

# Efecto Protector de *Peumus Boldus* en ratas con toxicidad hepática inducida por Paracetamol

## *Peumus boldus* protection effect in liver injure induced by acetaminophen

Christiam Ochoa<sup>1</sup> Cecilia Granda<sup>1</sup> Martín Chapoñan<sup>1</sup> Rubén Borja<sup>1</sup> Paulo Borjas<sup>1</sup> Jhon Ortiz<sup>1</sup> Graciela Ugaz<sup>1</sup>

Eberth Puerta<sup>1</sup> Mario Pucutay<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Estudiante de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

### RESUMEN

**Objetivo:** Comprobar el efecto protector hepático del extracto acuoso de boldo (EAB) (*Peumus boldus*) al daño hepático inducido por acetaminofén (paracetamol). **Diseño:** Analítico, experimental, aleatorizado, completo – experimento verdadero. Realizado en el Instituto de Patología de la Facultad de Medicina de UNMSM. **Material y método.** 30 Ratas Holtzman macho de 250g y dos meses se dividieron en 5 grupos aleatoriamente, grupo blanco, control paracetamol 200mg/kg y 3 experimentales tratados con EAB a 80 mg/kg, 120 mg/kg y 160 mg/kg respectivamente. Se administró EAB de 80 mg/kg, 120 mg/kg y 160 mg/kg vía orogástrica. Luego de media hora se administró paracetamol 200mg/kg i.p. a los grupos control y experimentales. Este procedimiento se repitió por 5 días. Se tomó pruebas de transaminasas (TGP) basal y final en sangre. Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para analizar la data y un  $p < 0.05$  fue considerado significativo. 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 Holtzman.

**Palabras clave:** *Peumus boldus*, liver protector, acetaminophen, hepatotoxicity

### ABSTRACT

Objective. To prove the liver protection effect of aqueous extract of boldo (AEB) (*Peumus boldus*) in liver injure induced by acetaminophen (paracetamol). Design. Analytic, experimental, randomized, complete – true experiment. Developed in the Pathology Institute of UNMSM Medicine Faculty. Materials and methods. We used 30 Holtzman male rats (250g, two months age) divided in 5 groups randomly; blank group, control group (paracetamol 200 mg/Kg) and 3 experimental groups treated with AEB at concentrations of 80, 120, and 160 mg/Kg, respectively. We applied one dose of paracetamol 200mg/Kg i.p. to the control and experimental groups, and after half an hour the AEB (80, 120, and 160 mg/Kg) by orogastric pathway. Basal and final transaminase tests (TGP) were done in blood. Kruskal–Wallis test was used to analyze the transaminase data with a significant  $p < 0.05$  value. We studied the anatomopathology of liver samples and liver tissue samples were took and stained with HE. Results. We evidenced a significant difference in transaminase (TGP) levels between different groups with a  $p < 0.05$  value. The control group had a final lecture of 196.6U/L  $\pm$  38.1 (TGP), while the experimental groups had values between 55.6 and 20.8U/L. Histological samples of control group showed liver damage signs with non alcoholic fat degeneration, centrolobulillar and sinusoidal congestion; and also cellular necrosis. However, the experimental groups treated with AEB didn't show any histopathological damage sign signs and absence of inflammation. Conclusions. Boldo has a liver protector effect to damage induced by paracetamol.

Key words : *Peumus boldus*, liver protector, acetaminophen, hepatotoxicity.

### INTRODUCCIÓN

En nuestro medio la causa más común de enfermedad hepática es el hígado graso no alcohólico (NAFLD) y la esteatohepatitis no alcohólica (NASH)<sup>(1)</sup>. Frente a un diagnóstico de hepatopatía aguda o crónica los pacientes reciben tratamientos farmacológicos pero también deciden utilizar medicina alternativa como tratamiento coadyuvante. Diversas investigaciones han descubierto compuestos que presentan efectos protectores hepáticos y cuyo uso sería fundamental en diversas patologías como las hepatopatías inducidas por fármacos, hepatopatías virales, entre otras. Dentro de éstos tenemos una amplia gama de plantas medicinales, tales como la huamanpinta, achicoria, campanilla, cardosanto, gengibre, la alcachofa, el diente de león, el boldo, entre otras.

