



**Universidad
Norbert Wiener**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA**

**EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Momordica charantia* L.
“caigua amarga” EN RATONES, CON INTOXICACIÓN AGUDA
HEPÁTICA INDUCIDA POR PARACETAMOL**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

Presentado por:

Br. EDWIN QUISPE TOLEDANO

Asesor:

Dra. Juana Elvira Chávez Flores

Lima – Perú

2018

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado la vida, salud para poder culminar mi carrera profesional, permitirme llegar hasta este punto y poder lograr mis objetivos trazados.

A mi madre Herminia Todelano Conde por ser mi motor y motivo, haberme dado su amor, apoyando en todo momento y confiar siempre en mí.

A mi familia, amigos y demás que de alguna u otra forma estuvieron conmigo apoyándome en todo y por los buenos consejos recibidos siempre.

A mis Profesores de la Universidad Norbert Wiener por sus enseñanzas compartidas y ser el soporte de nuestro desarrollo profesional.

Br. Quispe Toledano Edwin

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme la vida y la fortaleza para lograr mis objetivos trazados.

A mis Maestros de la Universidad Norbert Wiener por su apoyo, sus enseñanzas y habernos guiado en nuestra formación profesional.

A mi Maestra y Asesora de tesis, la Dra. Juana Elvira Chávez Flores por todo su apoyo y dedicación brindada incondicionalmente en la investigación y desarrollo de la tesis.

A mi Profesor Q.F. Manuel Gregorio Hernández Aguilar por su apoyo, motivación y orientación en el presente trabajo de tesis.

A toda mi familia y amigos que hicieron posible llegar hasta donde he llegado y apoyado en todo momento.

Br. Quispe Toledano Edwin

INDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Planteamiento del problema	1
1.2 Formulación del problema	2
1.3 Justificación	2
1.4 Objetivos	3
1.5 Variables	4
1.6 Hipótesis	4
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Antecedentes	5
2.1.1 Antecedentes internacionales	5
2.1.2 Antecedentes nacionales	7
2.2 Bases teóricas	9
2.2.1 Estudio botánico de la especie <i>Momordica charantia L.</i>	9
2.2.1.1 Taxonomía	9
2.2.1.4 Composición fitoquímica	11
2.2.1.5 Usos	12
2.2.2 Generalidades del hígado	13
2.2.2.1 Anatomía y fisiología del hígado	13
2.2.2.3 Funciones del hígado	17
2.2.3 Hepatotoxicidad	19
2.2.3.1 Hepatotoxicidad inducida por fármacos	20
2.2.3.2 Mecanismos implicados en la lesión hepática	21
2.2.3.6 Hepatotoxicidad por paracetamol	29
2.2.4 Actividad Hepatoprotectora	30
2.2.4.1 Silimarina	30
2.2.4.2 Actividad de la Silimarina	31
2.2.5 Fitoterapia en tratamiento hepatotóxico	32

2.2.6 Pruebas de reacción colorimétrica	33
2.3 Marco Conceptual	35
2.3.1 Definición de términos básicos	35
III. PARTE EXPERIMENTAL	37
3.1 Diseño metodológico	37
3.1.1 Tipo de estudio	37
3.2 Población y Muestra	37
3.3 Materiales, solventes y reactivos	37
3.3.5 Fármacos utilizados	39
3.4 Métodos: técnica operatoria	39
3.4.1.1 Recolección de material botánico <i>Momordica charantia L.</i> “caigua amarga”	39
3.4.1.2 Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Momordica charantia L.</i> “caigua amarga”	40
3.4.2 Ensayos preliminares	41
3.4.2.1 Prueba de solubilidad	41
3.4.2.2 Perfil cualitativo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Momordica charantia L.</i> “caigua amarga”	41
3.4.3 Estudio farmacológico	42
3.4.3.1 Modelo experimental: Modelo de intoxicación por paracetamol	42
IV. RESULTADOS	
4.1 Prueba de solubilidad	45
4.2 Perfil cualitativo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Momordica charantia L.</i> “caigua amarga”	46
4.3 Evaluación de cortes histopatológicos.	47
V. DISCUSIÓN	50
VI. CONCLUSIONES	54
VII. RECOMENDACIONES	55
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
IX. ANEXOS	61

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. <i>Momordica charantia L.</i> “caigua amarga”	10
Figura 2. Tamizaje fitoquímico de hojas, semillas y frutos	11
Figura 3 Estructura anatómica del hígado	13
Figura 4. Estructura microcópica del tejido hepático	16
Figura 5. Mecanismos de hepatotoxicidad intrínseca por fármacos	22
Figura 6. Etapas en la biotransformación de los fármacos	26
Figura 7. Características analíticas de las hepatitis por fármacos	27
Figura 8. Hojas de la <i>Momordica charantia L.</i> “caigua amarga”	40
Figura 9. Diseño experimental para evaluar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Momordica charantia L.</i>	44
Figura 10. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Momordica charantia L.</i> “caigua amarga”	45
Figura 11. Perfil cualitativo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Momordica charantia L.</i> “caigua amarga”	46
Figura 12. Corte histológico de hígados tratados con 200 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Momordica charantia L.</i>	47
Figura 13. Corte histológico de hígados tratados con 400 mg/kg del extracto	47
Figura 14. Corte histológico de hígados tratados con 600 mg/kg del extracto	48
Figura 15. Corte histológico del hígado tratados con 40 mg/kg de Silimarina	48
Figura 16. Corte histológico de hígados tratados con 600 mg/kg paracetamol	49
Figura 17. Corte histológico de hígados con suero fisiológico 0.9% (control)	49

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Fármacos asociados a toxicidad hepática	28
Tabla 2. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Momordica charantia</i> L. “caigua amarga”	45
Tabla 3. Perfil cualitativo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Momordica charantia</i> L. “caigua amarga”	46

ÍNDICE DE ANEXO

	Pág.
ANEXO 1. Informe de láminas con cortes histopatológicos realizado a ratones en el Instituto de patología	61
ANEXO 2. Informe de láminas de cortes histopatológicos realizados a ratones	62
ANEXO 3. Informe del análisis histopatológico realizado a todos grupos de ratones tratados.	63
ANEXO 4. Informe del análisis histopatológico realizado a ratones	64
ANEXO 5. Constancia de clasificación taxonómica de la <i>Momordica charantia</i> L. “caigua amarga”	65
ANEXO 6. Dr. Ernesto Ráez Gonzáles-docente del Instituto de patología	66
ANEXO 7. Selección de hojas de la <i>Momordica charantia</i> L. “caigua amarga”	67
ANEXO 8. Extracto hidroalcohólico de hojas de la <i>Momordica charantia</i> L. “caigua amarga”	67
ANEXO 9. Ratones albinos cepa Balb/C53/CNPB, especie “ <i>Mus musculus</i> ”	68
ANEXO 10. Ratones albinos “ <i>Mus musculus</i> ”, sacrificio por método de narcosis	68
ANEXO 11. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>Momordica charantia</i> L. “caigua amarga”	69
ANEXO 12. Evaluación de la prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Momordica charantia</i> L. “caigua amarga”	69
ANEXO 13. Análisis del perfil cualitativo fitoquímico del extracto de las hojas de <i>Momordica charantia</i> L “caigua amarga”	70
ANEXO 14. Evaluación del perfil cualitativo fitoquímico del extracto de las hojas de <i>Momordica charantia</i> L. “caigua amarga”	70

ABREVIATURAS

BuOH	Butanol
BZ	Benceno
CHCl₃	Cloroformo
EX-OH	Extracto hidroalcohólico
EP	Éter de petróleo
EtOAc	Acetato de etilo
EtOH	Etanol
FeCl₃	Tricloruro férrico
HTX	Hepatotoxicidad
H₂O	Agua
H & E	Hematoxilina-Eosina
INS	Instituto Nacional de Salud
I.P	Intraperitoneal
MeOH	Metanol
mL	Mililitro
NAPQI	N-acetil-p-benzoquinona-imina
Q.P.	Químicamente puro

RESUMEN

El presente estudio farmacológico se realizó con el objetivo de determinar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L* “caigua amarga” en ratones con intoxicación aguda hepática inducida por paracetamol e identificar los diferentes metabolitos secundarios presentes en la especie vegetal mediante la evaluación del perfil cualitativo fitoquímico, el cual se llevó a cabo en el centro de investigación farmacéutico de la Universidad Norbert Wiener. **Metodología:** Nuestro diseño fue experimental, para el análisis fitoquímico se recolectaron las hojas de *Momordica charantia L* “caigua amarga”, las cuales fueron pesadas, licuadas y macerados en alcohol 70° por 7 días. Posteriormente se obtuvo el extracto hidroalcohólico por el método de filtración. Para el estudio farmacológico se empleó el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L* a dosis de 200, 400 y 600 mg/kg en ratones albinos de la especie “*Mus musculus*” de aproximadamente 28-32 g de peso corporal. Se administraron vía oral por 3 días consecutivos y al día siguiente se indujo a hepatotoxicidad con 600 mg/kg de paracetamol. Se utilizaron 42 ratones entre machos y hembras y se formaron 06 grupos de 07 ratones cada uno. Al final todos los animales fueron sometidos a la administración con pentobarbital 6,5% 0,1 mL, se realizó el sacrificio por el método de narcosis, se aislaron los hígados y se realizaron los estudios histopatológicos. **Resultados:** En el resultado del tamizaje fitoquímico se identificó la presencia de compuestos químicos como alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos. En el análisis histopatológico se identificó presencia de daño celular a nivel hepático en todos los grupos de estudio por la acción hepatotóxica del paracetamol, a excepción del grupo 6 (grupo control) que no recibió tratamiento alguno. **Conclusiones:** la especie vegetal posee metabolitos secundarios con actividad biológica. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L*, “caigua amarga” a dosis de 200, 400 y 600 mg/kg, no demostró efecto hepatoprotector en ratones con intoxicación aguda por paracetamol.

Palabras clave: Extracto hidroalcohólico, *Momordica charantia L*, efecto hepatoprotector, paracetamol.

SUMMARY

The present pharmacological study was carried out with the objective of determining the hepatoprotective effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Momordica charantia* L "bitter caigua" in mice with acute hepatic poisoning induced by paracetamol and to identify the different secondary metabolites present in the vegetable species through the qualitative phytochemical profile evaluation, which was carried out in the pharmaceutical research center of the Norbert Wiener University. **Methodology:** Our design was experimental, for the phytochemical analysis the leaves of *Momordica charantia* L "bitter caigua" were collected, which were weighed, liquefied and macerated in alcohol 70 ° for 7 days. Subsequently, the hydroalcoholic extract was obtained by the filtration method. For the pharmacological study, the hydroalcoholic extract of the leaves of *Momordica charantia* L was used at doses of 200, 400 and 600 mg / kg in albino mice of the "*Mus musculus*" species of approximately 28-32 g of body weight. They were administered orally for 3 consecutive days and the next day hepatotoxicity was induced with 600 mg / kg of paracetamol. 42 mice were used between males and females and 06 groups of 07 mice each were formed. At the end all the animals were submitted to the administration with 6.5% pentobarbital 0.1 mL, the sacrifice was made by the narcosis method, the livers were isolated and the histopathological studies were carried out. **Results:** The result of phytochemical screening identified the presence of chemical compounds such as alkaloids, phenolic compounds, flavonoids, tannins. In the histopathological analysis, the presence of cell damage at the liver level was identified in all the study groups due to the hepatotoxic action of paracetamol, except for group 6 (control group) that received no treatment. **Conclusions:** the plant species has secondary metabolites with biological activity. The hydroalcoholic extract of the leaves of *Momordica charantia* L, "bitter caigua" at doses of 200, 400 and 600 mg / kg, showed no hepatoprotective effect in mice with acute paracetamol poisoning.

Key words: Hydroalcoholic extract, *Momordica charantia* L, hepatoprotective effect, paracetamol.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Planteamiento del problema

El hombre utiliza las plantas con propósitos medicinales desde tiempo prehistóricos y aun hoy tienen un papel clave en el mantenimiento de la salud de toda la población. Empleando raíces, cortezas, hojas, flores, tallos, frutos o semillas teniendo en cuenta las diversas formas en que se utilizan, que van desde la preparación de decocciones e infusiones en zonas rurales y países pobres usados con fines medicamentosos¹.

Las plantas medicinales presentan diferentes tipos de metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, esteroides, triterpenos, taninos, saponinas, lactonas terpénicas y demás las cuales son ampliamente conocidas por sus propiedades antioxidantes y útiles en la prevención de múltiples enfermedades asociadas a procesos oxidativos¹.

La especie vegetal *Momordica charantia L.* conocida popularmente como “caigua amarga” fue recolectada en las alturas de la provincia de Chanchamayo, departamento de Junín en donde las comunidades lo utilizan en forma de infusiones como tratamiento, antiulcerosa, hepatoprotector. Revisando bibliografía como Roersch C (2015) señala, esta planta es utilizada a nivel mundial en la medicina tradicional como antidiabética, antihelmíntica, abortificante, antiulcerosa, además, en estudios experimentales se ha demostrado su eficacia como agente antiviral y como antineoplásico frente a distintos tipos de cánceres.⁴⁻⁶ Más de 100 estudios, utilizando modernas técnicas, han autenticado su uso en la diabetes y sus complicaciones (neuropatía, catarata, insulinoresistencia)².

Muchas patologías se producen a nivel hepático, que van desde una disfunción hepática hasta una ictericia, esteatosis, llegando incluso a una cirrosis. Las respuestas hepáticas a fenómenos adversos por sustancias químicas dependen de la intensidad del fenómeno adverso, la población de células afectadas y de la exposición es aguda o crónica³.

El daño hepático puede verse aumentada por la presencia de radicales libres y metabolitos tóxicos que van a provocar alteraciones hepáticas de forma irreversible provocando daño a nivel de membrana celular. Estudios sobre el efecto hepatoprotector de diversas sustancias vegetales disminuyen las alteraciones anatomopatológicas, esto debido a la presencia de polifenoles, antioxidantes, alcaloides son los responsables de la actividad hepatoprotectora, los que van a disminuir la toxicidad hepática producida por el paracetamol. Algunas plantas mencionadas en los antecedentes confirman el efecto hepatoprotector de diversas sustancias³.

El trabajo de investigación, se trazó como objetivo demostrar el efecto hepatoprotector de las hojas de *Momordica charantia L.* “caigua amarga” en ratones, a los cuales se les provocó toxicidad aguda hepática inducida por paracetamol, disminuir las alteraciones morfológicas e histológicas a nivel hepático, y confirmar nuestra hipótesis la cual indicaba que la *Momordica charantia L.* “caigua amarga” tiene efecto hepatoprotector.

1.2 Formulación del problema

¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* “caigua amarga” tendrá efecto hepatoprotector en ratones, con intoxicación aguda hepática inducida por paracetamol?

1.3 Justificación

Las enfermedades hepáticas representan un problema de salud no solo a nivel local sino también a nivel mundial con importantes repercusiones en la salud del individuo debido a la cantidad de funciones que realiza el hígado que a menudo puede ser atacado por ciertos compuestos químicos ingeridos en la dieta, sustancias tóxicas y medicamentos como el paracetamol.

Diversas investigaciones sobre plantas con actividad hepatoprotectora demostraron que tienen utilidad terapéutica desde la evaluación de valores

bioquímicos, trastornos macro-microscópicos y tipos de lesiones que se presentaron luego de los ensayos en laboratorios, donde se administraron extractos hidroalcohólicos de vegetales evaluando el efecto hepatoprotector, tal como fue demostrado por Machaca Ruth (2016), en “Evaluación del efecto hepatoprotector del zumo de *Smallanthus Sonchifolius* (yacón), en ratas albinas *Wistar* con intoxicación hepática inducida por paracetamol, Puno”⁴; Marival E, *et al*, Lima (2016), realizó “Efecto protector del *Petroselinum Crispum* (Mill.) A.W. Hill (perejil) frente a la hepatotoxicidad crónica inducida con etanol en ratas albinas *Holtzman*”⁵.

