) el paracetamol es hepatotóxico y debe evitarse en dosis altas (8). Un estudio de casos de insuficiencia hepática aguda entre noviembre de 2000 y octubre de 2004 por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los EE.UU. encontró que el paracetamol fue la causa del 41% de todos los casos en los adultos y el 25% de los casos en niños (9).

La toxicidad hepática por medicamentos, por drogas de abuso y/o productos herbolarios de la medicina alternativa se ha convertido en un problema de salud

pública que afecta cada vez a un número mayor de personas y servicios de salud incluyendo las agencias reguladoras (10).

El diagnóstico de una hepatotoxicidad no es sencillo e incluso puede prolongarse en el tiempo y llegar a ser tardío, debido al diagnóstico diferencial alternativo al daño hepático(11). Los estudios demuestran que con mucha frecuencia no existe un tratamiento efectivo para la toxicidad hepática producida por fármacos, a excepción de la inducida por paracetamol. Por lo que diversos autores han propuestos distintos productos como posibles protectores de la injuria hepática por paracetamol debido a su capacidad antioxidante y a que no interfieren con las acciones terapéuticas de los fármacos (12).

En teoría aquellos productos que disminuyan el estrés oxidativo serían capaces de disminuir o prevenir el daño hepático inducido por paracetamol. Dentro de ellos se han estudiado a la silimarina, cimetidina, n – acetilcisteína y el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF). Sin embargo, éstos suelen no estar al alcance de la población general debido a sus elevados costos. Al contrario de los productos naturales, los cuales son accesibles a la mayoría de estratos de nuestro país, como por ejemplo el *Peumus boldus* “boldo” (12).

El uso de la medicina alternativa se ha incrementado a nivel mundial(13). En el Perú, el uso de la medicina alternativa oscila entre un 30 a 70% así se tiene que un estudio realizado en un hospital de Lima indicó su uso en un 70% y otro estudio en hospitales de provincia, reportó 40,4% conocen la terapia alternativa y el 33% acepto haberla utilizado (14). Diversos productos naturales se emplean para el tratamiento de enfermedades hepáticas, dentro de ellos el *Peumus boldus*(15).

El boldo posee diversos compuestos activos, dentro de ellos, se hallan alcaloides, flavonoides y aceites esenciales, siendo la boldina la más abundante y a la que se le atribuyen propiedades hepatoprotectoras(16). Existen investigaciones que sustentan que el boldo tiene propiedades hepatoprotectoras, siendo por tanto nuestro interés probar si ello realmente existe para fomentar su empleo por su bajo costo, fácil disponibilidad y administración y por no requerir mayor supervisión (17).

1.2. Trabajo previos

Veloz D (18) (Ecuador, 2013), realizó un estudio para determinar la actividad hepatoprotectora del *Peumus boldus* en *Rattus norvegicus* sometidos a hepatotoxicidad por paracetamol, realizó un estudio experimental utilizando 9 ratas, divididas en 3 grupos: A (control positivo: paracetamol más silimarina), B (control negativo: paracetamol más boldo), C (blanco: ningún tratamiento). Confirmó la presencia de compuestos secundarios como alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y triterpenos en cantidades considerables en el boldo. Se evidenció actividad hepatoprotectora a nivel morfológico, pues en el grupo al cual se le administró el extracto acuoso de boldo al 100 % se halló un 10 % de destrucción hepática, mientras que en el que se le administró el extracto acuoso al 66 % se halló un 50 % de destrucción hepática y en el que se administró el extracto acuoso al 33 %, se halló un 85 % de destrucción hepática.

Yovera-Leyva E (19) realizó un estudio en Perú el 2015 buscando evaluarla hepatoprotección de *Peumus boldus* en la toxicidad por isoniazida en ratas Holtzman hembra, realizó un estudio experimental en 24 ratas; se midieron el peso, las bilirrubinas, TGO, TGP proteínas totales y fraccionadas. A la conclusión del estudio se pudo demostrar que el extracto acuoso de *Peumus boldus* presentó actividad hepatoprotectora en la hepatotoxicidad inducida de forma experimental con isoniazida en ratas de raza Holtzman hembras.

Olivares J L(20) (Perú, 2015) realizó un estudio experimental, teniendo como objetivo el determinar el efecto protector de *Peumus boldus* en la hepatotoxicidad inducida por rifampicina en ratas, por lo que realizó un estudio experimental en 24 ratas, divididas en 4 grupos: A (control), B (rifampicina 100 mg/kg), C (silimarina 200 mg/kg y rifampicina 100 mg/kg) y D (boldo 160 mg/kg y rifampicina 100 mg/kg). Se reportó que las ratas del grupo B perdieron más peso (16,41 +/-17,94 gr), presentaron una mayor elevación de bilirrubinas totales (0,25+/-0,13), bilirrubina directa (0,21 +/-0,12), TGP (48,83 +/-17,72) y sus hígados fueron más congestivos, pesaron y midieron más. Las proteínas totales (0,66 +/- 0,38) y albúmina (0,33 +/- 0,35) del grupo B fueron menores comparado con los grupos C y D. No se halló diferencia significativa

en cuanto a la bilirrubina indirecta, globulina y TGO. Los hígados del grupo B mostraron mayores cambios histopatológicos (5,33 +/-0,51) en comparación con los demás grupos. Se concluye que las hojas de *Peumus boldus* tiene efecto protector en la toxicidad hepática inducida por rifampicina.

Ochoa C (21) (Perú, 2008) realizó un estudio experimental con la finalidad de determinar la hepatoprotección del extracto acuoso de *Peumus boldus* en el daño hepático inducido por paracetamol, realizó un estudio experimental en 30 ratas las que se dividieron en 5 grupos aleatoriamente, grupo blanco, control paracetamol 200mg/kg y 3 experimentales tratados con extracto acuoso de *Peumus boldus* (EAB) a 80 mg/kg, 120 mg/kg y 160 mg/kg respectivamente vía orogástrica. El estudio reportó que existe diferencia significativa en los niveles de transaminasas, el grupo boldo presentó histológicamente menos destrucción hepática. El estudio concluye que *Peumus boldus* "boldo" presenta un efecto protector al daño hepático inducido por paracetamol en ratas Holtzmann.

Figuereido M et al (15) (Brasil, 2016) evalúan el efecto del extracto acuoso de *Peumus boldus* sobre la respuesta proliferativa de hígado después de la hepatectomía parcial del 70%, realizaron un estudio experimental en 20 ratas, 10 del grupo experimento y 10 del grupo control el grupo experimento recibió 100 mg/kg de extracto acuoso de *Peumus boldus*. El estudio encontró que el grupo *experimento* presentó de forma significativa una mayor proliferación de los hepatocitos, concluyendo el estudio que el extracto de *Peumus boldus* administración aguda ejerce un efecto positivo significativo en la regeneración del hígado después de 24 horas en las ratas que fueron sometidos a hepatectomía parcial, manteniendo al mismo tiempo la función hepática sin cambios.