La planta del boldo, *Peumus boldus*, es un árbol dioico de la familia Monimiácea cuyas hojas tienen un uso medicinal. Esta planta crece en los pastos interandinos y laderas de Chile, Perú y Ecuador; además de ser cultivada en otros países. Las infusiones acuosas de hojas secas de boldo (*Peumus boldus*) se han utilizado por mucho tiempo como un digestivo casero y como terapia coadyuvante para las

## Efecto Protector de *Peumus Boldus* con toxicidad hepática

enfermedades crónicas de hígado. Entre las muchas cualidades medicinales que se le atribuye a las hojas del boldo se incluyen propiedades coleréticas y colagogas, además de ser considerado como estimulante y protector hepático frente a diversos agentes potencialmente nocivos. Dichas propiedades radican en los componentes químicos que forman parte de la planta, los cuales incluyen aceites esenciales ricos en hidrocarburos monoterpénicos (*p*-cimeno, *a*-pineno), monoterpenos oxigenados (ascaridol, cineol o eucaliptol, linalol, entre otros), y alcaloides isoquinoleínicos tipo aporfina (principalmente boldina). A esto se suma el porcentaje de flavonoides, catecina, cumarinas y resinas que también forman parte de los principios activos del boldo. Se conocen los efectos *in vitro* antioxidantes de los componentes del boldo. El extracto acuoso de boldo basa su potencia antioxidante en compuestos importantes como flavonoides y catequinas que conserva pues ambos solubles en agua.<sup>2</sup> Diversos estudios demuestran los efectos colagogos y coleréticos del boldo en animales y además, se observó que la dosis tóxica para una rata es de 1 g/kg de peso<sup>(3)</sup>.

Dentro de los xenobióticos transformados por el hígado se encuentra el acetamofén o paracetamol que utiliza la vía de conjugación con glucoronato (95%) y la conjugación con glutatión para su excreción (5%). Cuando hay un exceso de paracetamol, ambas vías se sobresaturan produciéndose en exceso del metabolito NAPQI (*N*-acetil-*p*-benzoquinonemina), el cual se acumula fijándose por enlace covalente a aminoácidos de enzimas y otras proteínas hepáticas a las cuales inactiva; desencadenando lesiones hepáticas fundamentalmente necrosis centrolobulillar<sup>(4)</sup>. En el caso de estudios de toxicidad hepática mediada por paracetamol en ratas, éste producía alteraciones a dosis medias de 200 mg/kg, generando un cuadro de necrosis hepática irreversible, el cual podía llegar a comprometer otros órganos como el riñón y corazón produciendo insuficiencia renal y alteración miocárdica respectivamente<sup>(5)</sup>. Asimismo, es causante de degeneración grasa hepática y necrosis hepatocelular<sup>(6)</sup>. La intoxicación aguda con paracetamol puede simular un cuadro de hígado graso no alcohólico (NAFLD) o de esteatohepatitis no alcohólica (NASH)<sup>(7)</sup>.

Se han realizado múltiples trabajos que resaltan los efectos benéficos del boldo en el sistema gastrointestinal; sin embargo, existe poca bibliografía disponible en relación a su efecto protector hepático frente a noxas como los xenobióticos. Por ello, el presente trabajo tiene como fin comprobar dicho efecto a nivel bioquímico e histopatológico en un modelo experimental animal con toxicidad hepática inducida por paracetamol.

### MATERIAL Y MÉTODO

#### Tipo de Estudio

Estudio experimental, analítico, prospectivo. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética del departamento de Patología Experimental de la cátedra de Patología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

Obtención de la planta y preparación del extracto acuoso de boldo (EAB).

Hojas frescas de *Peumus boldus* se compraron de los mercados locales de la ciudad de Cusco y fueron analizadas en el Museo de Historia Natural de San Marcos para verificar su autenticidad. Se realizó un secado al aire de las hojas, luego se pulverizaron 500g en un molino eléctrico. El polvo se sometió a una infusión de 20min con 300ml de agua a 100°C. El filtrado se colocó en un recipiente que fue llevado a un horno de deshidratación a temperatura 37°C. El residuo obtenido se diluyó en suero fisiológico en concentraciones de 80mg/ml, 120mg/ml y 160mg/ml. Este preparado se almacenó en frascos ámbar y se le llamó extracto acuoso de boldo (EAB). Preparación del paracetamol.