Los resultados obtenidos durante la investigación de este trabajo nos permite dar a conocer a la población de Chanchamayo sobre el efecto hepatoprotector estudiado en esta planta, y la probabilidad de que puedan emplear este vegetal en infusiones u otros preparados en la que puedan ser administrados, es por ello que la utilidad de la investigación de la planta pueda representar una gran alternativa del tratamiento hepático, más aún si en esas comunidades los recursos económicos son bajos, entonces estaríamos frente a una nueva sustancia que pueda administrarse a los pobladores con enfermedades hepáticas, ello indica la utilidad de nuestro trabajo sobre el porqué de la investigación, ya que al demostrar su posible actividad hepatoprotectora ayudaría a la población a emplear este vegetal en diferentes trastornos hepáticos.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Determinar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia* L. “caigua amarga” en ratones, con intoxicación aguda hepática inducida por paracetamol.

1.4.2 Objetivos Específicos

1. Identificar los componentes químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia* L. “caigua amarga” mediante reacciones colorimétricas.
2. Comprobar el efecto hepatoprotector a nivel histopatológico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia* L. “caigua amarga” administrando dosis de 200, 400 y 600 mg/kg en ratones con intoxicación aguda hepática inducida por paracetamol.

1.5 VARIABLES

1.5.1 Variable independiente

- Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia* L.

1.5.2 Variable dependiente

- Efecto hepatoprotector

1.6 HIPÓTESIS

1.6.1 Hipótesis alterna (H1): El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia* L. “caigua amarga” tiene efecto hepatoprotector en ratones, con intoxicación aguda hepática inducida por paracetamol.

1.6.2 Hipótesis nula (H0): El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia* L. “caigua amarga” no tiene efecto hepatoprotector en ratones, con intoxicación aguda hepática inducida por paracetamol.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes:

2.1.1 Antecedentes Internacionales

Banely T. *et al*, (2013)⁸, realizó el trabajo “Efecto del extracto hidroalcohólico de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) en modelo de hepatotoxicidad en ratas”. Objetivo: Evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico obtenido de *Zingiber officinalis Roscoe* en el modelo de hepatotoxicidad por sobredosis de acetaminofén en ratas. Métodos: Experimental, analítico. Se realizó un estudio histopatológico del hígado en cada uno de los grupos tratados. Resultados: El extracto etanólico del jengibre redujo los niveles de enzimas hepáticas de manera dosis-dependiente. Conclusiones: Los resultados muestran la actividad hepatoprotectora del extracto de jengibre, en el modelo de hepatotoxicidad por sobredosis de acetaminofén en ratas. El consumo concomitante del jengibre normalizó los niveles de enzimas y limitó el daño hepático, lo cual está asociado a la actividad de desintoxicación y a un estado antioxidante.

Osorio D, Ecuador (2012) ⁹, “Efecto hepatoprotector del extracto de las hojas de alcachofa (*Cynara Scolymus*) en ratas (*Rattus Novergicus*) con hepatotoxicidad inducida por Tetracloruro de Carbono”. Objetivo: Comprobar el efecto hepatoprotector de la alcachofa (*Cynara Scolymus*) en ratas con hepatotoxicidad inducida con tetracloruro de carbono. Metodología: Se obtuvo extracto acuoso de Boldo diariamente por infusión en tres diferentes dosis; 100%, 66%, 33%. Se pesó 12 g de las hojas de Boldo en 100 mL de agua destilada, sometemos a infusión por 13 minutos, dejamos que se enfríe para posteriormente filtrar y proceder con su administración. Resultados: En el tamizaje fitoquímico se encontró alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y triterpenos y/o esteroides, quinonas. Se comprobó que las transaminasas están en proporción directa con las lesiones hepáticas. Conclusiones: La alcachofa (*Cynara Scolymus*) posee actividad hepatoprotectora ya que en las pruebas bioquímicas de transaminasas hepáticas y el examen histopatológico se evidenció un leve

daño hepático con dosis altas del extracto acuoso La alcachofa (*Cynara Scolymus*).

Asqui M. (2013)¹⁰, en su trabajo de investigación, llamado “Actividad Hepatoprotectora del Extracto de Diente de León (*Taraxacum officinale*) en ratas (*Ratus norvegicus*) con hepatotoxicidad Inducida por Tetracloruro de Carbono”. Objetivo: “Comprobar la actividad hepatoprotectora del diente de león, utilizó el extracto de diente de león al cuál se realizó el control de calidad y tamizaje fitoquímico”. Metodología: Para la realización del trabajo se dividieron a las ratas en tres grupos, los cuales recibieron extracto, a una concentración de 100%, 50% y 25% respectivamente por 9 días, al octavo día se administró tetracloruro de carbono. “Se realizaron pruebas de ASAT y ALAT y se extrajo los hígados para el análisis histopatológico. Para el análisis de datos se utilizó el test ANOVA. Resultados: En el tamizaje fitoquímico se encontró flavonoides, alcaloides, compuestos fenólicos, y principios amargos. En la prueba de ASAT y ALAT en el grupo GA se elevaron en un promedio de 6,81% del valor normal; GB aumentó un 51,71% y GC un 67,37%. Como resultados el autor evidencio en el examen histopatológico el GA tuvo 40% de destrucción hepática, GB 90% y GC 95%”. En el análisis estadístico “se comprobó que las transaminasas están en proporción directa con la destrucción hepática. Conclusiones: El diente de león es hepatoprotector ya que en las pruebas de transaminasas y en el examen histopatológico se evidenció un leve daño hepático con dosis altas del extracto”.

VARGAS N. (2012)¹¹, Efecto hepatoprotector y antioxidante del extracto y los principios activos de *geranium shiedeanum*. Objetivo: Evaluar el efecto del pretratamiento con extracto de *G. shiedeanum* sobre la estimulación del sistema de defensa antioxidante endógeno (SDAE) Catalasa, Superóxido Dismutasa, Glutatión Peroxidasa y Glutatión Reductasa y el Índice de Reducción de glutatión en ratas intoxicadas con una dosis subletal de Tioacetamida (6.6 mmol/Kg). Metodología: Se evaluó la capacidad del extracto y los compuestos activos para reducir la lesión hepática a través de

la medición las enzimas Aspartato aminotransferasa (AST), Alanina aminotransferasa (ALT) y Bilirrubinas totales (BILT) en ratas intoxicadas con TAA. Resultados: Los resultados mostraron que el extracto fue capaz de inducir la producción de las enzimas del *SDAE*, así como mejorar el IR GSH/GSSG a las 24 y 48 h posteriores a la intoxicación, estudio confirmó el efecto hepatoprotector que ejerció el extracto, pero además la actividad de los principios activos fue aún más notable, al reducir significativamente los marcadores de lesión AST, ALT y BILT. Conclusiones: El extracto y los principios activos de *G. shiedeantum* poseen elevada actividad antioxidante y ejercen un poderoso efecto hepatoprotector.

2.1.2 Antecedentes Nacionales

Machaca R. (2016)⁴, en “Evaluación del efecto hepatoprotector del zumo de *Smallanthus Sonchifolius* (yacón), en ratas albinas *Wistar* con intoxicación hepática inducida por paracetamol, Puno”. Objetivo: Evaluar el efecto hepatoprotector del zumo de *Smallanthus sonchifolius* (Yacón), en ratas albinas *Wistar* con intoxicación hepática inducida por paracetamol. Metodología: El estudio es de tipo experimental y se usó la prueba estadística Análisis de la Varianza o análisis multivariado para medir el efecto hepatoprotector del zumo de yacón. Resultado: Al análisis de varianza ($p=0,0001$), por lo que se acepta la hipótesis alterna donde indica que el zumo de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) tiene efecto hepatoprotector, también existe diferencias entre los tratamientos y cantidad de dosis de zumo de yacón. En la prueba de Tukey a una intoxicación alta de paracetamol el efecto hepatoprotector del zumo de yacón fue alta. El zumo de yacón de variedad blanco a una cantidad de 5 ml/kg de peso presenta mayor efecto hepatoprotector. Conclusión: El zumo de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) tiene efecto hepatoprotector.

Marival E. *et al*, Lima (2016)⁵, realizó “Efecto protector del *Petroselinum Crispum* (Mill.) A.W. Hill (perejil) frente a la hepatotoxicidad crónica inducida con etanol en ratas albinas “*Holtzman*”, Objetivos: Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Petroselinum*

Crispum (Mill.) A.W. Hill (perejil) sobre la inducción crónica de hepatotoxicidad con etanol en ratas albinas *Holtzman* jóvenes. Métodos: Estudio transversal, analítico y experimental. Se realizó inducción crónica de hepatotoxicidad con etanol al 20% por 3 meses. Resultados: Las medias de los niveles bioquímicos de ALT, AST, Bilirrubinas totales y GGT para el grupo tratamiento fueron de 51.76 ± 16.15 , 112.86 ± 56.16 , 0.26 ± 0.07 y 0.66 ± 0.14 . Mientras que las medias de los niveles bioquímicos de ALT, AST, Bilirrubinas totales y GGT para el grupo control positivo fueron de 24.55 ± 4.21 , 44.26 ± 3.85 , 0.24 ± 0.06 y 1.32 ± 0.62 . Conclusión: El extracto hidroalcohólico de *Petroselinum crispum* (Mill.) A.W. Hill con nula evidencia hepatoprotectora sobre la inducción crónica de hepatotoxicidad con etanol a las dosis evaluadas.

Hañari R. *et al*, (2015)⁶, “Efecto hepatoprotector del extracto hidroetanólico atomizado del maíz morado (*Zea mays L.*) en lesiones hepáticas inducidas en ratas”. Objetivos: Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto hidroetanólico atomizado de *Zea mays* variedad morado sobre lesiones hepáticas inducidas en ratas. Diseño: Experimental. Resultados: Se observó aumento significativo ($p < 0,05$) en la actividad de alanina amino transferasa (ALT) entre el grupo G2 y los grupos G3 y G4 ($p < 0,001$). Se ha observado la reducción de 60% de la lesión hepática, evidenciando con menor daño del hepatocito al estudio histológico. Conclusiones: El extracto hidroetanólico atomizado de maíz morado a la dosis de 1000 mg/kg disminuyó las lesiones hepáticas inducidas en ratas.

Ochoa C. *et al*, Lima (2008)⁷, “Efecto Protector de *Peumus Boldus* en ratas con toxicidad hepática inducida por Paracetamol”, Objetivo: Comprobar el efecto protector hepático del extracto acuoso de boldo (EAB) (*Peumus boldus*) al daño hepático inducido por acetaminofén (paracetamol). Metodología: Analítica, experimental, aleatorizado. Se tomó pruebas de transaminasas (TGP) basal y final en sangre. Se estudió la anatomopatología de los hígados y se tomaron muestras de tejido teñidas con HE. Resultados: Existe diferencia significativa en los niveles de transaminasas (TGP) entre

grupos ($p < 0.05$). El control obtuvo 196,6 U/L \pm 38,1 (TGP) mientras que los experimentales como máximo 55,6 U/l. Las muestras control evidencian signos de lesión hepática, degeneración grasa, congestión sinusoidal y centrolobulillar, y necrosis celular. Sin embargo, los grupos experimentales no presentan signos de lesión celular y hay ausencia de inflamación. Conclusiones: El boldo tiene un efecto protector hepático al daño inducido por paracetamol en ratas *Holtzmann*.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Estudio botánico de la especie *Momordica charantia* L “caigua amarga”

2.2.1.1 Taxonomía de la especie vegetal

División: MAGNOLIOPHYTA

Clase: MAGNOLIOPSIDA

Subclase: DILLENIIDAE

Orden: VIOLALES

Familia: CUCURBITACEAE

Género: *Momordica*

Especie: *Momordica charantia* L.

2.2.1.2 Características de la especie *Momordica charantia* L

Esta planta, conocida también como Cundeamor, ampalayá, melón amargo o caigua amarga (Chanchamayo) es relativamente fácil de reconocer por sus frutos anaranjados, de superficie verrugosa, los cuales se abren con varios lóbulos y exponen las semillas con una cubierta roja y carnosa¹².

Es una especie tropical o subtropical perteneciente a la familia Cucurbitaceae. Bejuco de vida corta, trepador, muy común en las cercas de patios, fincas. Crece a orillas de caminos o sobre los bordes de los mismos. Posee unos tallos muy largos y ramificados, provistos de zarcillos. Sus hojas son simples, vellosas, alternas, profundamente lobado-palmadas, con 5 a 7

lóbulos oblongos dentados y aterciopelado por debajo de la nerviación. Los peciolo de las hojas son largos, orbiculares, de color verde oscuro y de 3 a 8 cm de largo y ancho. Sus flores son amarillas, con corola de cinco pétalos y acompañadas de una gran bráctea. Las flores masculinas presentan 3 estambres y pueden aparecer solitarias o agrupadas sobre un pedúnculo muy delgado y filiforme de 5 a 7 cm de longitud. Los sépalos son ovadolanceolados, acuminados de 3 a 4 mm de longitud y pubescentes¹².

El fruto es un esperidio, carnoso, ovoide de 3 a 6 cm de longitud que cuelga de un peciolo de 3 a 8 cm de longitud, de color amarillo-oro o naranja brillante, con la superficie cubierta por verrugas o tubérculos. Las semillas son de color rojo, oblongas de aproximadamente 12 mm de longitud y 5 a 6 mm de ancho¹².



Figura 1. *Momordica charantia* L. “caigua amarga”¹³.

2.2.1.3 Origen y distribución geográfica

África tropical, posiblemente también Asia tropical. Crece en climas tropicales y subtropicales, adaptándose a varios ambientes en los cuales puede cultivarse todo el año¹².

2.2.1.4 Composición fitoquímica *Momordica charantia L*

Estudios preliminares del tamizaje fitoquímico realizado a la especie *Momordica charantia L.* (Cucurbitaceae) mediante reacciones coloridas y de precipitación realizados para determinar su composición química y su actividad antioxidante señalan la presencia de taninos, fenoles, flavonoides, lípidos, hidratos de carbono, antraquinonas, saponinas y proteínas según el análisis fitoquímico realizado. En donde Las semillas presentaron el mayor contenido de grasas y proteínas, aportando el mayor valor energético. Las hojas presentaron el mayor contenido de cenizas totales y el mayor contenido de fenoles totales. Los frutos mostraron los valores más altos de contenido en humedad y de carbohidratos y mayor capacidad atrapadora de radicales libre. La especie *Momordica charantia L.* puede considerarse un recurso de interés por su aporte nutricional y con potencial actividad antioxidante para formulaciones farmacéuticas¹⁴.

Metabolitos	Hojas	Semillas	Frutos
Flavonoides	++	++	+
Taninos/Fenoles	++	+	+
Lípidos	+	++	+
Hidratos de Carbono	+	+	+
Esteroides/Triterpenos	+	+	++
Antraquinonas	-	+	++
Saponinas	++	-	+
Proteínas	+	++	+

Referencias: (++): reacción visible intensa; (+): reacción visible; (-): reacción no observada.

Figura 2. Tamizaje fitoquímico de hojas, semillas y frutos¹⁴

2.2.1.5 Usos

Es utilizada a nivel mundial en la medicina tradicional como antidiabética, antihelmíntica, abortificante, contraceptiva, emenagoga, hepatoprotector, galactogoga, antirreumática, antipsoriásica, antimalárica, antiulcerosa. Además, en estudios experimentales se ha demostrado su eficacia como agente antiviral (incluida la infección por VIH) y como antineoplásico frente a distintos tipos de cáncer, además se recomienda el té preparado a partir de sus tallos y hojas, que demuestra los efectos hipoglucémicos en estudios preclínicos ⁽¹²⁾

2.2.1.6 Propiedad Antidiabética de *Momordica charantia* L. (Cucurbitáceae)

La especie vegetal *Momordica charantia* L. (Cucurbitáceas) se han utilizado en diversas partes del mundo para tratar la diabetes. La administración oral del jugo de fruta o polvo de semilla causa una reducción en la glucosa en sangre en ayunas y mejora la tolerancia a la glucosa en animales normales y diabéticos y en humanos. Los datos en animales e in vitro respaldan el secretagogo de insulina y la actividad insulinomimética de la fruta. Sin embargo, no se han observado niveles mejorados de insulina in vivo en respuesta a su administración. Aunque se ha aislado una amplia gama de compuestos de *Momordica charantia* L, especialmente compuestos esteroideos y proteínas, el principio antidiabético activo por vía oral no se ha identificado adecuadamente. Un polipéptido, p-insulina, produce efectos hipoglucemiantes en humanos y animales en inyección subcutánea, pero la actividad oral es cuestionable. Otros principios hipoglucémicos informados de *Momordica charantia* L, incluyen la mezcla de esteroide glucósido charantin (fruta) y la pirimidina nucleósido vicina (semillas). Sin embargo, estos solo son efectivos en dosis demasiado altas para dar cuenta de toda la actividad del extracto de la planta. Posibles efectos de toxicidad no se han reportado en humanos a pesar del uso generalizado de la fruta medicinalmente y como un vegetal¹⁴.