Lanhers M et al (22) el año 1991 investigan el efecto hepatoprotector del extracto hidro alcohólico de *Peumus boldus*, realizaron un estudio de *revisión* de alcance mundial, investigando el efecto hepatoprotector, su efecto colerético y antiinflamatorio en ratones y ratas con el fin de validar o invalidar las indicaciones terapéuticas tradicionales. Este estudio afirma que se ejerció una hepatoprotección significativa en hepatotoxicidad inducida en hepatocitos de ratas aisladas (in vitro),

estos resultados se vieron reforzada por una hepatoprotección significativo sobre la hepatotoxicidad inducida en ratones (en técnica vivo), el extracto de la planta la redujo la elevación de la fosfatasa alcalina, los estudios proponen que la boldina el principal alcaloide de *Peumus boldus* parece estar implicado en esta actividad. Esta revisión no pudo evidenciar los efectos coleréticos, pero si hay evidencia de efectos antiinflamatorios significativos, aunque la boldina no parece estar implicado en ellos.

1.3. Teorías relacionadas al tema

El paracetamol es un analgésico que tiene medio siglo de uso, considerado eficaz y seguro, pese a que el daño hepático producido se documentó desde 1966, información que a la fecha ha ido en aumento. Actualmente la toxicidad es causa importante de mortalidad en muchos países. Su pronóstico está asociado al reconocimiento oportuno de su ocurrencia lo que permite el inicio de las medidas terapéuticas específicas en forma adecuada y temprana (17,23).

La dosis de paracetamol oscila entre 10 y 15 mg/kg en niños, 250 y 1000 mg en adultos, teniendo como dosis máxima 80 mg/kg en niños y 4 g en adultos al día. La dosis tóxica mínima es de 150 mg/kg para niños y 10 g para adultos, esta dosis está sujeta a variaciones dependiendo de los niveles basales de glutatión entre otros factores. El paracetamol ingerido por vía oral se absorbe rápidamente, llegando a concentraciones máximas en plasma a las 2 horas de la ingesta. La concentración sérica terapéutica oscila entre 10 y 20 µg/mL, siendo su vida media de 2 a 4 horas (23,24).

El paracetamol es glucuronizado y sulfatado en el hígado hasta un 90%, se elimina por vía urinaria. Del 10% restante, la mitad es excretada directamente por los riñones y el resto se metaboliza por el citocromo P450. Las subfamilias CYP2E1, 1A1 y 3A4 propias de este citocromo modifican al paracetamol en N-acetil-p-benzoquinonemina, un metabolito intermedio pero altamente reactivo y electrofílico(24,25). Este se une de forma covalente a macromoléculas del hepatocito, ocurriendo estrés oxidativo, inflamación y necrosis hepatocelular. Posteriormente es conjugado con glutatión y como resultado se tiene la cisteína y mercaptano, que no son tóxicos(26). Cuando

ocurre una ingesta alterada de paracetamol (sobredosis), las otras vías se saturan y una proporción mayor del medicamento va a la vía del citocromo. Cuando las reservas de glutatión hepático descienden por debajo de un 30 %, se pierde el equilibrio y el NAPQI libre intoxica al hepatocito mediante un enlace covalente al locus neutrofílico de determinadas proteínas intracelulares, como consecuencia puede ocurrir la muerte celular(27).

Es lógico comprender que el uso continuo de paracetamol o una sobredosis, pueden ocasionar hepatotoxicidad y nefropatía, debidas a la producción de un metabolito oxidativo en el hígado y el riñón, que puede llevar a la muerte celular al unirse con proteínas que contengan azufre. La toxicidad hepática puede reducirse mediante la administración de N-acetilcisteína, pero esta “antídoto” no ayuda con el riñón(18). La toxicidad se incrementa cuando están de por medio inductores del citocromo P450, con fármacos que compiten en la conjugación del paracetamol los cuales van a favorecer la formación del metabolitos tóxicos, sobre todo cuando están reducidas las reservas de glutatión, es el caso del alcoholismo y la malnutrición(28).

La toxicidad hepática medicamentosa se define como el daño producido por un xenobiótico al hígado, alterando su función. La importancia de reconocer este cuadro radica en su potencial morbimortalidad, pudiendo en algunos casos llegar a una hepatitis fulminante; constituyendo este efecto adverso la primera causa de retiro de medicamentos del mercado por parte de la industria farmacéutica (27). La toxicidad hepática inducida por paracetamol puede determinarse de acuerdo a los criterios establecidos por el Centro de Evaluación e Investigación de Medicamentos de la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA) y la Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas(28,29). Dichos criterios son como siguen: elevación de las transaminasas más de tres veces por encima de su límite superior normal y dos veces en el caso de la fosfatasa alcalina, no asociado a síntomas; elevación más de tres veces el límite superior normal de las transaminasas, asociado a síntomas; elevación mayor de cinco veces el límite superior normal de las transaminasas con o sin síntomas y el incremento de las bilirrubinas más de dos veces el valor normal(28).

El boldo es un árbol verde, que crece en los Andes de Chile, Argentina y sierra sur del Perú; el cual ha sido utilizado tradicionalmente como hepatoprotector. Éste alcanza la altura de hasta 30 m y tiene un diámetro superior a 1 m, corteza delgada y rugosa de color pardo. Posee flores blanquecinas de 7 pétalos y son unisexuadas, posee además frutos de pequeño tamaño, color verde y sabor dulce, hojas opuestas de forma ovalado-elípticas, haz de color verde oscuro, de textura áspera al tacto, envés glauco y piloso y nervadura muy notoria, su clasificación taxonómica corresponde a división magnoliophyta, clase magnoliopsida, subclase magnolidiae, orden laurales, familia mionimiaceae, género *Peumus* y especie *Peumus boldus molina*(30).

Los procesos químicos y los estudios han permitido aislar hasta 20 alcaloides, los principios activos de las hojas del boldo, destacándose entre ellos la boldina, contiene aceite esencial, flavonoides y taninos. Estas sustancias proporcionan la acción digestiva y protectora hepática (31). La boldina confiere el aroma y la esencia a la planta y es responsable del sabor amargo de la planta, e incluso se puede transmitir a la orina cuando se ingiere durante un tiempo prolongado; y es a ella a la que se le atribuyen propiedades hepatoprotectoras, antioxidantes, antiespasmódicas, sedativas, reguladoras de la función hepática y antimicrobianas. Este compuesto posee la siguiente estructura principal: (S) – 2,9-dihydroxy – 1, 10 – dimethoxyaporphine(32–34).

El consumo de boldo estimula la producción de bilis y su salida hacia el intestino, lo cual favorece la digestión y combate los síntomas derivados de un mal funcionamiento del hígado o de la vesícula. Es conveniente que su utilización no supere las 4 semanas, pues se han observado casos de intoxicación. Además el boldo es capaz de estimular los sistemas de detoxificación hepática como los sistemas enzimáticos de catalasa y superóxido desmutasa. Aunque existe evidencia de los efectos benéficos de esta planta, no es recomendable su utilización en el embarazo y la lactancia debido a que no existe evidencia que sugiera que produzca enfermedades en el lactante ni abortos espontáneos. Asimismo, algunos reportes han sugerido un efecto neurotóxico asociado al consumo de boldo(35,36).

Paracetamol

Fármaco para-aminofenólico derivado de la anilina que posee propiedades analgésicas y antipiréticas pero a diferencia de la aspirina no tiene actividad antiinflamatoria periférica ni es capaz de afectar la función plaquetaria(25,27).