El *p*-acetaminofén o paracetamol puro fue proporcionado por el Dr. Américo Castro (Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM). El fármaco fue pulverizado y disuelto en suero fisiológico en una concentración de 200mg/ml. Se almacenó en un recipiente ámbar a temperatura ambiente.

#### Animales y tratamiento

Se utilizaron 30 Ratas Holtzman machos de dos meses de edad de aproximadamente 230 g de peso. Las ratas provenían de los bioterios de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Los animales se dividieron en 5 grupos homogéneos y equitativos de manera aleatoria. A los animales se les dio el siguiente tratamiento:

BLANCO: Dosis intraperitoneal e intragástrica de suero fisiológico en cada una de las administraciones similares a los demás grupos.

CONTROL.- Constituido por 6 ratas que recibieron dosis intragástrica de suero fisiológico. Y después de media hora 1 dosis intraperitoneal de paracetamol a 200mg/kg. Este procedimiento se realizó por cinco días.

EXPERIMENTAL BOLDO.- 18 ratas divididas en 3 grupos que recibieron dosis intragástrica de EAB (80mg/kg; 120mg/kg; 160mg/kg respectivamente). Media hora después recibieron dosis tóxicas de paracetamol de 200mg/kg intraperitoneal. Este procedimiento se realizó por cinco días consecutivos.

Las ratas fueron alimentadas con agua y alimento "Ratina superengorde" ad libitum, en condiciones higiénicas y en ambientes acondicionados a temperatura 27°C con ciclos de luz y oscuridad de 12 horas. Antes de la administración de los tratamientos se les hizo ayunar por 12 horas. Se realizó una prueba basal de transaminasas (TGP) al comienzo del experimento tomando muestra de sangre de la cola.

Después del último día de administración se dejó a las ratas en 24 horas en ayuno, luego se hizo una medición del peso final y se procedió al sacrificio con anestesia inducida por éter y degollamiento. Se tomaron muestras finales de sangre venosa al momento del sacrificio. Y se realizaron las pruebas de transaminasa (TGP) finales. La medición de transaminasas se realizó con el Método calorimétrico punto final y kit Reactivo TGP IMLAB -Perú. Se diseccionó el abdomen y se retiraron el hígado y el estómago. Se midieron los pesos de los hígados y se tomaron tres muestras histológicas del lóbulo derecho. Se fijaron en formol y se obtuvieron muestras para obtener laminas teñidas con HE. Se analizaron al microscopio de luz a 40X y 100X por diez campos cada muestra. Se analizaron con un médico patólogo del Departamento de Patología de UNMSM. Las láminas representativas fueron fotografiadas con una cámara digital de 12 megapíxeles de resolución.

Pruebas estadísticas

Los resultados se presentaron con su media y la desviación estándar. Se usó la prueba de Kruskal Wallis entre los 5 grupos y la prueba de Mann Whitney en pares de grupos para determinar las diferencias en los niveles de transaminasa hepáticas (TGP) y el  $p < 0.05$  fue considerado significativo.

## RESULTADOS

### Análisis bioquímico:

Los resultados de las pruebas de transaminasas en el grupo control fueron elevados, sin embargo, los grupos de tratamiento de boldo presentaron niveles inferiores de transaminasas. El grupo tratado con paracetamol presenta niveles de transaminasas de  $196.6 \pm 38$  U/l, por otro lado, los grupos de tratamiento de boldo muestran niveles inferiores de  $55.6$  U/l hasta  $20.8$  U/l. En el caso del grupo tratado con EAB 160mg/kg se vieron niveles de transaminasas inferiores al grupo normal (Tabla 1).

**Tabla 1: Niveles de transaminasas inicial y final (TGP) en los grupos de estudio.**

Tratamientos	Nivel de transaminasas	
	Valor basal	Valor final
Control: Suero fisiológico	19,3 ± 5,5	19,8 ± 7,9
Paracetamol (200mg/Kg)	17,6 ± 6,4	196,6 ± 38,1
Boldo 80 (80 mg/Kg) + Paracetamol (200mg/Kg)	19,8 ± 6,0	55,6 ± 8,1
Boldo 120 (120 mg/Kg) + Paracetamol (200mg/Kg)	17,6 ± 3,7	34,6 ± 6,8
Boldo 160 (120 mg/Kg) + Paracetamol (200mg/Kg)	17,5 ± 2,5	20,8 ± 6,4

Análisis estadístico: Se hizo la prueba de Kruskal Wallis ( $p=0,05$ ) con 6 observaciones por grupo. Y existe diferencia significativa  $p < 0.05$  entre los grupos.