2.2.2 Generalidades del hígado

2.2.2.1 Anatomía y fisiología del hígado

El Hígado es un órgano anexo al sistema digestivo que vierte la bilis, producto de su secreción externa, en el duodeno. Es el órgano más voluminoso del organismo, situado bajo el diafragma, sobre el duodeno y delante del estómago. La sangre que recibe viene de dos vías: la arteria hepática y la vena porta hepática, mientras que sale por la vena hepática. Este órgano pesa aproximadamente 1,5 kilogramos. Su textura lisa y de coloración rojo oscura, ya que está contenido de sangre. No obstante, el color puede modificarse debido a las enfermedades que la persona padezca, como es el caso de la cirrosis biliar, achocolatado en cánceres, bajo estas circunstancias el hígado puede volverse de color verde¹⁵.

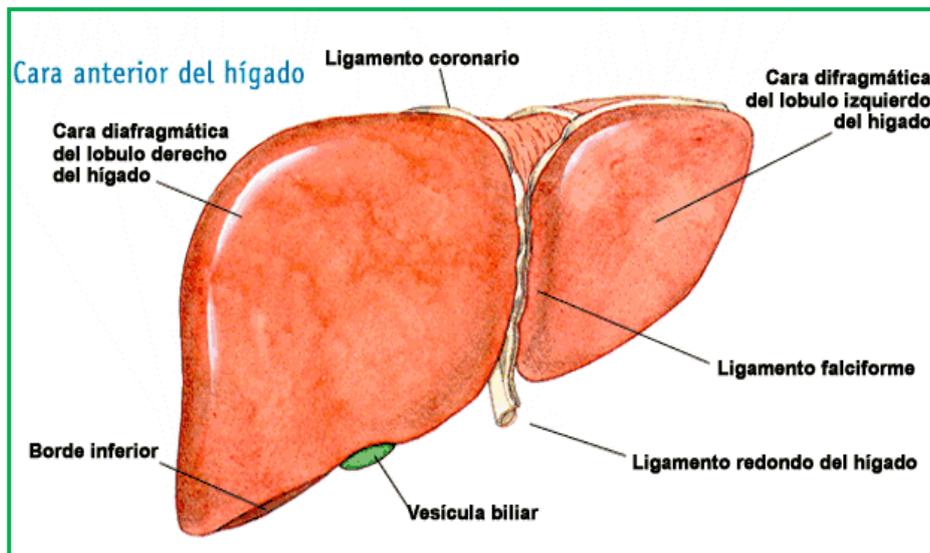


Figura 3. Estructura anatómica del hígado ¹⁵.

El hígado está protegido por el peritoneo, una capa protectora y el parénquima hepático, del cual se desprenden los conductos excretores de la bilis. Estas cápsulas finas y débiles envuelven el órgano¹⁵.

El hígado adulto representa la mitad superior de un cuerpo ovoide, cuyo eje mayor es oblicuo hacia arriba y a la izquierda. Posee una parte derecha muy desarrollada hacia atrás y arriba, lateral a la columna vertebral. Ocupa la concavidad diafragmática derecha. Su extremidad izquierda se adelgaza y aplana debajo del hemidiafragma izquierdo se localiza en el Hipocondrio derecho, por debajo del diafragma y por encima del estómago, y de los vasos del intestino delgado por detrás de las vértebras torácicas¹⁵.

Se ubica adelante con el diafragma, separado de éste por el receso subfrénico, dividido en dos por el ligamento falciforme: a la derecha se relaciona con la cavidad pleural derecha y con la quinta costilla en la espiración forzada; a la izquierda se relaciona con la pared abdominal, con el proceso xifoides del esternón, con el pericardio y la cavidad pleural izquierda. La porción posterior de la cara diafragmática se relaciona con el ligamento coronario, la vena cava inferior, las venas hepáticas, el lóbulo caudado y el ligamento triangular izquierdo¹⁶.

Este órgano se relaciona con las vísceras supracólicas y retroperitoneales derechas. A la derecha de la porta hepática el hígado se ubica sobre la flexura cólica derecha y la parte inicial del colon transverso, así como se relaciona con el duodeno. Más atrás y medialmente se relaciona con el riñón y la glándula suprarrenal derecha. A la izquierda se relaciona por delante del omento menor con la flexura superior del duodeno, el colon transverso y la cara anterior del estómago; y por detrás del omento menor con la transcavidad de los epiplones¹⁶.

2.2.2.2 Estructura microscópica del hígado

La unidad estructural del hígado consiste en un lobulillo poliédrico, descrito en los cortes histológicos como un hexágono. Este lobulillo parece estar organizado alrededor de la vena central, simplemente por el aspecto histológico del hígado; sin embargo, desde una perspectiva funcional, el lobulillo hepático también puede considerarse como un acino, con su centro

en el espacio portal. El concepto del acino permite definir 3 zonas diferentes: la zona 1 o periportal (PP), próxima a los vasos terminales portales y arteriales, la zona 2 o intermedia (I) y la zona 3 o perivenosa (PV) situada alrededor de los vasos terminales eferentes¹⁷.

Las triadas portales (o espacios portales) que se sitúan en la periferia del acino, a nivel de los ángulos del hexágono, contienen ramas intrahepáticas de los conductos biliares, de la arteria hepática, y de la vena porta. La vena central o vénula hepática terminal, como su nombre lo indica, se ubica en el centro del lobulillo. Desde este punto irradian láminas de hepatocitos con el espesor de una célula, que se extienden hasta el perímetro del lobulillo, donde se continúan con las láminas o trabéculas de otros lobulillos. Entre las trabéculas de hepatocitos están las sinusoides hepáticas, revestidos por células endoteliales, células de kupffer y las células para almacenamiento de lípidos, denominadas células de Ito. Las células de kupffer son macrófagos tisulares capaces de fagocitar bacterias y otras células extrañas. Entre el revestimiento endotelial y el parénquima hepático se sitúa un espacio extracelular, el espacio de Disse, que se comunica con el espacio intravascular por medio de fenestraciones del endotelio¹⁷.

El hígado presenta una doble circulación aferente: lo que proviene del intestino por la vena porta y la de la circulación sistémica, por la arteria hepática. El sistema de irrigación de la arteria hepática transporta sangre oxigenada mientras que el sistema porta transporta sustancias asimiladas en la digestión. La sangre aferente se distribuye en los hepatocitos a través de unos capilares especializados o sinusoides y posteriormente se drena a través del sistema de la vena hepática¹⁸.

Los vasos sanguíneos son de calibre, que ingresan a través del hilio hepático, se dividen más adelante en pequeñas ramas interlobulillares de la arteria hepática y la vena porta de los espacios portales. Desde estos últimos los vasos interlobulillares distribuyen sangre hacia las sinusoides hepáticas, que fluyen en dirección centrípeta hacia la vena central. Las venas centrales

se unen y forman venas sublobulillares que luego se fusionan para dar lugar a las venas suprahepáticas¹⁸.

Las células del parénquima o hepatocitos que presentan aproximadamente el 60% del total de las células hepáticas son células en cuya membrana plasmática existen tres zonas perfectamente diferenciadas: la membrana sinusoidal (en contacto con las sinusoides), la membrana intercelular y la membrana canalicular. Esta última contribuye a delimitar, junto con la de otras dos o tres células adyacentes, los canaliculos biliares, que siguen un sentido opuesto al de la circulación y convergen para formar finalmente el conducto biliar, el cual desemboca en el duodeno^{17, 18}.

Los hepatocitos de la zona 1 están expuestos a sangre con una elevada concentración de oxígeno y solutos, mientras que los de la zona 3 se encuentran bañados por sangre con menor concentración de nutrientes y oxígeno. Debido a su gran irrigación sanguínea y al estrecho del contacto que guarda con los fármacos y con sus metabolitos, el hígado es el principal órgano que está expuesto al daño producido por los metabolitos tóxicos resultantes de la biotransformación de los fármacos^{17, 18}.

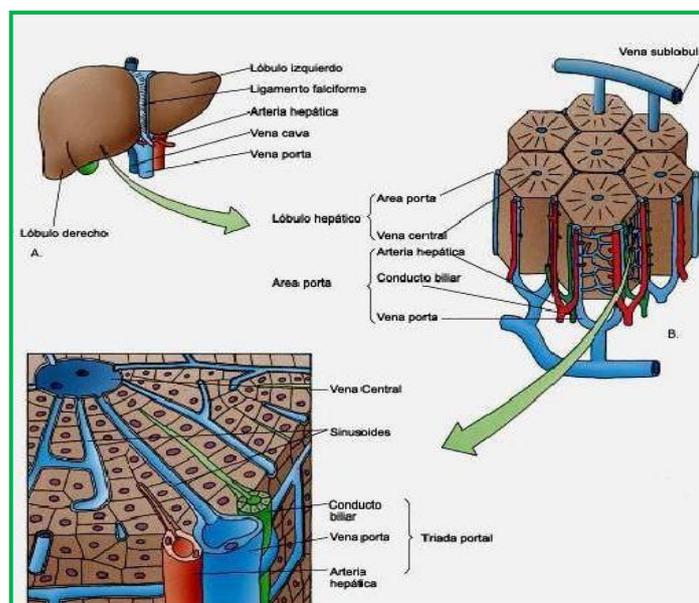


Figura 4. Estructura microscópica del hígado, células hepáticas, circulación venosa y circulación arterial¹⁷.

2.2.2.3 Funciones del hígado

Este órgano tiene más de quinientas funciones, y es clave para el aparato digestivo y el sistema inmunitario, puesto que ayuda a controlar el metabolismo de las grasas y el azúcar. Asimismo, contribuye, de manera significativa, el procesamiento de los alimentos, puesto que el 90% de los nutrientes pasar por este órgano. El hígado tiene la facultad de convertir los alimentos en energía, almacena nutriente y produce proteínas sanguíneas. “Además, actúa como filtro para eliminar sustancias nocivas de la sangre. En los fetos en formación, los hematíes se producen en el hígado”¹⁶. El hígado realiza las siguientes funciones:

a) Metabolismo

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

Se encarga de la regulación, ya sea por acumulación o liberación de colesterol y azúcar. El órgano opera de la siguiente manera: Al ingerir los alimentos, el hígado lo detecta y transforma la glucosa en glucógeno. Por otro lado, cuando el cuerpo requiera de energía el glucógeno volverá a su estado anterior (glucosa). A este procedimiento se le denomina gluconeogénesis¹⁶.

El hígado es el encargado de regular el almacenamiento de las grasas, a través de la conversión de los aminoácidos de la comida digerida en ácidos grasos, como los triglicéridos; el cuerpo humano al no poseer suficiente azúcar, el hígado convierte los ácidos grasos en cetonas, las cuales pueden utilizarse como energía¹⁶.

b. Almacenamiento

El hígado tiene en su poder a vitaminas como A, D, B-9 (folato) y B12. Asimismo, contiene hierro. El exceso de numerosos medicamentos, como el paracetamol y anti-VIH pueden afectar seriamente este órgano, lo cual originaría que los medicamentos ingresen a la sangre. Por ello, se recomienda mucho cuidado al efectuar combinaciones entre fármacos o plantas¹⁷.

c. Síntesis de las proteínas

Entre las funciones principales del hígado se encuentra la de sintetizar las hormonas, enzimas, factores inmunitarios y de coagulación. Las enzimas hepáticas aminotransferasas o transaminasas se encargan de la descomposición de los aminoácidos de la comida digerida y los utilizan para elaborar nuevas proteínas necesarias para el organismo. “Cuando las células hepáticas están inflamadas o dañadas, estas enzimas pueden liberarse y acumularse en grandes cantidades en la sangre; es posible determinar su concentración mediante un sencillo análisis de sangre”¹⁷.

d. Desintoxicación

El órgano tiene la vital función de desechar sustancias peligrosas que puedan afectar al cuerpo humano, por ejemplo: las drogas, medicamentos, metales pesados, alcohol. Estas sustancias son controladas por el hígado, sin embargo, el exceso del consumo de dichos productos peligrosos puede ser fatal para el órgano, y por consiguiente para el cuerpo humano. Además, el hígado se encarga de excretar derivados tóxicos del metabolismo normal y las hormonas sobrantes^{16,17}.

2.2.3 Hepatotoxicidad

La hepatotoxicidad se define como la lesión o daño hepático causado por la exposición a un medicamento u otros agentes no farmacológicos. Estas reacciones adversas que afectan al hígado son más difíciles de definir, por lo que dicho concepto ha sido establecido por reuniones de consenso e incluye, al menos, una de las siguientes alteraciones de los análisis bioquímicos hepáticos: 1) aumento de alanino aminotransferasa superior a dos veces el límite alto de la normalidad, 2) aumento de la concentración de bilirrubina directa sérica más de dos veces el límite alto de la normalidad, 3) aumento de aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina (FA) y la concentración total de bilirrubina, siempre que uno de ellos supere más de dos veces el límite alto de la normalidad¹⁹.

El primer paso para el diagnóstico de hepatotoxicidad, tras la sospecha clínica, es la realización de una anamnesis general y farmacológica minuciosa que tenga en cuenta todos los productos de prescripción o de libre dispensación consumidos en los meses previos, no olvidando los analgésicos como el paracetamol, los productos de herboristería, así como las drogas de abuso. No hay reglas claras para la imputación de un determinado fármaco en la aparición de un episodio de hepatotoxicidad cuando existen varios medicamentos sospechosos tomados de forma simultánea. En estos casos se debe prestar especial atención a los introducidos en los últimos 3 meses, fundamentalmente en el último prescrito o en el de mayor potencial hepatotóxico¹⁹.

También es importante anotar la presencia de factores de riesgo y si han existido reacciones tóxicas a medicamentos en el pasado. Aunque prácticamente cualquier fármaco comercializado ha sido involucrado en algún caso de hepatotoxicidad, la capacidad de producir lesión hepática no es la misma para todos. Por ejemplo, medicamentos como la digoxina, la teofilina y la estreptomicina se han venido utilizando durante décadas sin aparecer datos de hepatotoxicidad. Por el contrario, sustancias como la isoniazida, el diclofenaco y la amoxicilina-ácido clavulánico han sido los

compuestos más frecuentemente implicados en enfermedad hepática secundaria a medicamentos en las últimas décadas²⁰.

Los medicamentos con potencial hepatotóxico pueden tener características específicas propias o “Firma” en cuanto a la temporalidad, tipo de lesión y las manifestaciones clínicas que producen, por lo tanto, aunque existe gran variabilidad interindividual, el conocimiento de estos datos es importante a la hora de la evaluación de casos de lesión hepática inducida por medicamentos. Por otro lado, también se debe tener en cuenta que existen excepciones a dicha regla, como ocurre por ejemplo con la troglitazona, cuya lesión más frecuente es de tipo hepatocelular, y sin embargo se han descrito casos de alteración colestásica. Otro ejemplo de este fenómeno es lo que ocurre con el antibiótico amoxicilina-ácido clavulánico cuyo patrón más característico es el colestásico, aunque también se han descrito casos de lesión hepatocelular e insuficiencia hepática aguda²⁰.

2.2.3.1 Hepatotoxicidad inducido por fármacos

De todo lo anterior se puede exponer que, al momento de administrar el tratamiento farmacológico, es ineludible el compromiso entre la eficacia de la terapia y los efectos no deseados, la hepatotoxicidad se define como la lesión o daño hepático causado por la exposición a un medicamento u otros agentes no farmacológicos²¹.

Muchos de los mecanismos de hepatotoxicidad por medicamentos se deben a la formación de metabolitos reactivos, entre los fármacos más comunes asociados a la hepatotoxicidad se encuentra el paracetamol, medicamentos anticonvulsivos y antituberculosos. Los medicamentos con frecuencia están asociados a aumentos benignos de las enzimas hepáticas, sin embargo, el daño hepático grave esta reportado en algunos casos, la hepatotoxicidad por fármacos se puede presentar con inflamación, colestasis y la gravedad puede ir desde enzimas aminotransferasas ligeramente elevadas a insuficiencia hepática fulminante. Pacientes con patrones elevados de colestasis presenta elevación de fosfatasa alcalina. De forma aguda la hepatotoxicidad se

presenta con dolor abdominal y fiebre como una obstrucción biliar crónica con ictericia o prurito²¹.

