



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA Y FARMACIA**



**TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO
PREVIO PARA OPTAR POR EL GRADO DE QUÍMICAS Y
FARMACÉUTICAS**

MODALIDAD: INVESTIGACIÓN

TEMA:

**EVALUACIÓN DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR PRESENTE EN
EXTRACTOS DE ALGAS PARDAS *Sargassum ecuadoreanum***

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: CIENCIAS BÁSICAS, BIOCONOCIMIENTO Y
DESARROLLO INDUSTRIAL**

**SUBLÍNEA DE INVESTIGACIÓN: CIENCIA Y TECNOLOGÍA
FARMACÉUTICA**

AUTORAS:

BURBANO MOSQUERA ADRIANA GABRIELA

LÓPEZ CRUZ KAREN LILIBETH

TUTORA: Q.F ZORAIDA BURBANO GOMEZ, MSc.

COTUTORA: Q.F. GLENDA SARMIENTO TOMALÁ, MSc.

GUAYAQUIL - ECUADOR

2019-2020



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE GRADUACIÓN

TÍTULO Y SUBTÍTULO:	EVALUACIÓN DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR PRESENTE EN EXTRACTOS DE ALGAS PARDAS <i>Sargassum ecuaoreanum</i>		
AUTOR (ES) (Apellidos/Nombres):	BURBANO MOSQUERA ADRIANA GABRIELA LÓPEZ CRUZ KAREN LILIBETH		
DOCENTE TUTOR Y DOCENTE REVISOR (Apellidos/Nombres):	DRA. Q.F BURBANO GÓMEZ ZORAIDA DEL CARMEN, MSC DRA. Q.F PAZMIÑO PEÑA MARIANITA ALEXANDRA, MSC		
INSTITUCIÓN:	UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL		
UNIDAD/FACULTAD:	FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS		
MAESTRÍA/ESPECIALIDAD:	QUÍMICA Y FARMACIA		
GRADO OBTENIDO:	TERCER NIVEL-QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	2020	No. DE PÁGINAS:	90
ÁREAS TEMÁTICAS:	FARMACOLOGÍA		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	Polisacáridos, algas pardas, actividad hepatoprotectora, enfermedades hepáticas, tetracloruro de carbono CCl ₄		
RESUMEN/ABSTRACT (150-250 palabras):			
<p>Este estudio consistió en evaluar el efecto hepatoprotector presente en el extracto hidroalcohólico de algas pardas (<i>Sargassum ecuaoreanum</i>) en ratones. La recolección se llevó a cabo en la playa Ballenita (Ecuador), se determinaron parámetros físicos químicos a la droga cruda y al extracto hidroalcohólico como: Cenizas totales, Cenizas solubles en agua, Cenizas insolubles en HCl, Sólidos totales, Grasas totales, Humedad, Porcentaje de rendimiento, Polisacáridos totales y Cloruro de sodio. La inducción fue realizada con tetracloruro de carbono al 5% por vía intraperitoneal y el tratamiento tuvo una duración de siete días. Se conformaron 7 grupos: un grupo control normal sin tratamiento y sin inducción, un grupo control negativo sin tratamiento, grupos tratados con silimarina (420 mg/kg) y N-acetilcisteína (600 mg/kg vía oral) por vía oral más inducción y grupos tratados con el extracto hidroalcohólico del modelo de investigación a dosis de 1000 mg/kg, 500 mg/kg, 250 mg/kg por vía oral más inducción. Se realizó un estudio histopatológico y un ensayo bioquímico para determinar niveles de transaminasa Glutámico Oxalacética (TGO). Como resultado, la muestra presentó concentraciones de polisacáridos totales, los grupos tratados con Silimarina, N- acetil cisteína y el extracto hidroalcohólico a diferentes dosis, tuvieron similitud a los valores de transaminasa (TGO) del grupo control normal, mientras que, el grupo control negativo mostró diferencia significativa del 0.05%. Por otra parte, el estudio histopatológico indicó que el daño hepático estaba en su primera fase de estadios, sin embargo, el extracto hidroalcohólico de la alga parda <i>Sargassum ecuaoreanum</i> presentó un efecto hepatoprotector preventivo.</p>			
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: 0967719520 0990615960	E-mail: karen.lopezcr@ug.edu.ec adrianitaburbano@gmail.com	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:	Nombre: FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS		
	Teléfono: (04) 2293680		
	E-mail: www.fcq.ug.edu.ec		



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA



UNIDAD DE TITULACIÓN

Guayaquil, 10 de Marzo del 2020

Sra.

QF. Marianita Rendón Mariscal, MSc.

VICEDECANA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

Ciudad. -

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación: "Evaluación del efecto hepatoprotector presente en extractos de algas pardas *Sargassum ecuadoreanum*", de las estudiantes **Burbano Mosquera Adriana Gabriela y López Cruz Karen Lilibeth**, indicando que han cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación.

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que las estudiantes **Burbano Mosquera Adriana Gabriela y López Cruz Karen Lilibeth**, están aptas para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente,

Q.F. Zoraida Burbano Gómez, MSc.

C.I. 0909393274

FECHA: Guayaquil, 10 de marzo del 2020



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 10 de junio de 2020
Sra. Dra.
ZOILA LUNA ESTRELLA
VICEDECANA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad. -

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el informe correspondiente a la **REVISIÓN FINAL** del Trabajo de Titulación: **EVALUACIÓN DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR PRESENTE EN EXTRACTOS DE ALGAS PARDAS *Sargassum ecuadoreanum*** de las estudiantes **BURBANO MOSQUERA ADRIANA GABRIELA Y LÓPEZ CRUZ KAREN LILIBETH.** Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

- El título tiene un máximo de **12** palabras.
- La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.
- El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad.
- La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.
- Los soportes teóricos son de máximo **7** años.
- La propuesta presentada es pertinente.

Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado, el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica el que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que las estudiantes: **BURBANO MOSQUERA ADRIANA GABRIELA Y LÓPEZ CRUZ KAREN LILIBETH,** están apto para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,

Q.F MARIANITA PAZMIÑO PEÑA
DOCENTE TUTOR REVISOR
C.I. 0907939771

Urkund Analysis Result

Analysed Document: URK-1-TESIS FINAL BURBAN0-LOPEZ.docx (D65058447)
Submitted: 3/8/2020 11:10:00 PM
Submitted By: zoridavid2003@yahoo.es
Significance: 1 %

Sources included in the report:

ULTIMA TESIS.docx (D54441763)
<https://docplayer.es/39589670-Tesis-de-grado-bioquimico-farmaceutico.html>
<https://docplayer.es/122352915-Tesis-de-grado-bioquimico-farmaceutico.html>
<https://docplayer.es/82233202-Universidad-de-guayaquil-facultad-de-ciencias-quimicas-carrera-quimica-y-farmacia-investigacion.html>

Instances where selected sources appear:

8





FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA

UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 10 de Marzo del 2020

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de tutora del Trabajo de Titulación, Certifico: Que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación, cuyo título es: **"EVALUACIÓN DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR PRESENTE EN EXTRACTOS DE ALGAS PARDAS *Sargassum ecuadoreanum*"**, presentado por **Burbano Mosquera Adriana Gabriela** con Cl. No: **0931101810**, **López Cruz Karen Lilibeth**, con Cl. No: **0952107647**, previo a la obtención del título de Químicas Farmacéuticas.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Antiplagio del programa URKUND, quedando el 1% de coincidencia. Lo Certifico:

A handwritten signature in purple ink, reading "Zoraida Burbano Gómez".

DRA. ZORAIDA BURBANO GÓMEZ, MSc.

C.I. No: 0909393274



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 10 de junio de 2020

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrado Q.F. MARIANITA PAZMIÑO PEÑA, MSc., tutor revisor del trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR PRESENTE EN EXTRACTOS DE ALGAS PARDAS *Sargassum ecuadoreanum*”** certifico que el presente trabajo de titulación, elaborado por **ADRIANA GABRIELA BURBANO MOSQUERA**, con CI. No: **0931101810** y **KAREN LILIBETH LÓPEZ CRUZ**, con CI. No: **0952107647**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Químicos y Farmacéuticos, en la Carrera de Química y Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas, ha sido **REVISADO Y APROBADO** en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.

A handwritten signature in blue ink, reading "Marianita Pazmiño Peña".

Q.F. MARIANITA PAZMIÑO PEÑA, MSc.

DOCENTE TUTOR REVISOR

C.I. 0907939771



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



VIII

CERTIFICADO DEL TRIBUNAL

El tribunal de sustentación del Trabajo de Titulación de las autoras ADRIANA GABRIELA BURBANO MOSQUERA y KAREN LILIBETH LÓPEZ CRUZ después de ser examinadas en su presentación, memoria científica, defensa oral, da por aprobado el trabajo de titulación.

Q.F MARIA JOSE MORALES ESTUPIÑAN MSc.
PRESIDENTE MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dra. MARIA VERONICA VEGA GORDILLO MSc.
DOCENTE- MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Q.F SANDRA LISSETTE RECALDE LUNA MSc.
DOCENTE- MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ab. FRANCISCO PALOMEQUE ROMERO MSc.
SECRETARIO GENERAL
FACULTAD DE CIENCIA QUIMICAS



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



ANEXO XII.- DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y DE AUTORIZACIÓN DE
LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO
NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS.

LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO
NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES ACADÉMICOS.

Nosotras, BURBANO MOSQUERA ADRIANA GABRIELA, con C.I. No: 0931101810, y LÓPEZ CRUZ KAREN LILIBETH, C.I. No: 0952107647, certificamos que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es "EVALUACIÓN DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR PRESENTE EN EXTRACTOS DE ALGAS PARDAS *Sargassum ecuadoreanum*", es de nuestra absoluta propiedad y responsabilidad y SEGÚN " El Art.114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN", autorizamos el uso de una licencia gratuita intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la presente obra con fines no académicos, en favor de la Universidad de Guayaquil, para que haga uso del mismo, como fuera pertinente.

ADRIANA GABRIELA BURBANO MOSQUERA
C.I. No.: 0931101810

KAREN LILIBETH LÓPEZ CRUZ
C.I. No.: 0952107647

*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Dic./2016) Artículo 114.- De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.-En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de titulación a mis padres, porque gracias a su amor, paciencia, comprensión y apoyo incondicional he podido llegar hasta este momento que he anhelado con todo el corazón.

Adriana Gabriela Burbano Mosquera

DEDICATORIA

Dedico a toda mi familia la culminación del presente trabajo de investigación, por haber puesto su confianza en mí desde un principio, por sus consejos que me condujeron a cumplir una meta más, por ayudarme y contar con su apoyo incondicional durante cada etapa de crecimiento académico.

A mi amiga de tesis, por todo el esfuerzo entregado a lo largo de este tiempo en la realización y desarrollo de este estudio a pesar de los obstáculos, lo cual, es una satisfacción grande haberlos superado; y a mis amigos, que juntos hemos compartido un sinnúmero de experiencias inolvidables mientras duró la carrera.

Karen Lilibeth López Cruz

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios en primer lugar, por su amor incomparable, por otorgarme la vida, por darme buena salud, y por darme el privilegio de culminar esta etapa de mi carrera, gracias por ser el dador de vida, sin ti no hubiese logrado llegar hasta este momento. En segundo lugar, agradezco a mis padres, Gonzalo Burbano y Jadira Mosquera, por brindarme su confianza desde el principio, todas las metas alcanzadas y lo que me he propuesto en esta vida, ha sido siempre pensando en ustedes, su esfuerzo y sacrificio no ha sido en vano, eso puedo asegurarles, y hoy puedo decirles que irán cosechando lo que han sembrado en mí, los amo tanto. Mis agradecimientos también para mi amado Leonardo Junco, por demostrarme su amor, respeto, paciencia, comprensión y apoyo, Te amo.

Agradezco a mi compañera y amiga de tesis Karen López, por su apoyo, por compartir sus conocimientos conmigo, por su sencillez y valiosa amistad, a sus bellos padres, por brindarme su confianza, y abrirme las puertas de su hermoso hogar, a Fabricio León y Aracely Allauca amigos de verdad que nunca olvidaré.

Finalmente agradezco a mi tutora Zoraida Burbano Gómez y cotutora Glenda Sarmiento Tomalá, por sus valiosas enseñanzas y consejos que guardaré siempre en el corazón.

Adriana Gabriela Burbano Mosquera

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a Dios por sustentar mi hogar, por darme las fuerzas necesarias para seguir luchando a diario, por las bendiciones que derrama en mi vida y en la de mis padres al brindarles una fuente de trabajo.

A mis padres y a mi hermano, que han sido mi soporte y la razón de seguir esforzándome día a día, porque nunca dejaron de fomentar en mi sus principios y valores hasta lograr formarme como la persona que soy en la actualidad.

A mis tutoras, por su disposición, paciencia y ayuda que nos tuvieron durante el desarrollo de la tesis, por compartir cada una de sus enseñanzas con amor y sin egoísmo.

Gracias a mis seres queridos por desear y anhelar siempre lo mejor para mi vida. Los amo inmensamente.

Karen Lilibeth López Cruz

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	XXII
ABSTRACT	XXIII
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I	2
I.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
I.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	2
I.3 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA	3
I.4 HIPOTESIS	3
I.5 OBJETIVOS	4
I.5.1 General:	4
I.5.2 Específicos:.....	4
I.6 VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN	4
I.6.1 VARIABLE DEPENDIENTE	4
I.6.2 VARIABLE INDEPENDIENTE.....	4
I.6.3 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	5
CAPITULO II	7
II.1 ANTECEDENTES	7
II.2 ALGAS PARDAS.....	8
II.2.1 características generales	8
II.2.2 Lugar de cultivo	9
II.2.3 Condiciones climáticas	10
II.2.4 Período de recolección	10
II.2.5 Características de la especie <i>Sargassum ecuadoreanum</i>	10
II.2.6 Composición taxonómica	11
II. 2.7 Composición química.....	11

II. 2.7.1 Polisacáridos.....	11
II. 2.7.1.1 Laminaranos	12
II. 2.7.1.2 Alginatos	13
II. 2.7.1.3 Fucanos/Fucoidanos.....	13
II. 2.7.1.4 Minerales	14
II. 2.7.1.5 Proteínas	14
II. 2.7.1.6 Polifenoles	14
II. 2.7.1.7 Lípidos	15
II.3. ESTUDIOS BIOLÓGICOS DEL GENERO SARGASSUM	15
II.3.1 Efecto hepatoprotector	15
II.3.2 Capacidad antioxidante.....	15
II.3.3 Capacidad antiinflamatoria.....	16
II.3.4 Capacidad antitumoral	16
II.4. HÍGADO	17
II.4.1 Anatomía.....	17
II.4.2 Histología hepática.....	18
II.4.3 Células hepatocitos.....	18
II.4.4 Enfermedades hepáticas	18
II.4.4.1 Hepatopatía	18
II.4.5 TRANSAMINASAS.....	19
II.4.5.1 Transaminasas: Glutámico Oxalacética (TGO) y Glutámico Pirúvica (TGP).	19
II.5. HEPATOTOXICIDAD.....	20
II.5.1 Tipos de hepatotoxicidad	20
II.5.2 Tipo de lesión hepatotóxica	21
II.5.3 Mecanismo de daño hepático	21
II.5.4 Compuestos hepatotóxicos	22

