



UNIVERSIDAD CATÓLICA SEDES SAPIENTIAE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

TESIS

TÍTULO DE LA TESIS

“Efecto hepatoprotector del zumo de cogollo de *Cynara scolymus* (corazón de alcachofa) en ratones sometidos a intoxicación por paracetamol”

**Tesis para obtener el Título de licenciado en
Nutrición y Dietética**

Asesor:

Mg. Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez

Autor(es)

**BACH. GIAN FRANCO HILARIO FLORES
BACH. PILAR JAZMIN MEJIA ANGULO**

**Lima – Perú
2016**

DEDICATORIA:

De Gian Franco:

A mis queridos padres por su constante apoyo, por todo su amor y sapiencia.

A mis hermanos y hermanas, que ahora son 5.

A mi requerida amiga, por su constante motivación y preocupación. A quien me enseñó estar “quieto”, porque todo es mejor así.

A mi querido Jesús que está en los cielos.

De Pilar:

A Dios, Jesús y María por concederme el don de la vida, por su compañía y ayuda constante.

A mis queridos padres, por su apoyo incondicional, esfuerzo y cariño, gracias papá Gabriel Mejía por siempre motivarme a continuar a pesar de las dificultades a ti mamá Amelia Angulo por tu cariño y atención.

A mi querida hermana y su familia por su alegría y cariño.

A mi querido amigo por ser ejemplo de paciencia y constancia, gracias David.

AGRADECIMIENTO:

De Gian franco y Pilar:

A Dios por permitirnos ser instrumentos de él y compartir conocimientos.

A nuestra querida universidad:
Por la formación profesional que nos dio.

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos:
Por permitirnos ejecutar la tesis.

A nuestro Asesor Mg. Oscar Huamán:
Por su constante apoyo en el desarrollo de este trabajo para enriquecerlo y ampliarlo.

Al Instituto de Patología de la UNMSM, al Dr. José Ernesto Ráez Gonzales en la descripción de las láminas histológicas.

A nuestros profesores:
Por instruirnos día a día.

A nuestros amigos:
Por el aliento y los gratos momentos que hemos vivido durante los cinco años.

RESUMEN

Objetivos: determinar el efecto hepatoprotector del zumo de cogollo de *Cynara scolymus* “corazón de alcachofa” sobre los marcadores del daño hepático en ratones con intoxicación por paracetamol. **Métodos:** Tipo de estudio experimental; se empleó 35 ratones machos, cepa BALB/c de 2 meses de edad, con peso 27,71 ±2,63g. El zumo se obtuvo por un extractor de fruta Moulinex y fue conservado en frasco de color ámbar e inmediatamente se procedió al tratamiento. Los ratones fueron distribuidos de manera aleatoria en 5 grupos (n=7), los cuales recibieron el siguiente tratamiento por 10 días vía peroral: grupos I y II suero fisiológico 1 mL/kg; grupo III Silimarina 70 mg/kg; grupo IV zumo 5 mL/kg y grupo V zumo 10 mL/kg. Al sexto día, los grupos II al V recibieron, con 1 hora de diferencia del tratamiento anterior, paracetamol 300 mg/kg, vía peroral, hasta el décimo día. **Principales medidas de resultados:** en el homogenizado del hígado se determinó especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), GSH reducido y total; índice hepático y GSH/GSSG. Además, se realizó el estudio histopatológico del hígado para identificar signos de necrosis y signos de regeneración. **Resultados:** el zumo 5 mL/kg disminuyó TBARS ($p < 0.05$). Incrementó GSH reducido, total y GSH/GSSG ($p > 0.05$). El zumo 10 mL/kg aumento TBARS; GSH reducido ($p > 0.05$) y GSH/GSSG ($p > 0.01$). Disminuye GSH total ($p > 0.05$). En ambos grupos no presentó incremento de la masa hepática. Histopatológicamente, se observó signos de necrosis en la administración solo de paracetamol y en los grupos con zumo de cogollo de *Cynara scolymus* mostró una restauración de las lesiones histopatológicas inducidas por paracetamol. **Conclusión:** el zumo de cogollo de *Cynara scolymus* ejerce un efecto hepatoprotector.

Palabras clave: Hepatoprotector, paracetamol, *Cynara scolymus*.

ABSTRACT

Objectives: To determine the effect of juice hepatoprotective heart of *Cynara scolymus* "Artichoke Heart" on markers of liver damage in rats with acetaminophen poisoning. **Methods:** This experimental study; We used 35 male mice, strain BALB / c 2 months old, weighing $27.71 \pm 2,63g$. The juice is obtained by a fruit extractor Moulinex and was retained in amber bottle mail immediately proceeded to treatment. Mice Were randomly distributed in 5 groups (n = 7), which received the following treatment orally 10 Days: Groups I and II saline 1 ml / kg; Group III Silymarin 70 mg / kg; Group IV juice 5 ml / kg and group V juice 10 ml / kg. Sixth day, the Groups II to V received, with 1 hour Difference previous treatment, paracetamol 300 mg / kg, orally, to the tenth day. **Main outcome measures:** in liver homogenates thiobarbituric acid reactive species (TBARS), and Total GSH was determined REDUCED; liver index and GSH / GSSG. In addition, histopathological examination of the liver was performed to identify signs of necrosis and signs of regeneration. **Results:** juice 5 ml / kg TBARS decreased ($p < 0.05$). REDUCED GSH increased, and total GSH / GSSG ($p > 0.05$). TBARS Juice 10 mL / kg increase; REDUCED GSH ($p > 0.05$) and GSH / GSSG ($p > 0.01$). Total GSH decreases ($p > 0.05$). Group anvil don't show increased hepatic mass. Histopathological signs of necrosis was observed only in the administration of paracetamol and in groups with juice globe artichoke bud showed Restoration of the histopathological lesions induced by paracetamol. **Conclusion:** juice heart of *Cynara scolymus* exerts hepatoprotective effect of the UN.

Keywords: Hepatoprotector, paracetamol, *Cynara scolymus*.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.1 Planteamiento del problema.....	2
1.2 Formulación del Problema.....	3
1.3 Justificación del tema de investigación.....	3
1.4 Objetivos de la investigación.....	3
1.4.1 Objetivo General.....	3
1.4.2 Objetivos Específicos.....	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Antecedentes del estudio.....	5
2.2. Bases teóricas.....	8
2.2.1 Epidemiología.....	8
2.2.2 Anatomía, fisiología y funciones metabólicas del hígado.....	9
2.2.3 Biotransformación del paracetamol.....	10
2.2.4 Aspecto botánico.....	12
2.3. Definición de términos básicos.....	13
2.4. Hipótesis de Investigación.....	13
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	14
3.1 Enfoque de la investigación.....	14
3.2 Alcance de la investigación.....	14
3.3 Diseño de la investigación.....	14
3.4 Variables.....	14
3.4.1 Definición conceptual de las variables empleadas.....	14
3.4.2 Operacionalización de las variables empleadas.....	15
3.5 Delimitaciones.....	15
3.5.1 Temática.....	15
3.5.2 Temporal.....	15
3.5.3 Espacial.....	15
3.6 Población objetivo y muestra.....	16
3.6.1 Tamaño de la muestra.....	16
3.6.2 Selección del muestreo.....	16
3.6.3 Criterios de elegibilidad.....	16
3.6.3.1 Criterios de inclusión.....	16
3.6.3.2 Criterios de exclusión.....	16
3.7 Técnicas e Instrumentos para la recolección- plan de recolección.....	16
3.7.1 Recolección de material botánico.....	16

3.7.2	Preparación del extracto acuoso.....	16
3.7.3	Acondicionamiento de la unidad de análisis.....	17
3.7.4	Método de Inducción.....	17
3.8	Determinación de indicadores.....	18
3.8.1	Índice hepático.....	18
3.8.2	Estudio Histológico.....	18
3.8.3	Preparación del homogenizado.....	18
3.8.4	Determinación Glutación (GSH).....	18
3.8.5	Especie reactivas al ácido tiobarbiturico.....	20
3.9	Validez y confiabilidad del instrumento.....	21
3.10	Limitaciones.....	21
3.11	Plan de análisis (procesamiento de datos).....	21
3.12	Aspectos éticos.....	22
CAPÍTULO IV: RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN.....		24
4.1	Del análisis estadístico.....	24
4.2	Niveles de lipoperoxidación en tejido hepático (TBARS).....	24
4.3	GSH: reducido, total y relación GSH/GSSG.....	25
4.4	Índice Hepático (IH).....	26
4.5	Histológico.....	27
CAPÍTULO V: INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN.....		28
5.1	Discusión de resultados.....	28
5.2	Conclusiones.....	34
5.3	Recomendaciones.....	34
BIBLIOGRAFÍA.....		35
ANEXOS.....		45

INTRODUCCIÓN

La hepatitis medicamentosa es un problema de salud pública a nivel mundial, causando el 10% de muertes por daño hepático agudo a consecuencia de algún fármaco (1). En el Perú, las enfermedades hepáticas crónicas ocupan el 9^{no} lugar entre las causas de mortalidad. Por este motivo el gasto que involucra el tratamiento de las patologías hepáticas para el sistema salud es elevado (2).

El uso de plantas medicinales se está haciendo cada vez más difundida. Varios estudios con extractos crudos y purificados de hojas de alcachofa, tanto en animales como en humanos, demostraron, actividades hepatoprotectoras, hipolipidémicos, coleréticos, antioxidante y otras. El efecto benéfico está relacionado a los compuestos fitoquímicos, por lo que se debe tener en cuenta la variabilidad de la composición química debido a diversos factores como ambiental, estacional, entre otros (3,4).

Por lo tanto, se considera relevante investigar el efecto de zumo de cogollo de *Cynara scolymus* “corazón de alcachofa” con la finalidad de dar una alternativa como coadyuvante al tratamiento convencional en nuestro país.

El objetivo del estudio fue determinar el efecto hepatoprotector del zumo de cogollo de *Cynara scolymus* “corazón de alcachofa” en ratones sometidos a intoxicación por paracetamol.

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del problema

Durante los últimos años en el Perú, la situación de salud en cuanto a hepatitis medicamentosa, también conocida como tóxica, se mantiene estadísticamente constante (5).

Por otro lado, la Administración de Alimentos y Drogas (FDA) se viene manifestando desde el año 2011 con respecto al límite de una prescripción por dosis. Mediante distintos documentos, informa que el límite de la cantidad de acetaminofén (paracetamol) por tableta, cápsula o dosis no debe pasar los 325 mg y el límite diario no debe pasar los 4 g, debido a los resultados obtenidos en diversos estudios sobre la toxicidad hepática en casos de sobredosis (6).

Luego de producirse el daño hepático las complicaciones se ven reflejadas en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y grasas; formando parte de las enfermedades hepáticas, a medida que estas enfermedades avanzan disminuye la síntesis energética y metabólica, que influye en el estado nutricional, por lo tanto se considera importante, que el plan de alimentación sea apropiado y óptimo para reducir la morbilidad y mortalidad asociada a los pacientes con enfermedades hepáticas en etapas avanzadas (7).

En el Perú, las investigaciones acerca de usos y efectos de plantas y/o alimentos con potencial funcional han ido en aumento desde hace algunos años, con el fin de encontrar posibles beneficios naturales, que sirvan de coadyuvante al tratamiento convencional (8,9).

1.2 Formulación del Problema

¿Cuál es el efecto del zumo de cogollo de *Cynara scolymus* “corazón de alcachofa” sobre la hepatoprotección en ratones sometidos a toxicidad por paracetamol?

1.3 Justificación del tema de la Investigación

La hepatitis medicamentosa se está convirtiendo en un importante problema de salud pública, a nivel mundial (1).