La mayoría de los fármacos se biotrasforman o detoxifican en hígado, por lo regular el metabolismo de las drogas resulta en productos inactivos, la detoxificación usando el sistema del citocromo P450 puede dar lugar a metabolitos activos y potencialmente tóxicos. Las sustancias que son metabolizadas por el hígado son lipofílicas o insolubles en el agua, pero el metabolismo enzimático, convierte las drogas en metabolitos solubles, los cuales son fácilmente excretados por el riñón²¹.

2.2.3.2 Mecanismos de lesión hepática

La interrupción de la homeostasis del calcio intracelular conduce a la disociación de las fibras de actina en la superficie del hepatocito, lo que da como resultado la aparición de protuberancias en la membrana celular, con su posterior ruptura y lisis celular²².

1. La disociación se puede producir al lado del canalículo, la porción encargada de la excreción de bilis, hay pérdida de los procesos vellosos y la interrupción de las bombas de transporte de proteína asociada a resistencia multidroga 3 (MRP3), impidiendo la excreción de bilirrubina y otros compuestos orgánicos.
2. Múltiples reacciones hepatocelulares implican el citocromo P-450, generando reacciones que pueden conducir a la unión covalente del fármaco a la enzima, creando así nuevos complejos que no funcionan.
3. Los complejos (enzima-droga) anteriormente mencionados migran a la superficie de la célula en vesículas para servir como inmunógenos (objetivo para el ataque por las células T citolíticas), el resultado es una respuesta inmune con participación de células T y citoquinas.

- La activación de las vías de apoptosis por el factor de necrosis tumoral o receptor Fas puede desencadenar la cascada de caspasas intracelulares, que resulta en la muerte celular programada con la pérdida de la cromatina nuclear.
- Ciertos fármacos inhiben la función mitocondrial, tanto la β -oxidación como las enzimas que participan en la cadena respiratoria. Los ácidos grasos libres no pueden ser metabolizados, y la falta de oxígeno conduce a la acumulación de lactato y especies reactivas del oxígeno (alteran el ADN [ácido desoxirribonucleico] mitocondrial)²².

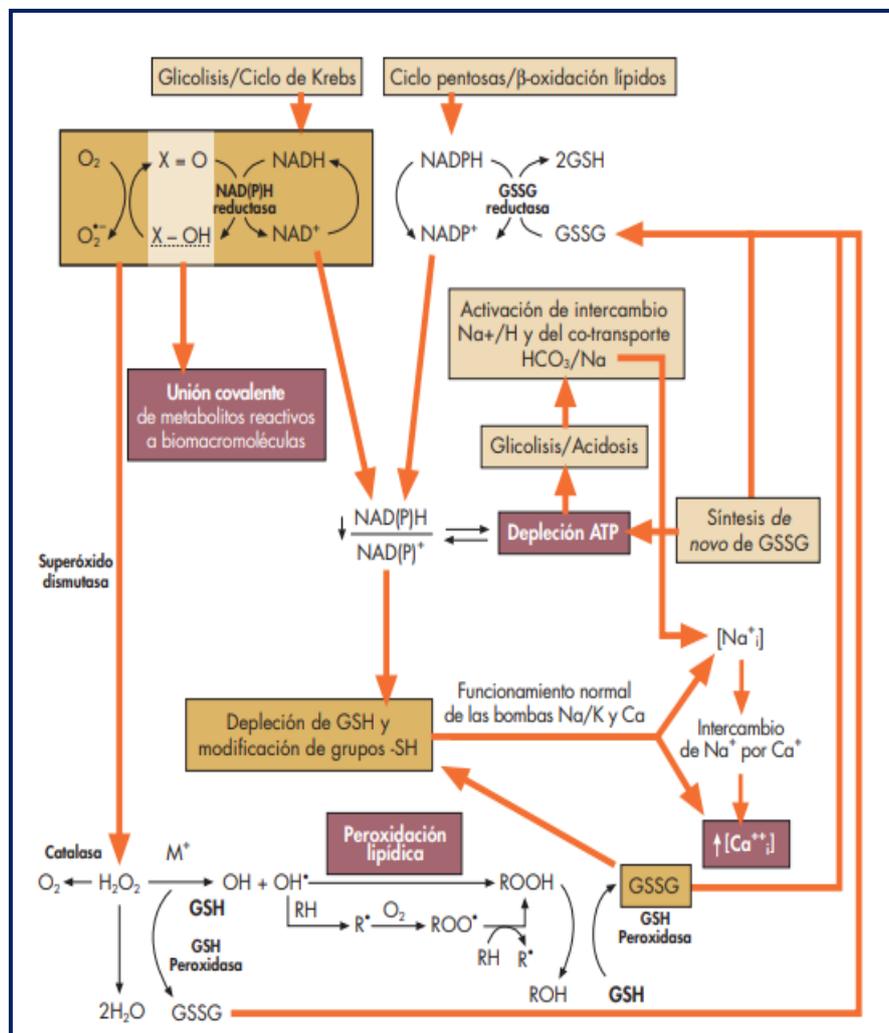


Figura 5. Mecanismos de hepatotoxicidad intrínseca por acción de fármacos²².

2.2.3.3 Metabolismo hepático de las drogas

El cuerpo humano identifica a los fármacos como agentes extraños, es decir, xenobióticos y los sujeta a un número diverso de procesos químicos y metabólicos para hacerlos de fácil descarte. Ello implica transformaciones químicas para reducir su liposolubilidad y cambiar su actividad biológica. A pesar de que casi todos los tejidos del cuerpo tienen, hasta cierto grado, capacidad de metabolizar estos productos químicos, el retículo endoplásmico del hígado es, por excelencia, el principal lugar de depuración de sustancias químicas endógenas (como el colesterol, esteroides, ácidos grasos y proteínas) así como exógenas como los fármacos. El papel central del hígado en la depuración y transformación de sustancias químicas hace que sea un órgano muy susceptible a intoxicaciones, para lo cual presenta dos fases²³:

Fase 1

El metabolismo de los fármacos suele ser dividida en dos fases.

Fase I se engloban procesos químicos de distinta naturaleza (principalmente oxidación, oxigenación, reducción e hidrólisis, así como, de-aliquilaciones, deshalogenaciones), cuyo resultado es la modificación química de las moléculas con la aparición de nuevos grupos funcionales. El metabolito resultante es más polar, más reactivo, y sensiblemente menos lipófilo. Estos procesos son mayoritariamente catalizados por enzimas presentes en la fracción microsomal del homogenado celular. Su mayor concentración y diversidad se encuentra en los hepatocitos²³.

Con frecuencia, los metabolitos generados en la Fase I se unen covalentemente a moléculas endógenas de la célula tales como ácido glucorónico, glutatión, sulfato y aminoácidos generando conjugados (Reacciones de Fase II). Este proceso conlleva un considerable aumento de la hidrosolubilidad y, por lo general, también una disminución de su actividad farmacológica y/o toxicológica. Estas reacciones están catalizadas por enzimas presentes en la fracción citosólica celular²³.

Ambos procesos facilitan la eliminación renal o biliar de los metabolitos (Fase III), pero no todos los xenobióticos necesariamente sufren un proceso de fase I seguido de otro de fase II. El objetivo principal de las reacciones de biotransformación es el modificar la hidrofobicidad de un compuesto de manera que se facilite su eliminación y, en ocasiones, tal objetivo se alcanza con solo reacciones de fase I, solo de fase II, o ambas. Desde una perspectiva celular, la primera opción es que un fármaco sufra solo reacciones de conjugación, porque son seguidas de una fácil eliminación de los conjugados. Solo cuando dicha reacción no es posible (por ejemplo, porque el compuesto carece de grupos funcionales necesarios, a través de los cuales puede conjugarse), y dada su naturaleza lipófila tiende a acumularse en la célula, hay una opción real para que éste sufra también reacciones de fase I²³.

Las reacciones de fase I son catalizadas por un grupo de enzimas que se encuentran tanto en el citosol como en el retículo endoplásmico de las células. En la fracción microsomal destaca sobre todo la presencia de una actividad monooxigenasa singular. En la fracción citosólica celular se encuentran otras actividades enzimáticas, no oxidativas, incluidas también en las reacciones de fase I tales como las esterasas, reductasas, deshidrogenasas e hidrolasas, etc²³.

Las monooxigenasas son enzimas que hacen uso del oxígeno molecular, del que utilizan uno de los átomos para oxigenar al xenobiótico (oxidación + incorporación de oxígeno a una molécula orgánica), al tiempo que el otro átomo termina reducido a H₂O. Existen dos grandes familias de oxigenasas en el hígado: las dependientes de citocromo P450 (denominadas P450, CYP) y las flavín monooxigenasas (denominadas FMO). A diferencia de las segundas, la acción de los CYP requiere de la coparticipación de una enzima auxiliar (CYPreductasa), a través de la cual fluyen los electrones necesarios para la reducción de uno de los átomos de oxígeno hacia la formación de H₂O^{22, 23}.

Las monooxigenasas dependientes del citocromo P450 (denominadas de manera abreviada P450) es un conjunto de hemoproteínas de peso molecular alrededor de los 50 KDa. Los genes que las codifican (denominados CYP, de manera abreviada) son posiblemente los más estudiados y mejor conocidos, dentro de las enzimas de metabolización de fármacos. El citocromo P450 constituye una familia relativamente extensa de genes (CYP) agrupada en varias familias y subfamilias en función del grado de homología de los genes que las codifican. En el ser humano existen 16 familias y 29 subfamilias, con un total de unos 50 genes CYP identificados. Los genes pertenecientes a las familias 1, 2 y 3, son los que están implicados, de manera más directa, en el metabolismo de los fármacos. En concreto, CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 y CYP3A4 son responsables del metabolismo de la gran mayoría de los fármacos actualmente en uso clínico^{22, 23}.

Fase 2

La mayoría de las reacciones químicas de la fase 2 ocurren en el citoplasma e incluyen principalmente la conjugación con compuestos endógenos por medio de enzimas transferasas. Al final de la fase 2, aquellos productos de la fase 1 que sean químicamente activos se vuelven relativamente inertes y disponibles para su fácil eliminación del cuerpo²⁴.

Las reacciones de fase II facilitan la conjugación de los xenobióticos, o de los metabolitos generados en las reacciones de fase I, con moléculas endógenas tales como el ácido glucorónico, glutatión, sulfato o aminoácidos. Los conjugados con ácido glucorónico son formados por la enzima UDP-glucoronil transferasa, de la que existen varias isoformas con distintas especificidades en cuanto a sustrato. La enzima utiliza un éster uridíndifosfato del ácido glucorónico (UDPGA), como donador de ácido glucorónico y es capaz de formar O-, N- y S-glucoronatos. En el hígado predomina la isoforma UGT1A1, pero también existe actividad UGT en la mayor parte de los tejidos²⁴.

La conjugación con glutatión está catalizada por la glutathiontransferasa (GST), enzima de la que se conocen seis isoformas que difieren en cuanto a la especificidad por el sustrato y su distribución tisular. La enzima usa directamente GSH, formando tioéteres. Los conjugados con glutatión son eliminados directamente por la bilis, y en menor medida por la orina. En este último caso, antes de ser excretado, el conjugado con GSH sufre un proceso metabólico por el que secuencialmente es eliminado el resto γ -glutámico, la glicina, de la molécula de GSH y finalmente es acetilado el grupo amino de la cisteína, dando origen a derivados del ácido mercaptúrico que son los metabolitos que finalmente aparecen en la orina. Existe actividad GST en aquellos tejidos que están en contacto con el O₂, o bien en los que existe un metabolismo oxidativo importante²⁴.

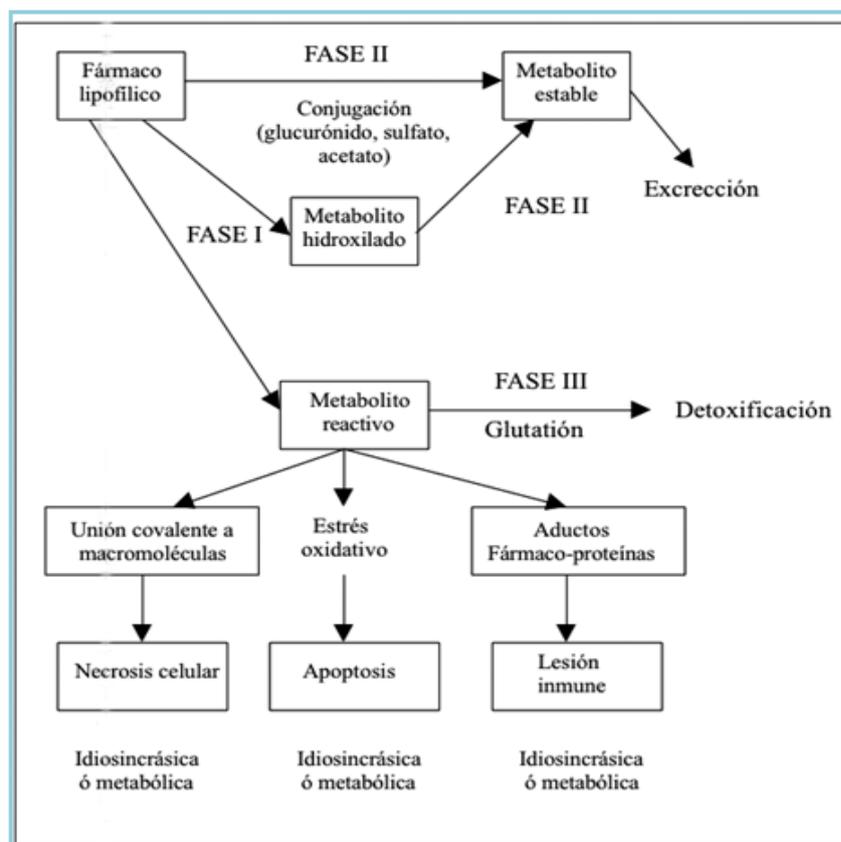


Figura 6. Etapas en la biotransformación de los fármacos²⁴.

2.2.3.4 Parámetros analíticos en la enfermedad hepática

Dentro de los denominados test de función hepática (TFH) se incluyen varios parámetros bioquímicos como son la aspartato aminotransferasa (AST), alanino aminotransferasa (ALT), gammaglutamiltranspeptidasa (GGT), fosfatasa alcalina (FA), bilirrubina, albúmina y actividad de protrombina. Los parámetros analíticos miden la capacidad funcional del hígado, siendo los demás potenciales indicadores de daño hepático²⁵.

Entre las funciones más importantes del hígado se incluyen el metabolismo y la eliminación de bilirrubina. De este modo, la elevación de bilirrubina tiene valor pronóstico tanto en las enfermedades hepáticas agudas como en hepatopatías crónicas. La albúmina es la proteína sérica más importante sintetizada en el hígado, en hepatopatías crónicas avanzadas se produce hipoalbuminemia debido tanto a una disminución en su síntesis, como a la hemodilución y malnutrición que se produce en estos casos. Así, es uno de los parámetros analíticos junto con la bilirrubina y el tiempo de protrombina que se emplean para el estadiaje de la cirrosis²⁵.

La alteración del tiempo de protrombina (TP) en las enfermedades hepatobiliares puede ser debido tanto a déficit de vitamina K, ya que al ser una vitamina liposoluble su absorción se encuentra disminuida por la colestasis, como a déficit en su síntesis en situaciones de insuficiencia hepática es un parámetro fundamental con elevado valor pronóstico en la insuficiencia hepática aguda²⁵.

Tipo de lesión	Parámetros analíticos	Fármaco prototipo
Hepatocelular	Aumento de transaminasa ALT $\times 2N$ Aumento del cociente ALT/AP $\times 5$	Isoniazida, halotano, paracetamol, ácido valproico
Colestásica	Aumento de fosfatasa alcalina $\times 2N$ Aumento del cociente ALT/AP ≤ 2 Aumento de GGT $\times 3N$ (si lesión a células ductales) Aumento de la bilirrubina conjugada $\times 2N$	Clorpromacina, eritromicina, contraceptivos orales
Mixta	Aumento del ALT ≤ 2 Incremento de AP > 2 Aumento del cociente ALT/AP > 2	Varios

Figura 7. Características analíticas de las hepatitis por fármacos²⁵.