II.5.4.1 Tetracloruro de carbono (CCl ₄)	22
II.5.4.1.1 Toxicidad	23
II.5.4.1.2 Mecanismo de acción del tetracloruro de carbono (CCl ₄)	23
II.5.4.2 Acetaminofeno	24
II.5.4.2.1 Mecanismos patogénicos de daño hepático	24
II.6 COMPUESTOS HEPATOPROTECTORES	25
II.6.1 Silimarina	25
II.6.2 N-acetilcisteína (NAC).....	26
CAPITULO III	27
III.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	27
III.2 Diagrama de la metodología de la investigación	27
III.3 MATERIALES.....	28
III.4 REACTIVOS.....	28
III.5 EQUIPOS	28
III.6. Diseño experimental de la investigación	30
III.6.1 Recolección del material vegetal.....	30
III.6.2 Preparación y secado de las algas pardas <i>Sargassum ecuadoreanum</i>	30
III.6.3 Determinación de parámetros fisicoquímicos realizados en las algas pardas <i>Sargassum ecuadoreanum</i> (droga cruda).....	30
III.6.3.1 Determinación de Cenizas totales.	30
III.6.3.2 Grasas totales.....	31
III.6.3.3 Determinación de Cenizas solubles en agua.	32
III.6.3.4 Cuantificación de polisacáridos (preparación de la muestra).....	32
III.6.3.5 Cuantificación de polisacáridos (preparación de los estándares). 33	
III.6.3.6 Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico.	33
III.6.3.7 Determinación de sodio contenido en la droga cruda por Absorción Atómica.....	34

III.6.4 Determinación de parámetros fisicoquímicos realizados al extracto hidroalcohólico de algas pardas <i>Sargassum ecuadoreanum</i>	34
III.6.4.1 Preparación del extracto hidroalcohólico al 20%.....	34
III.6.4.2 Porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico	35
III.6.4.3 Determinación de pH en el extracto hidroalcohólico.	35
III.6.4.4 Sólidos totales.....	35
III.6.4.5 Densidad.....	35
III.6.4.5 Determinación de cloruro de sodio (ClNa) por titulación	36
III.6.4.5.1 Preparación de la sustancia patrón tipo primario (ClNa).....	36
III.6.4.5.2 Preparación de la sustancia titulante Nitrato de plata (NO ₃ Ag)..	36
III.6.4.6 Titulación de la muestra	36
III.6.5 Actividad Hepatoprotectora	36
CAPITULO IV.....	38
IV.1 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS QUÍMICOS	38
IV.1.1 Cenizas.....	38
IV.1.2 Grasas	38
IV.1.3 Cenizas solubles en agua.....	39
IV.1.4 Determinación de sodio por absorción atómica	39
IV.1.5 Polisacáridos totales.....	40
IV.2 Determinación de parámetros fisicoquímicos realizados en el extracto hidroalcohólico de algas pardas <i>Sargassum ecuadoreanum</i>	41
IV.2.1 Determinación del porcentaje de rendimiento, densidad, humedad y sólidos totales	41
Fuente: autoras	42
IV.2.2 Valoración del cloruro de sodio.....	42
IV.2.3 Valoración del extracto hidroalcohólico	42
IV. 3 Pruebas bioquímicas: Transaminasa Glutámico Oxalacética (TGO)	43
IV.4 Resultado histopatológico del Hígado (Tinción hematoxilina-eosina)	44

IV.5 DISCUSIÓN	48
CONCLUSIONES.....	51
RECOMENDACIONES	52
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
GLOSARIO.....	58
ANEXOS	61

INDICE DE TABLAS

Tabla I. Definición operacional de las variables	5
Tabla II. Clasificación de las algas de acuerdo a sus características morfológicas	9
Tabla III. Caracterización taxonómica del alga <i>Sargassum</i> spp.....	11
Tabla IV. Promedio del porcentaje de cenizas totales contenidos en la droga cruda	38
Tabla V. Promedio del porcentaje de grasas totales contenidas en la droga cruda	38
Tabla VI. Promedio del porcentaje de cenizas solubles en agua contenidas en la droga cruda	39
Tabla VII. Resultado de análisis para la determinación de sodio contenido en la droga cruda por absorción atómica	39
Tabla VIII. Promedio de la concentración de polisacáridos totales contenidos en la droga cruda	40
Tabla IX. Promedio del porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico (HCl) contenidas en la droga cruda.....	41
Tabla X. Porcentaje de rendimiento, porcentaje de humedad, promedio del porcentaje de sólidos totales y promedio de la densidad del extracto hidroalcohólico	42
Tabla XI. Promedio del porcentaje de la valoración de la sustancia patrón tipo primario cloruro de sodio (NaCl).....	42
Tabla XII. Promedio del porcentaje de cloruro de sodio contenido en el extracto hidroalcohólico del alga parda <i>Sargassum</i> <i>ecuadoreanum</i>	43

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Algas pardas <i>Sargassum ecuadoreanum</i>	10
Figura 2. Estructura química de laminaranos en algas pardas.....	12
Figura 3. Estructura química de del ácido algínico: ácido β -Dmanurónico (M) y ácido α -L-gulurónico (G).....	13
Figura 4. Anatomía del hígado	17
Figura 5. Mecanismos moleculares de hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono (CCl ₄)	24
Figura 6. Mecanismos moleculares de hepatotoxicidad inducida por el acetaminofeno.....	25

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Curva de calibración de polisacáridos totales contenidos en la droga cruda	40
Gráfico 2. . Promedios de transaminasa Glutámico Oxalacética TGO en la evaluación hepatoprotectora en ratones	43

**“Evaluación del efecto hepatoprotector presente en extractos de algas pardas
Sargassum ecuadoreanum”**

Autor (as): Burbano Mosquera Adriana Gabriela / López Cruz Karen Lilibeth

RESUMEN

Este estudio consistió en evaluar el efecto hepatoprotector presente en el extracto hidroalcohólico de algas pardas (*Sargassum ecuadoreanum*) en ratones. La recolección se llevó a cabo en la playa Ballenita (Ecuador), se determinaron parámetros físicos químicos a la droga cruda y al extracto hidroalcohólico como: Cenizas totales, Cenizas solubles en agua, Cenizas insolubles en HCl, Sólidos totales, Grasas totales, Humedad, Porcentaje de rendimiento, Polisacáridos totales y Cloruro de sodio. La inducción fue realizada con tetracloruro de carbono al 5% por vía intraperitoneal y el tratamiento tuvo una duración de siete días. Se conformaron 7 grupos: un grupo control normal sin tratamiento y sin inducción, un grupo control negativo sin tratamiento, grupos tratados con silimarina (420 mg/kg) y N-acetilcisteína (600 mg/kg vía oral) por vía oral más inducción y grupos tratados con el extracto hidroalcohólico del modelo de investigación a dosis de 1000 mg/kg, 500 mg/kg, 250 mg/kg por vía oral más inducción. Se realizó un estudio histopatológico y un ensayo bioquímico para determinar niveles de transaminasa Glutámico Oxalacética (TGO). Como resultado, la muestra presentó concentraciones de polisacáridos totales, los grupos tratados con Silimarina, N- acetil cisteína y el extracto hidroalcohólico a diferentes dosis, tuvieron similitud a los valores de transaminasa (TGO) del grupo control normal, mientras que, el grupo control negativo mostró diferencia significativa del 0.05%. Por otra parte, el estudio histopatológico indicó que el daño hepático estaba en su primera fase de estadios, sin embargo, el extracto hidroalcohólico del alga parda *Sargassum ecuadoreanum* presentó un efecto hepatoprotector preventivo.

Palabras claves: Polisacáridos, algas pardas, actividad hepatoprotectora, enfermedades hepáticas, tetracloruro de carbono CCl₄.

**“Evaluation of the hepatoprotective effect present in extracts of brown algae
Sargassum ecuadoreanum”**

Autor (as): Burbano Mosquera Adriana Gabriela / López Cruz Karen Lilibeth

ABSTRACT

This study consisted of evaluating the hepatoprotective effect present in the hydroalcoholic extract of brown algae (*Sargassum ecuadoreanum*) in mice. The collection was carried out on the beach Ballenita (Ecuador), chemical physical parameters were determined to the drug raw and the hydroalcoholic extract such as: Total ash, Water soluble ash, HCl insoluble ash, Total solids, Total fats, Humidity, Percentage of yield, total polysaccharides and sodium chloride. The induction was carried out with 5% intraperitoneally carbon tetrachloride and the treatment lasted for seven days. Seven groups were formed: a normal control group without treatment and without induction, an untreated negative control group, groups treated with Silymarin (420 mg/kg) and N-acetylcysteine (600 mg/kg orally) orally plus induction and groups treated with the hydroalcoholic extract of the research model at doses of 1000 mg/kg, 500 mg/kg, 250 mg/kg orally plus induction. A histopathological study and a biochemical assay were conducted to determine levels of Oxalactic Glutamic Transaminase (TGO). As a result, the sample presented total polysaccharides concentrations, the groups treated with Silymarin, N- acetyl cysteine and the hydroalcoholic extract at different doses, were similar to the transaminase values (TGO) of the normal control group, while the negative control group showed significant difference of 0.05%. Moreover, the histopathological study indicated that liver damage was in its first stage of injury, however, the hydroalcoholic extract of the brown seaweed *Sargassum ecuadoreanum* had a preventive hepatoprotective effect.

Keywords: Polysaccharides, brown algae, hepatoprotective activity, liver diseases, CCl₄ carbon tetrachloride.

INTRODUCCIÓN

En países de Asia Oriental se ha evidenciado el estudio de diversos géneros y especies de las algas marinas como una fuente alimenticia y nutricional gracias a su aporte de vitaminas y minerales, además sobre diversos efectos beneficiosos para la salud.

Las algas pardas del género *Sargassum* producen metabolitos secundarios con un alto potencial de actividades biológicas entre ellas terapéuticas y farmacológicas, estas sustancias bioactivas son: polisácaridos, terpenoides, oxilipinas, florotaninos, hidrocarburos volátiles entre otros, las funciones de estos determinados compuestos tienen la capacidad de actuar como antioxidante, antimicrobianos, inhibidores de diferentes enzimas y hepatoprotectores (1).

Las enfermedades hepáticas muchas veces se originan por factores hereditarios, por el exceso o mal uso de fármacos y abuso de sustancias alcohólicas, dichas causas provocan lesiones y degeneraciones al tejido hepático ocasionando un déficit en el funcionamiento celular de este órgano.

En Ecuador existe una gran diversidad de algas entre ellas las pardas, sin embargo existen fuentes con escasa información y evidencia científica relevante que indique que las algas pardas del género *Sargassum* poseen actividad hepatoprotectora, por ello en el presente trabajo de investigación experimental, se pretende evaluar el efecto hepatoprotector presente en extractos de algas pardas *Sargassum ecuadoreanum* sobre el daño hepático inducido por tetracloruro de carbono en ratones de experimentación.

CAPITULO I

I.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las algas son mayormente utilizadas en el ámbito alimenticio por su aporte nutricional y en la medicina tradicional por sus beneficios que ayudan en el tratamiento de enfermedades. Sin embargo, estudios de estas especies en el área de farmacología y farmacia sobre el efecto hepatoprotector son escasas en Ecuador (2).

El consumo de productos medicinales a dosis elevadas, ingesta de etanol, remedios caseros o industriales, sustancias carcinogénicas son los principales factores que llegan a producir lesiones hepáticas (3), generando formación de radicales en las células del tejido humano, lo que conlleva al ataque y a la vez destrucción de los lípidos de las membranas celulares, proteínas y ADN, provocando otros trastornos de salud tales como cáncer, enfermedades neurodegenerativas e inflamatorias con lesiones tisulares graves (4).

Estudios realizados han demostrado la utilidad de las algas pardas de la familia (*Phaeophyceae*) frente a diversas patologías gracias a la presencia de polisacáridos en su composición, siendo los primarios; alginatos, laminarias, fucanos (sulfatados) y celulosa (1). Por ello, se emplea el uso de esta planta marina en la siguiente investigación con la finalidad de comprobar su actividad hepatoprotectora en animales de experimentación.

I.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cómo incide la administración del extracto hidroalcohólico de algas pardas *Sargassum ecuadoreanum* sobre el daño hepático producido por el tetracloruro de carbono CCl_4 en los animales de experimentación?

I.3 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

El propósito de la siguiente investigación es aportar con información científica y experimental tomando como referencia trabajos provistos por otros autores que muestran evidencias sobre el efecto de las algas pardas y sus metabolitos secundarios en una gran cantidad de actividades biológicas como: antitumorales, antiinflamatorios, antivirales, antitrombóticos, anticoagulantes y antioxidante en los campos de la farmacéutica (5).

Las costas ecuatorianas cuentan con una gran variedad de algas marinas, siendo la península de Santa Elena (Ecuador) en la playa ballenita (balneario), el lugar apropiado de fácil acceso, específicamente en áreas rocosas en donde se hallan estas especies.

Los estudios a realizarse brindarán a los lectores suficientes conocimientos científicos relevantes sobre el tema, de tal forma que las futuras industrias farmacéuticas del Ecuador y otros países puedan utilizar las algas pardas para desarrollar tratamientos con respecto a diversas afecciones o lesiones hepáticas generadas por muchos factores.

I.4 HIPOTESIS

El extracto hidroalcohólico de las algas pardas presenta un efecto hepatoprotector en animales de experimentación al inhibir el daño inducido por tetracloruro de carbono (CCl_4).

I.5 OBJETIVOS

I.5.1 General:

Evaluar el efecto hepatoprotector que presenta el extracto hidroalcohólico de algas pardas (*Sargassum ecuadoreanum*) en animales de experimentación.

I.5.2 Específicos:

1. Determinar los parámetros fisicoquímicos de la droga cruda y del extracto hidroalcohólico obtenidos de las algas pardas *Sargassum ecuadoreanum*.
2. Medir la concentración de polisacáridos totales en la droga cruda para la posterior dosificación del extracto hidroalcohólico.
3. Establecer mediante la determinación de Transaminasa Glutámico Oxalacética (TGO) y un estudio histopatológico el efecto farmacológico de las algas pardas *Sargassum ecuadoreanum* en la prevención del daño hepático inducido con tetracloruro de carbono.

I.6 VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

I.6.1 VARIABLE DEPENDIENTE

1. Propiedades fisicoquímicas de la droga cruda: Humedad, cenizas, grasas, sólidos totales, polisacáridos totales, Cloruro de sodio (ClNa).
2. Propiedades fisicoquímicas del extracto hidroalcohólico: pH, densidad, contenido de ClNa, sólidos totales.

I.6.2 VARIABLE INDEPENDIENTE

1. Ensayos de control de calidad a la droga cruda
2. Extracto hidroalcohólico
3. Estudio histopatológico
4. Estudio bioquímico de transaminasas (TGO)
5. Dosis

I.6.3 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Tabla 1. Definición operacional de las variables

Tipo	Variables	Conceptualización	Indicador
DEPENDIENTE	Humedad Cenizas Grasas Sólidos totales Polisacáridos totales Cloruro de sodio (CINa)	Parámetros por los cuales se evalúa el estado físico y químico del material de estudio	Porcentaje (%)
	pH Densidad Contenido de CINa Sólidos totales	Son parámetros de control de calidad que se ven ligados con el grado de efectividad que pueda contener un material de estudio.	Porcentaje %
	Niveles normales de transaminasas (TGO y TGP)	Son enzimas que se hallan en el interior de la célula y son catalizadas por reacciones de transaminación, están presentes en diversos tejidos y es la que permite identificar una lesión hepática TGP.	U/L
INDEPENDIENTE	Ensayos de control de calidad a la droga cruda	Parámetros que miden el estado fisicoquímico de una muestra antes de un proceso de extracción.	Porcentaje (%)
	Extracto hidroalcohólico	Ensayo que se realiza en plantas para obtener los metabolitos funcionales de la misma, dependiendo de las características de estos metabolitos,	Porcentaje %

		tendrán afinidad, ya sea por la parte acuosa o alcohólica y que por medio de evaporación se eliminará uno de los solventes	
	Estudio histopatológico	Es un análisis de muestra en donde se determinan alteraciones estructurales y anomalías del hígado provocadas por un patógeno o agente tóxico	Presencia de alteración celular
	Estudio bioquímico, determinación de transaminasas	Los niveles anormales de transaminasas en sangre, están mediados por un daño en la permeabilidad de la membrana plasmática de la célula	U/L
	Dosis	Es la cantidad de sustancia activa contenida en una fórmula farmacéutica que tiene la capacidad de controlar, prevenir o aliviar los síntomas provocados por patologías.	mg/kg

Fuente: Autoras

CAPITULO II

II.1 ANTECEDENTES

Las algas pardas poseen grupos de metabolitos secundarios, como son los ácidos grasos monoglicérols aislados en la especie *Sargassum sagamianum* al comprobarse su capacidad de inhibir enzimas fosfolipasa A2 y ciclooxigenasa-2, y el ácido sargahidroquinóico presente en la especie *Sargassum micracanthum* al actuar como un vasodilatador para el tratamiento de desórdenes vasculares cerebrales, como por ejemplo la enfermedad del Alzheimer (6).