Un análisis de la situación de salud en el Perú, publicado en el 2012, indicó que la tasa de mortalidad por cirrosis y ciertas otras enfermedades crónicas del hígado es de 21,63 por cada 100 000 habitantes en el 2009 (5). Por este motivo el gasto que involucra el tratamiento de las patologías hepáticas para el sistema salud es elevado (10).

Por lo tanto, con el efecto hepatoprotector de la *Cynara scolymus* se estaría promoviendo el consumo y la producción de manera racional y a su vez estaría dando una alternativa como coadyuvante al tratamiento convencional.

Además, el modelo de análisis utilizado garantiza la determinación de causalidad, contando no sólo con elementos cualitativos, sino también cuantitativos.

1.4 Objetivos de la investigación

1.4.1 Objetivo General

Determinar el efecto hepatoprotector del zumo de cogollo de *Cynara scolymus* “corazón de alcachofa” en ratones sometidos a intoxicación por paracetamol.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Determinar el efecto del zumo de cogollo de *Cynara scolymus* sobre la morfología hepática en un modelo de intoxicación por paracetamol en ratones.
- Determinar el efecto del zumo de cogollo de *Cynara scolymus* sobre los marcadores bioquímicos del daño hepático en un modelo de intoxicación por paracetamol en ratones.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

La *Cynara scolymus* L. "alcachofa" presenta compuestos químicos como flavonoides, aceites esenciales; fitoesteroles, saponinas, alcoholoides triterpénicos (taraxasterol), taninos, azúcar, inulina, mucílago, pectina, vitaminas A, B2 y C, elementos minerales: potasio, fósforo, yodo, hierro, calcio, magnesio y azufre (11,12).

Así mismo en un estudio realizado en Perú, se determinó que la concentración de fenoles totales del extracto de alcachofa de la especie *Cynara scolymus* L. fue de 117,3 mg de ácido gálico/g de extracto. Por esta razón el extracto presentó la actividad antioxidante frente al radical DPPH (13).

En el año 2009 Lattanzio V., determinó que el ácido 5-O-caffeoylquinic (ácido clorogénico) es la sustancia más abundante (39%) (14). Por otra parte, en un estudio realizado por Pereira, Portugal 2015, determinó que el flavonoide más abundante de *Cynara scolymus* es la luteolina-7-O-glucurónido (Cinarosida) (15).

Colak E., 2015, demostró el efecto hepatoprotector de extracto de hojas de *Cynara scolymus* sobre el estrés oxidativo inducido por tetracloruro de carbono (CCl₄), evaluado por los niveles de malondialdehído (MDA), superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT). También tuvo efectos positivos en la vía del mecanismo de regulación que permiten la reparación del daño en el ADN en la hepatotoxicidad inducida por CCl₄ (16).

El Morsy E. demostró el efecto hepatoprotector del extracto acuoso de hoja de alcachofa, frente al paracetamol (2 g/kg dosis oral única) en ratas, y lo relacionó con los antioxidantes y un mecanismo anti-apoptóticos. Los indicadores de daño hepático medidos fueron alanina aminotransferasa sérica (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST); en el homogenizado de

hígado se observó el efecto hepatoprotector en los biomarcadores de estrés oxidativo malondialdehído (MDA), la actividad de la superóxido dismutasa (SOD), óxido nítrico (NO) glutatión reducido (GSH) ciclismo glutatión (GR) y glutatión-S-transferasa (GST); la apoptosis se midió mediante el ensayo cometa. (17)

En el año 2007, Troncoso L., demostró que el *Petroselinum sativum* (perejil) tiene un efecto antioxidante y hepatoprotector en ratas inducidas a intoxicación por paracetamol 200 mg/kg evidenciado en pruebas de ALT, gamma glutamil transpeptidasa (GGT), glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, especies reactivas al ácido 2-tiobarbiturico (TBARS) y observaciones histopatológicas (18).

En el 2012, Arnao y col demostró el efecto hepatoprotector de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en ratas tratadas con acetaminofén 250 mg/kg a través de biomarcadores hepáticos de estrés oxidativo, obteniendo como resultado en todos los casos (lipoperoxidación, SOD, CAT, glutatión peroxidasa y GST) una mejora significativa de los biomarcadores en el grupo tratado con el yacón, atribuyendo tal efecto, a los compuestos polihidroxiados: fenoles, flavonoides, terpenoides y otros metabolitos secundarios con actividad antioxidante (8).

Huamán O. y col en el 2013 determinó el efecto hepatoprotector de los extractos acuoso e hidroetanólico de las hojas de *Bixa orellana* (achiote), sugiriendo que el efecto puede ser atribuido a la actividad de los metabolitos secundarios, como los flavonoides y los carotenoides presentes en los extractos acuoso e hidroetanólico. Se evidenció en los indicadores no enzimáticos de hepatotoxicidad; niveles de bilirrubina en suero y TBARS en ratas sometidas a la administración de paracetamol de 400 mg/kg (19).

En el 2014, Caballero J., determinó que el tratamiento previo de semillas de *Cucurbita máxima* (zapallo macre) en ratas, produjo un efecto hepatoprotector frente al paracetamol a una dosis de 400 mg/kg, este efecto fue determinado por la reducción en la actividad de los marcadores

enzimáticos AST, ALT, proteínas totales, albumina sérica, bilirrubina directa, indirecta y total; y en el tejido se evaluó la lipoperoxidación expresado en especies reactivas al ácido 2-tiobarbiturico (TBARS) cuyos valores redujeron. Este efecto también lo atribuye a los componentes fitoquímicos con capacidad antioxidante y regenerativa que presenta las semillas de *Cucurbita máxima* tales como α -tocoferol, γ -tocoferol y de δ -tocoferol (20).

Grespan y col en el 2014 estudió el efecto hepatoprotector del pretratamiento con aceite esencial de *Thymus vulgaris* en el modelo experimental de lesión inducida por paracetamol 250 mg/kg concluyendo que el tratamiento con extracto de aceite esencial de *Thymus Vulgaris* reducía significativamente los valores de ALT, AST y fosfatasa alcalina (ALP) en suero. Además, redujo significativamente los valores de la mieloperoxidasa en el hígado, así como también protege el hepatocito, mostrando una menor señal de necrosis en el análisis histopatológico del mismo (21).

Sathya A., demostró el efecto protector de los extractos de corteza y la vaina vacía de *Auriculiformis Acacia* (acacia de vaina orejuda) contra la lesión hepática por intoxicación con paracetamol 2 g/kg de peso y diabetes tipo II inducida por aloxano en ratones, concluyó que los extractos restauran los marcadores de la función hepática (ALT, AST, ALP, bilirrubina total y proteínas totales) y antioxidantes hepáticos (SOD, CAT, glutatión reducido (GSH) y la glutatión peroxidasa (GPx) a los niveles normales. Así mismo, recuperación de la arquitectura hepatocelular y la hepatoprotección es comparable a la silimarina (22).

En el 2015, Arumugam A., investigó efecto hepatoprotector de extractos de hojas de *Citrus hystrix* y *C. maximaagainst* en un modelo de intoxicación por paracetamol a una dosis de 2 g/kg en ratas, concluyendo que el tratamiento con extracto de hojas de *Citrus hystrix* y *C. maximaagainst* restauran los niveles de SOD, CAT, GSH y la GPx ALT, AST, fosfatasa alcalina, bilirrubina total y proteína total en sueros sanguíneos y

antioxidantes hepáticos en homogeneizado de hígado a los niveles normales, también observó protección de la arquitectura hepática (23).

Los autores mencionados manifiestan que el efecto benéfico está relacionado a los compuestos fitoquímicos de dichas plantas.

2.2. Bases teóricas

2.2.1 Epidemiología

En los últimos años diversas publicaciones proponen que las reacciones adversas a fármacos son responsables del incremento de casos de lesión hepática de lo que inicialmente se pensaba (9).

En el 2011 la cirrosis y otras enfermedades crónicas del hígado es considerada como principal causa de mortalidad presentando 4.4% en varones y 2.5% en mujeres (2).

El paracetamol es el agente farmacéutico más investigado en los centros de intoxicación de Estados Unidos y es la sustancia más comúnmente utilizada para suicidios en el Reino Unido (24,25). En el año 2003, en Estados Unidos, las estadísticas reportadas por la Asociación Americana de Centros de Control de Intoxicaciones, presentan una cifra de aproximadamente 127 000 intoxicaciones por acetaminofén o productos que lo contienen, de los cuales 38 989 ocurrieron en niños menores de 6 años. En ese mismo año, se reportaron 214 muertes por sobredosis de medicamentos analgésicos, de los cuales 62 de estos casos tuvo al paracetamol como único agente involucrado (26).

Estas estadísticas se incrementaron en el 2005, año en el que se reportaron 165 000 nuevos casos, de los cuales un 40 % se presentó por ingesta única de acetaminofén y un 60% por el consumo de mezclas con otros fármacos, especialmente opioides (26).

La toxicidad por acetaminofén representa la mayor causa de falla hepática fulminante, observándose un incremento alarmante del 21% al

51% de este daño hepático entre los años 1988 y 2003; más de la mitad de estos casos se presentaron por sobredosis accidentales (27,28).

2.2.2 Anatomía, fisiología y funciones metabólicas del hígado

El hígado es un órgano perteneciente al aparato digestivo, cuyo peso en la edad adulta se encuentra entre 1 200 a 1 500 g, se ubica en el hipocondrio derecho, debajo del diafragma y está protegido por las costillas. (29)

La unidad histológica del hígado es el lobulillo hepático, el cual es aproximadamente hexagonal, organizado alrededor de las venas hepáticas centrilobulillares con cordones de hepatocitos y sinusoides que se irradian hacia afuera (30,31). Estos presentan células endoteliales discontinuas, algunas de las cuales son fagocitarias y forman parte del sistema de macrófagos del organismo, como las células de Kupffer (32).

Pero, la unidad funcional del hígado por su organización es el acino hepático, el cual es considerado como una pequeña masa parenquimatosa de tamaño y forma irregular, organizada entre dos venas centrilobulillares y cuyo eje consiste de una arteriola hepática, vénula portal, vasos linfáticos y nervios (30,31).

Los hepatocitos, célula del hígado de forma poliédrica, desarrollan numerosas funciones, entre ellas síntesis de proteínas séricas (albúmina, proteínas transportadoras, factores de coagulación, factores hormonales y de crecimiento), así como la producción de bilis, compuesta por ácidos biliares y sales biliares, cuya función es favorecer la digestión de las grasas dietarias. (30,33).

Además, se encargan de la regulación de los nutrientes (glucosa, glucógeno, ácidos grasos, aminoácidos), almacenamiento de vitaminas (A, D, B12) y minerales como el hierro en forma de ferritina (30, 33).

Así mismo del metabolismo y conjugación de los compuestos lipofílicos (bilirrubina, fármacos), para excretarlos por la bilis o la orina (26,29). Este proceso se da principalmente en el hígado y consta de 2 fases. Las reacciones de fase I, las cuales son oxidativas y catalizadas por el citocromo P-450, con frecuencia generan metabolitos que inducen la peroxidación lipídica o la unión covalente a macromoléculas o ADN, provocando necrosis celular. Las reacciones de fase II neutralizan dichos metabolitos en procesos de conjugación con glucuronatos, sulfatos o glutatión (34).

2.2.3 Biotransformación del paracetamol

En cuanto al nivel bioquímico y celular, existen tres mecanismos principales por los cuales puede producirse la hepatotoxicidad por actividad del citocromo P450. El primero implica la acumulación de cantidades excesivas de fármaco no metabolizado, causada por una disminución de la actividad del citocromo P450. La inhibición del citocromo P450 inducida por medicamentos es la causa más frecuente de esta forma de hepatotoxicidad. Para que esta toxicidad se manifieste, es necesario lo siguiente: la droga original debe tener un índice terapéutico bajo, la droga debe tener toxicidad intrínseca (la droga misma es tóxica), la actividad del citocromo P450 debe ser significativamente menor de lo normal y, por último, el fármaco original no es metabolizado a productos inactivos por otros miembros de la familia P450. El segundo mecanismo es la producción de radicales electrofílicos por medio del citocromo P450. El tercer mecanismo consiste en la producción de autoanticuerpos para metabolitos del citocromo P450 en conjugación con diferentes proteínas y ADN (35).