2.2.3.5 Fármacos hepatotóxicos

Fármacos asociados a la toxicidad hepática se nombran a continuación:

Fármaco	Cuadro clínico-patológico
Paracetamol Halotano Isoniazida Diclofenaco Sulfamidas	Hepatitis Aguda Hepatoceleular
Amoxicilina/Ac.clavulánico Macrólidos (Eritromicina) Clorpromacina	Hepatitis colestásica/mixta aguda
Nitrofurantoina Diclofenaco Metildopa Bentazepan	Hepatitis Crónica
Amiodarona Tetraciclinas Metotrexate Ácido Valproico Corticoides / Estrógenos Tamoxifeno Antagonistas del calcio	Esteatosis-Esteatohepatitis
Anticonceptivos orales Andrógenos	Adenoma/adenocarcinoma hepático
Agentes quimioterápicos (ciclofosfamida)	Peliosis hepática
Metotrexate	Fibrosis perisinusoidal

Tabla 1. Tipos de lesión hepática ejemplos de fármacos que la producen²⁵.

2.2.3.6 Hepatotoxicidad por paracetamol

La intoxicación por paracetamol es la segunda causa de insuficiencia hepática aguda de origen no vírico en España. Este fármaco sufre metabolismo hepático por conjugación con ácido glucurónico, ácido sulfúrico y cisteína (95%). Una pequeña parte del fármaco (5%) se N-hidroxila por la isoenzima CYP2E1 para formar N-acetil p-benzoquinoneimina (NAPQI) que interacciona con los grupos sulfhídricos del glutatión²⁶.

El NAPQI es un metabolito altamente hepatotóxico, y normalmente es detoxificado por el glutatión y la unión a grupos sulfhídricos. Este metabolito ejerce su toxicidad al unirse de forma covalente a macromoléculas, produciendo radicales libres que provocan una necrosis hepática en tan sólo 12 horas²⁶.

2.2.3.7 Actividad tóxica del paracetamol

Su toxicidad es debida a la acción del metabolito intermedio (NAPQI) generado al biotransformarse a través de la vía oxidativa hepática. A dosis terapéuticas, el NAPQI generado se une al glutatión intracelular y a otros compuestos tiólicos formándose un conjugado atóxico²⁷.

En sobredosis, cuando la cantidad de paracetamol supera una dosis crítica (generalmente 150 mg/kg), las vías de glucuro y sulfoconjugación se saturan incrementándose la proporción de paracetamol que seguirá la vía oxidativa. Ello aumenta la velocidad y la producción de NAPQI precisándose más glutatión para neutralizarlo²⁷.

Cuando las reservas de glutatión hepático descienden por debajo de un 30%, el NAPQI libre ejerce su acción tóxica sobre el hepatocito uniéndose mediante un enlace covalente al locus neutrofílico de determinadas proteínas intracelulares, pudiendo producir la muerte celular. La necrosis inicialmente se concentra en la zona III centrolobulillar ya que es aquí

donde hay un mayor metabolismo oxidativo extendiéndose al restante parénquima hepático en los casos más severos²⁷.

Un mecanismo de acción similar (formación de NAPQI a través del P450 renal) se ha sugerido como causa de la necrosis tubular que ocasionalmente también acaece en esta intoxicación, aparte de este mecanismo oxidativo, se han propuesto experimentalmente otras vías fisiopatológicas complementarias o, incluso, determinantes del daño hepático y extrahepático: formación de radicales libres, cambios isquémicos en la microcirculación, trastornos de la homeostasis cálcica, inhibición de la cadena respiratoria mitocondrial^{26,27}.

2.2.4 Actividad hepatoprotectora

La actividad hepatoprotectora se refiere a la regeneración de las células hepáticas. Esto quiere decir que aceleran la función natural del hígado de reemplazar las células dañadas. Hay plantas hepatoprotectoras que pueden estimular los sistemas de detoxificación del hígado para eliminar los compuestos tóxicos que pudieran haber ingresado al mismo (ya sea alimentos en mal estado - las toxinas - como fármacos muy potentes)²⁸.

Uno de los mecanismos más importantes de detoxificación lo constituyen los sistemas enzimáticos de las catalasas y superóxido-dismutasa. Estos mecanismos son muy importantes para permitir la eliminación de radicales libres del organismo²⁸.

2.2.4.1. SILIMARINA

Silimarina se refiere al extracto de las semillas de la planta *Silybum marianum*. Se ha usado durante más de 2,000 años. Durante la Edad Media la semilla fue usada normalmente para tratar las enfermedades del hígado. Los ingredientes activos de cardo mariano son químicos llamados flavonoides. Los flavonoides son silibina, silidianina y silicristina. Juntos estos se llaman silimarina²⁹.

La silimarina es un flavonoide con propiedades hepatoprotectoras, aislado del cardo mariano como colagogo que inicialmente se empleaba en el tratamiento de la litiasis biliar y la ictericia. También es empleado en hepatopatías como cirrosis, hepatitis, esteatosis producidas por el alcohol y otras toxinas²⁹.

2.2.4.2 Actividad de la silimarina

La silimarina es un potente antioxidante que neutraliza los radicales libres que pueden dañar a las células hepáticas expuestas a toxinas. Tiene elevada actividad antioxidante. La silimarina aumenta la concentración de glutatión en más de un 35% en humanos y 50% en ratas. Altos niveles de glutatión a nivel hepático para favorecer la detoxificación^{28, 29}.

La silimarina aumenta el nivel de la enzima superóxido dismutasa, antioxidante en cultivos celulares. La silimarina aumenta la síntesis de proteínas en el hígado a través de la estimulación de la polimerasa I y de la transcripción del RNAr, lo que resulta en un aumento en la producción de nuevas células hepáticas para reemplazar las dañadas por hepatotóxicas. Adicionalmente, la silimarina inhibe la síntesis de los leucotrienos (mediadores de la inflamación) que pueden resultar en la psoriasis, entre otras patologías.

El metabolismo de la silimarina es hepático. En un estudio sobre la excreción urinaria tras la administración oral de la silimarina a voluntarios sanos, se encontró en la orina total, recogida en 24 horas, alrededor del 3 a 7% de la silibina (principio activo de la silimarina) administrada. Investigando la excreción urinaria y biliar de silibina, silicristina y silidianina tras la administración de una dosis única de 140 mg de silimarina. (60 mg de silibina) en pacientes con colecistectomía, se observó una excreción urinaria de silibina insignificante (5%). La silicristina se excretó en un 1% y silidianina no se pudo determinar ni en bilis ni en orina.

Tras las 24 horas silibina y silicristina fueron principalmente excretadas en bilis, como glucurónidos y sulfatos, en porcentajes de 20 a 40% y 4 a 10% respectivamente^{28, 29}.

2.3.3 Fitoterapia en tratamiento hepatotóxico

El hígado constituye el principal centro de biotransformación y eliminación de agentes potencialmente tóxicos, además de su participación en la síntesis y distribución de nutrientes incorporados al organismo. Las funciones que desempeña este órgano son únicas y vitales pues a pesar de que casi todos los tejidos tienen, hasta cierto grado, la capacidad de metabolizar estos productos químicos, el hígado es por excelencia el principal lugar de depuración de sustancias endógenas y exógenas, de ahí que cualquier modificación en alguna de sus funciones traería graves consecuencias para la vida³⁰.

Por ello, la búsqueda de alternativas naturales de tratamiento orientadas a proteger al hígado de los efectos nocivos de hepatotoxinas que el hombre puede ingerir o contrarrestar las alteraciones en los mecanismos de defensa antirradicálicos, es un elemento importante en las investigaciones médico farmacéuticas³⁰.

La Fitoterapia constituye una alternativa farmacológica para resolver de manera complementaria e integral las necesidades primarias de salud. Como consecuencia del desarrollo de nuevos procesos químicos de síntesis se ha hecho improbable explotar las potencialidades de un inmenso número de especies vegetales que, sin duda alguna, encierran una amplia diversidad de compuestos químicos desconocidos que podrían llegar a tener un gran valor terapéutico³⁰.

Tanto el Parlamento Europeo como la Organización Mundial de la Salud (OMS) han adoptado resoluciones que ponen de manifiesto la necesidad de racionalizar el empleo de los productos derivados de las plantas medicinales

con el objetivo de limitar la prescripción, de aquellos productos de fitoterapia que carezcan de estudios previos para avalar su uso, o de plantas de las que no se conocen suficientemente los riesgos de su utilización por lo que corresponde a la ciencia moderna conducir el estudio de la medicina tradicional por métodos científicos que comprueben la eficacia farmacológica en cada caso³¹.

Las plantas han sido usadas por practicantes de la medicina tradicional por cientos de años para el tratamiento de desórdenes del hígado. Estos tratamientos incluyen hepatitis viral aguda, hepatitis crónica viral, colelitiasis crónica, enfermedad hepática alcohólica y envenenamientos por hongos. Existen evidencias científicas considerables en que agentes fitogénicos pueden tener beneficios significativos sobre la disfunción y curso de las enfermedades del hígado. Algunas plantas de las más estudiadas en enfermedades hepáticas son, por ejemplo: *Silybum marianum* (cardo mariano) *Rosmarinus officinalis* (romero), y *Synara scolymus* (alcachofa) y algunas más como *Glycyrrhiza glabra* (licor de raíz)³¹.

2.2.6 Pruebas de reacción colorimétrica

Una reacción colorimétrica es una técnica química en la que en una solución acuosa un sustrato reacciona con un reactivo para generar un cambio de color (producto)³².

Las pruebas químicas a partir de los extractos permiten observar si una planta o algunas de sus estructuras presenta o no algún metabolito secundario, las cuales serán identificadas mediante reacciones colorimétricas, en base a la bibliografía obtenida³².

1. Con el reactivo de Dragendorff (alcaloides); La prueba es positiva para alcaloides dando una coloración de color rojo, naranja o marrón.

2. Con el reactivo de Warner, (alcaloides); La mayoría de las soluciones aciduladas de alcaloides da una coloración marrón.
3. El reactivo de Shinoda (flavonoides); Se considera positiva, mediante la aparición de color naranja, rojo, rosa, rosa-azul a violeta para compuestos con el núcleo de la γ -benzopirona, (flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, isoflavonoides y xantonas).
1. El reactivo de Gelatina/NaOH (taninos): La prueba más empleada para la detención de este grupo de metabolitos secundarios se emplea el reactivo gelatina-sal dando un precipitado de color blanco en presencia de taninos y producir coloraciones verdes, azules o negras tras la adición de cloruro férrico al 10% en agua.
2. El reactivo de Mayer (alcaloides): Los alcaloides se detectan como un precipitado blanco o de color crema soluble en ácido acético y etanol.
3. El reactivo de Bertrand (alcaloides): La prueba para alcaloides es positiva si da un precipitado color blanco.
4. El reactivo de Popoff (alcaloides): La prueba es positiva dando un precipitado de color amarillo, entonces la muestra contiene alcaloides.
5. El reactivo de Sonnenschein (alcaloides): La prueba es positiva si se observa precipitado amarillo, entonces la muestra contiene alcaloides.
6. El reactivo de Cloruro férrico III (compuestos fenólicos): La prueba es positiva con la aparición de un precipitado rojo, azul violeta o verde.
7. El reactivo de Cloruro aluminio III (flavonoides): Si se observa la aparición de color rojizo, violeta o naranja, se considera positivo para flavonoides.

8. El reactivo de Liebermann–Burchard (esteroides y triterpenoides libres): Para su análisis preliminar en plantas la prueba más comúnmente usada es la de Liebermann–Burchard. Se considera resultado positivo si aparecen las coloraciones de rojo, azules o verdes.
9. El reactivo de salkowski (flavonoides) La prueba es positivo para flavonas y flavonoles si se observan coloraciones amarillas; para flavonas naranja-guinda, para chalconas coloraciones rojo-azuloso, y la presencia de quinonas se detecta con coloraciones rojo-purpura^{32, 33}.

2.3 Marco Conceptual

2.3.1 Definición de términos básicos

Efecto hepatoprotector

Es la capacidad que tiene un fármaco o sustancia química de proteger al hígado de los efectos deletéreos que pueden producir estos, capaces de mejorar el funcionamiento hepático, existen diversas sustancias como la metionina y otros como el ácido tioctico, además del glutatión que nos protegen de los agentes tóxicos y oxidantes como el acetaminofén⁸.

Extracto hidroalcohólico

Son extractos líquidos concentrados obtenidos de la extracción de una planta o parte de ella, empleando como solvente alcohol y agua. Su concentración es de 1:1, por lo que de un kilogramo de planta se obtiene un kilogramo de extracto⁸.

Intoxicación aguda

Son las que se producen por la administración de una mega dosis de fármacos o en dosis repetidas en un lapso no mayor a 24 horas. Se caracteriza porque las manifestaciones clínicas son rápidas y violentas. La dosis o cantidad del tóxico es generalmente grande, pero algunos como el cianuro, paraquat, aflatoxinas y fósforo blanco presentan cuadros agudos severos²⁶.

Paracetamol

El paracetamol es un fármaco con propiedad analgésica-antipirética empleado en dolor de diversa etiología, tales como cefalea, muscular, fiebre, articulares, entre otros²⁰.

Toxicidad

La capacidad intrínseca que posee un agente químico de producir efectos tóxicos sobre un órgano. La toxicidad es el grado en el que una sustancia química o biológica puede dañar un organismo²⁸.

Dosis tóxica

La dosis tóxica suele definirse como la cantidad necesaria de un xenobiótico que entra en un organismo, capaz de producir toxicidad aguda o crónica²⁸.

Hepatotoxicidad

La hepatotoxicidad es un daño al hígado producido por una disfunción del órgano cuando se expone a un fármaco, un tóxico u otra sustancia no infecciosa que puedan producir daño del hepático³¹.

Según Fernández C.³¹, en hepatotoxicidad por fármacos, es considerable el número de medicamentos que se han relacionado con hepatotoxicidad, donde se estima que la incidencia varía entre 1 en 10 000 o 1 en 100 000 pacientes: debido a esta baja frecuencia, es posible que no sea detectada durante los ensayos clínicos previo a la comercialización del medicamento.

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Diseño Metodológico

3.1.1 Tipo de estudio

- Experimental
- descriptivo

3.2. Población y muestra

3.2.1 Población

La población de estudio estuvo constituida por ratones albinos de cepa Balb/C53/CNPB y especie “*Mus musculus*” adquiridos al bioterio del INS (Instituto Nacional de Salud) en el distrito de Chorrillos, Lima-Perú.

3.2.2 Muestra

La muestra estuvo constituida por 42 ratones albinos (21 hembras y 21 machos) de la especie “*Mus musculus*” de aproximadamente 28-32 g de peso corporal.

3.2.2.1 Muestra vegetal: hojas de *la Momordica charantia L.* “caigua amarga”

3.2.2.2 Muestra biológica:

42 ratones albinos de cepa Balb/C53/CNPB aproximadamente 28-32 g de peso corporal.

3.3 Materiales, solventes y reactivos

3.3.1 Material químico:

3.3.1.1 Solventes químicos

- Agua destilada
- Alcohol al 70 %.
- Metanol Q.P
- Etanol Q.P
- Butanol Q.P
- Cloroformo Q.P

- Acetato de etilo Q.P
- Hexano Q.P
- Acetona Q.P
- Benceno Q.P
- Éter Etílico Q.P
- Éter de petróleo Q.P

3.3.1.2 Reactivos químicos

- AlCl₃ 1%
- FeCl₃ 1%
- Gelatina NaOH.
- Reactivo Shinoda.
- Reactivo Bertrand.
- Reactivo Dragendorff.
- Reactivo Mayer.
- Reactivo Popoff.
- Reactivo Sonnenschein.
- Reactivo Wagner.

3.3.2 Materiales de laboratorio para el estudio farmacológico

Material de vidrio Marca Pyrex

Matraz Erlenmeyer, Embudo de decantación, Probeta de 250 y 1000 ml, Beacker de vidrio, Pipetas de vidrio, Tubos de ensayo, Luna de reloj, Bagueta de vidrio.

Otros Materiales

Cámara fotográfica, Licuadora marca Oster, Algodón x 250 g, 1kg marca coppón, Guantes quirúrgicos N°7.5 marca sanex, Mascarillas descartables marca care plus, Gasa estéril 10 cm x 10 cm marca rhoamedic, Papel filtro, frasco de vidrio para maceración, fuente de vidrio, Pinza de madera, Goteros de plástico.