Boldo

Es un árbol de las monimiáceas, nativo de América del Sur; sus hojas poseen un fuerte aroma vegetal, los cuales han sido utilizados tradicionalmente como hepatoprotector. Dentro de sus principios activos destaca la boldina, el cual le confiere dicho efecto(25,27).

Tratamiento hepatoprotector

Tratamiento con una sustancia con la capacidad de proteger al hígado bloqueando algunos agentes hepatotóxicos, mejorando el funcionalismo de la célula hepática (37–39).

Efecto hepatoprotector

Es la consecuencia o resultado de proteger al hígado luego de la administración de un determinado tratamiento que contiene sustancias que propician este efecto(12,21).

Hepatotoxicidad

Es el desarrollo de un trastorno que afecta a la función o estructura de cualquier componente anatómico del hígado, el mismo que puede ser atribuido a la ingesta de algún agente, compuesto químico u orgánico, usualmente el efecto se relaciona de forma directa con el tiempo de dicha exposición(20,24,25).

Efecto

Es la capacidad de alcanzar el efecto que espera o se desea en una enfermedad tras la aplicación o administración de un determinado medicamento(39,40).

Por todo lo anterior se formula el siguiente problema:

1.4. Formulación del Problema

Por lo anterior se formula el siguiente problema:

¿Posee el *Peumus boldus* “boldo” efecto hepatoprotector en la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus rattus var albinus*?

1.5. Justificación

La toxicidad hepática inducida por fármacos es un problema de salud pública a nivel mundial y nacional cuya incidencia se ha incrementado debido a la automedicación y el uso indiscriminado, siendo en mayor porcentaje por el paracetamol(7). La falta de estudios locales, regionales y la escasez y antigüedad de estudios nacionales, así como la percepción que existiría un sub registro de casos asociados a reportes sobre uso indiscriminado del paracetamol nos motivó a realizar la presente investigación(17,18).

La medicina alternativa complementaria posee ciertos beneficios frente a la medicina convencional. Es así que el *Peumus boldus* “boldo” debido a las propiedades que posee es usado como tratamiento en la hepatotoxicidad, gracias a su bajo costo, bajo riesgo si es utilizada adecuadamente, al no generar dependencia, resistencia y al ser más aceptable por la población. Además posee una visión holística, humanitaria e individualizada del paciente, y mejor efecto terapéutico y paliativo en enfermedades crónicas y terminales(13).

Más del 80 % de la población mundial utiliza preparaciones botánicas como medicina tradicional, dentro de éstas el *Peumus boldus*(13). Sin embargo, ello se hace sin conocer las bases científicas de las propiedades de estas plantas y en muchos casos sin que existan estudios científicos al respecto(41). De ser satisfactorios los resultados de esta investigación, pensamos que servirían de base para la realización de otros trabajos de esta índole buscando eventualmente hacer ingresar al *Peumus boldus* dentro del programa de salud para prevención del daño hepático, hecho que se facilitaría ya que existe gran disponibilidad en nuestro país. Es por ello que esta

investigación pretende generar evidencia científica para la utilización de ésta planta medicinal accesible a todos los estratos de la población peruana.

1.6. Hipótesis

El *Peumus boldus* posee efecto hepatoprotector en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en *Rattus rattus var albinus*.

1.7. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

- Determinar el efecto hepatoprotector del *Peumus boldus* en hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus rattus var albinus*.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar la función hepática en *Rattus rattus var albinus* antes y después de la administración de paracetamol y boldo.
- Determinar la función hepática en *Rattus rattus var albinus* antes y después de la administración de paracetamol.
- Describir la histología hepática en *Rattus rattus* después de la administración de paracetamol.
- Describir la histología hepática en *Rattus rattus* después de la administración de paracetamol y boldo.
- Comparar la función hepática e histológica de ambos grupos de estudio.

II. MÉTODO

2.1. Variables

- Variable Independiente: Tratamiento hepatoprotector
- Variable dependiente: Efecto del tratamiento hepatoprotector

2.2. Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
(Independiente) Tratamiento Hepatoprotector	Tratamiento con una sustancia con la capacidad de proteger al hígado bloqueando algunos agentes hepatotóxicos, mejorando el funcionalismo de la célula hepática (8,12).	<p>Se estudiarán 2 grupos:</p> <p><u>Grupo A:</u> Se considerará 200mg/kg de paracetamol, administrada diariamente por canulación gástrica.</p> <p><u>Grupo B:</u> Se considerará 200mg/kg de <i>Peumus boldus</i> por canulación gástrica y una hora después 200mg/kg de paracetamol diariamente.</p>	Si / No	Cualitativa Nominal
(Dependiente) Efecto Hepatoprotector	Es la consecuencia o resultado de proteger al hígado luego de la administración de un determinado tratamiento que contiene sustancias que propician este efecto (8,12).	El efecto hepatoprotector consistirá en hallazgos de normalidad bioquímica e histológica al finalizar el estudio.	Si/No	Cualitativa Nominal

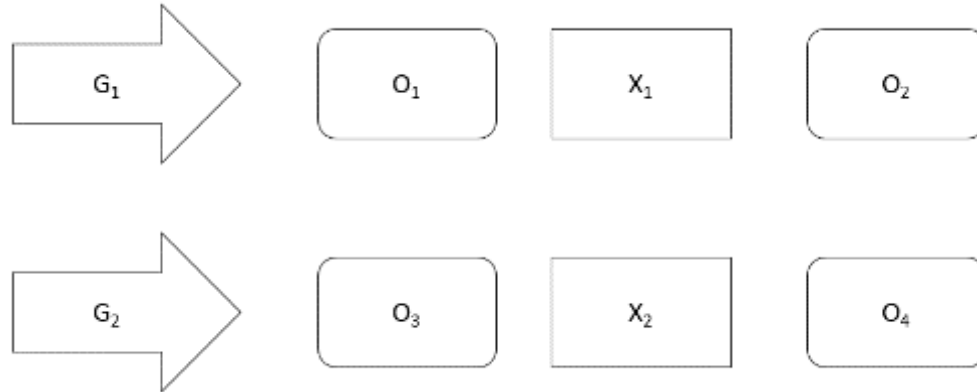
2.3. Tipo de estudio

Por la naturaleza de los datos es cuantitativa, por el grado de abstracción es básica, por el nivel de análisis es explicativa, por la manipulación de variables es experimental.

2.4. Diseño de investigación

Es un estudio de tipo experimental, diseño de 2 casillas con pre-prueba y post-prueba.

Diseño específico



Dónde:

- G₁ y G₂: *Rattus rattus* var albinus.
- X₁: Tratamiento con paracetamol.
- X₂: Tratamiento con paracetamol y boldo.
- O₁ y O₃: Perfil hepático bioquímico antes del tratamiento.
- O₂ y O₄: Perfil hepático bioquímico e histológico al finalizar el tratamiento.

2.5. Población y muestra

2.5.1. Población

Estuvo constituida por 16 ratas albinas adultas, procedentes del bioterio de ciencias biológicas de la Universidad Agraria la Molina. Se dividen en 2 grupos: 8 de ellas pertenecen al grupo que recibe solo paracetamol y 8 ratas que reciben boldo más paracetamol.

Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

- *Rattus rattus var albinus* cuyo peso oscila entre 200-300gr, con 3 a 4 meses de edad.
- *Rattus rattus var albinus* de la misma especie y/o subespecie.

Criterios de exclusión

- *Rattus rattus var albinus* con alguna enfermedad evidente.

2.5.2. Muestra

El tamaño de muestra está en función de las características del estudio, para ser medido cuantitativamente mediante análisis de medias. Se empleó la fórmula que se muestra en el anexo 9 (42,43). Para cada espécimen de *Rattus rattus var albinus* se asignó aleatoriamente un individuo de control.

Se obtuvo una muestra de 16 ratas 8 ratas por cada grupo, además la selección del tratamiento que recibirán cada uno se realizará en forma aleatoria. Finalmente el tamaño de muestra estuvo constituida por 16 ratas albinas adultas las cuales fueron

distribuidas en 2 grupos de estudio, seleccionados aleatoriamente del bioterio de ciencias biológicas de la Universidad Agraria la Molina.

Unidad de análisis

Rattus rattus var albinus que cumplió con los criterios de selección.

2.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

La técnica es la observación directa de los hechos mediante la experimentación con animales.

Los animales fueron colocados en jaulas individuales de acero inoxidable en un el Laboratorio de Fisiología de La Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Cesar Vallejo.

Los animales tendrán un periodo de aclimatación de 7 días, con ciclos alternados de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, en un ambiente estándar de temperatura ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) y humedad constantes ($55 \pm 5\%$). Estos rangos serán mantenidos mediante la utilización de un termostato conectado a un calefactor en el caso de la temperatura y una bola seca en el caso de la humedad relativa. Ambos parámetros serán controlados utilizando un higrotermómetro.

Se alimentará a las ratas con 20 gramos de ratina al día (dieta normocalórica y normoproteica) y agua ad libitum. Posteriormente los animales serán divididos en 2 grupos homogéneos y equitativos de manera aleatoria.

Posteriormente los animales serán divididos en 2 grupos homogéneos y equitativos de manera aleatoria.

Antes del experimento, se pesará y obtendrá una muestra arterial por punción cardiaca de cada rata para los análisis basales de enzimas hepáticas TGO, TGP, GGT, FA, bilirrubinas totales y fraccionadas; y proteínas totales y fraccionadas.

Los animales fueron tratados, diariamente por 5 días, de acuerdo al siguiente protocolo: Grupo A: Éste grupo estuvo constituido por 8 ratas a las que se les

administrara un dosis por canulación gástrica diaria de acetaminofén (200 mg/kg). Grupo B: Éste grupo estuvo constituido por 8 ratas a las que se les administró una dosis por canulación gástrica diaria extracto acuoso de hojas de Boldo (*Peumus boldus*) 200 mg/kg y una hora después acetaminofén (200 mg/kg).

Al finalizar el experimento, se obtendrá 1 ml de sangre arterial por punción cardiaca para el análisis control de enzimas hepáticas TGO, TGP, GGT, FA, bilirrubinas totales y fraccionadas; y proteínas totales y fraccionadas.

Los animales serán sacrificados por el método de degollamiento y se obtendrán los hígados intactos para análisis histopatológico.

Obtención del extracto fluido de *Peumus boldus*, se detalla en el Anexo 1

Obtención de muestra sanguínea y análisis bioquímico: detalle en el Anexo 2

Análisis histológico:

Luego de terminada la experimentación, se sacrificará las ratas y se obtendrán los hígados intactos, los cuales serán lavados en suero fisiológico y se realizará el examen macroscópico siguiendo los siguientes parámetros: Color: Cada hígado será descrito de acuerdo a las características que presente (rojo vinoso, rojo pálido, moteado o moteado con áreas azul violetas). Tamaño: Se medirá el largo y ancho de cada hígado en centímetros. Peso: Se pesará cada hígado en una balanza electrónica, previamente calibrada. Aspecto: Se observará el aspecto que presente cada hígado (no congestivo o congestivo).

Se realizaron cortes de 0,5 x 1,0 cm de espesor y se coloraron 4 pedazos de cada hígado, en casetes individuales y serán conservados en formol neutro por 48 horas. Posteriormente, éstos se deshidratarán, embeberán en parafina y se colorearán con Hematoxilina-eosina (HE) para su estudio histológico. Para esta última fase de dicho proceso se contará con la ayuda de un personal experto en corte y tinción de tejidos de la Universidad Cesar Vallejo.

Se obtendrá 1 lámina representativa de cada hígado y se observarán 10 campos de cada lámina mediante el microscopio de luz a 400x. Las láminas serán observadas

con ayuda y supervisión de un médico Anatómo Patólogo experto y valoradas utilizando una escala semi-cuantitativa, con los siguientes parámetros:

- Núcleos picnóticos y vacuolización perinucleolar.
- Congestión vascular sinusoidal y dilatación sinusoidal.
- Número de células de Kupffer activadas.

Cada uno de éstos parámetros fue valorado de 0 a 3, como sigue: 0: ausente, 1: leve, 2: moderado y 3: marcado.

Instrumento de recolección de la información

Para la presente investigación se diseñó la ficha de Recolección de Información que se adjunta en el anexo 3, 4, 5, 6, 7, 8 el cual se ha validado mediante el juicio de expertos de docentes del departamento de Fisiología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo.

2.7. Métodos de análisis de datos

Los datos obtenidos fueron procesados utilizando el paquete estadístico SPSS versión 23.

Estadígrafo descriptivo. Se presentará mediante medidas de tendencia central, medidas de dispersión (desviación estándar).

Estadígrafo analítico: Se utilizará en análisis para la diferencia de medias, determinándose como significativas entre ambos tratamientos para un $p < 0,05$ y altamente significativos para un valor $p < 0,01$.

2.8. Aspectos éticos

Se aplicaron las sugerencias de la guía de manejo de animales de laboratorio de los animales utilizados en experimentos. Esta guía determina los cuidados y el tratamiento que deben recibir, desde la forma de alojarse en jaulas lo suficientemente grandes y en un entorno adaptado en este caso a los ratones. Los métodos de sacrificio evitarán el dolor, sufrimiento y angustia innecesaria de los animales.

Estipula también que solo personas capacitadas realizarán el sacrificio de los animales (44).

III.RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados en tablas.

Tabla 1. Efecto hepatoprotector de *Peumus boldus* en la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus rattus Var Albinus*.