El paracetamol es un medicamento que, en condiciones normales, es glucoronizado y sulfatado en un 90% y luego eliminado por vía urinaria. Tiene como función la analgesia y la antipirexis. (36)

En dosis normales y controladas no produce hepatotoxicidad; pero, en caso de sobredosis, puede producir daño hepático (32), lo que involucra

la generación de radicales libres de oxígeno (ROS) que atacan a los ácidos grasos poliinsaturados de membrana, generando la lipoperoxidación y, con ello, la inestabilidad de la misma y, posteriormente, la ruptura o lisis celular. Durante este proceso, se generan dialdehídos, los cuales se consideran marcadores de la lipoperoxidación ocasionada por radicales libres (37).

El mecanismo de biotransformación al darse una sobredosis de paracetamol o acetaminofén es el citocromo P450 (CYP2e) donde se genera cantidades de N-acetil p-benzoquinoneimina (NAPQI) capaces de agotar las reservas hepáticas de glutatión. El NAPQI provoca toxicidad al unirse de forma covalente a macromoléculas produciendo así radicales libres e induciendo a la necrosis hepática en sólo 12 horas. En menor medida, el mismo proceso puede ocurrir en el riñón y provocar nefrotoxicidad (38,39).

Por otro lado, el paracetamol es peroxidado por la mieloperoxidasa y la ciclooxigenasa-1 (COX-1), produciendo metabolitos hepatotóxicos que provocan daño hepático en pacientes con insuficiencia renal crónica y asma (40).

La toxicidad del paracetamol se puede clasificar en cuatro etapas (41, 42):

En la primera etapa durante las primeras 24 horas se presentan síntomas inespecíficos, malestar general, palidez, náuseas, vomito, diaforesis. Pruebas de función hepática dentro de límites normales (41, 42)

La segunda etapa se presenta dentro de las 24 y 48 horas después de la ingestión, el dolor puede localizarse en hipocondrio derecho y las pruebas de función hepática comienzan a alterarse (41, 42)

En la tercera etapa durante las 72 a 96 horas después de la ingestión reaparecen síntomas con mayor severidad, ocasionalmente acompañados de ictericia o alteraciones en el estado de conciencia.

Puede evidenciarse compromiso renal o pancreático y el paciente puede evolucionar a falla hepática fulminante. Elevación importante de pruebas de función hepática (41, 42).

Finalmente, en la cuarta etapa, después de 96 horas se presenta mejoría sintomática con completa recuperación clínica y de la función hepática si el paciente recibe un adecuado manejo (41, 42).

2.2.4 Aspecto botánico

La *Cynara scolymus* es una planta perenne perteneciente a la familia de las Asteráceas. Tiene un rizoma subterráneo, carnoso y fibroso de cuyas yemas se desarrollan los tallos ramificados. En variedades vigorosas, la planta puede alcanzar una altura de 1,20 a 1,30 m. (43), tiene hojas basales, espinosas, alternas, oblongas, labadas, haz de color verde oscuro, envés de color blanquecino a grisáceo tomentoso; las hojas del tallo son más delgadas y alargadas. Cuenta con un fruto aquenio, provisto de un largo vilano sedoso, siendo sus semillas negras lisas (44, 45, 46).

La parte comestible es la inflorescencia, alargada o achatada, en forma de rosetón, con hojas verdes superpuestas que parecen escamas y unidas al vástago. A las brácteas blandas internas y las porciones blandas del cogollo se les llama de manera coloquial “corazón de la alcachofa”, y el fondo es la base carnosa (47).

El tallo es erguido, grueso, acanalado longitudinalmente y ramificado. Llega al metro de altura y se divide en ramas que llevan en el extremo grandes inflorescencias de unos doce centímetros de diámetro cuando alcanzan su mejor tamaño. El peso del fondo varía según la variedad y el uso culinario, desde 50 g hasta unos 100 g (47).

El color de las hojas y tallo son de color verde claro brillante cuando está recién cosechada (47). Ver ANEXO N°1

2.3. Definición de términos básicos

-Silimarina: medicamento preparado a base de extracto de las semillas de la planta *Silybum marianum*, también llamada cardo mariano, el cual es utilizado como hepatoprotector estándar (48).

-Los radicales libres: Son especies químicas con uno o más electrones libres o desapareados en su último orbital, por lo que son inestables y altamente reactivos (49).

-Antioxidantes: Se definen como cualquier sustancia que ayude a combatir el síndrome oxidación-descomposición, provocado por el daño que causan los radicales libres (50).

-Glutación (GSH): Es un compuesto peptídico de la familia de los tioles, que tiene un papel fundamental en la defensa antioxidante del miocito. El GSH es sintetizado *de novo* en el hígado (51).

-Especies reactivas de oxígeno (ROS): son producto del metabolismo del oxígeno, los ROS incluyen una variedad de radicales libres (52).

-Lipoperoxidación: Es un proceso degenerativo que ocurre en condiciones de estrés oxidativo, dañando las membranas celulares, lipoproteínas y otras estructuras que contienen fosfolípidos insaturados, glucolípidos y colesterol (53).

2.4. Hipótesis de Investigación

El zumo de cogollo de *Cynara scolymus* “corazón de alcachofa” presenta efecto hepatoprotector en ratones inducidos a toxicidad por paracetamol.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Enfoque de la investigación

Enfoque cuantitativo.

3.2 Alcance de la investigación

El alcance del estudio es explicativo debido a que se quiere determinar si el zumo de cogollo de *Cynara scolymus* presenta efecto hepatoprotector frente a la intoxicación por paracetamol sobre los indicadores de lipoperoxidación, GSH reducido, GSH total y marcadores morfológicos.

3.3 Diseño de la investigación

El diseño del presente estudio es de tipo experimental debido a que se manipula variables para medir el efecto.

3.4 Variables

3.4.1 Definición conceptual de las variables empleadas.

Variable independiente: zumo de cogollo de *Cynara scolymus*.

Producto líquido sin fermentar, pero fermentable, o el producto fermentado con ácido láctico, destinado al consumo directo, obtenido de la parte comestible de una o más hortalizas en buen estado, y conservado por medios físicos exclusivamente (54).

Variable dependiente: Corresponde al efecto hepatoprotector.

Es la protección del hígado frente a la variación de las defensas antirradicalarios del organismo por efectos nocivos de xenobióticos (55,56).

3.4.2 Operacionalización de las variables empleadas

Variables	Dimensión	Indicadores	Punto de corte	Escala
Variable Independiente: zumo de cogollo		Administración zumo de cogollo de <i>Cynara scolymus</i>	Dosis 5 mL/kg 10 mL/kg	Razón
Variable dependiente: efecto hepatoprotector	Bioquímico	-Lipoperoxidación (nmol/g) -GSH (mg/g) -GSH total (mg/g)	Comparados con los grupos controles	Razón
	Morfológica	-Índice hepático (%) -Cambios histológicos		Razón Cualitativo

3.5 Delimitaciones

3.5.1 Temática

Efecto hepatoprotector del zumo de cogollo de *Cynara scolymus*
 “corazón de alcachofa frente a intoxicación por paracetamol.

3.5.2 Temporal

Se realizó febrero – setiembre del 2016.

3.5.3 Espacial

Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.6. Muestra

Corresponde a 35 ratones machos, de raza albina cepa BALB/c de 2 meses de edad, los cuales fueron distribuidos de manera aleatoria en cinco grupos (n=7). Con un peso promedio de $27,71 \pm 2,63$ g, adquiridos del Centro de Producción de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.6.1 Criterios de elegibilidad

3.6.1.1 Criterios de inclusión

- Edad: 2 meses
- Raza: albina cepa BALB/c
- Peso: 25 – 30 g.
- Sexo: Macho

3.6.2.2 Criterios de exclusión

Se verificó que los ratones no hayan sido manipulados, así mismo sentado alguna patología, previos a la investigación. Por tal motivo no hay criterios de exclusión en el presente trabajo.

3.7 Técnicas e Instrumentos para la recolección- plan de recolección

3.7.1 Recolección de material botánico

Se recolectó en el mercado de Mayorista de UNICACHI del distrito de Comas, Lima, febrero del 2016.

3.7.2 Preparación del extracto acuoso

El cogollo de *Cynara scolymus* se obtuvo retirando, las brácteas unidas al cogollo, luego se utilizó un extractor de fruta Moulinex durante 15 segundos, el zumo obtenido se conservó en un frasco de color ámbar e inmediatamente se procedió al tratamiento.

3.7.3 Acondicionamiento de la unidad de análisis

Los animales fueron mantenidos en jaulas recibiendo una dieta balanceada adquirida del Centro de Producción de la Universidad Nacional Agraria la Molina y agua *ad libitum* a una temperatura de 20°C con 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad por un periodo de 5 días. Anexo 1

3.7.4 Método de Inducción

Para inducir la intoxicación hepática, se administró por vía peroral diariamente, durante 5 días, paracetamol 300 mg/kg de peso corporal) propuesta por Gibson y col. (57)

Los ratones fueron distribuidos de manera aleatoria en 5 grupos (n=7), los cuales recibieron el siguiente tratamiento por 10 días:

Grupo I	Suero fisiológico 10 mL/kg de peso, vía peroral.
Grupo II	Suero fisiológico 10 mL/kg de peso, vía peroral.
Grupo III	Silimarina 70 mg/kg de peso, vía peroral.
Grupo IV	Zumo de cogollo de <i>Cynara scolymus</i> 5 mL/kg de peso, vía peroral.
Grupo V	Zumo de cogollo de <i>Cynara scolymus</i> 10 mL/kg de peso, vía peroral.

Al sexto día, los grupos II al V recibieron, con 1 hora de diferencia del tratamiento anterior, paracetamol 300 mg/kg de peso, vía peroral, hasta el décimo día.

Concluido el tratamiento, los ratones estuvieron en ayuno por 12 horas.

A tempranas horas, fueron pesados y anestesiados con pentobarbital; a continuación, se realizó una laparotomía abdominal para extraer el hígado, el cual fue lavado en solución isotónica (suero fisiológico). Del lóbulo mayor se seccionó aproximadamente 0,3 g de tejido para la preparación del homogenizado y 0,3 g para el estudio histológico.

3.8 Determinación de indicadores

3.8.1 Índice hepático: el tejido hepático fue pesado en una balanza analítica para la determinación del índice hepático, mediante la siguiente fórmula:

$$IH = \frac{W \text{ hígado}}{W} \times 100 \%$$

W: peso del animal

W hígado: peso del hígado

3.8.2 Estudio Histológico: el tejido se conservó en formol tamponado (formol 10% / NaCl 0,9%) y enviado al Instituto de Patología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para ser procesado por tinción hematoxilina-eosina. Los aspectos que se exploraron son: aspectos de los conductos biliares y vasos sanguíneos, presencia de células de Kupffer, citoarquitectura de las columnas de hepatocitos, aspectos de los núcleos de hepatocitos.

3.8.3 Preparación del homogenizado: para la preparación del homogenizado, se pesó aproximadamente 0,3 g. de tejido hepático, procedente del lóbulo mayor, el cual se homogenizó en ácido etildiaminotetraacético (EDTA) 0,5 mol/L a 4°C de temperatura. Para ello, se empleó un homogenizador de motor.