3.3.3 Materiales y equipos para determinar el estudio toxicológico

- Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.*
- 21 ratones hembras albinas y 21 ratones machos albinas.
- Guantes látex N° 7.5 marca sanex,
- Mascarillas descartables marca care plus
- Jeringas de tuberculina, marca SANDY.
- Marcador indeleble marca Faber Castell.
- Equipo de disección.
- Sonda metálica intragástrica

3.3.4 Equipos y otros

- Balanza analítica marca Sartorius, serie 27105684.
- Estufa de aire circulante marca Memmert, serie 51-11-004877.
- Balanza para pesar ratones marca OHAUS, código 28063.
- Rota vapor marca BUCHI.
- Jaula de plástico para ratones

3.3.5 Fármacos utilizados

- Pentotal (pentotal sódico).
- Paracetamol tabletas 500 mg Q.P.
- Silimarina Q.P

3.4 Métodos: técnica operatoria

3.4.1 Estudio cualitativo de extracto hidroalcohólico de las hojas *Momordica charantia L.* “caigua amarga”

3.4.1.1 Recolección de material botánico

La planta *Momordica charantia L.* “caigua amarga” fue recolectada en la provincia de Chanchamayo, departamento de Junín y trasladadas al bioterio de la universidad Norbert Wiener, cuya taxonomía de la planta fue determinada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional de San Marcos y luego se procedió a deshojar y seleccionar las hojas verdes de la planta.



Figura 8. Hojas de la *Momordica charantia L.* “caigua amarga”.

3.4.1.2 Preparación de extracto hidroalcohólico de las hojas *Momordica charantia L.* “caigua amarga”

Se pesaron las hojas *Momordica charantia L.* obteniendo 3 kilos de muestra, se licuo las hojas seleccionadas, luego es macerada con alcohol 70° por 7 días en frasco ámbar protegida de la luz a temperatura ambiente, posteriormente se procedió a filtrar el extracto con ayuda de un embudo y papel filtro hasta obtener una solución pura. El filtrado obtenido se colocó en una fuente de vidrio se llevó a un rota vapor y seguidamente a la estufa a 40 C° para volatilizar el solvente utilizado obteniendo así el extracto seco. Finalmente, se pesó la muestra obtenida 320 g y se guardó en un envase de vidrio color ámbar.

Se prepararon las soluciones de estudio garantizando la dosis de ensayo 200, 400 y 600 mg/kg de peso corporal, que será administrado en los ratones posteriormente.

3.4.2 Ensayos preliminares

3.4.2.1 Prueba de solubilidad

Para el desarrollo de la prueba de solubilidad se tomó 11 tubos de ensayos a los cuales se le agregó 1ml. del extracto hidroalcohólico de *Momordica charantia L.* “caigua amarga” y seguidamente agregar 1ml. de los solventes que poseen diferente polaridad y se nombran a continuación:

- Agua destilada
- Etanol Q.P
- Metanol Q.P
- Butanol Q.P
- Cloroformo Q.P
- Acetato de etilo Q.P
- Hexano Q.P
- Acetona Q.P
- Benceno Q.P
- Éter etílico Q.P
- Éter de petróleo Q.P

3.4.2.2 Perfil cualitativo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* “caigua amarga”

Del extracto seco de la *Momordica charantia L.* “caigua amarga” se procedió a evaluar mediante reacción colorimétrica la identificación de los compuestos químicos presentes en la planta de estudio.

Para ello se solubilizo la muestra del extracto con un solvente soluble como el etanol. Luego se procedió a añadir 3-5 gotas de los diferentes reactivos de coloración y precipitación en cada tubo de ensayo. Siendo los siguientes:

- Bertrand
- Dragendorff
- Mayer
- Popoff

- Wagner
- Sonnenschein
- FeCl₃ 1%
- AlCl₃ 1 %
- Shinoda
- Gelatina/NaOH

3.4.3 Estudio farmacológico

3.4.3.1 Modelo experimental: “Modelo de intoxicación por paracetamol”

Según Méndez RT, *et al*, (2009)³⁵ la dosis que se empleo fue seleccionada a partir de estudios previos diseñados para obtener la dosis efectiva del modelo experimental de hepatotoxicidad aguda por paracetamol.

Los ratones de experimentación fueron llevados a la Universidad Norbert Wiener donde fueron aclimatados en el bioterio con 12 horas de luz y 12 horas a la oscuridad. Se les dio alimento balanceado adquirido al INS (Instituto Nacional de Salud) y agua a libre demanda. Se retiró la alimentación 12 horas antes de la administración del producto de ensayo.

El agente hepatotóxico utilizado fue paracetamol tabletas, se pulverizo y solubilizo las tabletas en solución salina (NaCl) al 0,9 %, garantizando una dosis de 600 mg/kg de peso corporal. Se detalló la dosis y hora de administración.

Se formaron 6 grupos de 7 ratones albinos de peso aprox. de 28-32 g. a los cuales se les administró vía oral el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L* “caigua amarga”, paracetamol en tableta, silimarina y cloruro de sodio 0,9%, donde se incluyeron ratones machos y hembras.

Grupos experimentales:

1. Extracto de *Momordica charantia* L. 200 mg/kg + paracetamol 600 mg/kg. Vía oral.
2. Extracto de *Momordica charantia* L. 400 mg/kg + paracetamol 600 mg/kg. Vía oral.
3. Extracto de *Momordica charantia* L. 600 mg/kg + paracetamol 600 mg/kg. Vía oral.
4. Silimarina 40 mg/kg + paracetamol 600 mg/kg. Vía oral
5. Paracetamol 600 mg/kg, vía oral.
6. Grupo control (sin tratamiento).

Los animales pertenecientes a estos grupos fueron tratados con extracto hidroalcohólico a 200, 400 y 600 mg/kg; Silimarina 40 mg/kg, NaCl al 0,9% respectivamente, se administraron por 3 días seguidos por vía oral previos a la inducción del daño hepático provocado por la acción del paracetamol empleando una dosis de 600 mg/kg de peso corporal con ayuda de una cánula intragástrica.

Al final todos los animales fueron sometidos a la administración de pentobarbital (anestésico) 0,1 mL vía intraperitoneal, se realizó el sacrificio de todos los animales usando método de narcosis con pentobarbital, se aislaron los hígados y se realizaron estudios histopatológicos en el instituto de patología de la universidad Nacional Mayor de San Marcos.

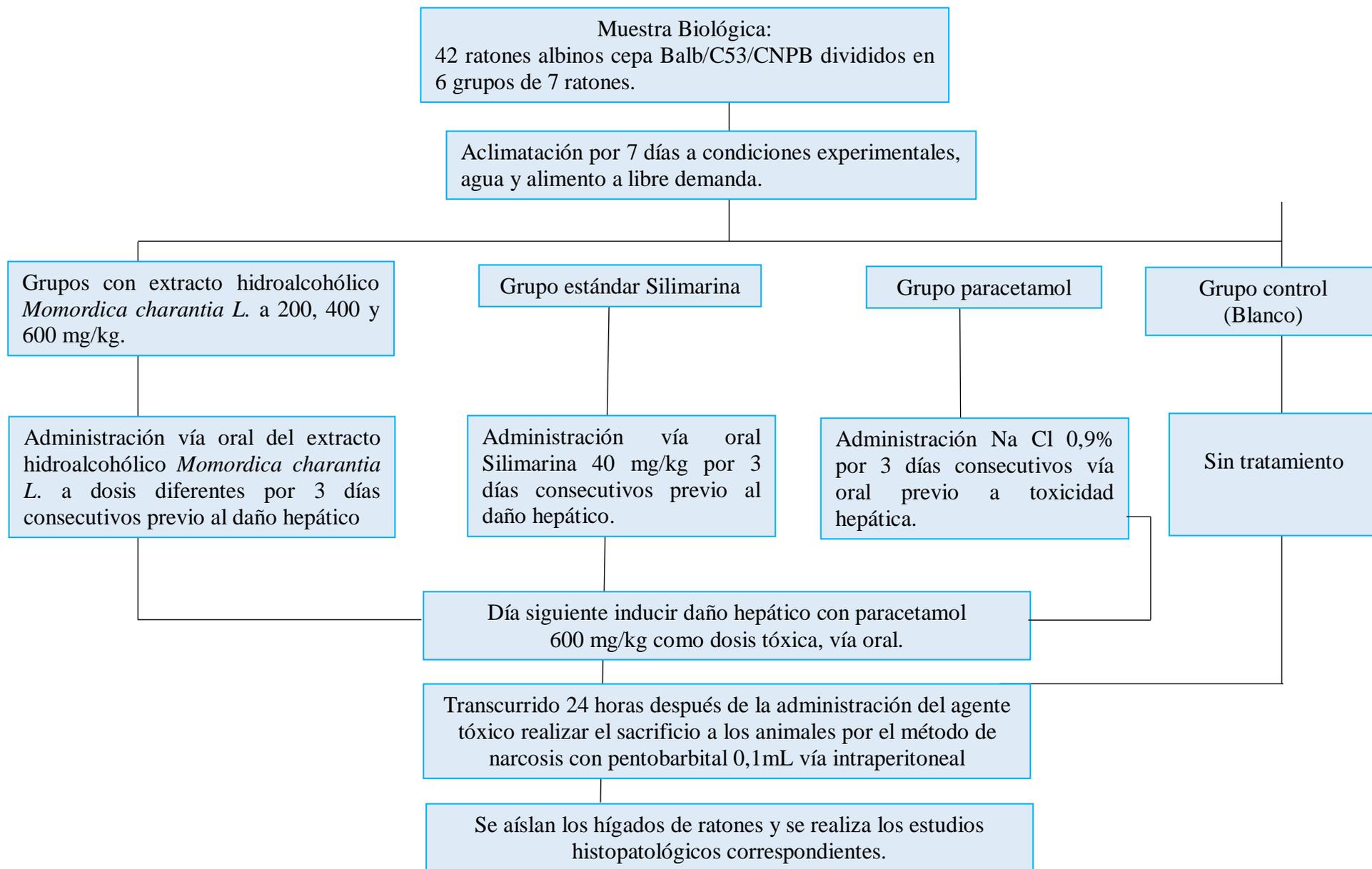


Figura 9. Diseño experimental para evaluar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* “caigua amarga” en ratones.

IV. RESULTADOS

4.1 Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* “caigua amarga” (20 mg extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* / 1mL de solvente)

Tabla 2. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Momordica charantia L.</i> “caigua amarga”.		
SOLVENTE	NOMENCLATURA	SOLUBILIDAD
Agua destilada	H ₂ O	+
Etanol	EtOH	+
Metanol	MeOH	+
Butanol	BuOH	-
Cloroformo	CHCl ₃	-
Acetato de etilo	EtOAc	-
Hexano	Hex	-
Acetona	Me ₂ CO	-
Benceno	Bz	-
Éter etílico	Et ₂ O	-
Éter de petróleo	Ep	-

LEYENDA: (-) Insoluble, (+) Soluble

En la tabla 2 y figura 10, Se observa que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* “caigua amarga”, es soluble en solventes polares como: agua destilada, etanol, metanol.

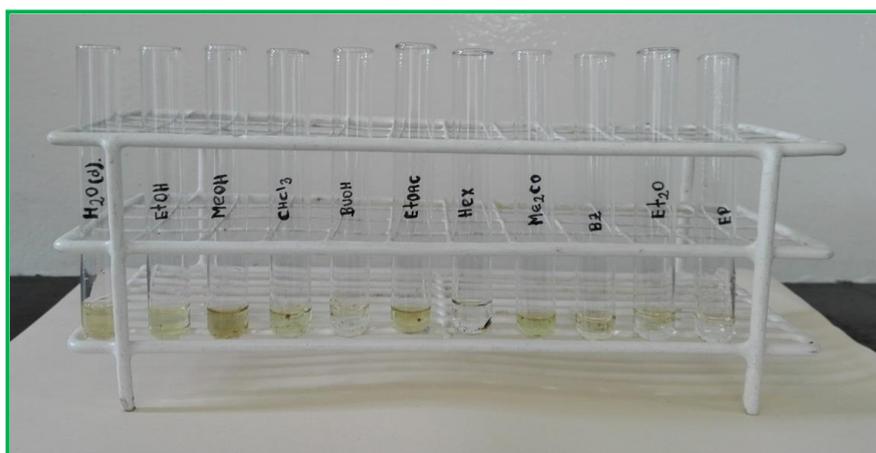


Figura 10. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* “caigua amarga”.

4.2 Perfil cualitativo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* “caigua amarga” (20 mg extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* / 1mL de solvente)

Tabla 3. Perfil cualitativo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Momordica charantia L.</i> “caigua amarga”.		
METABOLITOS	REACTIVOS	RESULTADOS
ALCALOIDES	Bertrand	+
	Dragendorff	+
	Mayer	+
	Popoff	+
	Wagner	+
	Sonnenschein	+
COMPUESTOS FENOLICOS	FeCl ₃ 1%	+
FLAVONOIDES	AlCl ₃ 1 %	+
	Shinoda	+
TANINOS	Gelatina/NaOH	+

LEYENDA: (-) Ausencia de Metabolitos, (+) Presencia de Metabolitos

Basado en la prueba generales de coloración y precipitación (figura 11), Se determinó la presencia de los siguientes metabolitos (tabla 3); Se observa la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos.



Figura 11. Perfil cualitativo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* “caigua amarga”.

4.3 Evaluación de cortes Histopatológicos

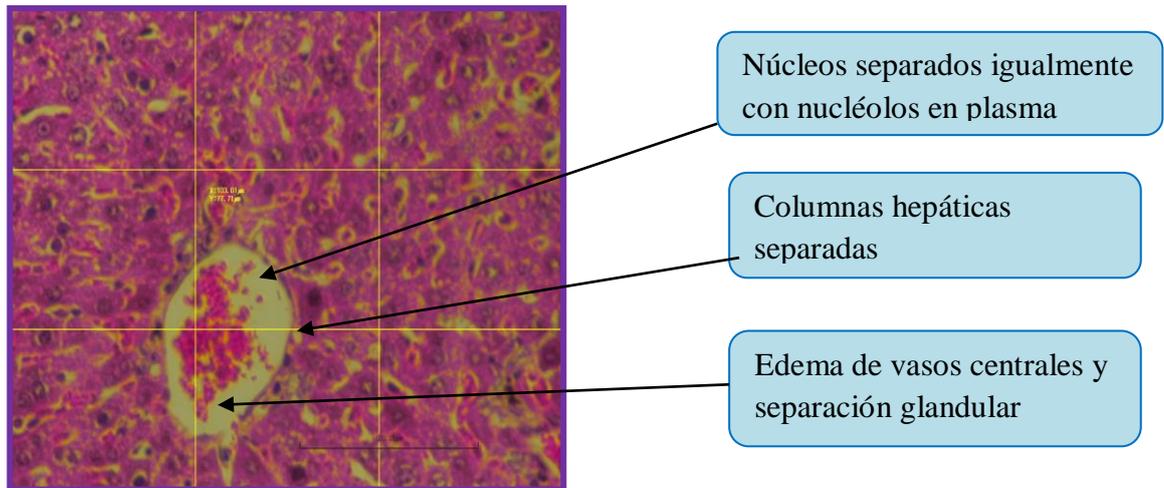


Figura 12. Corte anatomopatológico del hígado de ratones tratados con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* “caigua amarga” a una dosis de 200 mg/kg + paracetamol 600 mg/kg a (400x). En la figura 12 se observa columnas hepáticas separadas, edema de vasos centrales y separación glandular. Estas evidencian alteraciones y daños de la estructura hepática en comparación al grupo control (figura 17), en donde no se reportan lesiones sobre el tejido hepático.