	TGO Antes $\bar{X} \pm S_x$	TGO Después $\bar{X} \pm S_x$	Significancia
TGO			
Paracetamol	148,3±37,3	174,1±46,3	0,001
Boldo + Paracetamol	149,1±18,6	132,0±30,0	0,002
TGP			
Paracetamol	54,00±11,90	63,78±10,99	0,95
Boldo + Paracetamol	61,00±15,29	55,00±17,16	0,37
Bilirrubinas Totales			
Paracetamol	0,42±0,20	0,32±0,1	0,12
Boldo + Paracetamol	0,32±0,02	0,29±0,1	0,75
Bilirrubina Directa			
Paracetamol	0,11±0,05	0,15±0,04	0,147
Boldo + Paracetamol	0,10±0,04	0,14±0,05	0,171
Bilirrubina Indirecta			
Paracetamol	0,31±0,16	0,18±0,08	0,01
Boldo + Paracetamol	0,21±0,04	0,16±0,13	0,29
Fosfatasa Alcalina			
Paracetamol	33,11±17,02	153,78±54,84	0,00
Boldo + Paracetamol	39,75±7,15	82,88±24,99	0,01
GGT			
Paracetamol	6,89±5,35	6,89±1,45	1,00
Boldo + Paracetamol	7,75±2,71	8,00±3,855	0,91
Proteínas Totales			
Paracetamol	6,47±0,30	5,71±0,45	0,02
Boldo + Paracetamol	6,61±0,20	5,51±0,62	0,01
Albúmina			
Paracetamol	3,89±0,21	4,13±0,26	0,49
Boldo + Paracetamol	3,87±0,23	3,86±0,35	0,94
Globulina			
Paracetamol	2,58±0,25	1,58±0,29	0,00
Boldo + Paracetamol	2,73±0,18	1,65±0,40	0,00

Fuente: Datos logrados durante la investigación.

Los resultados encuentran que TGO sufre una elevación significativa en el grupo de paracetamol, demostrando el efecto hepatotóxico del paracetamol, sin embargo en el grupo de boldo más paracetamol se existe un descenso significativo, atribuyéndose al efecto hepatoprotector del boldo.

En relación a la TGP los resultados no demuestran el efecto hepatotóxico del paracetamol, tampoco se evidencia el efecto hepatoprotector de boldo, situación similar se encuentra en relación a bilirrubinas totales, bilirrubina directa. En relación a la bilirrubina indirecta, los resultados muestran la hepatotoxicidad producida por el paracetamol de forma significativa, y en el grupo de boldo más paracetamol no se evidencia diferencias entre antes y después lo cual demuestra el efecto protector de boldo en la hepatotoxicidad por paracetamol.

En relación a fosfatasa alcalina los resultados muestran una gran elevación significativa de esta enzima con uso del paracetamol, se puede así mismo ver que el grupo que uso boldo no presenta elevación similar de la fosfatasa alcalina, lo que se atribuye al uso de boldo.

En relación de GGT las pruebas realizadas no muestran toxicidad de paracetamol ni efecto protector de boldo, lo mismo sucede en relación a la albúmina.

La determinación de proteínas totales disminuyó con el uso de solo paracetamol, lo mismo ocurrió con el uso de boldo, en ambos casos se encontró diferencia significativa. Lo mismo ocurrió en relación a la globulina.

Tabla 2. Peso en gramos de *Rattus rattus* var *albinus* antes y después de la administración de paracetamol y boldo.

Peso en gramos	Peso Antes	Peso Después	Significancia
	$\bar{X} \pm S_x$	$\bar{X} \pm S_x$	
Paracetamol	192,7±27,9	160,4±27,4	0,231
Boldo + Paracetamol	195,1±33,9	190,9±33,9	0,452

Fuente: Datos obtenidos durante la investigación.

Los resultados muestran que la pérdida de peso al término del experimento es mayor en el grupo que no utilizó el boldo, lo que puede de alguna forma significar que el boldo protege de algún daño (hepatotoxicidad) producida por paracetamol que puede estar asociada a la pérdida de peso.

Tabla 3. Peso, largo, ancho y altura del hígado de *Rattus rattus var albinus* según grupo.

	Paracetamol	Boldo más paracetamol	P valor
	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	
Peso	6,18 ± 0,75	5,32 ± 0,78	0,037
Largo	40,56 ± 6,82	41,50 ± 6,72	0,778
Ancho	30,11 ± 4,68	27,38 ± 4,44	0,235
Altura	9,56 ± 3,00	8,00 ± 1,19	0,181

Fuente: Datos logrados durante la investigación.

El peso del hígado al término del experimento fue mayor en el grupo de paracetamol, no existe diferencia significativa para el largo ancho y altura entre el grupo paracetamol y boldo más paracetamol. Las longitudes de largo, ancho y altura no presentaron diferencias entre los grupos de paracetamol y boldo más paracetamol.

Descripción histológica del tejido hepático.

El grupo boldo más paracetamol presentó arquitectura hepática normal a diferencia del grupo paracetamol solo, en el que se observó marcada vacuolización perilobulillar alterando la normal arquitectura del hepatocito, estuvo presente también la congestión vacuolar y dilatación sinusoidal. Estos por resultados se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Descripción histológica del tejido hepático según grupo boldo más paracetamol y paracetamol solo.

Hallazgo histopatológico	Grupo	
	Hepatotoxicidad (Si) (No)	
	Paracetamol	Paracetamol + Boldo
Núcleos picnóticos y vacuolización perinuclear	13/9 (Si)	3/9 (No)
Congestión vascular sinusoidal y dilatación sinusoidal	16/9 (Si)	2/9 (No)
Número de células Kupffer activadas	0/9 (No)	0/9 (No)
Score	3,2 ± 1,22	0,56 ± 0,4

P valor para muestras independientes ($p = 0,00$)

Fuente: Datos logrados en la investigación.

Los resultados según parámetros valorados muestran diferencias significativas entre el grupo paracetamol solo y el grupo paracetamol más boldo lo que demuestra el efecto hepatoprotector de boldo en la hepatotoxicidad por paracetamol. Los resultados del estudio anatomopatológico no reportaron células de Kupffer en ninguno de los dos grupos. Los resultados muestran que en el grupo de Paracetamol más boldo no se presentó casos de hepatotoxicidad. En el grupo

paracetamol se evidencio hepatotoxicidad. Estos resultados muestran el efecto hepatoprotector del *Peumus Boldus* en la hepatotoxicidad por paracetamol.

IV. DISCUSIÓN

Al término del experimento se obtuvieron resultados de 16 *Rattus rattus var albinus* 8 que recibieron solo paracetamol y 8 del grupo boldo más paracetamol:

La tabla 1 muestra el efecto hepatoprotector de *Peumus boldus* al evitar la elevación de TGO y FA que si se produce en el grupo de paracetamol. Estudios publicados como el de Veloz-Villacrés (8) concuerdan con los datos obtenidos en el presente estudio, concluyendo que *Peumus boldus* tiene un efecto hepatoprotector frente al daño hepático inducido por paracetamol, evitando la elevación de TGO y TGP, su estudio no dosifica la FA. Otro estudio publicado por Ochoa C (11) afirma que *Peumus boldus* presenta un efecto hepatoprotector frente al daño hepático causado por paracetamol, reportando como pruebas la no elevación de las transaminasas. El estudio realizado por Yovera-Leyva (9) concluye reportando efecto hepatoprotector de *Peumus boldus*, se indica que la hepatotoxicidad en el estudio de Yovera-Leyva fue producido por rifampicina. Por su parte Olivares J L (10) también reporto efecto protector de *Peumus boldus*, es importante aclarar que el daño hepático en el estudio de Olivares J L fue inducido por rifampicina.

La tabla 2 muestra que la pérdida de peso al término del experimento es mayor en el grupo que no utilizó el boldo. Lo que indica un efecto protector de *Peumus boldus* en relación a la pérdida de peso. Esta información guarda relación con el estudio de Yovera-Leyva(19) quien reporto que el grupo de *Peumus boldus*, no presentó pérdida de peso, aunque la acción de toxicidad hepática en este estudio fue producida por isoniazida. Resultado similares encontró Olivares J L(20) aunque es pertinente aclara que la hepatotoxicidad en este estudio fue producida por isoniazida.