Ensayos realizados *in vivo* han evaluado el potencial efecto hepatoprotector mediante un estudio histopatológico e inmunohistoquímico de un extracto etanólico de la especie *Sargassum fluitans*, induciendo a un daño hepático agudo con acetaminofeno a un grupo de ratones Balb/c y un daño hepático crónico con tetracloruro de carbono (CCl₄) a un grupo de ratas wistar. El extracto mostró contener compuestos fenólicos (florotanina) por HPLC, llegó a reducir marcadores enzimáticos y la fibrosis, actuar contra el estrés oxidativo en las células HepG2 y suprimir la expresión de TGF- β 1 (2).

Estudios *in vivo* demostraron que el extracto de la especie *Sargassum fluitans* *Borgesien* contiene carbohidratos, sulfatos, ácidos urónicos, proteínas, fenoles, llegando a obtener aproximadamente 60 kDa de fucoidan a partir del extracto. Además, indicaron que estos compuestos son los responsables del efecto antifibrótico. A su vez, observaron mediante estudios bioquímicos, histológicos y genéticos la reducción de la actividad enzimática del hígado, infiltración hepática de células inflamatorias, factor de necrosis tumoral (TNF- α) e inhibición tisular de metaloproteína 1 (TIMP-1) a un grupo de ratas tratadas con el extracto de la especie antes mencionada a una dosis de 50 mg/kg por vía oral, seguido de un daño hepático con tetracloruro de carbono (7).

Los compuestos fenólicos son los antioxidantes que muestran mayor efecto en las algas pardas, se incluyen: los florotaninos, catequina y quercetina. El extracto metanólico de la especie *Sargassum muticum* actúa contra la proliferación o crecimiento de líneas celulares de cáncer de mama MCF-7 y MDA-MB-231 debido a la presencia de estos compuestos determinados

mediante pruebas de picos, siendo los clorotaninos uno de los tres picos principales identificados (8).

En este estudio evaluaron la actividad antiinflamatoria de algas pardas *Sargassum wightii* en modelos de animales utilizando el carragenano para inducir inflamación y de esa forma estudiar los mediadores de la inflamación y la efectividad de los mediadores antiinflamatorios. Además, determinar ciertas características químicas tales como: composición de monosacáridos, masa molecular, contenido de azúcar y sulfato que tienen gran influencia en las actividades biológicas del alga. La administración por cavidad peritoneal de carragenano en ratas, desencadenó migraciones significativas de leucocitos y neutrófilos, obteniéndose un 72 y 75% de disminución de migración de leucocitos hacia la cavidad peritoneal tras la administración del extracto de algas pardas *Sargassum wightii* a una dosis de 10mg/kg (8).

II.2 ALGAS PARDAS

II.2.1 características generales

Las algas pardas son plantas marinas multicelulares pertenecientes al grupo *Phaeophyta*, están compuestas por filamentos ramificados, constan de una pared celular que tiene una capa celulósica interna y con una capa celulósica péptica externa que está compuesta comúnmente de algina, cuyo componente es el que proporciona viscosidad y es utilizado en el área de farmacia como un agente emulsificante (1).

Tabla II. Clasificación de las algas de acuerdo a sus características morfológicas

Grupo	Forma del talo	Pigmentos fotosintéticos	Forma de almacenar su alimento	Composición de la pared celular
Chlorophyta (algas verdes)	Unicelular, multicelular y filamentosas	Clorofilas a y b, carotenoides	Almidón	Polisacáridos y celulosa
Pheophyta (algas pardas)	Multicelular	Clorofilas a y c, carotenoides y fucoxantina	Laminarina (aceites y carbohidratos)	Celulosa principalmente
Rhodophyta (algas rojas)	Multicelular	Clorofila a, d ficobilinas y carotenoides	Almidón	Celulosa o pectina con carbonato de calcio
Bacillariophyta (diatomeas)	Mayormente Unicelular	Clorofilas a y c, carotenoides y xanthophylla	Leucosina (aceites de carbohidratos)	Pectina, y en algunos casos dióxido de silicón
Dinoflagellata (dinoflageladas)	Unicelular	Clorofilas a y c, carotenoides	Almidón	celulosa
Crysophyta (algas doradas)	Mayormente unicelular	Clorofilas a y c, carotenoides y xanthophylla	Laminarina (aceites y carbohidratos)	celulosa
Euglenophyta (euglenoides)	Unicelular	Clorofilas a y b, carotenoides y xanthophylla	Almidón	No presentan pared celular, solo una película rica en proteínas

Fuente: (9).

II.2.2 Lugar de cultivo

Crecen sobre rocas húmedas, a lo largo de la playa, lagos, ríos, estanques y pozos, e incluso en las profundidades del océano, se reproducen en cualquier ambiente húmedo (10).

II.2.3 Condiciones climáticas

Las algas pardas del orden laminariales se reproducen en zonas de clima subtropical y templado cuyas condiciones de temperatura, no son mayores a los 20°C (11).

II.2.4 Período de recolección

Mayormente en estaciones de verano, el alga parda *Sargassum ecuadoreanum* abunda en playas costeras, favoreciendo un periodo de recolección desde el mes de mayo hasta aproximadamente el mes de agosto.

II.2.5 Características de la especie *Sargassum ecuadoreanum*

Posee una coloración café claro o marrón con una altura de 23 a 27.5 cm aproximadamente. Su base es un poco alargada y ligeramente conoidal hacia el peciolo. Del talo, sobre sale algunas ramas lisas con hojas delgadas de 4,5 cm de longitud y 3,5 mm de ancho. Los bordes del alga son aserrados, con dientes de 1 mm de longitud. Sus vesículas son lisas y esferoidales de 4 mm de diámetro (12)



Figura 1. Algas pardas *Sargassum ecuadoreanum*

Fuente: (12).

El género *Sargassum* generalmente se encuentran en zonas tropicales y subtropicales. Producen metabolitos como terpenoides, polisacáridos, polifenoles, ácidos sargaquinoicos, sargacromenol, plastoquinonas, esteroides, glicéridos, entre otros, que le otorgan al alga propiedades farmacológicas tales como actividad analgésica, antioxidante, neuroprotectora, antimicrobiana,

antitumoral, fibrinolítica, inmunomodulora, anticoagulante, hepatoprotectora y antiviral (1).

II.2.6 Composición taxonómica

Tabla III. Caracterización taxonómica del alga *Sargassum* spp.

Reino:	Chromista
Phylum:	Ochrophyta o Heterokontophyta
Clase:	Phacophycidae
Subclase:	Fucophycidae
Orden:	Fucales
Familia:	Sargassaceae
Género:	Sargassum
Especie:	Sargassum ecuadoreanum W.R Taylor

Fuente: (12).

II. 2.7 Composición química

Las algas marinas son consideradas como fuente principal de proteínas, poseen un alto contenido de fibra alimentaria (33-50% peso seco) que son mezclas de carbohidratos tanto oligosacáridos como polisacáridos siendo estos últimos laminaranos, alginatos, fucanos y celulosa. Contienen entre un 5-24% de proteínas, mientras que las rojas y verdes un 10-47% (13).

II. 2.7.1 Polisacáridos

Los polisacáridos son biomoléculas formadas por azúcares, unidos mediante enlaces glicosídicos. Están presentes en las algas marinas para ser utilizadas por las industrias farmacéuticas y alimenticias como emulsificantes, estabilizantes, gelificantes entre otras aplicaciones. Generalmente, las algas marinas contienen como polisacáridos, alginato, carragenano y fucoidan, y a su

vez, fucosa, galactosa, ácido urónico y sulfato que les permite ejercer su actividad antioxidante (14).

La celulosa es un polímero de carbohidratos difícil de degradar. Se encuentran presentes en la pared celular de las algas, por lo que, un método de extracción, resultaría útil en la degradación de las mismas y de esa forma aumentaría el contenido de polisacáridos y rendimiento del extracto (14).

El alga parda comestible *Sargassum fulvellum* (*S. fulvellum*), presenta en su composición diversos metabolitos bioactivos, entre ellos, polisacáridos que han sido estudiados para evaluar su actividad antitumoral e inmunoestimulante. Varios estudios han demostrado que los extractos de *Sargassum fulvellum* posee un alto contenido de carbohidratos que muestran un alto potencial antioxidante (14).

II. 2.7.1.1 Laminaranos

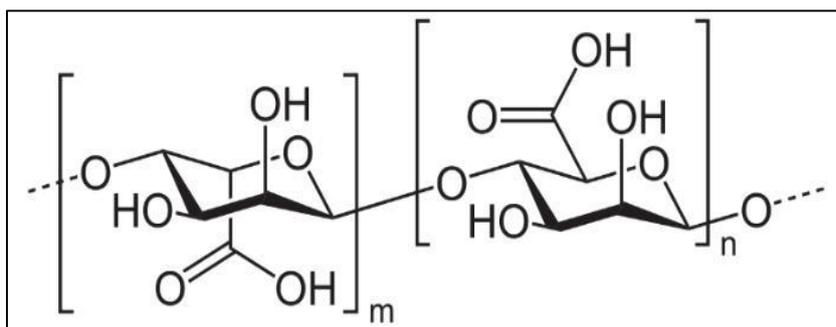


Figura 2. Estructura química de laminaranos en algas pardas

Fuente: (13).

Abundan principalmente en algas pardas como polisacáridos de reserva en especies de orden laminariales y fucales. Está formado por unidades de D-glucosa unidas por enlaces β -(1,3) y ramificado mediante enlaces β -(1,6). Su peso molecular es bajo, la solubilidad depende del grado de ramificación, siendo los de menor ramificación, soluble en agua caliente y lo de mayor, solubles en agua fría. Tienen la capacidad de ejercer actividad anticoagulante, antitumoral y reducir los niveles de colesterol en sangre (13).

II. 2.7.1.2 Alginatos

Al igual que los polisacáridos laminaranos, abundan mayor parte en la pared celular de las algas pardas. Se encuentran disponibles en forma ácida y básica, por lo que, su nombre se debe a la sal del ácido de algínico. En forma básica son estables a un pH de 6-9 e inestables volviéndose insoluble y precipitando a un pH de 3-4 (13).

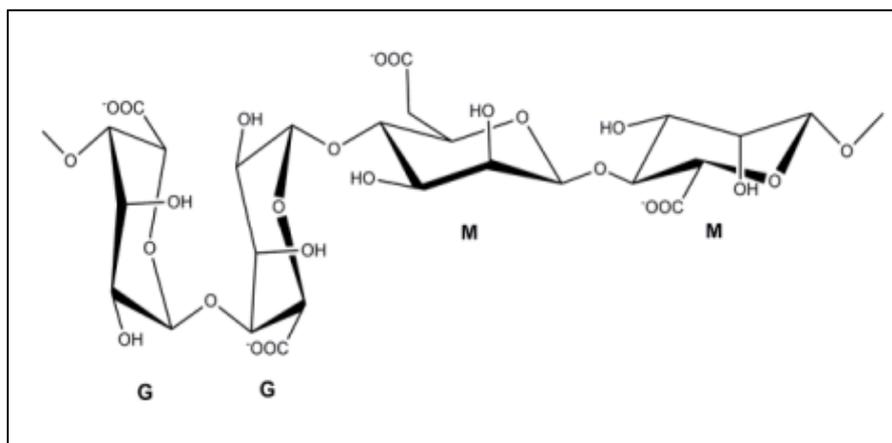


Figura 3. Estructura química de del ácido algínico: ácido β -Dmanurónico (M) y ácido α -L-gulurónico (G)

Fuente: (13).

La estructura química del ácido algínico presenta dos unidades de ácido β -D manurónico (M) y ácido α -L-gulurónico (G) unidos mediante enlaces 1,4. Se ha evidenciado efectos terapéuticos de los alginatos, tales como, efecto antihipertensivo, antiinflamatorio, capacidad de reducir colesterol en sangre y absorber sustancias tóxicas previniendo ser absorbidas por el organismo (13).

II. 2.7.1.3 Fucanos/Fucoidanos

Son un tipo de heteropolisacárido y uno de los principales polisacáridos ricos de L-fucosa sulfatada, que están presentes en la pared celular de las algas pardas. La extracción de este polisacárido ha sido utilizada para el tratamiento de afecciones inflamatorias de la piel, trombosis, heridas subcutáneas y quemaduras. A su vez, demostrar su capacidad antimicrobiana, inhibición de células tumorales, reducción de lípidos en la sangre entre otros (15).

El término fucano hace referencia a heteropolímero sulfatados que contienen L-fucosa, D-xilosa, D-galactosa, D-manosa, y ácido D-glucurónico, mientras que el término fucoidano para aquellos que contienen L-fucosa y grupos sulfato. El número, posición, peso molecular, cantidad, conformación de azúcares de los grupos sulfatos van a depender en la actividad biológica de los polisacáridos sulfatados (13).

II. 2.7.1.4 Minerales

Las algas al habitar en un ambiente marino obtienen una mayor cantidad de minerales incluyendo macronutrientes tales como sodio, calcio, magnesio, potasio, cloruro, sulfato, fósforo y micronutrientes como yodo, hierro, zinc, cobre, selenio, molibdeno, boro, manganeso, níquel, cobalto, entre otros (13).

Son capaces de absorber sustancias inorgánicas que se unen a los polisacáridos sulfatados aniónicos presentes en la pared celular de las algas, por lo que, son consideradas bioacumuladores de metales pesados siendo utilizadas como biomarcadores en la contaminación ambiental (13).

II. 2.7.1.5 Proteínas

Por lo general, el contenido de proteínas en algas pardas es bajo (5-24% del peso seco), los componentes nutricionales como proteínas, aminoácidos pueden llegar a variar según el tiempo estacional (13).

II. 2.7.1.6 Polifenoles

Las algas pardas pueden llegar alcanzar hasta el 14% de peso seco de polifenoles, siendo *Ascophyllum* y *Fucus* las especies con mayor contenido de polifenoles. Los florotatinos están abundantemente en las algas pardas, lo cual les otorga actividades biológicas como su capacidad de ser un antioxidante. Se han identificado otros polifenoles en las algas, entre ellos se encuentra el fucol y sus derivados, flavonoides, y derivados como la catequina y epicatequina (13).

II. 2.7.1.7 Lípidos

El contenido calórico es bajo en las algas (<5% peso seco), contienen ácidos grasos polinsaturados que puede resultar beneficioso en el sistema inmunológico de los seres humanos. Las algas pardas son fuente de ácidos grasos omega 3 y 6, presentan fucoxantina así como tocoferoles y esteroides (13).

II.3. ESTUDIOS BIOLÓGICOS DEL GENERO SARGASSUM

II.3.1 Efecto hepatoprotector

Se ha comprobado que el extracto alcohólico del alga parda *Sargassum polycystum* ejerce actividad hepatoprotectora sobre las enzimas mitocondriales hepáticas, mejorando el GSH mitocondrial con un aumento en el sistema de defensa antioxidante, además, previniendo el deterioro excesivo de la actividad NADH deshidrogenasa en un grupo de ratas inducidas a daño hepático con acetaminofeno (1).