3.8.4 Determinación: Glutación (GSH) (método de Sadlak y Lindsay) (58).

Fundamento: para la determinación de los GSH se utilizó el ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB), el cual reaccionó dando una coloración amarilla. Para eliminar los grupos sulfhidrilos presentes en las proteínas del tejido se utilizó ácido tricloroacético. Para evitar la activación de las metaloproteasas se empleó el EDTA, que es un quelante de cationes divalentes (Ca^{+2} , Zn^{+2} , Mg^{+2}), los cuales son activadores de estas enzimas.

Protocolo para GSH reducido: se utilizó 1 mL del homogenizado anteriormente preparado y se agregó 0,8 mL agua destilada y 0,4 mL de ácido tricloroacético al 50%. Se agitó intermitentemente por 10 minutos y luego se centrifugó a 4 000 RPM por 15 minutos.

Del sobrenadante se separó 0,5 mL y se adicionó 2 mL de Buffer Tris 0,4 mol/L a pH 8,9 luego se colocó en baño María a 70°C por 10 minutos.

Concluido el tiempo se agregó 0,05 mL de DTNB a 0,01 mol/L, agitando para mezclar.

Las lecturas se realizaron a una longitud de onda de 412 nm en un espectrofotómetro a 70 °C por 10 minutos.

Se preparó una curva de calibración de glutatión, con las siguientes concentraciones: 10; 20; 40; 80; 150 y 200, µmol GSH/mL. Anexo 2

Los resultados fueron hallados por la siguiente formula:

$$[GSH \text{ mg/g}] = \frac{Fc \times Vh \times VD \times VRX}{VHD \times VSN \times W}$$

VHD: Volumen del homogenizado para la precipitación 1mL

VD: Volumen de desproteinizado 2,2mL

Vsn: Volumen del sobrenadante 0,5mL

VRx: Volumen de la reacción 2,525mL

Vh: Volumen de homogenizado aproximadamente 2,5 mL

W: peso del tejido a homogenizar. Aproxmadamente 0,3 g

Protocolo para GSH total: Del sobrenadante se separó 0,5 mL y se adicionó 2 mL de Buffer Tris 0,4 mol/L a pH 8,9 en medio altamente reducido (vitamina C 0,014 mg con ácido glioxílico 0,007 mg para un volumen de 14 mL de Buffer) luego se colocó en baño María a 70°C por 10 minutos.

Concluido el tiempo se agregó 0,05 mL de DTNB a 0,01 mol/L, agitando para mezclar.

Las lecturas se realizaron a una longitud de onda de 412 nm.

Se preparó una curva de calibración de glutatión, con las siguientes concentraciones: 10; 20; 40; 80; 150 y 200, $\mu\text{mol GSH/mL}$. Anexo 3.

Los resultados fueron hallados por la siguiente formula:

$$[\text{GSH } \text{mg/g}] = \frac{Fc \times Vh \times VD \times VRX}{VHD \times VSN \times W}$$

VHD: Volumen del homogenizado para la precipitación 1mL

VD: Volumen de desproteinizado 2,2mL

Vsn: Volumen del sobrenadante 0,5mL

VRx: Volumen de la reacción 2,525mL

Vh: Volumen de homogenizado aproximadamente 2,5 mL

W: peso del tejido a homogenizar. Aproxmadamente 0,3 g

3.8.5 Especie reactivas al ácido tiobarbiturico. Según el método de Buege y Aust. (Buege J 1978). (59)

Fundamento: existe una reacción de 2 moles de ácido tiobarbitúrico con 1 mol de malonaldehído, que es producto de la lipoperoxidación de los ácidos grasos, dando un color rosado con una absorción máxima a los 532 - 535 nm.

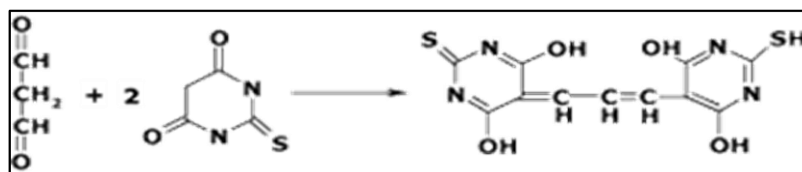


Figura1: Formación del complejo malonaldehído (Fuente: Analytical Methods for Resolving Data from TBA2-MDA Reaction Mixtures)

Protocolo: Para esta técnica se utilizó el sobrenadante del homogenizado de hígado cuya preparación se explicó en puntos anteriores y se le agregó TCA al 20% para desproteinizar.

En un tubo con tapa se colocó 0,3 mL de homogenizado y 0,6 mL de ácido tricloroacético al 20%; luego, se llevó a baño María hirviendo por 10 minutos. Concluido el tiempo, se dejó enfriar y se agregó 0,9 mL de ácido 2-tiobarbitúrico al 0,67%/HCl 0,25 N y llevará a baño María por 20 minutos. Finalmente, se centrifugó a 4000 nm por 15 minutos y se leyó a 535 nm.

Los cálculos de concentración se determinaron mediante la fórmula:

$$[TBARS \text{ nmol/mL}] = \frac{ABS(MP - BI) \times V_{Rx} \times VH \times 10}{\epsilon \times l \times V \times W}$$

V_{Rx} : volumen de la reacción 1,8 mL

ϵ : Coeficiente de extinción molar $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$

V : volumen del homogenizado para reacción 0,3 mL

l : longitud e la cubeta 1 cm.

VH : volumen del homogenizado 5 mL

W : peso del tejido para el homogenizado, aproximadamente 0,5g.

3.9 Validez y confiabilidad del instrumento

El presente estudio no utilizó cuestionario o instrumentos que requieran validación.

3.10 Limitaciones

- Postergación de la compra de ratones debido a que no alcanzaron la madurez requerida según lo establecido en la investigación. Sin embargo, se logró adquirir la muestra.
- El presente estudio es pre clínico (escala animal) y los resultados no deben extrapolar a humanos, sin embargo nos dan fuertes indicios.

3.11 Plan de análisis (procesamiento de datos)

Los datos se analizaron utilizando el paquete estadístico STATA (versión 13.0).

A) Análisis descriptivo

Se representó la cantidad de animales por grupo por medio de frecuencias absolutas. Las variables cuantitativas fueron ordenadas y analizadas como media \pm desviación estándar (DE).

B) Análisis inferencial

A continuación, para la estadística inferencial se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para las variables cuantitativas; las cuales presentaron normalidad ($p > 0,05$). Según este resultado se decidió aplicar pruebas paramétricas para la comparación de promedios o medias.

Se aplicó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) para la comparación de promedios entre grupos de tratamiento. Si el valor-p en la prueba de ANOVA resultó significativo, la diferencia entre los pares de medias fue determinada con la prueba de Bonferroni. Cuando las variables no fueron homogéneas se determinó la diferencia entre grupos utilizando la prueba de kruskal Wallis.

Los valores con $P < 0,05$; fueron considerados estadísticamente significativos.

Para la representación de diferencia entre los grupos de tratamiento se realizaron gráficos de barras.

3.12 Aspectos éticos

El presente estudio fue aprobado por el comité de ética de la Universidad Católica Sedes Sapientiae el 21 de diciembre del 2015. Anexo 4.

La investigación se llevó a cabo por personas con la debida preparación científica, en cumplimiento con las normas de las 3 Rs de Russel. En el reducir se consideró trabajar con la menor cantidad de ratones obteniendo niveles comparables de información. Refinar, se empleó la técnica de eutanasia con la finalidad de proporcionar el menor sufrimiento posible a

los animales, los integrantes de la tesis estuvieron con previo entrenamiento en las diferentes técnicas empleadas en el estudio. (60)

Los animales utilizados en el estudio fueron manipulados según las normas de ética de experimentación animal citadas en la Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratones - INS, Lima 2008. Anexo 5.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

4.1 Datos generales

Los ratones consumieron en promedio 2 – 3 g de alimento al día lo cual permitió la ganancia de peso promedio de $27,71 \pm 2,63$ g durante todo el tratamiento. Anexo 6

4.2 Del análisis estadístico

Los indicadores TBARS, índice hepático, GSH reducido y total presentaron $p > 0,05$ para la prueba de Shapiro-Wilk, los cuales fueron sometido a la prueba ANOVA, donde resultó $p > 0,05$; por tanto, se sometió a la prueba de comparación de medias entre los grupos determinas con la prueba de Bonferroni.

La relación de GSH/GSSG presentó un $p < 0,05$ para Shapiro-Wilk, lo cual luego fue sometido a la prueba de Kruskal Wallis.

4.3 Niveles de lipoperoxidacion en tejido hepático (TBARS)

Se observó que el grupo II presentó una mayor concentración de lipoperoxidación expresado en TBARS comparado con el grupo I ($p < 0,05$).

El tratamiento con silimarina + paracetamol (grupo III) presentó una inhibición de 14,27% de los niveles de TBARS respecto al grupo II, sin llegar a ser significativo.

Respecto al grupo que recibió el zumo 5 mL/kg + paracetamol (grupo IV) presentó un menor porcentaje (20,56 %) de TBARS respecto al grupo II, siendo significativo ($p < 0,05$), que incluso presentó menor nivel de TBARS respecto al grupo V (zumo 10 mL/kg + paracetamol) ($p < 0,01$).

Tabla 1: Promedio lipoperoxidación en tejido hepático por grupo de tratamiento

	TBARS* nmol/g	% de inhibición
Grupo I	27,19 ± 1,69 ^a	--
Grupo II	32,24 ± 1,57	--
Grupo III	27,64 ± 4,03 ^b	14,27
Grupo IV	25,61 ± 4,36 ^{a,c}	20,56
Grupo V	32,88 ± 1,89	-1,99

* Shapiro Will $p > 0,05$. Media \pm DE

(a) comparado con grupo II $p < 0,05$

(b) comparado con grupo V $p < 0,05$

(c) comparado con grupo V $p < 0,01$

4.4 GSH reducido, total y relación GSH/GSSG

El tratamiento con paracetamol (grupo II) incrementó los niveles de GSH reducido, sin embargo, no se observó esta tendencia en GSH total, siendo estas variaciones no significativas con el grupo I. También se observó que la relación GSH/GSSG fue mayor, sin llegar a ser significativo.

El grupo que recibió el tratamiento con silimarina + paracetamol (grupo III) presentó los niveles más altos de GSH reducido (15,56 %), sin embargo, no expresó porcentaje de incremento en GSH total, siendo estas variaciones no significativas con el grupo I. Así mismo se observó que la relación GSH/GSSG fue mayor sin llegar a ser significativo.

Con respecto al grupo que recibió el zumo 5 mL/kg + paracetamol (grupo IV) expresó mayor nivel de GSH reducido (38,64%), comparado al grupo I ($p < 0,05$). De la misma forma se observó esta tendencia en GSH total, siendo estas variaciones no significativas con el grupo I. También aumentó la relación GSH/GSSG sin llegar a ser significativo.

El grupo que recibió el zumo 10 mL/kg + paracetamol (grupo V) incrementó los niveles de GSH reducido, sin embargo, no se observó esta tendencia en GSH total, siendo estas variaciones no significativas con el grupo I. Sin

embargo, se observó que la relación GSH/GSSG expresó un incremento del 439,29% que son significativos con respecto a los demás grupos ($p < 0,01$).