La tabla 3 muestra que el peso del hígado al término del experimento fue mayor en el grupo de paracetamol. Existen estudios como el de Figuereido M et al (15) que pese a no tratar sobre hepatotoxicidad por paracetamol, si ponen bien en claro el efecto hepatoprotector de *Peumus boldus* en el hígado de *Rattus rattus var albinus* pues este autor realiza una hepatectomía parcial del 70% demostrando que en el grupo experimento, aquellos que utilizaron extracto acuoso de *Peumus boldus* presentaron

de forma significativa una mayor proliferación de los hepatocito concluyendo que *Peumus boldus* ejerce un efecto positivo en la regeneración del hígado, lo que hace proponer un mecanismo probable de su efecto hepatoprotector.

La tabla 4 muestra a nivel histológico la capacidad hepatoprotectora de *Peumus boldus* mostrando un score de $3,2 \pm 1,22$ en el grupo paracetamol vs $0,56 \pm 0,4$ paracetamol más boldo siendo el $p < 0,0001$. Estos resultados guardan relación con lo presentado por Leyva & Marianela (2015) aunque su estudio es sobre isoniazida pero reporta alteraciones inflamatorias como vacuolización perinuclear, dilatación sinusoidal y núcleos picnóticos y células Kupffer activadas, que en nuestro estudio no fueron reportadas. Mientras que en el grupo que se usó boldo, se observó leve congestión vascular, no se halló vacuolización perinuclear siendo la puntuación score mayor en el grupo de paracetamol que en el grupo que uso boldo como protector, demostrando la actividad hepatoprotectora de *Peumus boldus*.

El estudio de Olivares J L (10) usando rifampicina, encontró en el grupo de rifampicina lobulillos hepáticos con gran vacuolización intracitoplásmica, desarreglo en la arquitectura del hepatocito, núcleos picnóticos, congestión vacuolar de sinusoides con dilatación sinusoidal e incremento de las células Kupffer(20), difiriendo en nuestro estudio en que no se encontraron células de Kupffer ni pérdida de la arquitectura nuclear. Cuando se utilizó el boldo, el estudio de Olivares J L (10) presenta lobulillo hepático con estructura conservada, congestión sinusoidal leve y espacio porta normales, estos datos coinciden con los nuestros básicamente en la frecuencia de los resultados, porque reportamos vacuolización perinuclear en 3 de 9 y congestión vascular sinusoidal y dilatación sinusoidal en 2 de 9. Se afirma que el estudio a nivel histológico de Olivares JL (10) reporta efecto hepatoprotector de *Peumus boldus* a la hepatotoxicidad producida por rifampicina así como en el nuestro *Peumus boldus* demostró efecto hepatoprotector a la hepatotoxicidad producida por paracetamol.

V. CONCLUSIONES

El estudio concluye afirmando que:

1. El *Peumus boldus* posee efecto hepatoprotector en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en *Rattus rattus var albinus*.
2. La función hepática de *Rattus rattus var albinus* antes de la administración de paracetamol fue normal y después de la administración de paracetamol evidenció hepatotoxicidad.
3. La función hepática de *Rattus rattus var albinus* antes de la administración de paracetamol más *Peumus boldus* fue normal y después de su administración no hubo variación, evidenciando el efecto hepatoprotector de *Peumus boldus*.
4. La comparación de ambos grupos demostró el efecto hepatoprotector del *Peumus boldus* en la hepatotoxicidad inducida por paracetamol.
5. La histopatología después de la administración de paracetamol evidenció la hepatotoxicidad del paracetamol.
6. La histopatología después de la administración de paracetamol más *Peumus boldus* evidenció su efecto hepatoprotector en la hepatotoxicidad inducida por paracetamol.

VI. RECOMENDACIONES

- 1 Divulgar el presente estudio sobre la acción del paracetamol y su actividad tóxica del hígado, así como la acción hepatoprotectora de *Peumus boldus*.
- 2 Recomendar la observación de valores de TGO es como buen indicador de la hepatotoxicidad del paracetamol y de que uso de boldo durante la ingesta de paracetamol evita la hepatotoxicidad.
- 3 Realizar un nuevo estudio que incluya los marcadores hepáticos que o fueron significativos con una muestra más grande.

VII. REFERENCIAS

1. Castro MPV, Castro MPV. Intoxicación por acetaminofén en adultos. *Med Leg Costa Rica*. marzo de 2016;33(1):103-9.
2. Larso A, Polson J, Fontana R, Davern T, Lalani E, Hynan L, et al. Insuficiencia hepática aguda inducida por acetaminofen: Resultados de un estudio multicéntrico. *Hepatology*. 2005;42(6):1364-72.
3. Herranz G. Experimentación científica en el hombre: el hombre objeto de la experimentación biomédica. Universidad de Navarra. Departamento de Humanidades Biomédicas. Centro de Documentación de Bioética; 2015.
4. Romero-Fernandez W, Batista-Castro Z, Lucca MD, Ruano A, García-Barceló M, Rivera-Cervantes M, et al. El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 23 de mayo de 2016;33(2):288-99.
5. Giraldo LFG. Propuesta para Colombia de un estatuto en la experimentación con animales. *Escritos*. 2016;24(53):411.
6. Pinillos M. Novedades en el tratamiento de la intoxicación por paracetamol. [citado 29 de noviembre de 2016]; Disponible en:
<http://www.fetoc.es/presentaciones/Paracetamol%20Dr%20Pinillos.pdf>
7. Tejada Cifuentes F. Hepatotoxicidad por Fármacos. *Rev Clínica Med Fam*. 2010;3(3):177–191.
8. OMS. Medicamentos esenciales y productos de salud [Internet]. 2004. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js5422s/6.1.2.html>
9. Bower WA, Johns M, Margolis HS, Williams IT, Bell BP. Population-Based Surveillance for Acute Liver Failure. *Am J Gastroenterol*. 1 de noviembre de 2007;102(11):2459-63.
10. Ochoa Pacheco A, González Barrios YR, Viso Gurovich F. Las reacciones adversas de las plantas medicinales y sus interacciones con medicamentos.