Por otra parte, la administración de polisacáridos sulfatados obtenidos del alga parda *Sargassum wightii* a un grupo de ratas inducidas con ciclosporina A mostró reparar las actividades de las enzimas marcadoras hepáticas junto a la disminución de los niveles de peroxidación lipídica (1).

II.3.2 Capacidad antioxidante

La determinación de contenido de compuestos fenólicos totales en extractos metanólico y hexánico de un grupo de macroalgas, entre ellos, *Caulerpa mexicana*, *Laurencia sp.*, *Sargassum sp.*, *Dictyota sp.* y *Sargassum cymosum* mostraron la capacidad de captar radicales libres al emplear el método del DPPH (método de captura del radical), siendo la especie *Sargassum cymosum* el que obtuvo mayor rendimiento en cuanto al contenido de compuestos fenólicos y actividad de captar radicales libres (6).

Los compuestos fenólicos, tales como: ácidos fenólicos, polifenoles y flavonoides actúan como fuentes de hidrógeno y son los responsables de ejercer la capacidad antioxidante en las algas marinas protegiendo a las células contra el daño que provocan los radicales libres, y de esta forma prevenir enfermedades de origen cardiaco e inmunológico. Los radicales libres actúan sobre ácidos grasos poliinsaturados, colesterol, ADN y lípidos sustrayendo de estos compuestos un electrón para alcanzar su estabilidad electroquímica (6).

II.3.3 Capacidad antiinflamatoria

Las algas pardas presentan capacidad antiinflamatoria sobre la piel al estar constituidas por polisacáridos sulfatados. El fucoidan anteriormente mencionado, ha demostrado ser efectivo en el tratamiento de la dermatitis atópica en modelo de ratones, tratamiento de quemaduras por calor dérmico en conejos, protege las fibras elásticas dérmicas contra la hidrólisis de la elastasa leucocitaria humana (15).

II.3.4 Capacidad antitumoral

La actividad antitumoral y angiogénico del fucoidan depende del peso molecular, siendo los de alto peso molecular aquellos que ejercen mayor bioactividad. El alga parda *Sargassum hemiphyllum* tiene la capacidad de inducir muerte celular de cáncer de mama, inhibir la proliferación de células de cáncer de vejiga implantadas en ratones, además, reducir los efectos secundarios en los tratamientos de quimioterapia (16).

El contenido de sulfato y la posición de los mismos están directamente relacionados con la bioactividad de las algas pardas. Han comprobado que una fracción de fucoidan de *Sargassum fusiforme* con un peso molecular de 12.4 kDa y 7.5% de contenido de sulfato, no logró inhibir la formación de vasos sanguíneos o angiogénesis de las células HMEC-1 (células epiteliales mamarias). Sin embargo, una fracción con un mayor contenido de sulfato con un peso molecular de 47,5 kDa y 20,8% de sulfato, logró inhibir la angiogénesis de las células HMEC-1 (16).

II.4. HÍGADO

II.4.1 Anatomía

El hígado es un órgano macizo de color pardo, consta de una cara superficial externa lisa, y pesa aproximadamente 1400 gramos en las mujeres y 1800 gramos en hombres (17). Está dividido en ocho tramos o segmentos importantes, cada uno de ellos está formado por una arteria hepática que se alinea con ciertos tejidos de algunos órganos como el estómago, el siguiente es por la vena porta y por un conducto biliar, y la rama venosa hepática que trasporta el fluido sanguíneo de salida (18).

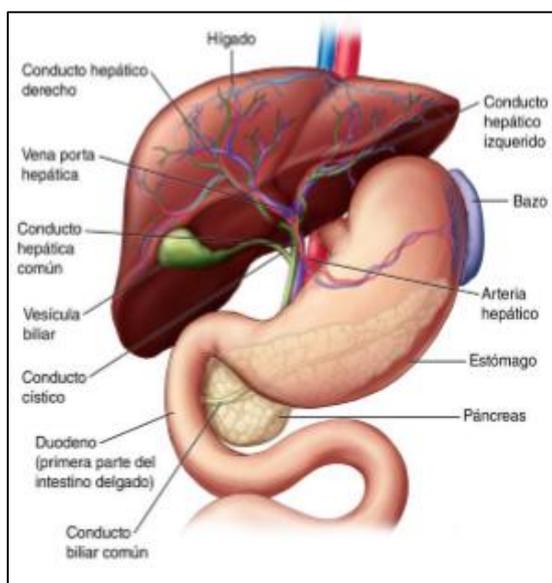


Figura 4. Anatomía del hígado

Fuente: (18).

A continuación, se mencionan los segmentos por los que están constituidos el lóbulo izquierdo y el lóbulo derecho:

- “Lóbulo izquierdo: El segmento II (segmento anterior o segmento lateral izquierdo), el segmento III (segmento posterior o lóbulo izquierdo topográfico), el segmento IV (segmento medial)” (18).
- “Lóbulo derecho: El segmento V y VIII (segmentos anteriores), el segmento VI Y VII (segmentos posteriores), el segmento I (lóbulo caudado, se encuentra en la parte posterior)” (18).

Este órgano lobular se encuentra ubicado en la zona del hipocondrio derecho y epigastrio, mantiene una proximidad con el diafragma, estómago y costillas inferiores, se mantiene enlazado con la vena porta que le permite recibir aproximadamente un 80% de sangre procedente del bazo e intestino, y de la arteria hepática un 20% (19).

II.4.2 Histología hepática

El tejido hepático es un tejido estructuralmente firme, está en constante regeneración frente a las agresiones o estímulos externos provocados por sustancias o compuestos químicos, ya sean estos de carácter orgánico e inorgánico, estos factores alteran el funcionamiento del parénquima constituido principalmente por las células hepatocitos, haciéndolo susceptible a diversas patologías (19).

II.4.3 Células hepatocitos

Los hepatocitos son células piramidales que observadas microscópicamente forman un enlace o escala entre sí, en su estructura citoplasmática contienen gránulos acidófilos y basófilos, y pueden presentar uno o dos núcleos. Estas células ejercen varias funciones, tanto a nivel exocrino y endógeno, almacenan glucógeno y proteínas que intervienen en el factor de coagulación, entre otros. El consumo excesivo de carbohidratos e ingesta de bebidas alcohólicas, se asocia con la esteatosis; que es una patología que afecta al funcionamiento normal de los hepatocitos (20).

II.4.4 Enfermedades hepáticas

II.4.4.1 Hepatopatía

Una hepatopatía es una alteración anatómica y fisiológica de la glándula hepática, existen una gran variedad de enfermedades hepáticas que se originan por: fármacos, sustancias químicas, virus o bacterias, alteraciones inmunológicas y genéticas, alteraciones vasculares, alteraciones metabólicas, entre otros. Cuando se presentan alteraciones hepáticas hay una liberación descontrolada de enzimas lisosomales que posteriormente puede provocar una fibrosis hepática y daño tisular (21).

La alteración en el metabolismo hepático presenta una baja producción de glucosa o hipoglucemia y una disminución de la concentración plasmática de lipoproteínas conocida como hipolipidemia, en la producción, excreción y conjugación de bilirrubina que puede manifestar problemas de ictericia (22).

A continuación, se mencionan algunas enfermedades hepáticas frecuentes:

- Cirrosis hepática (22).
- Insuficiencia hepática aguda; que esta mediada por diferentes factores, tales como: dosis elevadas de fármacos, y consumo excesivo de alcohol (22).
- Enfermedad hepática alcohólica (22).
- Esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) (22).
- Hepatitis vírica (A, B, C, D, E) (22).
- Isquemia hepática (22).
- Enfermedad del hígado graso alcohólico.
- Carcinoma hepatocelular (CHC) (22).
- Enfermedades hepáticas hereditarias como: hemocromatosis y enfermedad de Wilson (22).

II.4.5 TRANSAMINASAS

El proceso de transaminación, es una de las reacciones que intervienen en la degradación o metabolismo de los aminoácidos, en donde el grupo amino de una determinada molécula tiene que traspasar a otra molécula receptora, es decir, de un α – aminoácido hasta un α – cetoácido (23).

II.4.5.1 Transaminasas: Glutámico Oxalacética (TGO) y Glutámico Pirúvica (TGP).

Las transaminasas o aminotransferasas, son las enzimas responsables que participan en reacciones de catalización. Existen dos tipos de transaminasas; GOT (transaminasa glutámica oxalacética), también conocida como Aspartato aminotransferasa (AST), y GTP (transferasa glutámico pirúvica) o Alanina amino transferasa (ALT), valores anormales de estas enzimas, tienen relevancia en el aspecto clínico (24).

La GTP se halla principalmente (aunque no únicamente) en el hígado y altos niveles de concentración en suero, indican alteraciones hepáticas, mientras que la GOT, se localiza en el hígado, riñón, musculo esquelético y cardiaco, páncreas y cerebro (25). Los valores normales en humanos de transferasa glutámico pirúvica (GPT) es de 7 – 56 U/l (unidades por litro), y de transferasa glutámica oxalacética (GOT) es de 5 – 40 U/L, considerando que estos valores varían según el laboratorio fabricante (26).

Niveles superiores a 150 U/l indican alteraciones en el hígado, por otro lado, cuando existen valores mayores a 1000 U/l, según el cuadro clínico del paciente, indican enfermedades como: hepatitis virales y hepatitis provocadas por altas dosis de fármacos como por ejemplo el acetaminofén y esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) (27).

II.5. HEPATOTOXICIDAD

La hepatotoxicidad es una enfermedad hepática tóxica provocada generalmente por la ingesta de compuestos químicos u orgánicos o también conocidos como hepatotoxina que provocan alteraciones en el sistema funcional y anatómico del hígado (3).

El hígado al desempeñar varias funciones en el organismo, estará expuesto constantemente a agentes potencialmente tóxicos, siendo los medicamentos a dosis elevadas o terapéuticas, productos medicinales, elementos naturales, remedios caseros o industriales, ejemplos de agentes tóxicos (3).

La hepatotoxicidad es responsable del 10% de casos de fallo hepático agudo a nivel mundial y la causa más común de muerte debido a las reacciones adversas medicamentosas manifestadas en pacientes. Este problema implica el retiro de ciertos productos medicamentosos en el mercado o restricciones de su uso (28).

II.5.1 Tipos de hepatotoxicidad

Existen dos tipos de hepatotoxicidad: La intrínseca que está netamente relacionada con la dosis, la mayoría de las hepatotoxinas actúan directamente sobre el hepatocito, mientras que otros compuestos como por ejemplo el

paracetamol, ácido acetilsalicílico, tetracloruro de carbono, intoxicación por setas lo hacen a través de sus metabolitos generados durante la metabolización. Este tipo de hepatotoxicidad depende del grado de exposición y de la dosis administrada siendo generalmente reproducible en animales de experimentación e identificable a nivel clínico (28).

La idiosincrásica, no es predecible, generalmente no está relacionada con la dosis, produce lesión hepática solamente en algunos individuos debido a un metabolismo anormal del fármaco a causa de una expresión diferente de las enzimas de biotransformación. Está mediada por una reacción de hipersensibilidad como por ejemplo hepatitis alérgica a fármacos (28).

II.5.2 Tipo de lesión hepatotóxica

La hepatitis aguda icterica o anictérica es una enfermedad hepatotóxica y la más común en el 90% de los casos. Cualquier célula parenquimatosa o no parenquimatosa del hígado podría resultar lesionada y de tal forma dar lugar a diferentes tipos de enfermedades hepáticas. Por lo tanto, la célula que mayormente predomine en el hígado será la más afectada (28).

La lesión de las células hepatocitos pueden producir trastornos hepáticos tales como: hepatitis aguda o crónica, esteatosis, hepatitis colestásica, cirrosis, hepatitis granulomatosa o tumores. La alteración de las células colangiocitos puede ocasionar colangitis aguda o crónica o colangitis esclerosante. Toxicidad sobre las células endoteliales podría provocar enfermedad venooclusiva hepática, peliosis hepática, síndrome de Budd-Chiari, desarrollo de angiosarcoma. Daño de las células estrelladas podría causar fibrosis hepática (28).

II.5.3 Mecanismo de daño hepático

El hígado está relacionado con otros órganos como es el tracto gastrointestinal y el bazo, y por medio de la vena porta, la sangre que contiene las drogas y xenobióticos es conducida hacia el hígado para su previa metabolización. La mayoría de los compuestos tóxicos lesionan al orgánulo mitocondria, por lo que, liberan gran cantidad de oxidantes produciendo un daño

hepático. Enzimas del sistema citocromo P450 son activadas, entre ellas la CYP2E1 que también ocasionan estrés oxidativo (3).

Los hepatocitos lesionados y las células del conducto biliar provocan la acumulación de bilis en el hígado. A su vez, las células que no forman parte del parénquima hepático, como son las células de kupffer, células Ito y leucocitos participan en los mecanismos tóxicos (3).

II.5.4 Compuestos hepatotóxicos

Son compuestos o sustancias que provocan lesiones hepáticas, como: Tetracloruro de carbono (CCl₄), Cloruro de Vinilo (VC), solventes orgánicos, metales pesados, etc. A su vez, medicamentos y drogas tales como: metotrexato, paracetamol ingesta de más de 8 pastillas de 500 mg en 7 horas, aspirina a dosis elevadas. Bebidas alcohólicas, como el ron, whisky, sake, vodka, etc. También intervienen otros factores influyentes como la edad, alimentación, estrés, enfermedades asociadas, función renal, genéticos, factores fisiopatológicos (3).

II.5.4.1 Tetracloruro de carbono (CCl₄)

Es el hepatotóxico mejor estudiado y el más conocido entre los xenobióticos que causan lesión o daño hepático, posee propiedades cancerígenas, presenta acción depresora sobre el sistema nervioso central, circulación sanguínea y respiración. Es un organoclorado, líquido, incoloro con baja solubilidad en agua, de aroma ligeramente dulce que corresponde al grupo de hidrocarburos halogenados, pudiendo ser encontrado en pequeñas cantidades en el aire (29).

En la actualidad, el tetracloruro de carbono (CCl₄) es usado como disolvente (aceites, grasas, ceras y limpieza en seco). Su absorción por el tracto gastrointestinal es lenta y se difunde con mayor rapidez por las membranas plasmáticas debido a la presencia de aceites y grasas en su composición, y por la permeabilidad que presentan las membranas al estar constituidas de fosfolípidos (29).

Este compuesto es metabolizado por el citocromo P-450 (CYP2E1), enzima expresada mayoritariamente en los hepatocitos de la región perivenular y el

mecanismo de metabolización se potencia con la coadministración del fenobarbital, dando lugar a su hepatotoxicidad al causar daño celular mediante la peroxidación lipídica, alquilación de ácidos nucleicos y proteínas, pérdida de la homeostasis del calcio intrahepatocitario e inducción de citocinas inflamatorias (30).

II.5.4.1.1 Toxicidad

El compuesto tetracloruro de carbono (CCl_4) puede ingresar al organismo ya sea por vía respiratoria, vía ocular, vía digestiva, por absorción a través de la piel y mucosas concentrándose mayormente en el tejido adiposo. Actúa sobre las células epiteliales hepáticas provocando necrosis, siendo los metabolitos eliminados por la orina o exhalación. Su ingestión conlleva a la aparición de leucemia linfocítica, tricoleucemia, cirrosis, cáncer de hígado y pulmón. Además, alucinaciones a tal punto de perder el conocimiento, vómito, vértigos, visión borrosa, desmayos, mareos, dolores de cabeza, disminución de la presión arterial., aumento de la temperatura corporal, entre otros (3).