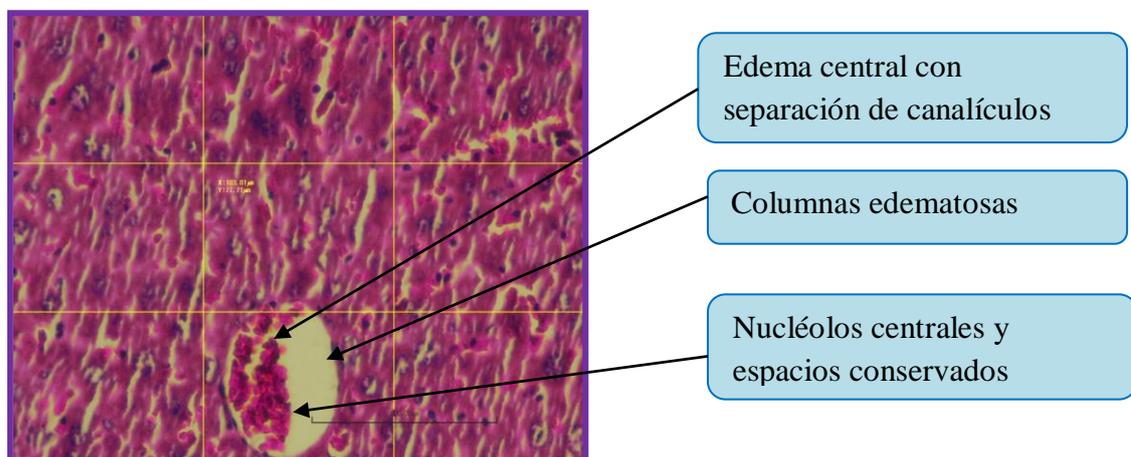


Figura 13. Corte anatomopatológico del hígado de ratones tratados con extracto hidroalcohólico de las de hojas de *Momordica charantia L.* “caigua amarga” a una dosis de 400 mg/kg + paracetamol 600 mg/kg a (400x). En la figura 13 se observa edema central, columnas edematosas cerradas, nucléolos centrales y espacios conservados. Comparando con el grupo anterior pero tratados con una concentración diferente del extracto estas también presentan alteraciones y daño del tejido hepático.

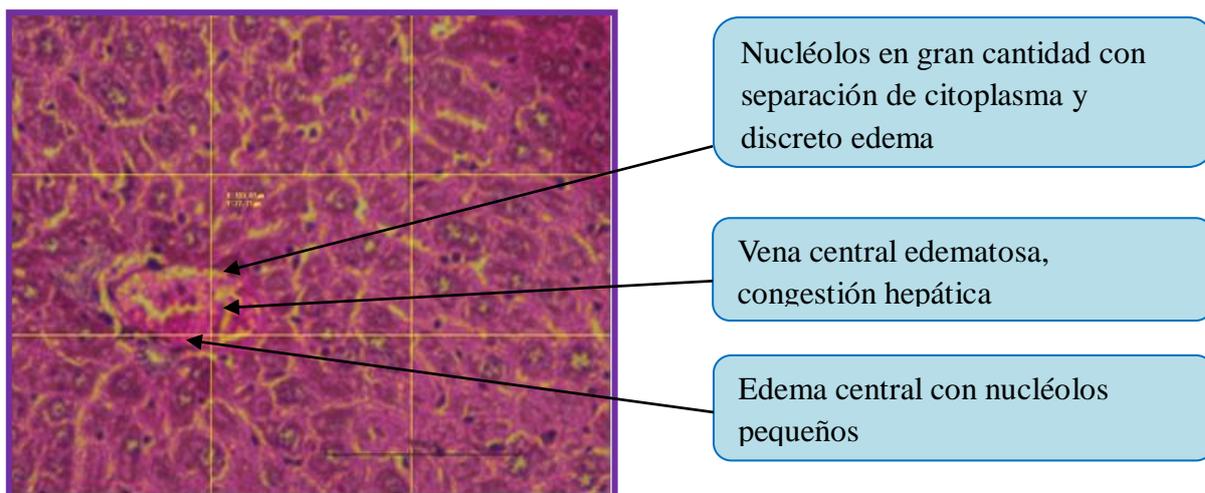


Figura 14. Corte anatomopatológico del hígado de ratones tratados con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* “caigua amarga” a una dosis de 600 mg/kg + paracetamol 600 mg/kg a (400x). En la figura 14 se observa nucléolos con separación del citoplasma, vena central edematosa, congestión hepática y edema central. Al igual que los grupos anteriores se observan alteraciones y daño de la estructura hepática, el empleo de diferentes concentraciones del extracto no ha influido en la protección hepática frente a la toxicidad del paracetamol.

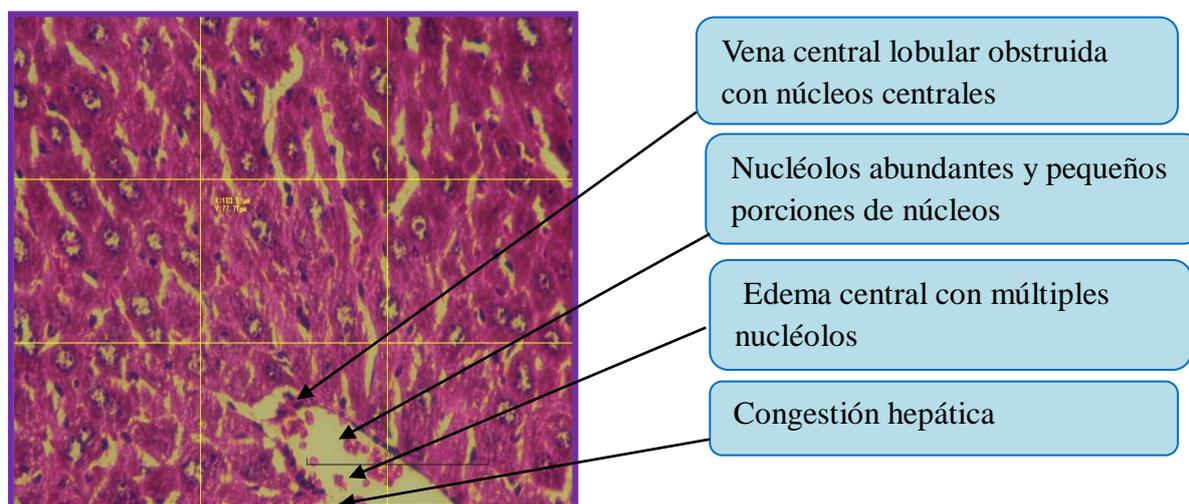
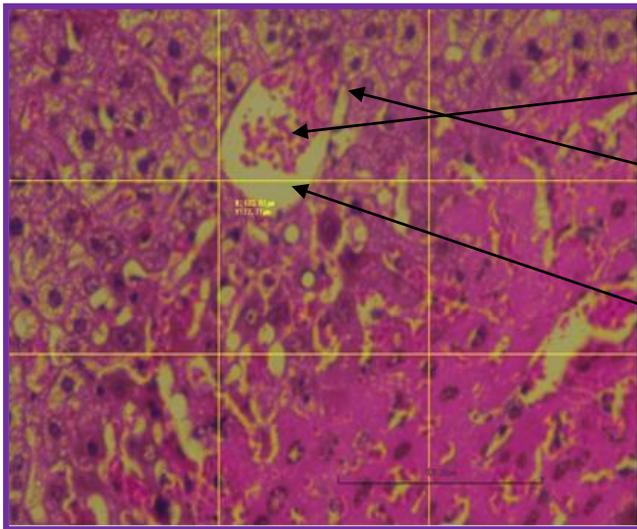


Figura 15. Corte anatomopatológico del hígado de ratones tratados con Silimarina a una dosis de 40 mg/kg + paracetamol 600 mg/kg a (400x). En la figura 15 se observa vena central obstruida con núcleos centrales edematosos, edema central, congestión hepática. Se evidencia alteración y daño celular hepático, en donde la concentración de silimarina empleada no ha mostrado protección del tejido hepático analizado.

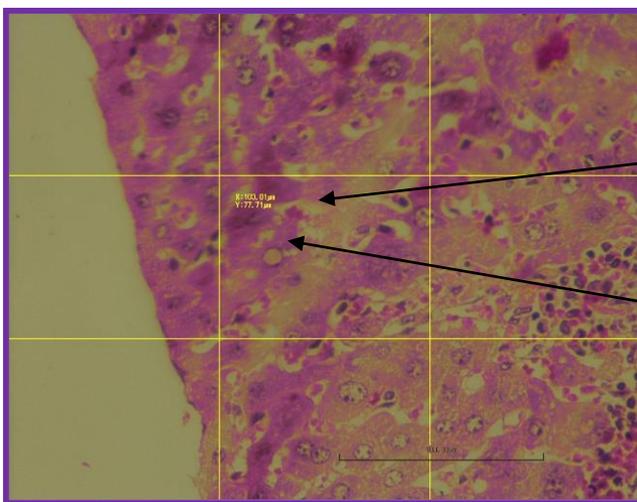


Nucléolos oscuros y conductos edematosos

Congestión hepática, obstrucción del conducto hepático

Vena central obstruida, imágenes conglomeradas

Figura 16. Corte anatomopatológico del hígado de ratones tratados con paracetamol a una dosis de 600 mg/kg a (400x). En la figura 16 se observa nucléolos oscuros, conductos edematosos, congestión hepática, obstrucción del conducto hepático, vena central obstruida e imágenes conglomeradas. Estas lesiones evidencian el daño hepatocelular que produce la acción tóxica del paracetamol en comparación con grupo control que presentan una estructura hepática conservada.



Sin alteraciones nodulares ni congestión hepática

Parénquima hepático con estructura conservada

Figura 17. Corte anatomopatológico del hígado de ratones tratados con suero fisiológico 0,9% a (400x). En la figura 17 se muestra el grupo control, no se observa cambios en la morfología hepática, no hay alteraciones estructurales ni daños del tejido celular hepático, en comparación a los grupos tratados anteriormente.

V. DISCUSIÓN

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

Los resultados obtenidos en la prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* "caigua amarga", se observó una mayor solubilidad en solventes polares como agua destilada, etanol, metanol y siendo poco soluble en solventes como butanol, cloroformo, N-hexano, benceno, éter etílico, éter de petróleo, tal como se muestra en la tabla 2 y figura 10, favoreciendo así la disolución de los metabolitos activos en solventes polares, tal como lo describe Olga Lock de Ugaz O³⁶ en su investigación fitoquímica. Este análisis nos permite identificar los solventes adecuados para realizar el perfil cualitativo que permitan identificar metabolitos presentes en esta especie vegetal.

En la tabla 3 y figura 11 se presentan los resultados obtenidos luego de realizar el perfil cualitativo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* "caigua amarga", la prueba permitió comprobar la presencia de grupos de metabolitos secundarios con actividad biológica, dando como resultados la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides y taninos, tal como lo describe Olga Lock de Ugaz O³⁶ en sus estudios de investigación fitoquímica.

Este análisis es importante porque la actividad hepatoprotectora de una especie vegetal está relacionada a la presencia de determinados metabolitos con actividad hepatoprotectora. La presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, entre ellas los flavonoides, pudieran explicar el efecto hepatoprotector que presentan ciertos vegetales, probablemente por su actividad antioxidante demostrada.

En los análisis histológicos emitidos, de acuerdo al análisis microscópico, se observaron en los diferentes grupos de ratones de experimentación, evidencias de alteraciones y lesiones en la estructura celular del hígado identificando distintas formas de daño celular.

En el grupo 1 los ratones que fueron tratados con extracto hidroalcohólico 200 mg/kg y posteriormente inducido a hepatotoxicidad con paracetamol 600 mg/kg, presentaron alteraciones de la estructura hepática tal como se señala en la figura 12, lo que demuestra la actividad tóxica del paracetamol. De igual forma en el grupo 2. Figura 13, muestra a los ratones que fueron tratados con una dosis mayor de extracto 400 mg/kg y luego paracetamol 600 mg/kg como agente tóxico, al igual que en el grupo 1, estas también presentaron lesiones y daños del tejido hepático. No se ha visualizado protección hepática por parte del extracto. En el grupo 3. Figura 14, en este grupo se administró una dosis de extracto de 600 mg/kg y posteriormente paracetamol 600 mg/kg como dosis tóxica, como resultado tampoco se ha logrado evidenciar protección alguna del extracto, manifestando al igual que los grupos anteriores la presencia de alteraciones y daños del tejido celular hepático.

Estos resultados obtenidos ponen de manifiesto el daño celular hepático que produce el paracetamol cuando es administrado a dosis tóxicas. Tanto en el grupo (I, II, III) donde se administraron dosis de (200, 400 y 600 mg/kg) respectivamente del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* “caigua amarga”, no se han mostrado evidencias que la planta muestre un efecto hepatoprotector como se había planteado y que ha sido corroborado por las distintas formas de daño celular señalados en el informe anatomopatológico. Estos resultados son similares a los datos obtenidos en otro estudio de investigación al emplear dosis similares de extracto y una dosis igual de paracetamol como agente hepatotóxico, así lo señala Bermúdez D, *et al.* (2013)³⁷, “Evaluación del potencial efecto hepatoprotector de la *Mentha piperita L.* previo a la inducción de hepatotoxicidad con acetaminofén”. En este estudio morfológico del tejido hepático se señala, que los grupos estudiados con *Mentha piperita L.* presentaron daños desde leves a moderados, con diferencias

significativas respecto al grupo control que no fue tratado”. En conclusión, dio como resultado que la *Mentha piperita L.*, no presentaba efecto hepatoprotector a una dosis de 200, 400, mg/kg de extracto tratados respectivamente.

Para comparar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.* “caigua amarga” se utilizó la silimarina como agente hepatoprotector tal como se señala en el grupo 4. Figura 15, en este grupo todos fueron tratados con silimarina 40 mg/kg y posteriormente paracetamol 600 mg/kg como dosis tóxica, no se han encontrado evidencias del efecto hepatoprotector conocido de la silimarina ya que en los resultados se presentan alteraciones y daños en la estructura hepática como vena central obstruida, congestión hepática, edema central, entre otras lesiones muy similares a los grupos tratados anteriormente (grupo I, II, III), entonces esto nos permite deducir que a una dosis de 40 mg de silimarina no se encuentra la actividad hepatoprotectora que posee la silimarina frente a sustancias tóxicas como el paracetamol.

En el grupo 5. Figura 16, en este grupo se produjo intoxicación hepática con paracetamol 600 mg/kg, y no recibieron tratamiento hepatoprotector. La administración de una dosis única de paracetamol 600 mg/kg provocó daños y alteraciones en la morfología hepática al igual que en los grupos anteriores lo cual muestra el efecto hepatotóxico que produce el paracetamol. Y en el grupo 6. Figura 17, grupo control (sin administración de paracetamol ni el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L.*), los resultados reportaron el parénquima hepático conservado, no hubo alteraciones estructurales ni daño celular, lo cual demuestra el estado normal y conservado que se encontraban los ratones para este estudio experimental.

En base a los resultados obtenidos en los grupos I, II, III donde no se ha encontrado evidencias de protección hepática de la especie vegetal *Momordica charantia L.* siguiendo el modelo experimental de hepatotoxicidad aguda Méndez RT, *et al*, (2009)³⁵ planteamos la posibilidad de evaluar que estos resultados tengan una relación dosis-efecto que presentan ciertas plantas

medicinales, es decir el agente hepatotóxico utilizado paracetamol a una dosis de 600 mg/kg pudiera ser relativamente elevada para evaluar la capacidad hepatoprotectora de esta especie vegetal a las dosis tratadas, y cuyo estudio farmacológico ha sido desarrollado en ratones. En ese sentido creemos apropiado estandarizar la dosis tóxica mínima necesario de paracetamol para producir daño hepático, y evaluar si con esa dosis menor de agente tóxico, el extracto de la *Momordica charantia L* pueda evidenciar efecto hepatoprotector con las dosis mencionadas anteriormente. También consideramos que la presencia de metabolitos secundarios presentes en la planta como los alcaloides que en cierta forma son beneficiosos también son peligrosos justamente debido a su toxicidad demostrada en concentraciones elevadas tal como lo señala Olga Lock de Ugaz O³⁶ en su investigación fitoquímica, y que pudieran influir al daño hepático según el resultado histopatológico.

Por otra parte, en la literatura médica se reportan diversos comportamientos al evaluar la relación dosis-efecto hepatoprotector de plantas medicinales, en donde se señala poseen un efecto dosis-independiente y un comportamiento dosis-dependiente obteniendo la mayor actividad con una dosis mayor³⁵.

En ese sentido podemos afirmar que, en este trabajo de investigación, la administración de dosis de 200, 400 y 600 mg/kg vía oral del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia L*. “caigua amarga, no ha logrado demostrar protección del tejido hepático frente a la actividad hepatotóxica del paracetamol, según el informe anatomopatológico presentado.

VI. CONCLUSIONES

1. Se determinó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia* L. “caigua amarga”, no posee efecto hepatoprotector en ratones con intoxicación aguda hepática inducida por paracetamol.
2. Se identificó la presencia de compuestos químicos con actividad biológica como alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides y taninos en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia* L. “caigua amarga”.
3. Se comprobó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia* L. “caigua amarga” no presenta efecto hepatoprotector en las diferentes dosis administradas 200, 400 y 600 mg/kg respectivamente en ratones con intoxicación aguda hepática por paracetamol.