### Análisis anatomopatológico:

Los resultados de los pesos se muestran en la tabla 2. No se encontró variaciones en el peso relativo de los hígados postmortem. En el análisis anatomopatológico del grupo control muestra focos hiperémicos con signos de inflamación y necrosis a diferencia de los grupos de tratamiento con boldo donde el parénquima hepático se encuentra normal. La arquitectura hepatoreticular estaba conservada en todos los grupos. No se encontró hígado graso en el grupo control ni en los tratamientos.

### Análisis histopatológico:

Se observaron 10 campos por cada lámina en el microscopio de luz a 40X y 100X. Los hallazgos microscópicos se analizaron por campos y se compararon con patrones de morfología tisular y celular de hígado normal de rata. Los principales patrones que se analizaron en una lámina de hígado que evidencian daño tisular son degeneración grasa; congestión de la vena centrolobulillar; necrosis

pericentrolobulillar y congestión de los sinusoides hepáticos. (14,15, ). El grupo control presentó signos celulares de inflamación caracterizado por venas centrolobulillares congestivas y congestión sinusoidal (figura 1). Se observó lesión celular con vacuolas intracelulares de grasa, aumento de células con núcleos hiper cromáticos, disminución de la relación de tamaño núcleo/citoplasma, aumento de células apoptóticas y necróticas pericentrolobulillares. (Figura 2)

A diferencia del grupo control las láminas de los tratamientos con boldo mostraron mejoría en la arquitectura y conservación hepatocelular dosis dependiente. No se observaron signos de inflamación (figura 1) en el grupo EAB 1200mg/kg y 160mg/kg, las venas centrolobulillares están permeables, los sinusoides están permeables, no hay degeneración grasa y los núcleos presentan cromatina laxa y tamaño normal (figura2). Sin embargo en el tratamiento boldo a 80mg/kg se observan escasos focos de inflamación con congestión de las venas y algunos focos de necrosis en menor grado.

## DISCUSIÓN

El boldo se ha utilizado como digestivo y para tratamiento de enfermedades hepáticas como terapia coadyuvante por mucho tiempo. El efecto antioxidante es, probablemente, el más importante

para aliviar los síntomas. Los principales componentes antioxidantes del boldo son los flavonoides y alcaloides. Se ha demostrado que el extracto acuoso de hojas secas de boldo mantiene las propiedades de los flavonoides y alcaloides principales. En este estudio se pretende estudiar el efecto protector hepático del boldo en un modelo animal de hepatotoxicidad inducida por paracetamol. En los resultados se vio que los niveles de transaminasa hepáticas son significativamente menores en las ratas tratadas con boldo ( $p < 0,01$ ). También se observó mejoría en las características anatomopatológicas e histopatológicas de los grupos tratados con boldo comparadas con el control positivo.

**Las transaminasas son indicadores de la función hepática, sobretodo del nivel de necrosis de los hepatocitos (20,7) . El nivel normal para TGP de un rata sana es de 38 U/l (21) . En este estudio, así como en otros, los niveles de transaminasas se elevan ante la presencia de un hepatotóxico como el paracetamol. Estudios similares de intoxicación hepática con tetracloruro de carbono demuestran que se elevan los niveles de transaminasas cuando existe lesión en hepatocitos (3). Los niveles de TGP de las ratas del grupo control muestran niveles altos de transaminasa lo que evidencia daño celular en el hígado. Los resultados obtenidos demuestran que hubo disminución significativa en las concentraciones**