II.5.4.1.2 Mecanismo de acción del tetracloruro de carbono (CCl_4)

En el hígado, este compuesto favorece la formación de metabolitos tóxicos, que provocan acumulación de lípidos en las células, seguido de una muerte celular y necrosis hepática en la región centro lobulillar, siendo este proceso mediado por el sistema enzimático microsomal citocromo P450. A nivel renal, el tetracloruro de carbono (CCl_4) ocasiona una necrosis tubular aguda. El triclorometilo (OCCl_3) y triclorometilperoxilo (CCl_3O_2), son los radicales libres responsables de la toxicidad del tetracloruro de carbono provocando inflamación, fibrosis, cirrosis y carcinoma hepatocelular (HCC) (3).

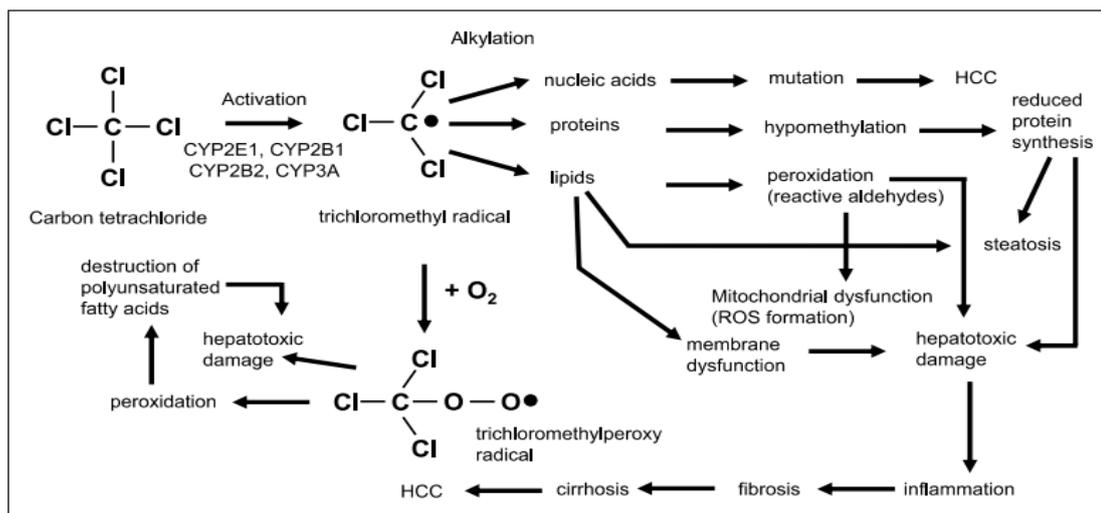


Figura 5. Mecanismos moleculares de hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono (CCl₄)

Fuente: (3).

II.5.4.2 Acetaminofeno

Acetaminofeno o también llamado N-acetil- *p*-aminofenol es un fármaco antipirético y analgésico usado comúnmente en la inducción de daño hepático agudo en animales de experimentación y su elevada dosis provoca insuficiencia hepática aguda en humanos (31).

Una pequeña parte (10-15%) del acetaminofeno es metabolizado por el citocromo hepático CYP 2E1 a N-acetil-para-benzo-quinona imina (NAPQI), que es el metabolito reactivo responsable de causar insuficiencia hepática tras unirse a algunas moléculas intracelulares como el ADN, causar estrés oxidativo y alterar el estado del calcio o tiol en el hepatocelular (32).

II.5.4.2.1 Mecanismos patogénicos de daño hepático

Por vía oral el acetaminofeno se absorbe en el intestino dentro de las primeras 2 horas y es excretado por la orina. La mayor parte de la fracción es metabolizada en el hígado por glucuronidación y sulfatación, y la parte más pequeña de la fracción es metabolizado en los hepatocitos por el citocromo P450 convirtiéndolo en un metabolito reactivo como es el N-acetil-para-benzo-quinona imina

(NAPQI), pero este se vuelve inofensivo gracias a la acción del glutatión antioxidante (GSH) excretándose los metabolitos por la bilis. La necrosis de los hepatocitos está mediada por una sobredosis de acetaminofeno que conduce al agotamiento del glutatión antioxidante, por lo que, una cantidad creciente de este compuesto, llega a unirse a las proteínas mitocondriales dando lugar a la formación de proteínas citotóxicas y por último muerte de las células hepatocitos (31).

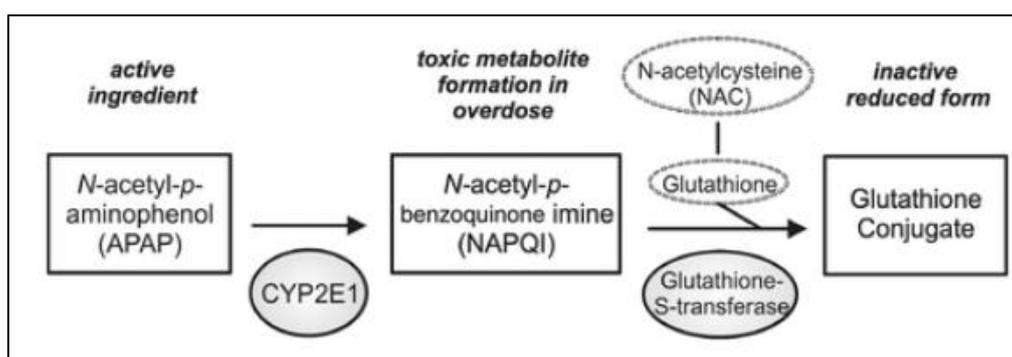


Figura 6. Mecanismos moleculares de hepatotoxicidad inducida por el acetaminofeno

Fuente: (31)

II.6 COMPUESTOS HEPATOPROTECTORES

II.6.1 Silimarina

La silimarina proviene del extracto obtenido de la planta *Silybum marianum*, cuya composición está constituida por los siguientes flavonoglignanes: silibinina, isosilibinina, sililristina, isosilicristina, silidianina y taxifolina, siendo la silibina (70%) la que mayormente predomina en la composición de la silimarina, y la responsable de efectuar actividades biológicas, tales como: tratamiento de enfermedades reumáticas al actuar como antiinflamatorio inhibiendo la activación de los neutrófilos en las articulaciones, enfermedades oncológicas (cáncer de próstata, vejiga, pulmón) al reducir la replicación celular descontrolada, y como un fármaco antihepatotóxico (33).

Un estudio indica que a una dosis de 200 mg/kg de silimarina reduce el estrés oxidativo, previene el aumento de la transaminasa alanina amino transferasa (ALT), disminuye la peroxidación lipídica y aumenta el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) en ratones inducidos a daño hepático con etanol (5g/kg de peso corporal) (33).

II.6.2 N-acetilcisteína (NAC)

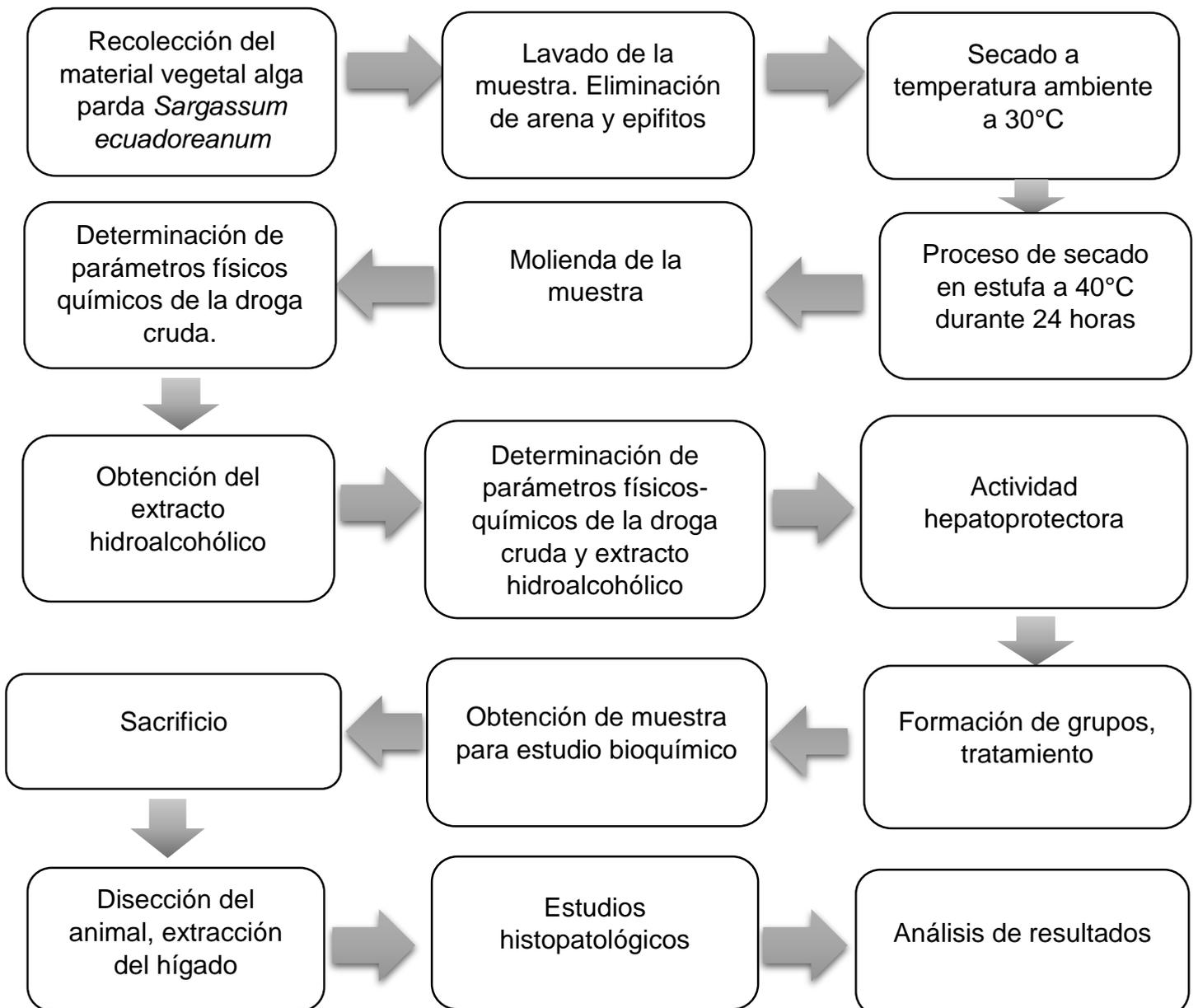
Es un aminoácido con capacidad antioxidante usado para prevenir lesiones hepáticas causados por la ingesta de dosis elevadas de acetaminofeno. Puede ser administrado por vía oral o parenteral. Se mencionan, además, otros fármacos que ayudan en la hepatotoxicidad inducida por acetaminofeno (fumaria, ácido gálico, taurina y silimarina) (34).

CAPITULO III

III.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente estudio consta de un diseño experimental de carácter cuantitativo, al emplear variables que fueron manipuladas como: dosificación del extracto hidroalcohólico del alga parda *Sargassum ecuadoreanum*, parámetros de control de calidad en la droga cruda y extracto. A su vez, la realización de ensayos in vivo con biomodelos de experimentación con el fin de establecer grupos de control y grupos post prueba mediante un estudio histopatológico.

III.2 Diagrama de la metodología de la investigación



III.3 MATERIALES

1. vaso precipitado
2. Piseta
3. agitador de vidrio
4. capilares
5. tubos eppendorf
6. crisol de porcelana
7. papel filtro libre de cenizas
8. matraz aforado
9. vidrio de reloj
10. probeta
11. embudo
12. Desecador de vidrio
13. bureta de 50 ml
14. tirillas reactivas pH
15. frasco de vidrio ámbar
16. cánula
17. jeringuillas (de insulina)
18. Tubos activadores de coágulos séricos en suero alto a gran altitud de 5 ml (CAT Serum Sep Clot Activator High Altitude 5 ml)

III.4 REACTIVOS

1. n-Hexano
2. Ácido clorhídrico al 10%
3. Etanol al 92%
4. Fenol
5. ácido sulfúrico concentrado
6. Nitrato de plata 0,1 mol/L
7. Cloruro de sodio
8. Bicarbonato de sodio
9. Cromato de potasio
10. Agua destilada
11. Tetracloruro de carbono al 5%
12. Formaldehido al 37%
13. Aceite de oliva
14. Silimarina 140 mg
15. N- acetil cisteína 600 mg
16. Éter etílico

III.5 EQUIPOS

1. Agitador magnético
2. Estufa
3. Hornilla eléctrica
4. Horno mufla
5. Equipo espectrofotométrico
Genesys 20 (Serie 4804640)
6. Balanza analítica
7. Balanza para pesaje de animales pequeños
8. Refrigerador
9. Sorbona

III.6. Diseño experimental de la investigación

III.6.1 Recolección del material vegetal.

Para la realización del presente estudio se procedió a recolectar el material algal en la península de Santa Elena (Ecuador) durante las horas de baja marea en áreas rocosas de la zona intermareal correspondiente a la playa Ballenita (Balneario).

La recolecta de las plantas marinas se realizó en el mes de julio del presente año de forma manual para luego ser pesadas, almacenadas a baja temperatura y transportada al laboratorio de la facultad de Ciencias Químicas. Una parte de ella fue enviada a la facultad de Ciencias Naturales para ser clasificadas taxonómicamente.

III.6.2 Preparación y secado de las algas pardas *Sargassum ecuadoreanum*.

Fueron sometidas a una limpieza manual con abundante agua corriente y enjuagadas con agua destilada para eliminar restos de arena y epifitos. Las algas se secaron durante 48 horas a temperatura ambiente y posterior a 24 horas en una estufa a 40°C, finalmente se trituraron mediante el empleo de un molinillo eléctrico hasta obtener un polvo fino y ser conservadas en envases herméticos.

Para ello, el polvo obtenido tuvo que someterse a controles físico-químicos para ser evaluada la calidad de la muestra y a continuación la obtención de los extractos.

III.6.3 Determinación de parámetros fisicoquímicos realizados en las algas pardas *Sargassum ecuadoreanum* (droga cruda)

III.6.3.1 Determinación de Cenizas totales.

Se pesó 2 gramos del material algal pulverizado en un crisol de porcelana o platino previamente tarado (A, B y C). Luego se incineró a una temperatura de 500-750°C por 3 horas en la mufla. Transcurrido el tiempo se retiraron las cenizas y se dejó enfriar en un desecador y se registró el peso de cada una de las replicas (A, B y C). Posteriormente se incineró nuevamente las cenizas por 2

horas repitiendo el proceso anterior, el residuo obtenido es de color blanco o casi blanco.

Se realizaron cálculos mediante la siguiente expresión de los resultados:

$$CT = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100$$

Donde:

m_2 = Crisol con cenizas después de incineración

m_1 = Crisol con muestra antes de incineración

m = Crisol vacío

CT = Cenizas totales

III.6.3.2 Grasas totales.

Este análisis se llevó a cabo por el método de Folch. Se pesó 2 gramos de muestra de alga parda *Sargassum ecuadoreanum* en tubos de eppendorf. Luego se añadió 20 ml de n-hexano a cada tubo (A, B, C) se tapó y agito correspondientemente. Posteriormente se trasladaron los tubos a baño maría a una temperatura de 40°C por 10 minutos. Se dejó enfriar hasta que el polvo asiente, luego se procedió a separar el líquido sobrenadante del residuo y fue trasvasado a un beacker. Consecutivamente, se llevó el beacker que contiene el líquido sobrenadante a la estufa a una temperatura de 60°C para eliminar el n-hexano. Finalmente se pesó y se obtuvo por diferencia el porcentaje de grasas contenido en la muestra.

Se realizaron los cálculos mediante la siguiente expresión de los resultados:

$$\% = \frac{\text{peso del matraz con grasa} - \text{peso del matraz limpio}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

III.6.3.3 Determinación de Cenizas solubles en agua.