Tabla 2: Niveles de GSH reducido y total en tejido hepático en los grupos de tratamiento

	GSH reducido*		GSH total*		Relación**	
	mg/g	% de incremento	mg/g	% de incremento	GSH/GSSG	% de incremento
Grupo I	29,17 ± 5,54	-	50,17 ± 9,01	-	1,40 ± 0,08 ^c	-
Grupo II	31,36 ± 2,51	7,51	46,35 ± 3,01	-7,61	2,00 ± 0,41 ^c	42,86
Grupo III	33,71 ± 5,98	15,56	50,10 ± 10,38	-0,14	2,05 ± 0,33 ^c	46,43
Grupo IV	40,44 ± 10,63 ^a	38,64	61,00 ± 19,67	21,59	1,99 ± 1,16 ^c	42,14
Grupo V	30,52 ± 6,28	4,63	34,78 ± 7,68 ^b	-30,68	7,55 ± 1,90	439,29

* Shapiro $p > 0,05$. MEDIA ± DE

** Shapiro –Will $p < 0,05$. MEDIANA ± DE

(a) comparado con grupo I $p < 0,05$

(b) comparado con grupo IV $p < 0,01$

(c) comparado con grupo V $p < 0,01$

4.5 Índice hepático (IH)

Se observó que el tratamiento con paracetamol (grupo II) incrementó la masa de hígado sin llegar a ser significativo ($p > 0,05$). El tratamiento con Silimarina + paracetamol (grupo III) expresó incremento en el porcentaje del hígado que fue incluso mayor que el grupo II, sin llegar a ser significativo ($p > 0,05$). El tratamiento con el zumo a diferentes dosis expreso (grupo IV y grupo V) un menor índice hepático que inclusive llega a los niveles del grupo I, sin embargo, no presenta significancia. ($p > 0,05$) (Tabla 3)

Tabla 3: promedio de índice hepático e incremento de tejido
(hepatomegalia)

Variable	Índice Hepático	% de incremento
Grupo I	5,66 ± 0,67	-
Grupo II	5,85 ± 0,63	3,36
Grupo III	6,16 ± 0,56	8,83
Grupo IV	5,75 ± 0,47	1,60
Grupo V	5,65 ± 0,58	-0,18

Shapiro $p > 0,05$. MEDIA ± DE

4.6 Histológico. Anexo 7

Grupo I: Los cortes histológicos presentaron discreto desorden estructural, de las columnas de hepatocitos, los vasos sanguíneos (venas y arterias) con apariencia normal y algunas células picnóticas.

Grupo II: presentó una estructura completamente alterada, formación de microabscesos, aumento de células de Kupffer, apoptosis en hepatocitos, además núcleos pulverulentos y gotículas citoplasmáticas, congestión parenquimal, hepatitis toxica.

Grupo III: presentó estructura alterada, hepatocitos con núcleos pignóticos, citoplasma corpurulento, no aumento de células Kupffer; zona de edema.

Grupo IV: se observó microabscesos, edema de hepatocitos, sinusoides correctas, gran cantidad de gotículas en el citoplasma y células en mitosis.

Grupo V: desorden estructural, existen columnas de hepatocitos irregulares, muy pocas microvesículas, gran cantidad de núcleos pignóticos y congestión intraparenquimal; intoxicación.

CAPÍTULO V: INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

5.1 Discusión de resultados

Actualmente se evidencia que la hepatitis medicamentosa es un problema de salud a nivel mundial, provocando el 10% de muertes por daño hepático agudo a consecuencia de algún fármaco (1). En nuestro país, las enfermedades hepáticas crónicas generan un elevado costo en el tratamiento y ocupa el 9^{no} lugar entre las causas de mortalidad. (MINSA).

Las investigaciones en nuestro medio, referente al uso y efecto de plantas y/o alimentos con potencial funcional han aumentado con el fin de confirmar posibles beneficios naturales, que sirvan de coadyuvante al tratamiento convencional y/o preventivo (8,9).

En el estudio realizado se evidenció que el tratamiento con paracetamol a la dosis de 300 mg/kg (grupo II) presentó una disminución de GSH total, incremento de GSH reducido, Índice hepático, TBARS y la relación GSH/GSSG. A nivel histológico se observó estructura completamente alterada con aumento de las células de Kupffer, teniendo como diagnóstico final hepatitis tóxica. Estos hallazgos están relacionados al efecto tóxico del paracetamol al metabolizarse en el hígado.

El paracetamol es un fármaco que en condiciones normales se metaboliza en el hígado, donde se conjuga con glucoronato en un 60% y sulfato en un 35%, del porcentaje restante, una fracción es metabolizada por el citocromo P450 (CYP2e), formando N acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQI), un metabolito potencialmente tóxico, que mediante conjugación con el glutatión (GSH) y otros grupos sulfhidrilos es excretado por las vías urinarias. En una intoxicación por paracetamol se incrementa la producción

de este metabolito agotando las reservas hepáticas de GSH (61, 62, 63). Esto puede estar relacionado con la disminución de GSH total observado en el grupo II de nuestro estudio.

El NAPQI se une a las macromoléculas produciendo radicales libres de oxígeno (ROS), oxidando a los ácidos grasos poliinsaturados de la membrana de los hepatocitos, generando de esta manera la lipoperoxidación, tal como se observa en el grupo II de nuestro estudio (40).

Frente a los ROS, el mecanismo antioxidante más importante en el hígado es el GSH. El incremento de GSH hepático se relaciona con la función de este órgano en la detoxificación y eliminación de compuestos xenobióticos (64). Esto podría explicar el incremento en los niveles de GSH reducido en el grupo II. La concentración de GSH como la relación molar GSH/GSSG contribuye a mantener el balance redox dentro de la célula. Este equilibrio redox regula diversos procesos metabólicos intracelulares como la actividad enzimática, el transporte celular, transducción de señales y la expresión génica por lo cual, se podría explicar el leve incremento de la relación GSH/GSSG en dicho grupo (65, 66, 67).

Por otro lado, se activan las células de Kupffer con la finalidad de eliminar mediante fagocitosis todo tipo de partículas extrañas, innecesarias o alteradas de la circulación sanguínea, produciendo una intensa inflamación como respuesta al tejido lesionado, el cual conduce a un proceso de lesión hepática como se observa en los cortes histológicos del grupo II (68).

La toxicidad por paracetamol también fue descrita en otros estudios, Troncoso 2007 a dosis de 200 mg/kg de paracetamol en ratas, observó signos de necrosis severa hepatocelular y la elevación de niveles de TBARS (18). También en el 2007 Deepak K. Dash observó un incremento en los niveles de lipoperoxidación expresada en malondialdehído (MDA) en el grupo al cual se administró paracetamol a dosis de 750 mg/kg (dosis única) en ratas, comparado con el grupo control (69). Huamán y col. 2013 (19) y Caballero 2015 (20) reportaron similares resultados de elevación de TBARS a una dosis de 400 mg/kg de paracetamol, en ratas. Igualmente se

reflejó el estrés oxidativo medido en MDA por El Morsy E. 2015, donde el tratamiento con paracetamol fue de 2 g/kg (dosis oral única) en ratas (17).

Los resultados obtenidos en el tratamiento con silimarina 70 mg/kg + paracetamol (grupo III) presentaron una disminución de TBARS y GSH total; incremento de GSH reducido, índice hepático y la relación GSH/GSSG. A nivel histológico se observó estructura alterada, hepatocitos con núcleos pignóticos, citoplasma corpulento, no se observó aumento de células Kupffer, lo que determinó una posible protección al daño hepático. Estos resultados están relacionados a la capacidad de la silimarina para contrarrestar la hepatotoxicidad de varios agentes debido a que actúa como antioxidante y regulador del contenido intracelular de glutatión (70).

El efecto encontrado se produce porque los flavonoides se unen a los receptores de la membrana del hepatocito, neutralizando las sustancias tóxicas, produciendo un efecto estabilizador, evitando que los radicales libres oxiden los ácidos grasos poliinsaturados de la membrana. Tal como se observó a nivel histológico, el cual presentó protección frente al daño hepático a nivel estructural. Así mismo la silimarina estimula la regeneración de GSH reducido, también estimula el metabolismo de las células hepáticas, induciendo que los hepatocitos inicien procesos mitóticos como se observó en el grupo III del trabajo de investigación(71).

Estos resultados también fueron evidenciados por Sathya *et al* 2013, dónde el tratamiento con silimarina 100 mg/kg + paracetamol en ratones, encontró una normoarquitectura e inflamación leve, indicando una renegación celular, también observó un incremento de los niveles de GSH reducido (22). Así mismo Arumugam *et al* 2015 mostró que el tratamiento con silimarina indujo a una recuperación del daño hepático causado por paracetamol en ratones, tal como se observó en los hepatocitos normales con núcleos definidos y un incremento de los niveles de GSH reducido (23).

Sin embargo, en el estudio del grupo III no se apreció una reducción significativa de TBARS, que puede ser explicado por la sobreproducción de

radicales libres que no pudo ser controlado por los mecanismos celulares. Caballero 2015 utilizó una dosis mayor de silimarina, 100 mg/kg, expresando niveles bajos de TBARS, comparado con el grupo control, incluso alcanzaron los niveles del grupo sin tratamiento (20).

Se observó que el zumo de alcachofa (5 mL/kg) presentó una disminución de TBARS; incremento de GSH reducido, GSH total, relación red/oxi e Índice hepático. A nivel histológico se observó microabscesos, edema de hepatocitos, sinusoides correctas, gran cantidad de gotículas en el citoplasma, células en mitosis, lo que explica una posible protección al daño hepático. Los resultados obtenidos pueden explicarse por los componentes fitoquímicos que presenta la *Cynara scolymus* L. (alcachofa).

El contenido exacto de polifenoles varía mucho en función del método de extracción (72). García 2008 destaca que los antioxidantes y antiinflamatorios de la alcachofa son el ácido clorogénico y el flavonoide cinarosida (73).

Lattanzio *et al* 2012, observó que el ácido 5-O-caffeoylquinic (ácido clorogénico) es el polifenol más abundante (39%) (14), no obstante, Pereira 2015, determinó que el flavonoide más abundante de *Cynara scolymus* es la luteolina-7-O-glucurónido (Cinarosida) (15). Estas sustancias fenólicas tienen una importante actividad en la eliminación contra los ROS y los radicales libres, además funcionan como un escudo contra el daño oxidativo a las moléculas, como proteínas, lípidos y ADN lo cual podría estar relacionado a la disminución de TBARS y a la posible protección frente al daño observado en los cortes histológicos de grupo IV (74).

Así mismo el GSH participa en la detoxificación de los ROS, proporcionando un electrón para la reducción de peróxidos en la reacción catalizada por la glutatión peroxidasa (GPx). El producto final de la oxidación de GSH es glutatión oxidado (GSSG), que es regenerado por la glutatión reductasa (GR), esta enzima transfiere electrones del NADPH al GSSG, reduciendo esta molécula. Durante las reacciones catalizadas por la GPx y la GR el glutatión no es consumido, pero es reciclado y así puede

de nuevo ser utilizado cuando se requiera (75). En el presente estudio el zumo podría estar contribuyendo a la regeneración del GSH reducido como se aprecia en dicho grupo.

En condiciones de estrés oxidativo severo, la habilidad de la célula para reducir GSSG a GSH se encuentra superada, tendiendo entonces a la acumulación de GSSG. Para evitar un cambio en el equilibrio redox intracelular, GSSG es activamente transportado fuera de la célula o bien reacciona con los sulfidrilos de las proteínas para formar disulfuros mixtos (PSSH) (76). Por lo cual se podría asociar a que el zumo contribuiría al incremento en la relación GSH/GSSG encontrado en el grupo IV.

Estos efectos beneficiosos también se evidenciaron por Colak *et al* 2015, donde se utilizó el extracto de hojas de *Cynara scolymus* (alcachofa) en ratas, en un modelo de intoxicación por tetracloruro de carbono (CCl₄), observándose que disminuyeron los niveles MDA en tejido hepático. También se evidenció reducción de estos daños a nivel histológicos, mostrando una leve dilatación sinusoidal y congestión. Atribuyendo dichos resultados a los ácidos fenólicos por poseer una buena actividad antioxidante contra peróxido y radicales hidroxilos; y a los flavonoides que actúan como donantes de hidrógeno y quelantes de iones metálicos (16, 18).