VII. RECOMENDACIONES

1. Efectuar estudios farmacológicos y toxicológicos de la *Momordica charantia* L. “caigua amarga”, para contribuir al conocimiento científico de esta especie vegetal.
2. Continuar la investigación farmacológica tratando con dosis menores como 50 mg/kg y 100 mg/kg del extracto hidroalcohólico de *Momordica charantia* L. “caigua amarga” y evaluar su efecto hepatoprotector.
3. Realizar el estudio del perfil cualitativo fitoquímico completo de *Momordica charantia* L. “caigua amarga”.
4. Realizar estudios experimentales de *Momordica charantia* L. “caigua amarga” como agente: hipoglucemiante, anti-ulcerosa, antineoplásico, antihelmíntica.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Consolini A. *et al*, Estudio Observacional del Consumo Plantas Medicinales en la Provincia de Buenos Aires, Argentina, en el Periodo diciembre de 2004-noviembre de 2005. *Lat. Am. J. Pharm.* 26 (6): 924-36 (2007), ISSN 0326-2383.
2. Roersch C. *Plantas medicinales en el Sur Andino del Perú*. 2da. Ed. Vol.1. Editorial Buho 1994.
3. Casarett y Doull: *Fundamentos de Toxicología*" *Pharmacy Practice*, vol. 3, núm. 2, abril-junio, 2005, p. 124 Centro de investigaciones y Publicaciones Farmacéuticas Granada, España.
4. Machaca R, Quispe C, "Evaluación del efecto hepatoprotector del zumo de *Smallanthus Sonchifolius* (yacón), en ratas albinas *Wistar* con intoxicación hepática inducida por paracetamol, Puno-Perú.2016.
5. Marival E, *et al*, Efecto protector del *Petroselinum crispum* (Mill.) A.W. Hill (perejil) frente a la hepatotoxicidad crónica inducida con etanol en ratas albinas *holtzman* [Artículo Original]. *Rev. Fac. Med. Hum.* 2016; 16(3):21-29. DOI 10.25176/RFMH.v16. n3.648. file:///C:/Users/Downloads/648-1-1286-2-10-20170627%20(1).pdf.
6. Hañari R, *et al*, Efecto hepatoprotector del extracto hidroetanólico atomizado del maíz morado (*Zea mays L.*) en lesiones hepáticas inducidas en ratas, *An Fac med.* 2015; 76(2):123-8 / dx.doi.org/10.15381/anales.v76i2.11136. Lima-Peru.2015.
7. Ochoa C, *et al*, Efecto hepatoprotector de *Peumus Boldus* en ratas con toxicidad hepática inducida por paracetamol. *Cimel Vol 13 N° 1*, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2008 http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/cimel/v13_n1/pdf/a05v13n1.pdf.

8. Banely T, *et al*, Efecto del extracto hidroalcohólico de *Zingiber officinale Roscoe* (jengibre) en modelo de hepatotoxicidad en ratas, Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2013; 18(3):431-444, México <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v18n3/pla10313.pdf>.
9. Osorio D, Efecto hepatoprotector del extracto de las hojas de alcachofa (*Cynara Scolymus*) en ratas (*Rattus Novergicus*) con hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de Carbono, Escuela de Politécnica Chimborazo, de Bioquímica y Farmacia, Ecuador-2012.
10. Asqui M. Actividad hepatoprotectora del extracto de diente de león (*taraxacum officinale*) en ratas (*ratus novergicus*) con hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono [Tesis de grado]. Ecuador: Escuela superior politécnica de Chimborazo; 2013.
11. Vargas N. Efecto hepatoprotector y antioxidante del extracto y los principios activos de *geranium shiedeanum*. [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 Tlaxiaca Hgo. A 3 de diciembre de 2012.
12. Grover, J.K.; Yadav, S.P. "Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia L*: a review". Journal of Ethno pharmacology 93: 123-132.
13. Hanan A, Mondragón J. Maleza de México [base de datos en internet]. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/cucurbitacea e/Momordica charantia/fichas/ficha.htm>.
14. Suslebys S. *et al*, Desarrollo de una tecnología para la obtención de extracto acuoso de *Momordica charantia L*. Revista Cubana de plantas medicinales. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). La Habana, Cuba-2011.

15. Kennedy P. Anatomía quirúrgica del hígado. Clin quir norteam 1991; 57(2):233- 45.
16. Alfieri Jr. F, Mies S. Anatomía e Fisiología do Fígado. In: Kalil NA, Coelho J, Strauss E. Fígado e Vías Biliares, Revinter Ed, Rio de Janeiro, 2001, pp 3-10.
17. Otero W, Sierra F. El hígado en cirugía. Rev. Colomb. Gastroenterol 2003; 18(4):230-238.
18. Malhi H, Guicciardi Me, Gores Gj. muerte de hepatocitos: un peligro claro y presente. Physiol rev 2010; 90:1165-1194.
19. Lucena M, *et al*, Determinants of the clinical expression of amoxicillin-clavulanate hepatotoxicity: A prospective series from Spain. Hepatology. 2006; 44:850-6.
20. Ministerio de Salud. Dirección General de Medicamento, Insumos y Drogas. Centro de Atención Farmacéutica, Paracetamol. Lima. <http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Paracetamol.pdf>.
21. Silbergeld E, Principios generales en Toxicología, Enciclopedia de Salud y seguridad en el trabajo. <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo1/33.pdf>.
22. Castell JV, Gómez-Lechón MJ. Fármacos y hepatotoxicidad: Mecanismos moleculares de la hepatotoxicidad por fármacos. En: Cascales M, editor. Monografías de la Real Academia de Farmacia Madrid, vol. IV, 1997; p. 45- 68.

23. Leung I, Kalgutkar As, Obach rs. Activación metabólica en la lesión hepática inducida por fármacos. *Metab rev droga* 2012; 44: 18-33.
24. Tejada F. Hepatotoxicidad por Fármacos. *Rev. Clín Med fam* 2010; 3 (3): 177- 191.
25. Moreno A, *et al*, Utilidad de los parámetros analíticos en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas. *An. Med. Interna* 2007; 24(1):38-46.
26. Valeria M, Enfoque clínico hepatotóxico, Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Cátedra de Toxicología, Argentina 2008.
27. Fernández DG, Fernández DC. Intoxicación por Acetaminofén, *rev.fac.med (online)*. 2010, vol18, n.2, pp.221-227.ISNN 0121-5256.
28. Sedighifard Z, *et al*, Silimarín for the prevention of contrast-induced nephropathy: Aplacebo-controlled Clinical Trial. *Int J Prev Med*. 2016 Jan 22;7:23.
29. Khezri HD, Kosaryan M, Salehifar E. Silymarin therapy and improvement of cardiac outcome in patients' with-talassemia major. *J Res Pharm Pract* 2016 Jan-Mar; 5(1):74-5
30. . Mostacero J, *et al*, Plantas Medicinales del Perú: Taxonomía, Eco geografía, Fenología y Etnobotánica, Asamblea Nacional de Rectores: Instituto de Estudios Universitarios "José Antonio Encinas," Trujillo-2011.
31. Fernández C, Hepatotoxicidad por medicamentos, Caja Costarricense de Seguro Social Hospital San Juan de Dios Servicio de Farmacia Centro de Información Medicamentos, Número 8, Vol. 5, agosto 2015.
<http://www.medigraphic.com/pdfs/revcliescmed/ucr-2016/ucr162n.pdf>

32. Domínguez X. Método de investigación fitoquímica. México: limusa.1973; p. 281.
33. Gorriti A. *et al*, Manual de laboratorio I y II. Cátedra de Farmacognosia y Medicina Tradicional. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2004.
34. Villar del Fresno A. Farmacognosia general. Madrid: Síntesis; 1999.
35. Méndez RT, *et al*, Protective effect of *Bidens pilosa L* extract in hepatotoxicity induced by paracetamol. Rev. Cub. Farmacia 43: 87;
36. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de Productos Naturales. 2da Ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
37. Bermúdez D, *et al*. Evaluación del potencial hepatoprotector de la *Mentha piperita L* previo a la inducción de hepatotoxicidad con acetaminofén. Santa Clara, Cuba: Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat 13(6): 545 – 556; 2014. [Citado el: 30 de abril de 2017.].

IX. ANEXOS

Anexo 1. Informe de láminas con cortes histopatológicos realizado a ratones de experimentación.

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA) FACULTAD DE MEDICINA</p>	
<p><u>INFORME DE LAMINAS</u></p>		
<p>Nombre de la Investigación:</p> <p>“ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LA Momordica charantia L. EN RATONES, CON INTOXICACION HEPATICA INDUCIDA POR PARACETAMOL”.</p>		
<p>Tesista: EDWIN QUISPE TOLEDANO</p>		
<p><u>GRUPO 1</u></p>		
<p>G1-1 Núcleos centrales. Hígados en columna G1-3 Columnas hepáticas separadas G1-4 Edema de los vasos centrales y separación glandular G1-5 Columnas hepáticas cerradas G1-6 Frotis sucio G1-7 Núcleos separados igualmente con nucléolos en plasma</p>		
<p><u>GRUPO 2</u></p>		
<p>G2-M Edema central con separación de los canalículos G2-M3 Núcleos separados. Además se encuentran además de la columna G2-M7 Columnas edematosas cerradas. G2-M Nucléolos centrales y espacios conservados G2-N Núcleos centrales espacios de KIER y no hay una buena separación.</p>		
<p><u>GRUPO 3</u></p>		
<p>G3-1 Núcleos centrales edematosos. G3-2 Edema central G3-3 Edema intercolumnar con derrame de albúmina. G3-5 Edema central con nucléolos pequeños. G3-6 Nucléolos en gran cantidad con separación de los citoplasma y discreto edema. G3-6 Columnas con nucléolos y discreto edema. G3-7 Vena central edematosa.</p>		
<p><u>GRUPO 4</u></p>		
<p>G4-1 Tiene edema central con múltiples nucléolos que se localizan a ambos lados de la membrana. G4-2 Vena centro lobular obstruida con núcleos centrales edematosos. G4-3 Nucléolos abundantes y pequeños porciones de núcleos micrométricos. G4-4 Gran cantidad de nucléolos y formaciones centrales edematosas. G4-5 Edema intercolumnar</p>		

Anexo 2. Informe de láminas con cortes histopatológicos realizado a ratones.



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



G4-6 Formaciones edematosas con gran separación de las columnas que le da el aspecto de un queso.

G4-6 Columnas separadas con edema central.

G4-7 Se repite

GRUPO 5

G5-2 Nucléolos oscuros y conductos edematosos

G5-3 Conductos edematosos, vena central obstruida, imágenes conglomeradas

G5-4 Conductos edematosos, vena central, obstruidas imágenes conglomeradas.

G5-5 Conductos edematosos, vena central, obstruidas imágenes conglomeradas.

G5-6 Conductos edematosos, vena central, obstruidas imágenes conglomeradas.

G5-7 Edematoso y con nucléolos separados.

G5-7 Roto – Edematoso.

GRUPO 6

G6-1 Limpio

G6-2 Limpio

G6-3 Limpio

G6-4 Discretamente separada

G6-5 Limpia

Lima, 02 de Febrero 2017

Anexo 3. Informe del análisis histológico realizado a grupos de ratones de experimentación. Instituto de patología.

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS (Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA) FACULTAD DE MEDICINA</p>	
<p><u>INFORME DE INVESTIGACIÓN</u></p>		
		
<p>Nombre de la Investigación:</p>		
<p>“ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LA Momordica charantia L. EN RATONES, CON INTOXICACION HEPATICA INDUCIDA POR PARACETAMOL”.</p>		
<p>Tesista: EDWIN QUISPE TOLEDANO</p>		
<p>Institución o Dependencia:</p>		
<p>Universidad Privada Norbet Wiener – E.A.P. Farmacia y Bioquímica</p>		
<p>Profesor responsable: Dr. Ernesto Raez González – Docente del Instituto de Patología - UNMSM</p>		
<p>-----</p>		
<p>El alumno en mención ha realizado la inclusión, corte y leído las muestras correspondientes a su trabajo de investigación desarrollado en los Laboratorios del Instituto de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por lo cual se da la siguiente conclusión del trabajo realizado:</p>		
<p><u>Grupo 1</u></p>		
<p>Toma: Extracto 200 mg - Etanolico de la Momordica Charantia L</p>		
<p>Muestras: M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7.</p>		
<p>Observación: De las láminas observadas 4 no tiene alteraciones</p>		
<p>Conclusión: Se encuentran en observación glandular.</p>		
<p><u>Grupo 2</u></p>		
<p>Toma: Extracto 400 mg - Etanolico de la Momordica Charantia L</p>		
<p>Muestras: M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7.</p>		
<p>Observación: Todas ellas tienen congestión hepática y obstrucción micro nodular.</p>		
<p>Conclusión: Se encuentran en observación glandular.</p>		

Anexo 4. Informe del análisis histopatológico realizado a grupos de ratones.



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



Grupo 3

Toma: Extracto 600 mg - Etanólico de la Momordica Charantia L

Muestras: M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7.

Observación: Son 5 láminas que presentan congestión y las otras 2 no tienen alteraciones.

Conclusión: Alteraciones nodulares.

Grupo 4

Toma: Silimarino 40 mg/kg

Muestras: M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7.

Observación: Todas ellas presentan congestión, alteraciones en la estructura, presenta micro formaciones.

Conclusión: Alteraciones nodulares.

Grupo 5

Toma: Paracetamol 600 mg/Kg

Muestras: M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7.

Observación: Se hayo congestión hepática y obstrucción del conducto de WEVER

Conclusión: Alteraciones en la estructura.

Grupo 6

Blanco sin tratamiento

Muestras: M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7

Observación: Sin alteraciones

Conclusión: Sin alteraciones

Dr. Ernesto Ruez González
Responsable

Lima 03 de Febrero del 2017

Anexo 5. Constancia de clasificación taxonómica de la *Momordica charantia* L.
“caigua amarga”.

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA MUSEO DE HISTORIA NATURAL</p>	
<p>"Año de la Consolidación del Mar de Grau"</p>		
<p>CONSTANCIA N° 03-USM-2016</p>		
<p>LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:</p>		
<p>La muestra vegetal (planta completa) recibida de Edwin QUISPE TOLEDANO y Nora Ibeth CHURAMPI MORENO, alumnos de la Universidad Privada Norbert Wiener de la Fac. de Farmacia y Bioquímica, ha sido estudiada y clasificada como: <i>Momordica charantia</i> L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).</p>		
<p>DIVISION: MAGNOLIOPHYTA</p>		
<p>CLASE: MAGNOLIOPSIDA</p>		
<p>SUBCLASE: DILLENIIDAE</p>		
<p>ORDEN: VIOLALES</p>		
<p>FAMILIA: CUCURBITACEAE</p>		
<p>GENERO: <i>Momordica</i></p>		
<p>ESPECIE: <i>Momordica charantia</i> L.</p>		
<p>Nombre vulgar: "caigua amarga" Determinado por Blgo. Severo Baldeón Malpartida</p>		
<p>Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.</p>		
<p>Fecha, 27 de enero de 2016</p>		
<p>  Dra. Haydee Montoya Terreros JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)</p>		
<p>Av. Arenales 1256, Jesús María Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú</p>	<p>Telfs. (511)471-0117, 470-4471, 470-7918, 619-7000 anexo 5703</p>	<p>e-mail: museohn@unmsm.edu.pe http://museohn.unmsm.edu.pe</p>

Anexo 6. Dr. Ernesto Ráez González-docente del instituto de patología-UNMSM.



Anexo 7. Selección de hojas de la *Momordica charantia* L. “caigua amarga”.



Anexo 8. Extracto de las hojas de la *Momordica charantia* L. “caigua amarga”.



Anexo 9. Ratones albinos cepa Balb/C53/CNPB de la especie “*Mus musculus*”.



Anexo 10. Ratones albinos “*Mus musculus*”, sacrificio por método de narcosis.



Anexo 11. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia* L. “caigua amarga”.



Anexo 12. Evaluación de la prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia* L. “caigua amarga”.



Anexo 13. Análisis del perfil cualitativo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Momordica charantia* L “caigua amarga”.



Anexo 14. Evaluación del perfil cualitativo fitoquímico del extracto de las hojas de *Momordica charantia* L. “caigua amarga”.