Medisan [Internet]. 2006 [citado 8 de diciembre de 2016];10(4). Disponible en: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=Ink&exprSearch=487126&indexSearch=ID>

11. Sierra A F, P T, P D del. Enfermedad hepática tóxica inducida por drogas: Revisión sistemática estructurada. *Rev Colomb Gastroenterol.* marzo de 2005;20(1):18-31.
12. Ferrando JP, Barceló B, Puig T, Xarau SN. Valoración del riesgo de hepatotoxicidad en la intoxicación aguda por paracetamol cuando no es posible aplicar el nomograma de Rumack-Matthew. *Emergencias.* 2010;22:365–368.
13. Cruz SM. Medicina tradicional y fitoterapia una alternativa para el mejoramiento de la salud en Guatemala. *CiencTecnol Salud.* 21 de junio de 2016;3(1):81-90.
14. López MV, Sueldo YB, Franco JNS, Tejada NM. Conocimiento, aceptación y uso de la medicina tradicional, alternativa y/o complementaria por médicos del seguro social de salud. *Rev Peru Med Integrativa [Internet].* 5 de abril de 2016 [citado 22 de octubre de 2016];1(1). Disponible en: <http://rpm.pe/ojs/index.php/RPMI/article/view/003>
15. Figueiredo MBG de A, Santana VR de, Nardelli MJ, Nogueira M de S, Azevedo DX, Santana DPA, et al. The effect of the aqueous extract *Peumus boldus* on the proliferation of hepatocytes and liver function in rats submitted to expanded hepatectomy. *Acta CirBras.* septiembre de 2016;31(9):608-14.
16. Un Hošťálková U, Opletal L, Kuneš J, Novak Z, Hrabínová N, Chlebek J, et al. Alkaloids from *Peumus boldus* and their acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and prolyl oligopeptidase inhibition activity. *NatProdCommun.* 2015 de 2015;10(4):577-80.
17. Mancipe LC, others. Intoxicación por acetaminofén. *Rev Med.* 2010;18(2):221–227.

18. Veloz-Villacr es V, Kayna D. Determinación de la actividad hepatoprotectora de boldo (*Peumus boldus*) en ratas (*Ratus norvegicus*) con intoxicación hepática inducida por paracetamol. 2 de julio de 2013 [citado 7 de octubre de 2016]; Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2474>
19. Yovera Leyva M, Marianela E. Efecto protector del extracto acuoso de las hojas de *peumus boldus* «boldo» en la toxicidad hepática inducida por isoniazida en ratas holtzman hembra. 2015 [citado 7 de octubre de 2016]; Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/4025>
20. Olivares Huamán JL. Efecto protector del extracto acuoso de las hojas de *peumus boldus* «boldo» en la toxicidad hepática inducida por rifampicina en ratas holtzman hembra. 2015 [citado 7 de octubre de 2016]; Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/4026>
21. Ochoa C, Granda C, Chapo an M, Borja R, Borjas P, Ortiz J, et al. Efecto Protector de *Peumus boldus* en ratas con toxicidad hepática inducida por Paracetamol. *Cienc E Investig Medico Estud Latinoam* [Internet]. 2012 [citado 7 de octubre de 2016];13(1). Disponible en: <http://www.cimel.felsocem.net/index.php/CIMEL/article/viewArticle/159>
22. Lanhers MC, Joyeux M, Soulimani R, Fleurentin J, Sayag M, Mortier F, et al. Hepatoprotective and anti-inflammatory effects of a traditional medicinal plant of Chile, *Peumus boldus*. *Planta Med.* abril de 1991;57(2):110-5.
23. Fernández A, Mintegi S, Martínez MJ. Intoxicación por paracetamol en menores de 6 meses: error de dosificación Urgencias de Pediatría. *Hospital de Cruces. BarakaldoVizcEspPediatrBarc.* 2004;60(2):177–9.
24. J zwiak-Bebenista M, Nowak JZ. Paracetamol: mechanism of action, applications and safety concern. *Acta Pol Pharm.* 2013;71(1):11–23.
25. Blanco Pamp n J, Morte Tamayo N. Intoxicación suicida por paracetamol. *Cuad Med Forense.* 2002;(29):37–43.

26. Centro de Toxicología de Veracruz. Guía de diagnóstico y tratamiento de intoxicación por paracetamol. 2014.
27. Sisamon I. Acerca de la Hepatotoxicidad del Paracetamol. Rev Hosp Priv Comunidad [Internet]. 2003 [citado 8 de octubre de 2016];6(2). Disponible en: <http://www2.hpc.org.ar/images/revista/300-v6n2p42.pdf>
28. Ortiz-Pereda V, López M, Arroita A, Aguilera L, Azkue J, Torre-Mollinedo F, et al. Antiinflamatorios no esteroideos y paracetamol en el tratamiento del dolor. GacMédica Bilbao. 2007;104(4):148–155.
29. Ríos D, Sandoval D, Pineda A, Gómez C. Detection of boldine via HPLC in *Peumus boldus* Molina propagated by in vitro culture. Molecular Medicinal Chemistry. January-April 2010; 21: 113-116.
30. Altamirano RL, Melo MC, Pinochet CE, others. Fitogeografía de *Peumus boldus* Mol. en la hoya del río Bueno, Región de Los Lagos, Chile. Bol Geogr. 2000;12–13.
31. Arango Acosta G. Alcaloides y compuestos nitrogenados [Internet]. Universidad de Antioquía; 2002. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/alcaloides.pdf>
32. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Ed. Universidadde Habana Cuba. 2000;1:34–50.
33. Miranda M, Cuellar A. Farmacognosia y productos naturales. Habana Editor Félix Varela. 2001;141.
34. Ruiz-Reyes S, Venegas-Casanova E, Ruídias-Romero D, Horna-Acevedo L, Lopez-Cenizario C. Capacidad antioxidante in vitro de los flavonoides totales obtenidos de las hojas de *Sambucus peruviana* H.B.K. (sauco) proveniente de la ciudad de Huamachuco. Rev Pharm. 1(2):57-64.
35. Mejía KR, Mejía EK, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía peruana [Internet]. 1995 [citado 11 de octubre de 2016]. Disponible en:<http://www.sidalc.net/cgi->

bin/wxis.exe/?IsisScript=sibe01.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expression=mfn=010906

36. Petigny L, Périno-Issartier S, Wajsman J, Chemat F. Batch and continuous ultrasound assisted extraction of boldo leaves (*Peumus boldus* Mol.). *Int J Mol Sci.* 2013;14(3):5750–5764.
37. Silva-Aguayo G, Rodríguez-Maciel JC, Lagunes-Tejeda A, Llanderal-Cázares C, Alatorre-Rosas R, Shelton AM, et al. Bioactivity of boldo (*Peumus boldus* Molina)(Laurales: Monimiaceae) on *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) and *Helicoverpa zea* (Boddie)(Lepidoptera: Noctuidae). *Southwest Entomol.* 2010;35(3):215–231.
38. Doll U, Aedo-Ortíz D, López-Carrera P. Caracterización morfológica de tres procedencias de boldo (*Peumus boldus*) en una plantación joven de 6 años. *Bosque Valdivia.* 2005;26(3):45–54.
39. García J, López J, Jiménez F. Metodología de la investigación. 2.^a ed. México: McGraw Hill; 2014.
40. Hernández S, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. Cuarta. Chile: McGraw Hill Interamericana;
41. Verde-Star MJ, García González S, Rivas Morales C. Metodología científica para el estudio de plantas medicinales. *OmniaScienceMonogr* [Internet]. 20 de septiembre de 2016 [citado 29 de noviembre de 2016];0(0). Disponible en: <http://www.omniascience.com/monographs/index.php/monograficos/article/view/335>
42. Pita-Fernández P, Pértegas S. La fiabilidad de las mediciones clínicas: el análisis de concordancia para variables numéricas. *Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario-Universitario Juan Canalejo. A Coruña (España). Aten Primaria En Red Fecha Consulta Mayo.* 2008;16.
43. Camacho-Sandoval J. Tamaño de muestra en estudios clínicos. *Acta Médica Costarric.* 2008;50(1):20–21.