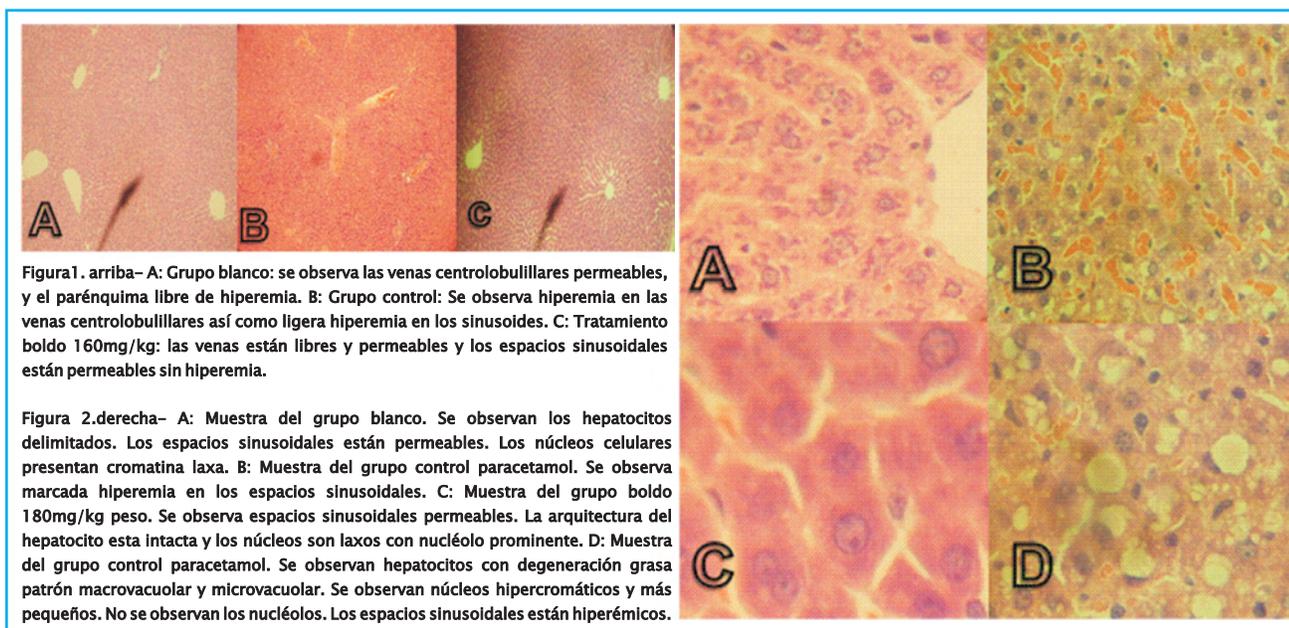


Figura 1. arriba- A: Grupo blanco: se observa las venas centrolobulillares permeables, y el parénquima libre de hiperemia. B: Grupo control: Se observa hiperemia en las venas centrolobulillares así como ligera hiperemia en los sinusoides. C: Tratamiento boldo 160mg/kg: las venas están libres y permeables y los espacios sinusoidales están permeables sin hiperemia.

Figura 2.derecha- A: Muestra del grupo blanco. Se observan los hepatocitos delimitados. Los espacios sinusoidales están permeables. Los núcleos celulares presentan cromatina laxa. B: Muestra del grupo control paracetamol. Se observa marcada hiperemia en los espacios sinusoidales. C: Muestra del grupo boldo 180mg/kg peso. Se observa espacios sinusoidales permeables. La arquitectura del hepatocito esta intacta y los núcleos son laxos con nucléolo prominente. D: Muestra del grupo control paracetamol. Se observan hepatocitos con degeneración grasa patrón macrovacuolar y microvacuolar. Se observan núcleos hiper cromáticos y más pequeños. No se observan los nucléolos. Los espacios sinusoidales están hiperémicos.

finales de transaminasas de los grupos tratados con boldo respecto del grupo control. ( $p < 0.05$ ). Similares resultados se obtuvo en un experimento de protección hepática en ratas con *Alium satibum* y *Petrocelinum satibum* (7).

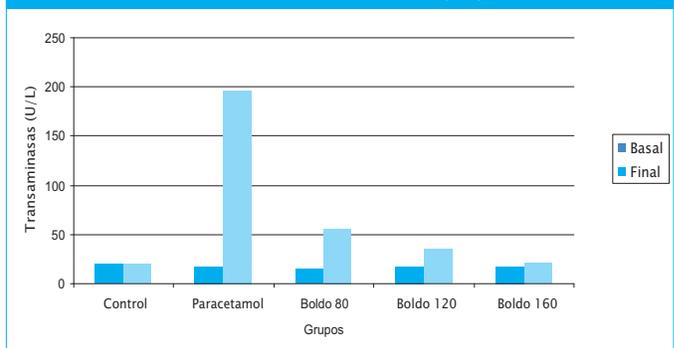
En este estudio se realizó una evaluación anatomopatológica del hígado postmortem al momento del sacrificio antes de la fijación en formol y los resultados muestran la presencia de focos de hemorragia, congestión y ausencia de necrosis hepatocelular en el grupo control. Este resultado concuerda con el hallado por Sisamón y cols. (5) donde en el análisis macroscópico de hígados expuestos a paracetamol se observan zonas de hemorragia, congestión y ausencia de necrosis. Además en el presente trabajo no se observó disminución del peso de la rata ni variaciones de peso en el hígado entre los distintos grupos experimentales como si se vió en un estudio realizado en ratas Sprague-Dawley donde hallaron disminución de peso de los distintos grupos experimentales en los que se usó flavonoides como protector y tetracloruro de carbono como inductor de daño hepático (18).