A las cenizas totales obtenidas, se les añadió de 15 a 20 ml de agua destilada. El crisol se tapó y se sometió a ebullición suavemente a la llama de un mechero durante 5 minutos. Se filtró la solución a través de un papel filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfirió al crisol inicial, se carbonizó en un mechero y luego se incineró en un horno mufla a una temperatura de 700-750 °C durante 2 horas. Posteriormente se colocó en una desecadora y cuando este alcanzó la temperatura ambiente se pesó. El procedimiento se repitió hasta alcanzar peso constante.

Expresión de resultados:

$$Ca = \frac{M_2 - Ma}{M_1 - M} \times 100$$

Donde:

M_2 = Masa del crisol con las cenizas totales (g)

M_1 = Masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

Ma = Masa del crisol con las cenizas insolubles en agua.

Ca = Porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada

M = Masa del crisol vacío

100 = Factor matemático

III.6.3.4 Cuantificación de polisacáridos (preparación de la muestra).

Por triplicado, se pesó 2 gramos de muestra y fue transferida a un matraz aforado de 500 ml y se añadió 100 ml de etanol al 92%, se llevó a reflujo por una hora y se filtró en caliente. El residuo del papel fue transferido nuevamente en el matraz aforado y se añadió 100 ml de agua destilada, se llevó a reflujo por 2 horas y se filtró en caliente en matraces de 200 ml, posteriormente se procedió a enfriar y enrasar.

Se tomó una alícuota de 0,25 ml a cada réplica y se transfirió a tubos eppendorf y se añadió 750 ul de agua destilada, 1 ml de fenol y 4 ml de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄). Se dejó en reposo por 10 minutos y se transfirió a baño maría por 15 minutos a una temperatura de 40°C. Posteriormente se procedió a leer en un espectrofotómetro Genesys 20 EQ-24 (serie 4804640).

III.6.3.5 Cuantificación de polisacáridos (preparación de los estándares).

Para este análisis se pesó 51 mg de glucosa anhidra en un vidrio de reloj y se transfirió a un matraz volumétrico de 50 ml y se enrasó con agua destilada. Se procedió a tomar una alícuota de 2 ml y fue transferida a un matraz volumétrico de 25 ml. Se tomó de la solución diferentes alícuotas de: 1 ml - 0,75 ml - 0,50 ml - 0,25 ml y fueron trasvasados a tubos eppendorf en donde se añadió a cada tubo 1 ml de fenol al 5% y 4 ml de ácido sulfúrico concentrado. Luego se dejó en reposo por 10 minutos y se llevó a baño maría por 15 minutos a una temperatura de 40°C. Para la preparación del blanco se requirió 1 ml de agua destilada, 1 ml de fenol al 5% y 4 ml de ácido sulfúrico. Posteriormente se leyeron absorbancias en un espectrofotómetro Genesys 20 EQ-24 (serie 4804640) cada una de las concentraciones preparadas y el blanco.

III.6.3.6 Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico.

A las cenizas totales obtenidas, se les añadió de 2-3 ml de ácido clorhídrico al 10%. El crisol se tapó con un vidrio reloj y se calentó sobre un baño de agua hirviente durante 10 min. Se lavó el vidrio reloj con 5 ml de agua caliente y se unió al contenido del crisol. La solución se filtró a través de papel filtro libre de cenizas; se lavó el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido clorhídrico al cual se le agregó una a dos gotas de solución de nitrato de plata 0,1 mol/L, hasta que este no muestre presencia de cloruros.

El filtrado con el residuo fue desecado a una temperatura de 100 a 105°C, se transfirió al crisol inicial y se procedió a incinerar en un horno mufla a una temperatura de 700-750°C durante 2 horas. Posteriormente se colocó en una desecadora y cuando se alcanzó la temperatura ambiente se pesó correspondientemente. Este procedimiento se repitió hasta obtener masa constante.

Expresión de resultados:

$$Ba = \frac{M_2 - Ma}{M_1 - M} \times 100$$

Donde:

M_2 = masa del crisol con las cenizas totales (g)

M_1 = Masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

Ma = Masa del crisol con las cenizas insolubles en agua.

Ca = Porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada

M = Masa del crisol vacío

100 = Factor matemático

III.6.3.7 Determinación de sodio contenido en la droga cruda por Absorción Atómica

Este análisis fue realizado por laboratorios UBA, donde se solicitó 100 gramos de la muestra para posterior análisis por el método AOAC 965.09 (Absorción Atómica).

III.6.4 Determinación de parámetros fisicoquímicos realizados al extracto hidroalcohólico de algas pardas *Sargassum ecuadoreanum*.

III.6.4.1 Preparación del extracto hidroalcohólico al 20%

Para la preparación del solvente se procedió a medir en una probeta 70 ml agua destilada libre de cloruros y 30 ml de etanol al 92%. Luego se pesó 20 gramos del polvo, es decir la droga cruda y fue transferida a un beacker, y posteriormente se añadieron los 100 ml del solvente con agitación constante y se dejó macerar por 24 horas. Transcurrido el tiempo de maceración, se procedió a separar el líquido sobrenadante y se filtró en una probeta e inmediatamente se midió el líquido macerado y se registró el volumen.

Finalmente, el líquido macerado fue trasvasado a un beacker y se llevó a baño maría a una temperatura de 100 °C por un tiempo aproximado de 2 horas con agitación constante hasta que desista el olor a etanol para la obtención del extracto.

III.6.4.2 Porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico

El cálculo del porcentaje de rendimiento consiste en el volumen obtenido antes (rendimiento teórico) y después de la evaporación (rendimiento práctico), y está dado mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Rendimiento real}}{\text{Rendimiento teorico}} \times 100$$

III.6.4.3 Determinación de pH en el extracto hidroalcohólico.

Se añadió en una cápsula de vidrio cantidad suficiente del extracto y en ella se sumergió una tirilla reactiva, posteriormente se esperó de 5 a 8 minutos para registrar el valor según el grado de acidez o basicidad de la muestra.

III.6.4.4 Sólidos totales.

Por triplicado, se pesaron cápsulas de vidrio vacías, y posteriormente se midió 5 ml del extracto y se añadió en las respectivas cápsulas. Finalmente se procedió a secar en una hornilla eléctrica y se introdujo el extracto en la estufa a una temperatura de 100 – 105°C por 2 horas.

III.6.4.5 Densidad

Por triplicado, se seleccionaron tres probetas de 10 ml y se registró el peso de cada una, luego se midió 10 ml del extracto en las respectivas probetas y se pesó con el contenido. Para calcular la densidad se empleó la siguiente ecuación:

$$\rho = \frac{\text{masa}}{\text{volumen}}$$

III.6.4.5 Determinación de cloruro de sodio (ClNa) por titulación

III.6.4.5.1 Preparación de la sustancia patrón tipo primario (ClNa)

Se pesó 58,44 mg de cloruro de sodio en un beacker, cabe recalcar que la sustancia patrón debe secarse en una estufa a una temperatura de 120°C por 2 horas. Se añadió la sustancia en un matraz de 50 ml y finalmente se enrasó el volumen.

III.6.4.5.2 Preparación de la sustancia titulante Nitrato de plata (NO₃Ag)

Se pesó 4,25 g de nitrato de plata y se disolvió hasta enrasar en un matraz de 250 ml. Para la valoración del nitrato de plata, se transfirió la solución a una bureta de 50 ml y se dejó caer gota a gota en un beacker que contiene los 50 ml de la sustancia patrón tipo primario (ClNa) y el indicador (CrO₄K₂) 2 a 3 gotas en constante movimiento con la ayuda de un agitador magnético, una coloración amarilla más un precipitado de color rojo ladrillo indican la presencia del cromato de plata. Se realizó 3 determinaciones.

III.6.4.6 Titulación de la muestra

La muestra debe tener un pH entre 7 – 9, y para ello se modificó a pH neutro. Se midió 2 ml del extracto, se diluyó y enrasó en un matraz de 50 ml, luego se transfirió la solución a un beacker de 100 ml y se añadió de 2 a 3 gotas del indicador cromato de potasio (CrO₄K₂), cargada la bureta de 50 ml con la solución de nitrato de plata se dejó caer gota a gota con agitación constante a la solución muestra hasta observar la formación de un precipitado rojo ladrillo (cromato de plata).

III.6.5 Actividad Hepatoprotectora

Se utilizaron como reactivos biológicos ratones CD provenientes del Instituto Nacional de Salud pública e Investigación (INSPI), con un peso promedio de 25 ± 5 g cumpliendo con las buenas prácticas del cuidado y manejo de animales de experimentación, los cuales, fueron alimentados con abundante agua y

balanceado dividiéndose en 7 grupos (cada grupo con 7 biomodelos) después de haber transcurrido 1 semana de aclimatación.

La división se la realizó de la siguiente manera: Un grupo control normal, un control positivo tratado con Silimarina a una dosis de 420 mg/kg, un grupo control positivo tratado con N-acetil cisteína a una dosis de 600 mg/kg (vía oral), un grupo control negativo en donde se realizó una inducción de daño hepático con tetracloruro de carbono (CCL_4), a una concentración del 5% fijado con aceite de oliva por vía intraperitoneal. A demás, tres grupos fueron tratados con extracto hidroalcohólico de alga parda *Sargassum ecuadoreanum* a una dosis 1000 mg/kg, 500 mg/kg y 250 mg/Kg por vía oral, el pH del extracto tuvo que modularse con bicarbonato de sodio a neutro (7) debido a que éste tenía un pH ácido (5).

El tratamiento duró 7 días, al sexto día se administró por vía intraperitoneal el tetracloruro de carbono (0.2 ml/kg) a los siguientes grupos: control positivo tratado con Silimarina a una dosis de 420 mg/kg, control positivo tratado con N-acetil cisteína a una dosis de 600 mg/kg, y a los tres grupos tratados con el extracto hidroalcohólico de alga parda *Sargassum ecuadoreanum* (dosis 1000 mg/kg, 500 mg/kg y 250 mg/Kg), y se continuó con el tratamiento hasta el séptimo día, posteriormente se anestesiaron a 20 modelos biológicos (escogidos entre los siete grupos) con éter y se realizó una toma de muestra sanguínea de aproximadamente 1 ml por vía ocular para el respectivo análisis bioquímico de Transaminasa Glutámico Oxalacética (TGO) cuya muestra fue recogida en tubos activadores de coágulos séricos en suero alto a gran altitud de 5 ml (CAT Serum Sep Clot Activator High Altitude 5 ml), posteriormente los reactivos biológicos fueron sacrificados mediante previa anestesia y luego dislocación cervical y se realizó una disección para extraer el hígado y posterior análisis histopatológico. Los resultados fueron analizados estadísticamente.

CAPITULO IV

IV.1 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS QUÍMICOS

IV.1.1 Cenizas

Como lo muestra en la **Tabla IV** se calculó el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación (1.9 %) de las dos replicas B y C descartándose la réplica A porque incidía en los valores de las dos replicas anteriormente mencionadas.

Tabla IV. Promedio del porcentaje de cenizas totales contenidos en la droga cruda

Réplicas	Porcentaje de Cenizas
B	14,93 %
C	14,52 %
Promedio	14.72 ± 0.29

Fuente: Autoras

IV.1.2 Grasas

La **Tabla V** muestra el promedio del porcentaje de grasas totales contenidas en la droga cruda, además de la desviación estándar y el coeficiente de variación (6,896 %)

Tabla V. Promedio del porcentaje de grasas totales contenidas en la droga cruda

Réplica	Porcentaje de grasas totales
A	0,80 %
B	0.91 %
C	0,90 %
Promedio	0.87 ± 0.060

Fuente: Autoras

IV.1.3 Cenizas solubles en agua

En la **Tabla VI** se muestra el promedio del porcentaje de cenizas totales solubles en agua y desviación estándar, en esta determinación se descartó la réplica A porque incidía en las dos replicas siguientes (B y C), el coeficiente de variación es de 3.5 %.

Tabla VI. Promedio del porcentaje de cenizas solubles en agua contenidas en la droga cruda

Réplica	Porcentaje de cenizas solubles en agua
B	9.458 %
C	9.951 %
Promedio	9.70 ± 0.348

Fuente: Autoras

IV.1.4 Determinación de sodio por absorción atómica

Este análisis fue realizado por laboratorios UBA, según la AOAC 965.09 absorción atómica, indica un valor del 0.70 % de sodio como lo muestra a continuación la **Tabla VII**.

Tabla VII. Resultado de análisis para la determinación de sodio contenido en la droga cruda por absorción atómica

código UBA	Parámetros	Método	Resultados	Unidad	Límite de cuantificación
UBA-26796-1	Sodio (Na)	AOAC 965.09 (Absorción Atómica)	0.70	%	- -

Fuente: Laboratorio UBA

IV.1.5 Polisacáridos totales

En la **Figura 7** se muestra la curva de calibración de polisacáridos totales, teniendo un $R^2 = 0.9866$ cuyo valor permitió calcular la concentración de polisacáridos contenidos en la droga cruda.

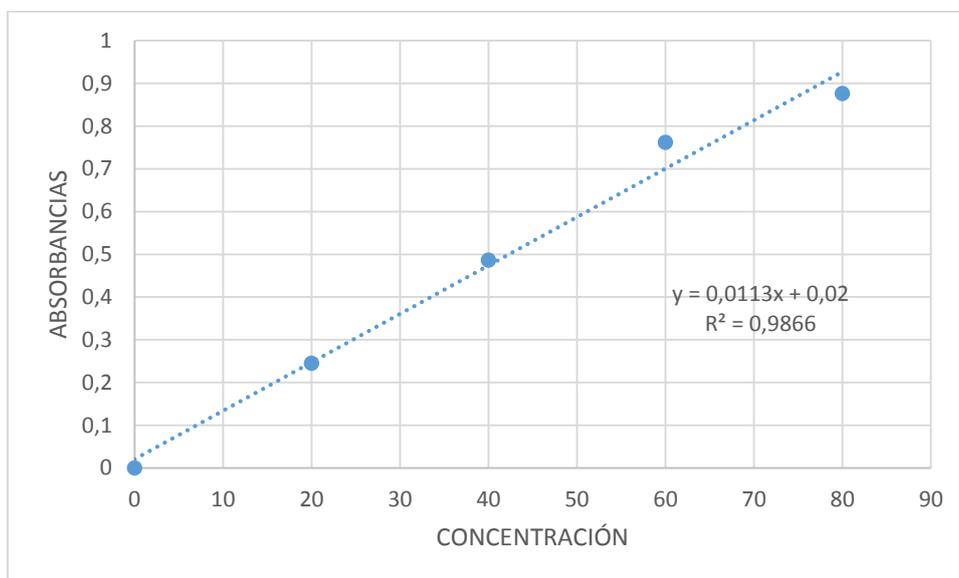


Gráfico 1. Curva de calibración de polisacáridos totales contenidos en la droga cruda

Fuente: Autoras

A continuación, en la **Tabla VIII** se obtuvo el promedio de la concentración de polisacáridos totales contenidos en la droga cruda, la desviación estándar y el coeficiente de variación cuyo valor es de 7.8 %, se descartó la réplica A porque incidía en las dos siguientes.

Tabla VIII. Promedio de la concentración de polisacáridos totales contenidos en la droga cruda

Replica	Concentración de la muestra
B	108.63 ug/g
C	97.22 ug/g
Promedio	102.92 ± 8.06

Fuente: Autoras

IV.1.6 Cenizas insolubles en ácido clorhídrico (HCl)

A continuación, en la Tabla **IX** obtuvo finalmente el promedio de cenizas insolubles en ácido clorhídrico, desviación estándar y coeficiente de variación cuyo valor es de 0.078 %.