En el mismo año, en Egipto, El Morsy E. Demostró el efecto hepatoprotector del extracto acuoso de hoja de alcachofa, frente al paracetamol (2 g/kg dosis oral única), y lo relacionó con los antioxidantes y un mecanismo anti-apoptóticos. Evidenciado en biomarcadores de estrés oxidativo malondialdehído, la actividad de la superóxido dismutasa (SOD), óxido nítrico (NO) glutatión reducido (GSH), glutatión reductasa (GR) y glutatión-S-transferasa (GST) (17).

La administración de la dosis más alta del zumo de alcachofa (10 mL/kg) presentó una disminución de GSH total e índice hepático; incrementó los niveles de TBARS, GSH reducido y la relación GSH/GSSG. A nivel histológico se observó desorden estructural, columnas de hepatocitos

irregulares, muy pocas microvesículas, gran cantidad de núcleos pignóticos y congestión intraparenquimal, intoxicación, por lo que presentaría menos eficiencia frente al daño.

Se puede relacionar que el grupo con la dosis más alta fue capaz de presentar regeneración de GSH, corroborado en los resultados de la relación GSH/GSSG comparado al grupo que recibió la menor dosis. Sin embargo, esta concentración de GSH sigue siendo inferior al grupo de menor dosis. Los niveles de GSH disminuidos también participan en la iniciación del proceso de apoptosis y la disminución drástica de los niveles de GSH especialmente a nivel mitocondrial, llevan a la disfunción mitocondrial y sobreviene la muerte celular (77). Por lo tanto, la disponibilidad de glutatión, especialmente de la forma reducida (GSH), puede ser un factor relacionado para el mantenimiento de la función celular (78). Esto se explicaría a que la dosis alta no controló el estrés oxidativo, reflejado en la prueba de TBARS y los cortes histológicos.

5.2 Conclusiones

El zumo de cogollo de *Cynara scolymus* “corazón de alcachofa” a la dosis de 5 mL/kg expresó un efecto hepatoprotector a nivel histológico

El zumo de cogollo de *Cynara scolymus* “corazón de alcachofa” a diferentes dosis estimuló la hepatoprotección en los indicadores bioquímicos empleados en el estudio.

La administración del zumo de cogollo de *Cynara scolymus* “corazón de alcachofa” presentó efecto hepatoprotector frente al paracetamol, a dosis tóxicas en ratones, bajo las condiciones del estudio.

5.3 Recomendaciones

- Determinar la actividad de las enzimas SOD, CAT y GPx para evaluar otros mecanismos de protección hepática.
- Evaluar si el zumo presenta aspecto tóxico por el método de toxicidad aguda.
- Determinar los componentes fitoquímicos del zumo.
- Determinar la capacidad antioxidante *in vitro* del zumo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tejada F. Hepatotoxicidad por Fármacos. *Rev Clin Med Fam.* 2010;3(3):177-191.
2. Dirección general de epidemiología [internet]. Perú: ASIS 2012; [citado 25 ago 2016]. Disponible en: <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/intsan/asis2012.pdf>
3. Teske M, Trentini A. M. M. Herbarium: Compêndio de Fitoterapia. 2. ed. Curitiba: Herbarium Laboratório Botânico, p. 160-161, 1995.
4. Englisch W, Beckers C, Unkauf M, et al. Efficacy of artichoke dry extract in patients with hyperlipoproteinemia. *Arzneimittel-Forschung.* 2000;50(3):260–265.
5. Ins.gob [internet]. Perú: Ins; 2012 [actualizado 16 Abr 2012; citado 10 Ago 2015]. Disponible en: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/0/jer/maestria_2012/An%C3%A1lisis%20de%20situaci%C3%B3n%20de%20salud%20en%20el%20Per%C3%BA.pdf
6. FDA: Food and Drug Administration [internet]. EEUU:FDA;c2014 [citado 10 Ago 2015]. Disponible en: <http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/ucm239955.htm>
7. Canicoba M, Domínguez N, Gutiérrez S. Nutrición en las enfermedades hepáticas crónicas. *Nutr Clin Med.* 2014;8(3):121-135.

8. Arnao A, Suárez S, Trabucco J, et al. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en un modelo de intoxicación con acetaminofén. *An Fac med.* 2012;73(3):239-44.
9. Huamán O, Sandoval M, Arnao I, Béjar E. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote), en ratas. *An Fac med.* 2009;70(2):97-102.
10. Bustíos C, Dávalos M, Román, R, Zumaeta E. Características Epidemiológicas y Clínicas de la Cirrosis Hepática en la Unidad de Hígado del HNERM Es-Salud. *Rev Gastroenterol Perú* junio 2004;27: 238-245
11. Villar M, Villavicencio O. Manual de fitoterapia. 2da. Edición. Lima, Perú: OPS/OMS; 2001.p.363.
12. Cavero R, Marco R, López M. y Echeverría L. Composición química de la alcachofa de Tudela a lo largo de su desarrollo. *Pub. Bio. Uni. Nav.* 1997;10(1):67-77.
13. Cruzado M, Pastor A, Castro N y Cedrón J. Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.). *Rev Soc Quím Perú.* 2013;79(1):57-63.
14. Lattanzio V, Kroon PA, Linsalata V, Cardinali A. Globe artichoke: a functional food and source of nutraceutical ingredients. *J Funct Foods.* 2009;1(2):131–144.
15. Pereira C 1, Barros L, Carvalho AM, Santos C, Ferreira IC. Las infusiones de alcachofa y el cardo de leche representan una buena fuente de ácidos fenólicos y flavonoides. *Alimentos Funct.* 2015; 6(1):56-62.

16. Colak et al. The hepatocurative effects of *Cynara scolymus* L. leaf extract on carbon tetrachloride-induced oxidative stress and hepatic injury in rats. *SpringerPlus*. 2016;5:216.
17. El Morsy EM 1, Kamel R. Efecto protector de extracto de hoja de alcachofa contra la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en ratas. *Pharm Biol*. 2015;53(2):167-73.
18. Troncoso L, Guija E. Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinumsativum* (perejil) en ratas, con intoxicación hepática inducida por paracetamol. *An Fac Med*. 2007;68(4):333-343.
19. Huamán O, Sandoval M, Béjar E, Huamán Z, Tarazona V, Efecto de los extractos acuoso e hidroetanólico de hojas de *Bixa orellana* (achiote) sobre los indicadores no enzimáticos de la hepatotoxicidad por paracetamol, en ratas, *An Fac med*. 2013;74(4):279- 83
20. Caballero J. A. *Efecto hepatoprotector de la almendra de semillas de curcubita máxima (zapallo macre) en ratas*. Tesis profesional de licenciatura. Universidad Nacional Mayor de San Marcos 2014.
21. Grespan R, Aguiar RP, Giubilei FN, Fuso RR, et al. Hepatoprotective Effect of Pretreatment with *Thymus vulgaris* Essential Oil in Experimental Model of Acetaminophen-Induced Injury. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014(954136):1-8.
22. A. Sathya, P. Siddhuraju. Protective effect of bark and empty pod extracts from *Acacia auriculiformis* against paracetamol intoxicated liver injury and alloxan induced type II diabetes. *Food and Chemical Toxicology*. 2013;56: 162–170.

23. Arumugam A, Gunasekaran N, Perumal S. Hepatoprotective effect of leaf extracts from *Citrus hystrix* and *C. maxima* against paracetamol induced liver injury in rats. *Food Science and Human Wellness*. 2015;4:35–41.
24. Litovitz T L, Klein-Schwartz W, White S. 1999 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. *Am J Emerg Med*. 2000;18:517-574.
25. Bialas M C, Reid P G, Beck P. Changing Patterns of Self-poisoning in a UK Health District. *QJM*. 1996;89:893-901.
26. Watson W A, Litovitz T L, Klein-Schwartz W, Rodgers G C Jr, Youniss J, Reid N, et al. 2003 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. *Am J Emerg Med*. 2004;22:335-404.
27. Ostapowicz G, Fontana R J, Schiodt F V. Results of a Prospective Study of Acute Liver Failure at 17 Tertiary Care Centers in the United States. *Ann Intern Med*. 2002;137(12):947-54.
28. Larson A, Polson J, Fontana R. Acetaminophen-induced Acute Liver Failure: Results of a United States Multicenter, Prospective Study. *Hepatology*. 2005;42(6):1364-72.
29. Keith L. Moore, Anne M. R. Agur. *Fundamentos de Anatomía con orientación clínica 2ª*. Buenos Aires: Medica Panamericana; 2003.
30. Braunwld E, Ghany M, Hoofnagle J, Berk P, Wolkoff A, Dienstag J et al. Harrison. *Principios de Medicina Interna*. 15ª ed. Madrid: Ediciones Mc Graw-Hill Interamericana de España; 2002.
31. Otero W, Sierra F. El hígado en cirugía. *Rev. Colomb. Gastroenterol*. 2003; 18(4):230-238.

32. Ham, A.W.; D.H. Cormack: *Tratado de Histología*. 8^{va} edición. Nueva editorial Interamericana S.A de C.V. México, DF, pp 783-811, 1985.
33. Guyton A. *Tratado de fisiología médica*, Madrid: Ediciones McGraw Hill Interamericana de España; 2011.
34. Andrade RJ, Camargo R, Lucena MI, González-Grande R. Causality assessment in drug-induced hepatotoxicity. *Expert Opin Drug Saf*. 2004;3:329-44.
35. Ehrenpreis ED, Ehrenpreis S. Cytochrome P450. Role in Drug-Induced Hepatotoxicity. *Clinics in Liver Disease*.1998; 2: 457-470.
36. William L. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl j Med*. 2003;349:474-85.
37. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int j Biochem Biol*. 2007;39:44-84.
38. Sisamón IA. Acerca de la hepatotoxicidad del paracetamol. *Rev Hosp Privado de Comunidad*. 2003;6(2).
39. Takahashi T, Lasker JM, Rosman AS, Lieber CS. Induction of cytochrome P-4502 E1 in the human liver by ethanol is caused by a corresponding increase in encoding messenger RNA. *hepatology*.1993;17(2):236-45.
40. Graham G, Scott K, Day R. Tolerability of paracetamol. *Drugs*. 2003;63 (Special Issue 2):39-42.
41. Hord K. Phillips S. McKinney P. et al. the incidence of hyperamylasemia following acetaminophen overdose. *Vet hum toxicol*.1992;34:343.

42. Jr. mani TK. Coma and metabolic acidosis in severe acute paracetamol poisoning. *Hum toxicol.* 1986;5:179-182.
43. Giaconi V, Escaff M. *Cultivo de las hortalizas*. 14^a.ed. Santiago, Editorial Universitaria. 1999.
44. Alonso J. *Tratado de fitomedicina bases clínicas y farmacológicas*. 2^{da} edición. Buenos Aires, Argentina: Editorial Isis; 1998.
45. Ara R. *Cien plantas medicinales escogidas*. 4^{ta} edición. Madrid, España: Editorial EDAF S.A.; 2004.
46. Agapito F, Sung E. Fitomedicina 1100 Plantas Medicinales II. Lima. Perú: Editorial Isabel; 2004.p305.
47. García T. Industrialización integral de la alcachofa en pasta nutricional y para alimentos balanceados. *Ind. Data*. 2008;11(1):37-46.
48. Greenlee H, Abascal K, Yarnell E, Ladas E. Aplicaciones clínicas de *Silybum marianum* en oncología. *Integr cáncer Ther*. 2007; 6(2):158-65.
49. Halliwell B, Gutteridge J. Free radicals in Biology and Medicine. *Oxford University Press*; 2007.
50. Halliwell B, Gutteridge J. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical Biology & Medicine* 1995;18(1):125-126.
51. Sen CK, Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr*. 2000;72(2):653-669.

52. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans.* 2007;35(5):1147-50.
53. Tsimikas S. In vivo markers of oxidative stress and therapeutic interventions. *Am J Cardiol.* 2008;101(10):34-42.
54. Norma general del CODEX para zumo (jugos) y néctares de frutas. Lima-Perú; 2001.
55. Freeman B, Crapo J, Free radical and tissue injury. *Lab invest.* 1982; 47:412-415.
56. Miñana J, Gómez L, Pallardo F, Del-olmo J, Escuder A. et al. Mitochondrial oxidative stress and CD95 ligand: A dual mechanism for hepatocyte apoptosis in chronic alcoholism. *Hepatology.* 2002; 35:1205-1214.
57. Gibson J, Pumford N, Samokyszyn V, Hinson JA. Mechanism of acetaminophen-induced hepatotoxicity: covalent binding versus oxidative stress. Department of Pharmacology and Toxicology, University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock 72205, USA. *Chem Res Toxicol.* 1996;9(3):580-5.
58. CYTED/CNP. *Metodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais.* 2^{da} ed. Rio de Janeiro: CYTED/CNP; 2001.
59. Buege J. Aust S. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymology.* 1978; 52; 302-306.
60. Afife Mrad de Osorio. Ética en la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las 3 RS de Russel. Una responsabilidad y un compromiso ético que nos compete a todos. *Revista Colombiana de Bioética.* 2006;1(1):163-183. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=189217283010>.

61. Brunton L, Parker K, Blumenthal D, Buxton I. Goodman & Gilman's. *Manual of Pharmacology and Therapeutics*. 2008.
62. Khandar M A, Parmar D V, Das M, Katyare S S. Is Activation of Lysosomal Enzymes Responsible for Paracetamol-induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity. *J Pharm Pharmacol*. 1996;48:437-40.
63. Lorz C, Justo P, Sans AB, Egidio J, Ortiz A. Role of Bcl-xl in Paracetamol-induced Tubular Epithelial Cell Death. *KidneyInt*. 2005;67:592-601.
64. Kaplowitz N, Tak Yee AW, Ockhtens M. The regulation of hepatic glutathione. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1985;25: 715-44.
65. Townsend D, Tew K, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother* 2003;57 (3-4): 145-55.
66. Lu SC. Regulation of hepatic synthesis: current concepts and controversies. *FASEB J*.1999; 13(10): 1169-83.
67. Hutter DE, Till BG, Greene JJ. Redox state changes in density-dependent regulation of proliferation. *Exp Cell Res*. 1997; 232 (2): 435-8.
68. Clària J. Mecanismos básicos de lesión hepatocelular. Papel de los mediadores lipídicos de inflamación. *Gastroenterol Hepatol*. 2008;31(10):682-92.
69. Deepak k. Dash eta al. Evaluation of hepatoprotective and antioxidant activity of *Ichnocarpusfrutescens* (Linn.) R.Br. on paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Trop J Pharm Res*. 2007; 6(3): 755-765.

70. F. Frascini, G. Demartini, D. Esposti, Pharmacology of Silymarin. *ClinDrugInvest.* 2002;22(1):51-65.

71. Pradhan S, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J Med* 2006; 124:491-504.

72. Llorach, R., Espin, J.C., Toma-Barberan, F.A., & Ferreres, F. Artichoke (*Cynara scolymus* L.) by products as a potential source of health-promoting antioxidant phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 2002;50,3458-3464.

73. García T. Industrialización integral de la alcachofa en pasta nutricional y para alimentos balanceados. *Ind. Data.* 2008;11(1):37-46.

74. Ceccarelli, N., Curadi, M., Picciarelli, P., Martelloni, L., Sbrana, C., & Giovannetti, M. Globe artichoke as functional food. *Mediterr. J. Nutr. Metab.* 2010;3:197-201.

75. Dringen R, Gutterer JM, Hirrlinger J. Glutathione metabolism in brain, metabolic interaction between astrocytes and neurons in the defense against reactive oxygen species. *Eur J Biochem*, 2000;267: 4912-4916.

76. Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Mol Aspects Med* 2009; 30 (1-2): 42-59.

77. Garcia-Ruiz C, Colell A, Morales A, Kaplowitz N, Fernandez-Checa JC. Role of oxidative stress generated from the mitochondrial electron transport chain and mitochondrial glutathione status in loss of mitochondrial function and activation of transcription factor nuclear factor kappa-b: studies with isolated mitochondria and rat hepatocytes. *Mol Pharmacol* 1995; 48 (5):825-34.

78. Denzoin L, Soraci L., Tapia M. Homeostasis del glutatión. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 2013;47(3):529-39.

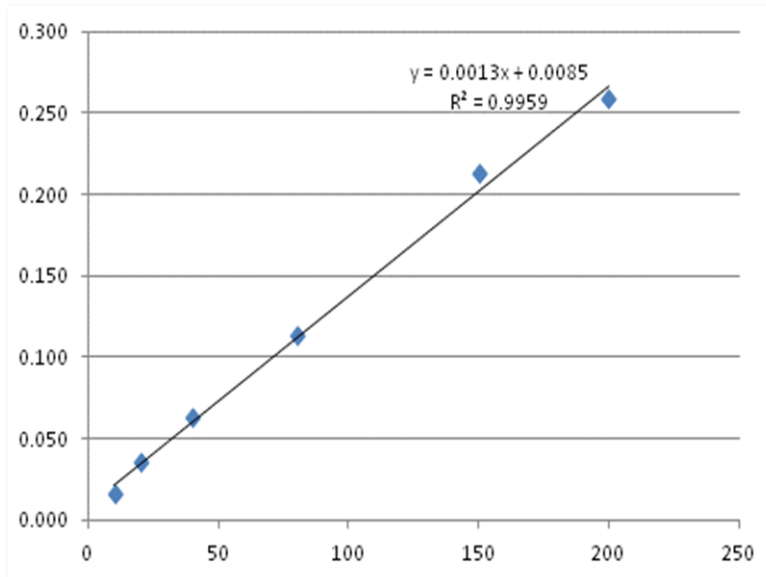
ANEXOS

Anexo 1 Dieta balanceada para ratones de la Universidad Nacional Agraria La Molina

VALOR NUTRICIONAL			
E. Metabolizable	(Mcal/kg)	2.9	Características
Proteína	(% min)	17	Alimento diseñado para ratones de laboratorio (crecimiento/ reproducción). Favorece el desarrollo de una flora intestinal adecuada. Condición óptima de pH estomacal. Diámetro de pellets 8,0 mm. Longitud de pellets <15 mm
Lisina	(% min)	0.92	
Met-cist	(% min)	0.98	
Grasa	(% máx)	5	
Calcio	(% min)	0.63	
Fósforo disponible	(% min)	0.37	
Fibra	(% máx)	3.5	
Humedad	(% máx)	14	

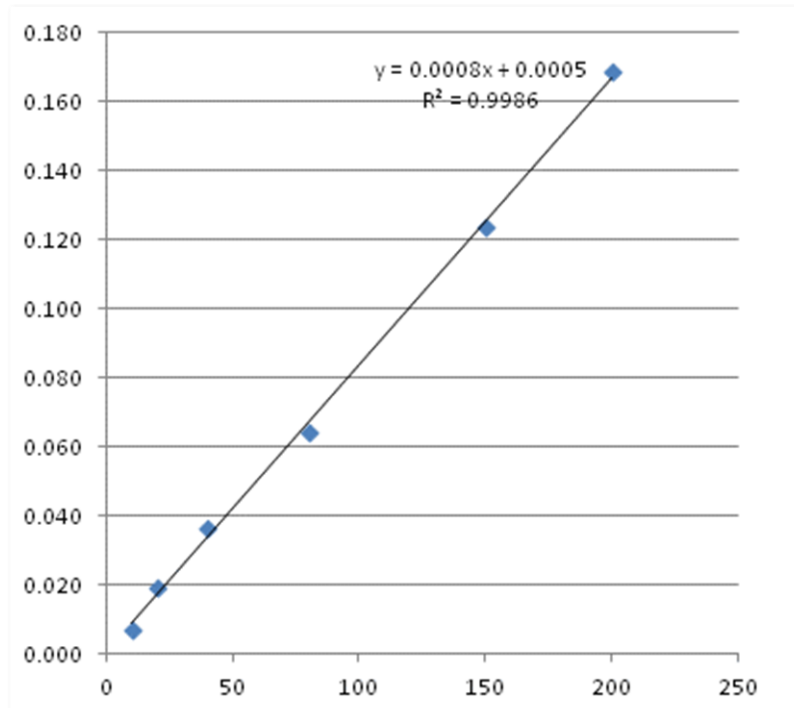
Anexo 2. Curva de calibración de GSH reducido

Cuentas




Anexo 3. Curva de calibración de GSH total

Cuentas



Anexo 4. Carta de aprobación de protocolo de tesis por el comité de ética en la investigación de la facultad de ciencias de la salud



Universidad Católica
Sedes Sapientiae

Nº Reg.: CE-0062
Los Olivos, 21 de diciembre del 2015

**CARTA DE APROBACION DE PROTOCOLO DE TESIS POR EL COMITÉ DE ETICA EN
INVESTIGACION DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

Señor:
HILARIO FLORES, Gian Franco

Señorita:
MEJIA ANGULO, Pilar Jazmin

Presente.-

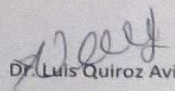
Por medio de la presente me permito hacer de su conocimiento que se ha realizado la revisión de su protocolo de tesis.

“Efecto hepatoprotector del zumo de cogollo de *Cynara scolymus* (corazón de alcachofa) en ratones sometidos a intoxicación por paracetamol”

Cuyo Asesor es el Prof. Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez; se emite la presente CARTA DE APROBACIÓN, a fin de que prosiga con los trámites correspondientes en la elaboración de su tesis.

Sin otro particular me despido de usted.

Atentamente,


Dr. Luis Quiroz Avilés
Comité de Ética en Investigación

Esq. Constelaciones y Sol de Oro - Urb. Sol de Oro - Los Olivos
Teléfonos: (51-1) 533- 5744 / 533-6234 / 533-0008 / 533-0079 / 533-2555 Fax: Anexo 220
www.uccs.edu.pe / sgeneral@uccs.edu.pe