Los estudios histopatológicos nos permiten determinar la patología exacta de las enfermedades hepáticas así como los verdaderos cambios celulares debido al tratamiento. En el análisis histopatológico de un hígado de rata normal se observan venas centrolobulillares permeables, definidas y con pared regular. La presencia de hematíes en las venas es mínima y el parénquima hepático se nota uniforme y es posible observar los lobulillos hepáticos con los espacios sinusoidales permeables (14). El paracetamol en dosis tóxicas induce muerte de los hepatocitos y produce cambios eosinófilos, necrosis centrolobulillar en hepatocitos caracterizado por coagulación y colapso de hepatocitos con pérdida de núcleos, infiltrado inflamatorio y cambios grasos (16, 18). Respecto al análisis microscópico de este estudio se observaron las características tisulares principales de daño hepático como son congestión de la vena centrolobulillar, congestión de los sinusoides hepáticos, degeneración grasa, características de los núcleos y de la cromatina sobretodo (8-9). Se observó marcado aumento de núcleos densos hiper cromáticos en el grupo control respecto de los grupos experimentales tratados con boldo, esto probablemente se deba a una respuesta del núcleo a la injuria externa. Se encontró mayor número de

venas centrolobulillares congestionadas en el control que en los grupos experimentales. Se vio aumento marcado de vacuolas grasas intracelulares en las muestras del grupo control. Sin embargo, los grupos tratamiento con boldo no presenta signos de degeneración grasa alguna. Se observa que los sinusoides hepáticos de los grupos experimentales de boldo y blanco están permeables lo que indica buena función hepática comparado con la congestión pasiva de los sinusoides del grupo control que evidencian lesión hepática por inflamación. Esto sugiere que el *Peumus boldus* evita la inflamación y las reacciones nocivas que derivan de ésta ante una toxicidad inducida por paracetamol. Estos hallazgos son similares a los obtenidos por Troncoso y cols. En su estudio sobre protección antioxidante del *Petroselinum sativum* a la toxicidad hepática inducida por paracetamol. Podemos concluir que el boldo tiene efecto protector hepático frente a la intoxicación aguda por paracetamol, probablemente debido a su efecto antioxidante. El efecto protector hepático se evidencia por los niveles de enzimas hepáticas (TGP), análisis anatomopatológicos del hígado postmortem y análisis histopatológicos de tejido hepático.

El efecto protector hepático de boldo parece estar relacionado directamente con su concentración pero falta realizar estudios que demuestren la cantidad óptima de boldo para ejercer su efecto protector hepático. Es necesario hacer más estudios para demostrar el mecanismo de acción del efecto protector del boldo que probablemente sea debido a una acción antioxidante directa. Además, hasta el momento no existen estudios sobre el efecto del tratamiento coadyuvante de infusiones acuosas de en enfermedades hepáticas en personas.

Figura 3: Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Peumus boldus* en ratas Holtzman con toxicidad inducida por paracetamol \*



## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. David Díaz Leyva, a la Mg. Nancy Rojas Moran, I Dr. Hernán Borjas Pezo, al Dr. Cesar Vela Velásquez. A los señores Don Rosauo, Don Pedro, Sr. Cabezas y Sr. La madrid.que contribuyeron en la realización del trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gisbert Calabuig JA. Intoxicaciones por medicamentos: analgésicos y antitérmicos. En: Medicina Legal y Toxicología. Valencia. Editorial Saber. 1998, p. 796. 5ª ed.
2. Del Valle J M, Rogalinski T, Zetzl C, Brunner G. Extraction of boldo (*Peumus boldus* M.) leaves supercritical CO<sub>2</sub> and hot pressurized water. Food Research International 2005; 38 (2): 203–213
3. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit EMEA/MRL/548/99 – final July 1999;548(14):99
4. P. Munné, J.J. Saenz Bañuelos, J.J. Izura, G. Burillo–Putze, S. Nogué. Intoxicaciones medicamentosas (II). Analgésicos y anticonvulsivantes. Anales Sis San Navarra 2003; 2(1): 65–97.
5. P. Munné, J.J. Saenz Bañuelos, J.J. Izura, G. Burillo–Putze, S. Nogué. Intoxicaciones medicamentosas (II). Analgésicos y anticonvulsivantes. Anales Sis San Navarra 2003; 26(1): 65–97.
6. Muñón MJ, Álvarez M, Culebras JM, González–Gallego Modelos animales de fallo hepático fulminante. Nutr Hosp. 2007;22(2):199–204
7. Soza A. Hepatitis tóxica: acetaminofeno y otras. Gastr Latinoam 2004; 15 (2):158–162
8. Padilla P, Torreblanca J, Ferrándiz J, Asato H. Esteatohepatitis no alcohólica: reporte de los primeros casos del HNGAI–ESSALUD. Rev.gastroenterolol.P Perú 2000; 20(1):33–40
9. Robbins, Stephen y Coulter, Mary. Patología Estructural y funcional. Adaptaciones celulares, lesión celular y muerte celular 2003;7(2):19–29.
10. Troncoso LV. Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* (perejil) y de una mezcla de vitaminas antioxidantes (A, E, C) en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol [tesis doctoral] Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2007.
11. Isis B. Bermúdez Camps,<sup>1</sup> María A. Torres Alemán,<sup>2</sup> Olga Sonia León Fernández<sup>3</sup> y Pedro Tamaki Tamaki<sup>4</sup> Atenuación del efecto hepatotóxico del tetracloruro de carbono en ratas tratadas con *Polypodium Polypodiodes*. Rev Cubana Farm Universidad de Oriente Instituto de Farmacia y Alimentos 1999;33(2):132–6
12. P. Munné, J.J. Saenz Bañuelos, J.J. Izura, G. Burillo–Putze, S. Nogué. Intoxicaciones medicamentosas (II). Analgésicos y anticonvulsivantes. Anales Sis San Navarra 2003;26(1): 65–97.
13. Troncoso LV. Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* (perejil) y de una mezcla de vitaminas antioxidantes (A, E, C) en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol [tesis doctoral] Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2007.
14. P. Munné, J.J. Saenz Bañuelos, J.J. Izura, G. Burillo–Putze, S. Nogué. Intoxicaciones medicamentosas (II). Analgésicos y anticonvulsivantes. Anales Sis San Navarra 2003;26(1): 65–97.
15. Selema G, Martínez J. Efecto hepatoprotector inducido por el flavonoide Astilbina frente a un modelo animal tratado con tetracloruro de carbono. Rev Cubana Plant Med. 1999; 4(1):36–9
16. Soza A. Hepatitis tóxica: acetaminofeno y otras. Gastr Latinoam 2004; 15 (2):158–162
17. Kikkawa R, Fujikawa M, Yamamoto T, Hamada Y, Yamada H, Horuu I. In vivo hepatotoxicity study of rats in comparison with in Vitro hepatotoxicity screening system. The journal of Toxicological sciences. 2006;31(1):23–34
18. Selema G, Martínez J. Efecto hepatoprotector inducido por el flavonoide Astilbina frente a un modelo animal tratado con tetracloruro de carbono. Rev Cubana Plant Med. 1999; 4(1):36–9
19. Lanhers MC, Joyeux V, Soulimani R, Fleurentin J, Sayag M, Mortier F, Younos C, Pelt JM. Hepatoprotective and anti–inflammatory effects of a traditional medicinal plant of Chile, *Peumus boldus*. Planta Med. 1991; 57(1):110
20. Tropical plant database. Database Entry for Boldo–*Peumus boldo* [base de datos en internet]. Raintree nutrition c1996 [citado 18 Oct 2007]
21. Troncoso LV. Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* (perejil) y de una mezcla de vitaminas antioxidantes (A, E, C) en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol [tesis doctoral] Lima, Perú: Universidad Nacional

---

Correspondencia :  
Christiam Ochoa Ojeda  
correo\_e:christiam8a@hotmail.com