Tabla IX. Promedio del porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico (HCl) contenidas en la droga cruda

Réplica	Porcentaje de cenizas insolubles en HCl
A	97.862 %
B	97.730 %
C	97.866 %
Promedio	97.819 ± 0.077

Fuente: Autoras

IV.2 Determinación de parámetros fisicoquímicos realizados en el extracto hidroalcohólico de algas pardas *Sargassum ecuadoreanum*

IV.2.1 Determinación del porcentaje de rendimiento, densidad, humedad y solidos totales

A continuación, en la **Tabla X** se observan los resultados obtenidos de los parámetros realizados al extracto, tales como: porcentaje de rendimiento, promedio de la densidad, promedio del porcentaje de solidos totales con una desviación estándar del 1.37 %, y porcentaje de humedad.

Tabla X. Porcentaje de rendimiento, porcentaje de humedad, promedio del porcentaje de solidos totales y promedio de la densidad del extracto hidroalcohólico

Porcentaje de rendimiento del extracto	Porcentaje de humedad	Promedio de la densidad del extracto	Promedio del porcentaje de solidos totales
63.2 %	94.9%	0.995 ± 0.004	5.1± 0.07

Fuente: autoras

IV.2.2 Valoración del cloruro de sodio

Para la titulación de la sustancia patrón, como se muestra en la *Tabla XI* se obtuvo el promedio del porcentaje del mismo, desviación estándar y coeficiente de variación cuyo valor es de 3.5%.

Tabla XI. Promedio del porcentaje de la valoración de la sustancia patrón tipo primario cloruro de sodio (NaCl)

Replicas	Normalidad (g/L)
A	0,101
B	0.095
C	0.095
Promedio	0.097 ± 0.0034

Fuente: Autoras

IV.2.3 Valoración del extracto hidroalcohólico

Se define que por cada 100 ml de extracto hay un 2% de cloruro de sodio contenido en la muestra; como se observa a continuación en la *Tabla XII* se obtuvo el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación, cuyo valor es de 2.99 %.

Tabla XII. Promedio del porcentaje de cloruro de sodio contenido en el extracto hidroalcohólico del alga parda *Sargassum ecuadoreanum*

Replicas	Porcentaje de la muestra
A	2.454 %
B	2.331 %
C	2.331 %
Promedio	2.37 ± 0.071

Fuente: Autoras

IV. 3 Pruebas bioquímicas: Transaminasa Glutámico Oxalacética (TGO)

En el **Gráfico 2** que se muestra a continuación, se halla el promedio de los valores obtenidos de transaminasas TGO, de cada grupo de ensayo tratado

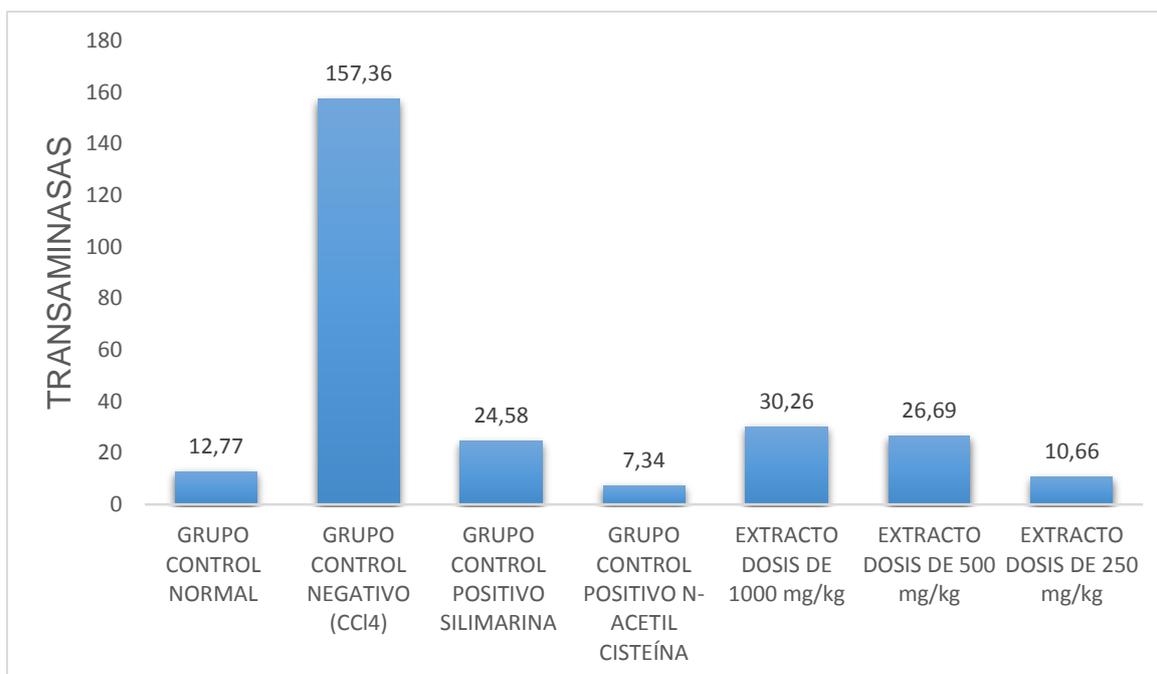


Gráfico 2. Promedios de transaminasa Glutámico Oxalacética TGO en la evaluación hepatoprotectora en ratones

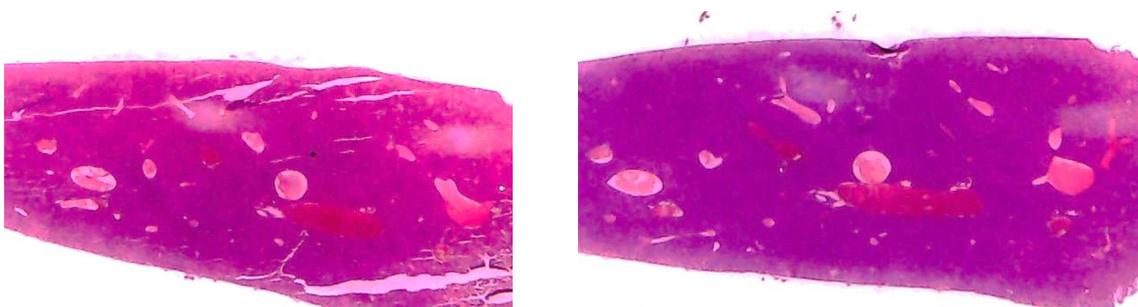
Fuente: Autoras

De acuerdo al resultado del análisis bioquímico de transaminasa glutámico oxalacética (TGO), los grupos tratados con Silimarina (24.58 ± 25.18), N- acetil cisteína (7.34 ± 4.31) y el extracto hidroalcohólico con sus respectivas dosificaciones (dosis 1000 mg/kg: 30.26 ± 24.22 , dosis 500 mg/kg: 26.69 ± 26.86 ,

dosis 250 mg/kg: 10.66 ± 3.19), tuvieron similitud a los valores de transaminasa del grupo control normal (12.77 ± 0.90), sin embargo, en relación con el grupo control negativo con CCl_4 (157.36 ± 25.33) mostró diferencia con todos los grupos tratados ya mencionados anteriormente, por lo que estadísticamente presentó una diferencia significativa con una probabilidad del 0.05%.

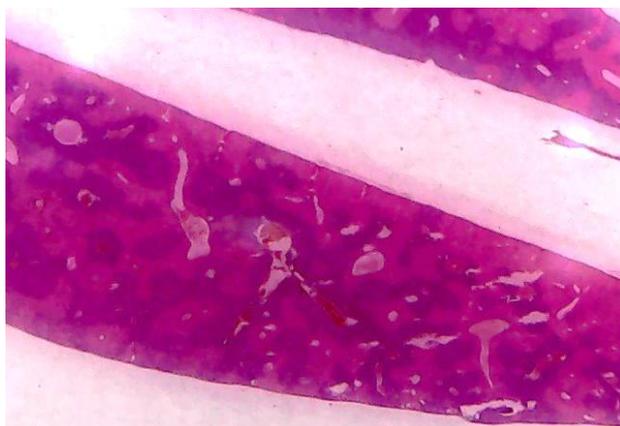
IV.4 Resultado histopatológico del Hígado (Tinción hematoxilina-eosina)

Grupo 1 Control normal sin tratamiento, sin inducción



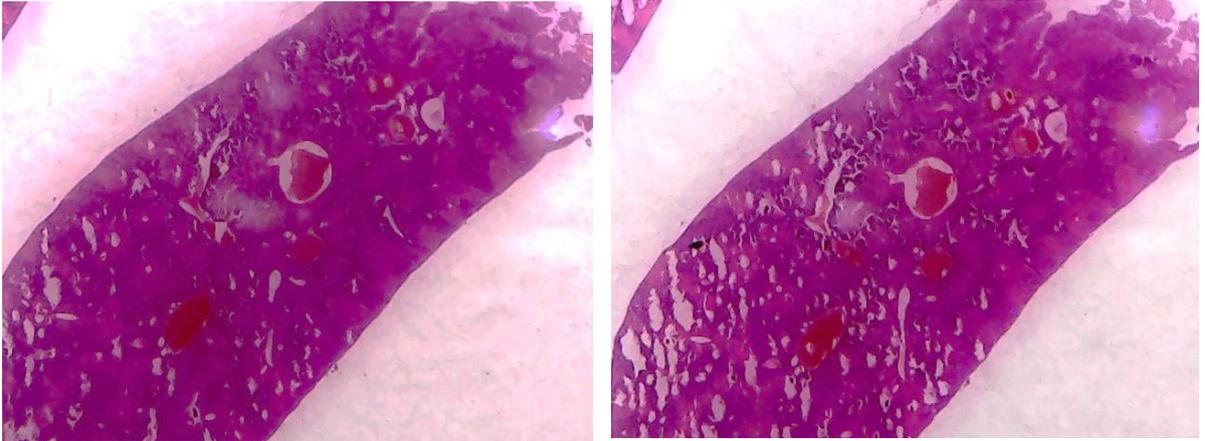
Un órgano presentó leve metamorfosis grasa (degeneración) alrededor de los lobulillos, y discreta congestión portal.

Grupo 2 control negativo tetracloruro de carbono CCl_4 sin tratamiento



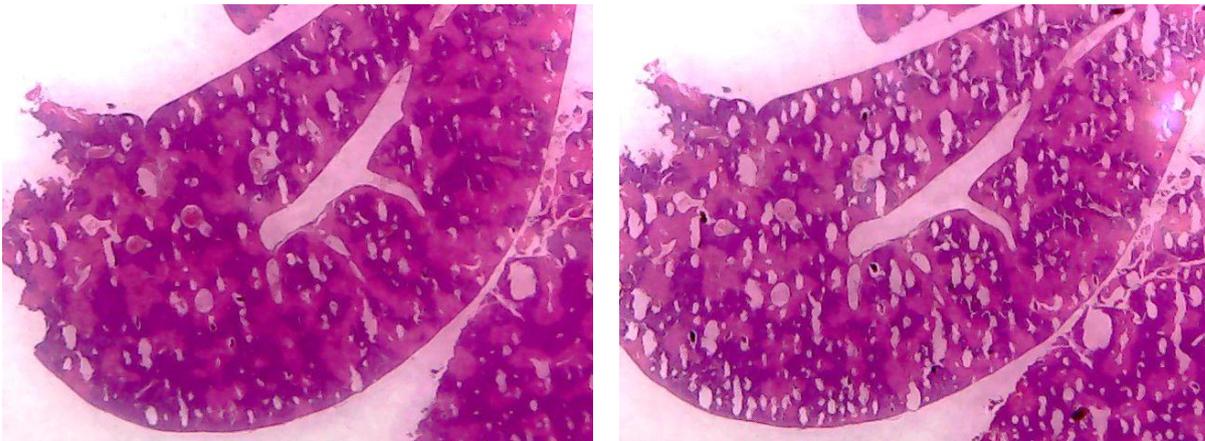
En todos los órganos se observó marcada degeneración turbia (+++) y a veces degeneración grasa +, todo ello perilobulillar, además una congestión portal y parenquimal (+), en un órgano se observa pequeños focos necróticos celulares (+).

Grupo 3 Control positivo Silimarina + CCL4



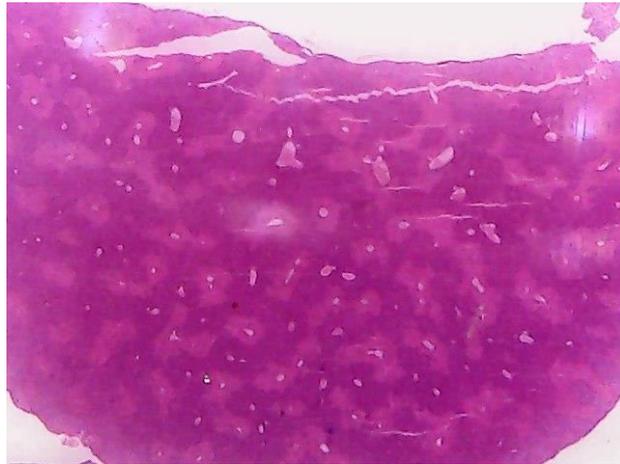
El grado de turbidez (degeneración) perilobulillar es recurrente en todos los órganos (++) , la congestión vascular portal y parenquimal esta aumentada. (++)

Grupo 4 Control positivo N – Acetil cisteína + CCL4



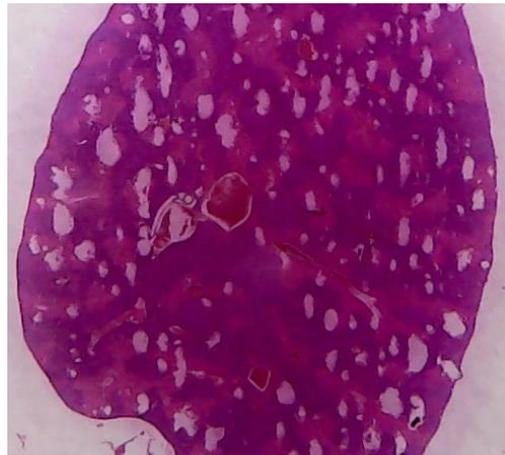
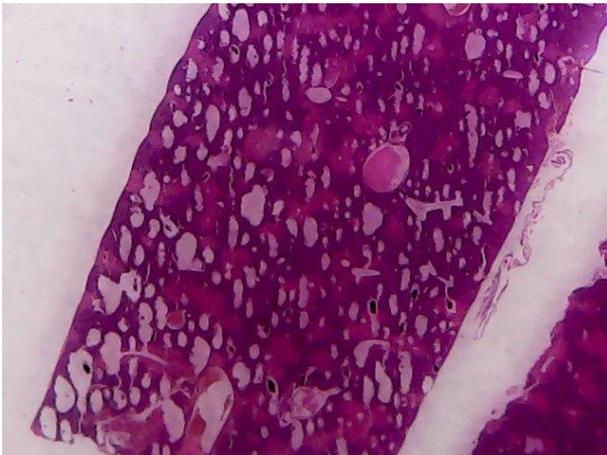
Al igual que en los casos anteriores la degeneración turbia perilobulillar (presencia de pseudolobulillos) y la observación en un órgano de focos necróticos dispersos es evidente (+++), igualmente la congestión vascular esta manifiesta (++) .