**Anexo 5. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio:
Ratón**



MINISTERIO DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

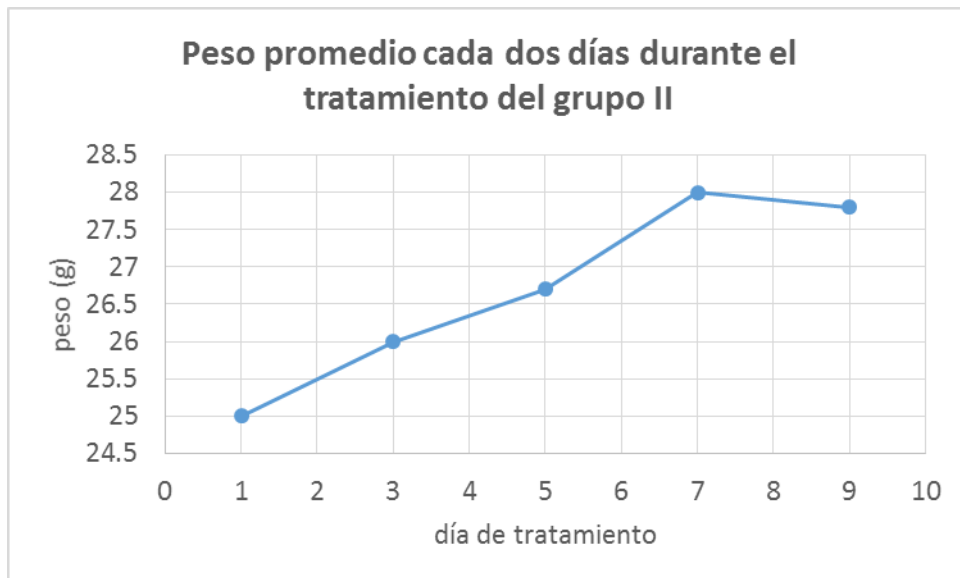
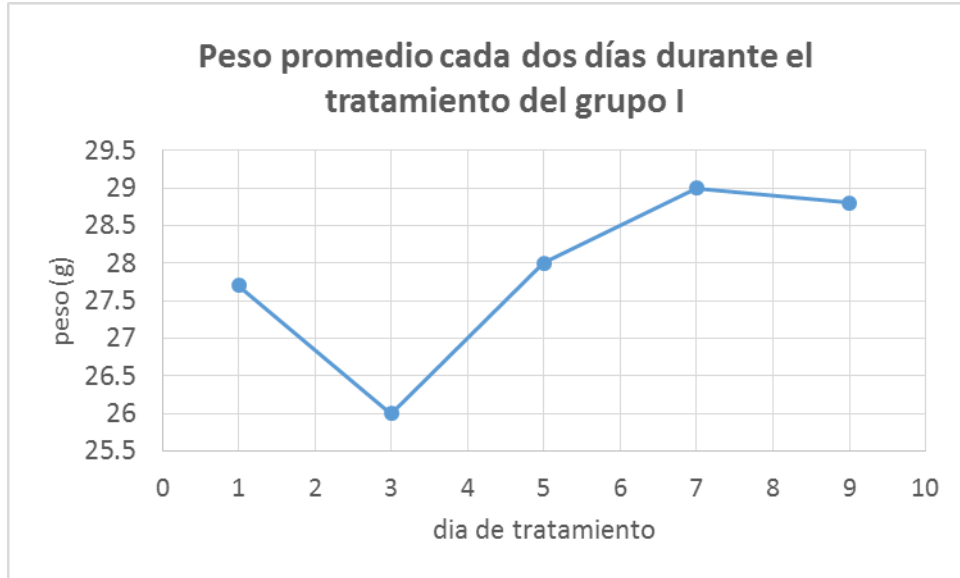


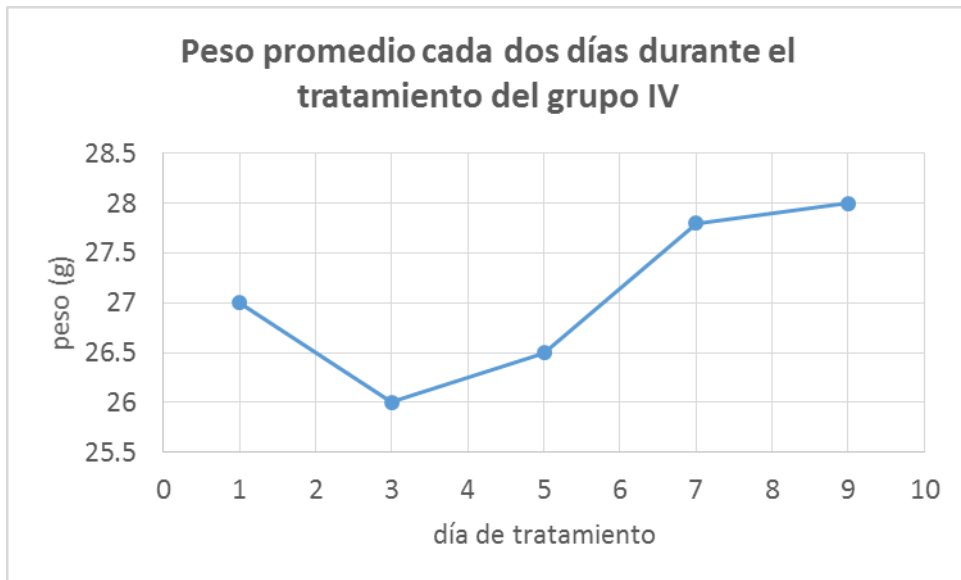
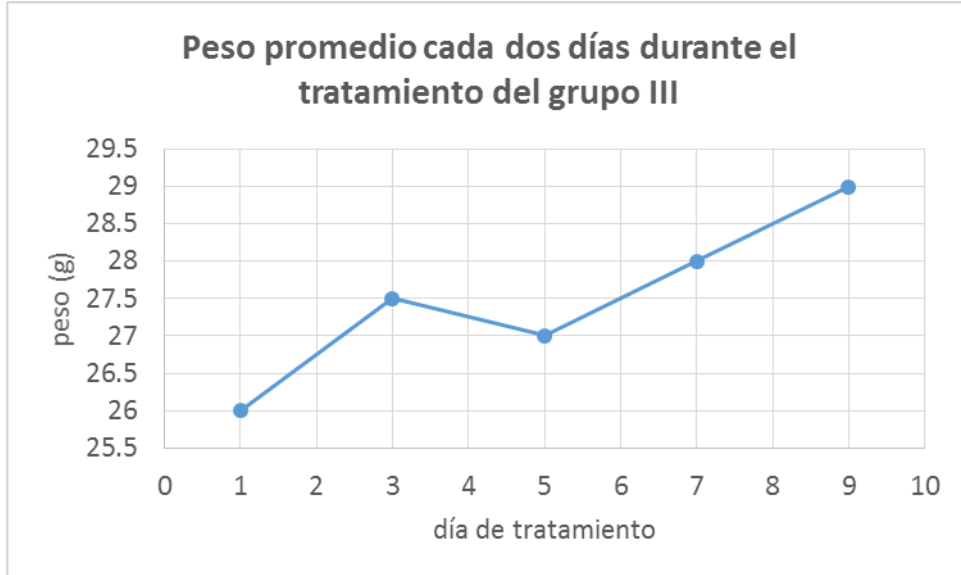
**GUÍA DE MANEJO Y
CUIDADO DE ANIMALES DE
LABORATORIO: RATÓN**

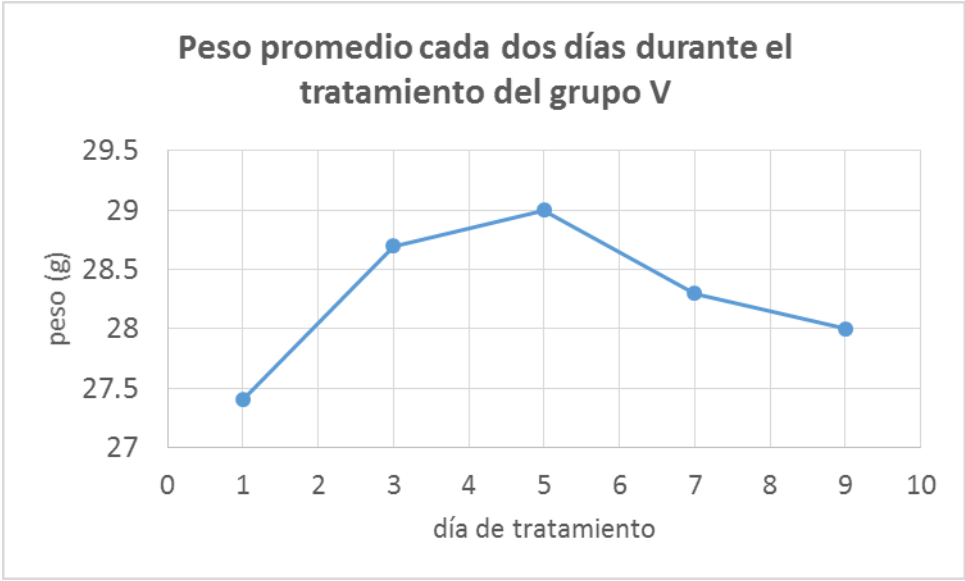


LIMA, 2008

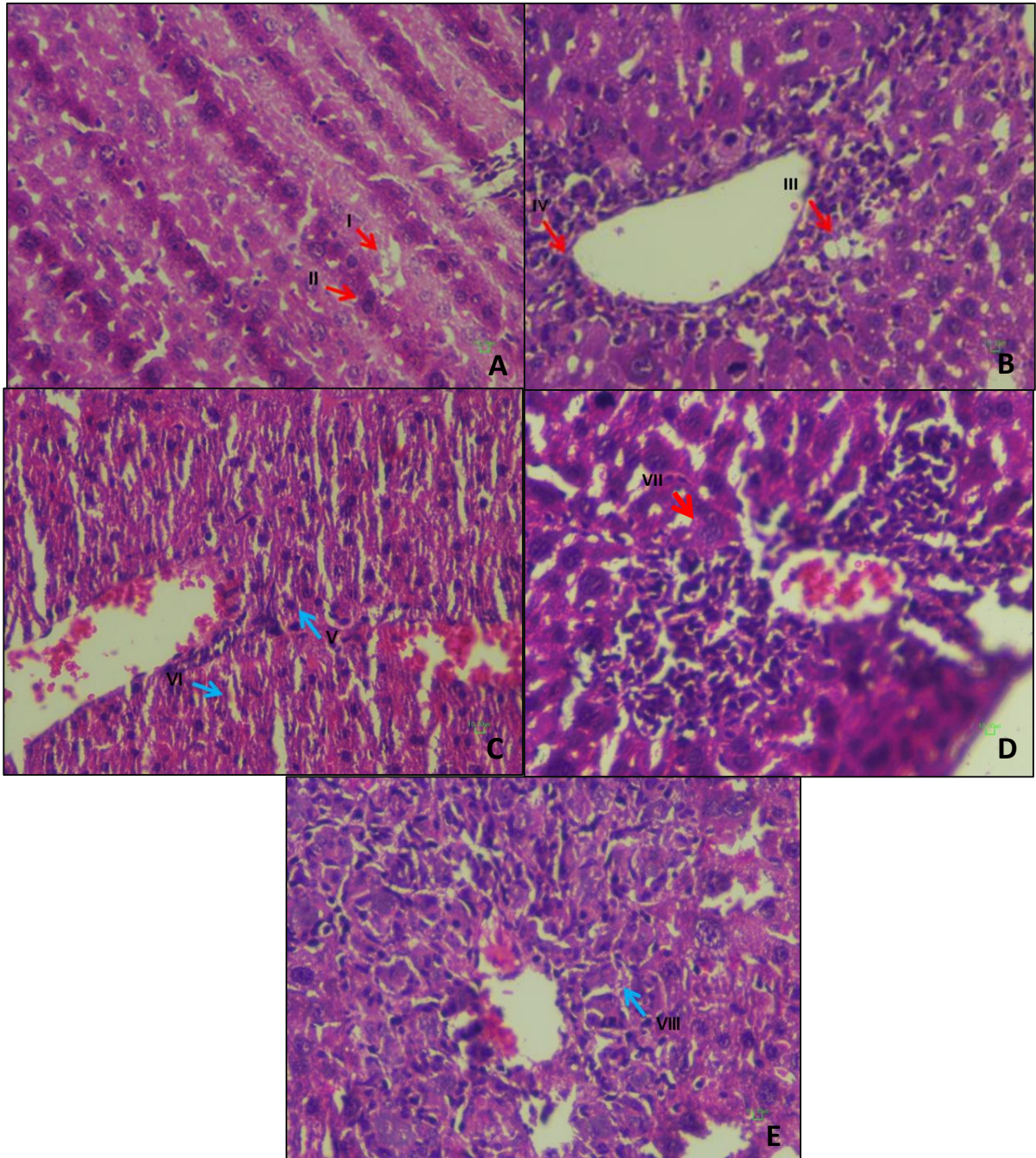
Anexo 6. Ganancia de peso promedio por grupo de tratamiento







Anexo 7. Cortes histológicos



A.grupo control (I) Zona de edemas (II) núcleos pulverulentos **B.paracetamol** (III) gotículas citoplasmáticas (IV) abundantes células de Kupffer **C.silimarina** (V) núcleos pignóticos (VI) zona con edema **D.zumo 5mL** (VII) microabscesos **E.zumo 10 mL** (VIII) congestión intraparenquimal