44. Yanavilca M, Amelia R, Rosales Fernández AL, Tarmeño C, Alberto R, Fuentes Paredes F de M. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. InstNac Salud [Internet]. 2008 [citado 22 de octubre de 2016]; Disponible en: http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Guía_animales_ratón.pdf

VIII. ANEXOS

ANEXO 1

Obtención del extracto fluido del *Peumus boldus* “Boldo”

Recolección o adquisición de las hojas boldo (*Peumus boldus*)

Se recolectara las hojas de boldo *Peumus boldus* de los proveedores de productos naturales de la Región de la libertad; seguidamente se llevaran al laboratorio de farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNT.

Selección

Se seleccionaron las hojas que reúnan las condiciones de calidad, separando las materias extrañas.

Identificación taxonómica

Se realizó en el *Herbario Truxillensis* de la UNT.

Lavado y secado

Se realizó para evitar cualquier tipo de alteración que pueda afectar la composición de la droga vegetal. Las hojas lavadas y secadas se colocaron sobre papel kraft en estufa a 40°C hasta obtener peso constante.

Molienda y tamización

Una vez seco las hojas de boldo (*Peumus boldus*), se procederá a su molienda en mortero de acero hasta tamaño de partícula adecuado. Las hojas pulverizado, se tamizara (tamaño partícula 5 mm), y se almacenara adecuadamente en frascos ámbar en un lugar sin humedad y luz directa, hasta su posterior utilización.

Elaboración del extracto fluido de las hojas de Boldo (*Peumus boldus*) por el método de Miranda y Cuellar.

Procedimiento:

Se pesará 1000g de hojas de boldo (*Peumus boldus*) seca, triturada y tamizada, se humedecerá con alcohol de 70° GL, por 1h, tapado herméticamente para garantizar una buena humectación.

Después de la humectación se ensambla el lixiviador colocando en su parte inferior una capa fina de algodón o lana de vidrio humedecida con el menstuo, se colocara la droga humectada en capas, presionando la misma de modo que no queden espacios vacíos. Después de compactar la droga dentro del lixiviador, en la parte superior se colocara papel de filtro, arena lavada y tratada, luego se abrirá la llave del lixiviador y se verterá el menstuo por la parte superior lentamente y con cuidado en cantidad apropiada para que la droga quede por completo cubierto de menstuo y un exceso de alrededor de 1 cm de altura por encima de la misma. La llave del lixiviador se cerrara cuando ya no exista burbujas, la pequeña cantidad de menstuo que gotea se verterá al lixiviador por la parte superior. Tapar el adecuadamente el lixiviador y macerar por 24 a 48 horas a temperatura ambiente.

Transcurrido el tiempo, se procederá a lixiviar a una velocidad intermedia obteniéndose 750 mL de extracto. En otro frasco colector se continuara recibiendo la segunda fracción del lixiviado mayor a 250 mL, concentrándose con ayuda rotavapor hasta un volumen igual a 250 mL de extracto que reunido con la primera fracción se completan las 1000 mL. Este extracto se dejara reposar 20 días a temperatura Ambiente.

Después de transcurrido el tiempo, se filtrara y el líquido obtenido se envasara en frascos de vidrio color ambar obteniéndose de esta manera el extracto fluido de boldo (*Peumus boldus*), con una concentración de 1gr/ml.

ANEXO 2

Obtención de muestra sanguínea y análisis bioquímico

Se obtendrán muestras basales y finales de sangre arterial de cada rata mediante el método de punción cardíaca para el análisis de las enzimas hepáticas TGO, TGP, GGT, FA, bilirrubinas totales y fraccionadas; y proteínas totales y fraccionadas, al inicio y al final del experimento. Para lo que se contará con la ayuda de un personal experto del Departamento de Fisiología de la Universidad Cesar Vallejo.

Dicho procedimiento se realizará como sigue:

1. Se colocará un pedazo de algodón embebido en éter etílico dentro de un recipiente.
2. Se introducirá la cabeza del animal para anestesiarlo por unos segundos
3. Se colocará una jeringa con aguja N° 25 en la región precordial y se obtendrá 1 ml de sangre arterial
4. La muestra será colocada en un tubo seco sin heparina y serán analizadas utilizando el analizador automático y con kits reactivos.

ANEXO 3

Registro de análisis bioquímicos del grupo paracetamol.

Grupo "A"		Grupo paracetamol							
		Código de la rata							
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
Antes del tratamiento	TGO								
	TGP								
	BT								
	BD								
	BI								
	FA								
	GGT								
	Proteínas totales								
	Albúmina								
	Globulina								
Después del tratamiento	TGO								
	TGP								
	BT								
	BD								
	BI								
	FA								
	GGT								
	Proteínas totales								
	Albúmina								
	Globulina								

ANEXO 4

Registro de análisis bioquímicos del grupo paracetamol más *Peumus boldus*.

Grupo "B"		Grupo paracetamol + boldo							
		Código de la rata							
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
Antes del tratamiento	TGO								
	TGP								
	BT								
	BD								
	BI								
	FA								
	GGT								
	Proteínas totales								
	Albúmina								
	Globulina								
Después del tratamiento	TGO								
	TGP								
	BT								
	BD								
	BI								
	FA								
	GGT								
	Proteínas totales								
	Albúmina								
	Globulina								

ANEXO 5

Registro de la morfología del hígado en el grupo paracetamol.

Grupo "A"		Grupo paracetamol							
		Código de la rata							
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
Morfología	Color								
	Tamaño								
	Peso								
	Aspecto								

ANEXO 6

Registro de la morfología del hígado en el grupo paracetamol más *Peumus boldus*.

Grupo "A"		Grupo paracetamol + boldo							
		Código de la rata							
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
Morfología	Color								
	Tamaño								
	Peso								
	Aspecto								

ANEXO 7

Registro del peso de la rata antes del tratamiento.

Peso antes del tratamiento		Código de la rata							
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
Grupo	Paracetamol								
	Paracetamol + boldo								

ANEXO 8

Registro del peso de la rata después del tratamiento.

Después del tratamiento		Código de la rata							
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
Grupo	Paracetamol								
	Paracetamol + boldo								

ANEXO 9

Determinación del tamaño de muestra

Tamaño de la muestra

$$n = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 S^2}{d^2}$$

- Esta fórmula es para estudios que pretenden comparar 2 medias, donde:
- n = Son los individuos necesarios en cada uno de las muestras
- $Z_{\alpha} = 1,96$; asumiendo un nivel de confianza del 95%
- $Z_{\beta} = 0,84$; asumiendo una potencia estadística del 80%
- $S^2 = 114.32$; según Leyva M, realizado el 2015 en Perú(19).
- $d = \bar{X}_1 - \bar{X}_2 = 8$

Se obtuvo una muestra de 16 ratas 8 ratas por cada grupo, además la selección del tratamiento que recibirán cada uno se realizará en forma aleatoria. Finalmente el tamaño de muestra estuvo constituida por 16 ratas albinas adultas las cuales fueron distribuidas en 2 grupos de estudio, estratificadas por somatometría, procedentes y seleccionados aleatoriamente del bioterio de ciencias biológicas de la Universidad Agraria la Molina.

ANEXO 10