Grupo 5 Dosis 1000 mg/kg Extracto + CCL4



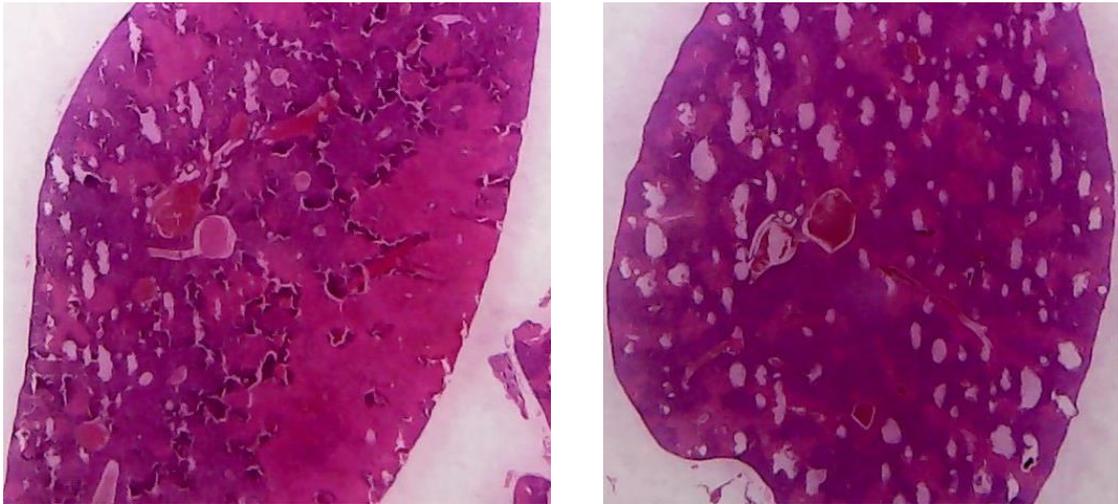
El grado de turbidez celular (degeneración) perilobuliliar es discreta (++) pero manifiesta.

Grupo 6 Dosis 500 mg/kg, Extracto + CCL4



En un hígado aparece un amplio campo de necrosis subcapsular como respuesta evidente del proceso de degeneración turbia perilobuliliar (+++), los otros órganos presentan el mismo cuadro, pero en menor grado (++)

Muestra dosis 250 mg/kg Extracto + CCL4



Es similar el grado de degeneración turbia (++) a los anteriores, en un órgano está acompañado de una leve degeneración grasa (+).

IV.5 DISCUSIÓN

Los datos obtenidos en el presente estudio preliminar mostraron una disminución de niveles de transaminasa glutámico oxalacética (TGO) a una dosis de 250 mg/kg (10.66 ± 3.19), dichos valores mantienen relación con los resultados del grupo control normal (12.77 ± 0.90) que, en este caso, no recibieron inducción de daño hepático con tetracloruro de carbono (CCL_4) al 5% por vía de administración intraperitoneal, ni tratamiento con el extracto hidroalcohólico. Además, estos valores se aproximan con el grupo control positivo tratado con N- acetil cisteína (7.34 ± 4.31) a una dosis de 600 mg/kg de peso por vía oral por un tiempo de siete días. Por otra parte, el grupo control negativo (157.36 ± 25.33) sin tratamiento fue el único que mantuvo valores elevados de la enzima sérica hepática TGO, el cual, sobrepasa los valores referenciales ($97,63 \pm 55.46$). Los resultados actuales guardan similitud con los de Hira et al. (35) en el que administraron extractos etanólicos de *Sargassum ilicifolium*, *S. laceolatum* y *S. swartzii* a una dosis de 200 mg/kg de peso en ratas diariamente durante catorce días, comprobando que los extractos de *S. ilicifolium* y *S. swartzii* mantuvieron bajos los niveles de enzimas hepáticas después de la inducción con CCL_4 .

En contraste, Quintal et al. (2) establecieron una dosis de 50 mg/kg de peso del extracto etanólico de *Sargassum fluitans* por vía de administración oral, el cual redujo marcadores enzimáticos en lesiones hepáticas agudas inducidas por acetaminofén y actividad hepatoprotectora en un modelo de daño crónico inducido con CCL_4 en ratas en un periodo de doce semanas. El grupo control negativo también fue el único que mantuvo niveles elevados de transaminasas hepáticas (303.17 ± 38.61), en comparación a los grupos restantes.

Con respecto al tiempo de administración de los extractos de las especies *Sargassum* ya citados, coincidieron con la disminución de transaminasas TGO frente a los modelos inductores de daño hepático en diferentes periodos de tiempo con relación al presente estudio.

No existe suficiente información referente al empleo de extractos hidroalcohólico en algas del género *Sargassum*. El objetivo de realizar un extracto hidroalcohólico en este trabajo, se debió a la afinidad que tienen algunos

polisacáridos bioactivos con el alcohol, los cuales, son extraídos manteniéndose fijos en el sistema acuoso una vez evaporada la parte etanólica del solvente, por lo tanto, se lograron obtener resultados favorables a partir de este extracto en lo que corresponde al ensayo bioquímico de transaminasa TGO. A pesar de que en varios estudios mencionados anteriormente utilizaron extractos diferentes, comprobaron actividad hepatoprotectora. Raghavendran et al. (36) informaron efectos hepatoprotectores a partir del extracto alcohólico de *Sargassum polycystum* al inhibir radicales libres generados durante la peroxidación lipídica en la hepatitis tóxica inducida por acetaminofén por lo que hubo una disminución significativa en la gravedad de la hepatitis tóxica.

Los parámetros de control de calidad como grasas (0.28 %) humedad (85.1%) y cenizas (30.52%) obtenidos por Villegas (37) reflejan un alto contenido de material inorgánico y carbohidratos, y un bajo contenido de extracto etéreo en el alga parda *Sargassum lapazeanum*. Mientras que la especie *Sargassum ecuadoreanum* refleja un alto contenido de grasas (0,87%), humedad (94.9%), presencia de polisacáridos (102.92 ± 8.06) y un bajo contenido de material inorgánico (14.72%) en comparación a la especie *S. lapazeanum*.

En los resultados de análisis histopatológico en relación con el grupo control negativo (CCI₄) se observó en todos los órganos marcada degeneración turbia y a veces degeneración grasa, todo ello perilobuliliar, además una congestión portal y parenquimal. A su vez, se observó en uno de los órganos pequeños focos necróticos celulares. Con el grupo control tratado con Silimarina + CCI₄, el grado de turbidez (degeneración) perilobuliliar fue recurrente en todos los órganos aumentando la congestión vascular portal y parenquimal. Caso parecido ocurre con Quintal et al. (2) donde reporta que las secciones del grupo CCI₄ exhibieron células inflamatorias invasivas y pérdida de límites celulares, sin embargo, las secciones de los grupos Sil + CCI₄ y extracto etanólico de *S. fluitans* + CCI₄ tenían un patrón lobular generalmente normal con un grado leve de infiltración de linfocitos que estaba cerca del grupo de control, es decir, que el tratamiento con el extracto etanólico de *S. fluitans* evitó claramente cualquier lesión notable en los tejidos del hígado por la exposición a CCI₄. Por lo contrario, el tratamiento con el extracto hidroalcohólico de *Sargassum ecuadoreanum* a diferentes dosis, mostró que el daño hepático se encontraba en su primera fase

de estadio debido al poco tiempo de tratamiento, y al uso de un agente altamente tóxico, de tal forma, no se obtuvieron los resultados deseados en la disminución del daño tisular.

CONCLUSIONES

1. En el presente estudio se logró determinar los parámetros físico químicos que aseguran la eficacia tanto de la droga cruda como del extracto, señalando que el *Sargassum ecuadoreanum* está compuesto por un alto contenido de grasas, humedad, y bajo contenido de material inorgánico.
2. El material algal contiene concentraciones de polisacáridos totales que permitieron definir dosificaciones para comprobar la actividad biológica manifiesta en el extracto hidroalcohólico frente a un modelo de daño hepático.
3. Corroborando lo anterior, las dosis definidas del extracto regularon los niveles de TGO obteniéndose estadísticamente una diferencia significativa que farmacológicamente posee un efecto preventivo ante agresiones hepáticas.
4. Por otra parte, el estudio histopatológico indicó que el daño hepático se encontraba en su primera fase de estadio debido al poco tiempo de tratamiento, y al uso de un agente altamente hepatóxico, por lo que, no se obtuvieron los resultados deseados en la disminución del daño tisular.

RECOMENDACIONES

1. Este tipo de ensayo preliminar requiere de mayor prolongación de tiempo en lo que respecta a la administración del extracto hidroalcohólico del alga parda *Sargassum ecuadoreanum*, para establecer mayor comparación de estudios bioquímicos e histopatológicos entre los grupos de control positivo, negativo y normal.
2. Se sugiere aumentar la concentración de la muestra para obtener un mayor efecto hepatoprotector con el propósito de prevenir severos daños provocados por agentes agresivos o altamente tóxicos.
3. El tetracloruro de carbono es un agente altamente agresivo, por ende, se estima trabajar con modelos hepatotóxicos menos severos. Además, realizar ensayos microbiológicos al extracto hidroalcohólico para garantizar la seguridad y eficacia del objeto de estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Yende S, Chaugule B, Harle U. Therapeutic potential and health benefits of *Sargassum* species. *Pharmacogn Rev* [Internet]. 2014 Jan [cited 2019 Jul 1];8(15):1. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24600190>
2. Quintal-Novelo C, Rangel-Méndez J, Ortiz-Tello Á, Graniel-Sabido M, Vaca RPC De, Moo-Puc R. A *Sargassum fluitans* Borgesen Ethanol Extract Exhibits a Hepatoprotective Effect in Vivo in Acute and Chronic Liver Damage Models. *Biomed Res Int*. 2018;2018.
3. Asqui Lalón M de J. Actividad hepatoprotectora del extracto de diente de león (*Taraxacum officinale*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono [Tesis de Bachiller] [Internet]. 2012 [cited 2019 Oct 4]. Available from:
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2590>
4. Yende S, Harle U, Chaugule B. Therapeutic potential and health benefits of *Sargassum* species. Vol. 8, *Pharmacognosy Reviews*. Wolters Kluwer -- Medknow Publications; 2014. p. 1–7.
5. Asanka Sanjeeva KK, Jayawardena TU, Kim HS, Kim SY, Shanura Fernando IP, Wang L, et al. Fucoidan isolated from *Padina commersonii* inhibit LPS-induced inflammation in macrophages blocking TLR/NF-κB signal pathway. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2019 Nov 15 [cited 2020 Feb 18];224:115195. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31472848>
6. Echavarría BZ, Franco AS, Martínez AM. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe Colombiano. *Vitae* [Internet]. 2009 [cited 2020 Feb 18];16(1):126–31. Available from:
https://www.researchgate.net/publication/49943857_EVALUACION_DE_LA_ACTIVIDAD_ANTIOXIDANTE_Y_DETERMINACION_DEL CONTENIDO_DE_COMPUESTOS_FENOLICOS_EN_EXTRACTOS_DE_MACROALGAS_DEL_CARIBE_COLOMBIANO
7. Chale-Dzul J, Pérez-Cabeza de Vaca R, Quintal-Novelo C, Olivera-Castillo L, Moo-Puc R. Hepatoprotective effect of a fucoidan extract from

- Sargassum fluitans Borgesen against CCl₄-induced toxicity in rats. *Int J Biol Macromol*. 2020 Feb 15;145:500–9.
8. Namvar F, Mohamad R, Baharara J, Zafar-Balanejad S, Fargahi F, Rahman HS. Antioxidant, antiproliferative, and antiangiogenesis effects of polyphenol-rich seaweed (*Sargassum muticum*). *Biomed Res Int*. 2013;2013.
 9. Solomon EP, Palacios Martínez R. *Biología de Ville*. McGraw-Hill Interamericana; 1998.
 10. Mei X, Wu C, Zhao J, Yan T, Jiang P. Community Structure of Bacteria Associated With Drifting *Sargassum horneri*, the Causative Species of Golden Tide in the Yellow Sea. *Front Microbiol* [Internet]. 2019 May 28 [cited 2019 Jun 14];10:1192. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31191503>
 11. Pastare L, Romagnoli F, Blumberga D. Comparison of biomethane potential lab tests for Latvian locally available algae. In: *Energy Procedia*. Elsevier Ltd; 2018. p. 277–81.
 12. Basurto Broncano BK, Alcivár Mero KX. Determinación de las características fisicoquímicas del alga parda *Sargassum ecuadorenum* en la zona intermareal, ubicada en Santa Elena [Internet]. 2019. Available from: <http://www.ug.edu.ec/SitePages/historia.aspx>
 13. Gómez-Ordóñez E. Evaluación nutricional y propiedades biológicas de algas marinas comestibles. Estudios in vitro e in vivo. Tesis Doctoral. 2013.
 14. Wang L, Oh JY, Hwang J, Ko JY, Jeon YJ, Ryu B. In vitro and in vivo antioxidant activities of polysaccharides isolated from celluclast-assisted extract of an edible brown seaweed, *Sargassum fulvellum*. *Antioxidants*. 2019 Oct 1;8(10).
 15. Pozharitskaya ON, Shikov AN, Obluchinskaya ED, Vuorela H. The Pharmacokinetics of Fucoidan after Topical Application to Rats. *Mar Drugs* [Internet]. 2019 Dec 6 [cited 2020 Feb 18];17(12):687. Available from: <https://www.mdpi.com/1660-3397/17/12/687>
 16. van Weelden G, Bobi M, Okła K, van Weelden WJ, Romano A, Pijnenborg JMA. Fucoidan structure and activity in relation to anti-cancer mechanisms. *Mar Drugs*. 2019 Jan 7;17(1):32.

17. Sibulesky L. Normal liver anatomy. *Clin Liver Dis.* 2013;2(SUPPL. 1):2012–4.
18. Iza Toapanta MB. Determinación de daño hepático mediante TGO – TGP y fosfatasa alcalina en personal expuesto a plaguicidas en una empresa florícola de mayo a junio 2016. 2016;108. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/8086>
19. Zribi N, Boujelbène Y, Drerup MM, Waemustafa W, Sukri S, García-Marco T, et al. EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Ocimum basilicum* L. “ALBAHACA MORADA” EN *Rattus norvegicus* variedad Sprague Dawley “RATAS” INTOXICADOS CON TETRACLORURO DE CARBONO Arequipa 2014. *J Bank Financ* [Internet]. 2015;5(1):643–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.irfa.2010.03.001><http://dx.doi.org/10.1016/j.ribaf.2014.06.001><http://www.iiste.org><http://dx.doi.org/10.1016/j.jbankfin.2011.10.012><http://www.econjournals.com><http://www.academicjournals.org/JAT>
20. El-Kamary SS, Strickland GT. Hepatitis, Viral. In: *International Encyclopedia of Public Health.* Elsevier Inc.; 2016. p. 611–20.
21. Chen L, Zhang Q, Yu C, Wang F, Kong X. Functional Roles of CCL5/RANTES in liver disease. *Liver Res.* 2020 Jan 28;
22. Méndez E, Orbe I, Parra V. PREVALENCIA, CARACTERISTICAS DE HEPATOPATIAS Y FACTORES ASOCIADOS EN EL AREA DE MEDICINA INTERNA DEL HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO DURANTE EL PERIODO ENERO 2009 – DICIEMBRE 2010. 2010.
23. Lehninger, Mathews. *Metabolismo de Compuestos Nitrogenados.* 2010;20:2–3. Available from: http://www3.uah.es/bioquimica/Tejedor/bioquimica_quimica/R-T20-1-Rgenerales.pdf
24. Enst M, Anab R, Tez D, Dan LU, Yilmaz S, Baran Z, et al. DETERMINACIÓN DE TRANSAMINASAS (TGO Y TGP) EN LOS AFILIADOS DEL SEGURO SOCIAL CAMPESINO-DISPENSARIO TORATA, QUE ACUDEN A LA UNIDAD DE ATENCIÓN AMBULATORIA R-9 DE SANTA ROSA, 2014 [Internet]. Vol. 16, *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis.* 2015. Available

from:

<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14639947.2011.564813>

<http://dx.doi.org/10.1080/15426432.2015.1080605>

<https://doi.org/10.1080/15426432.2015.1080605>

http://heinonline.org/HOL/Page?handle=hein.journals/abaj102&div=144&start_page=26&collectio

25. TALEISNIK S. Pruebas de función hepática. *Rev Española Enfermedades Dig [Internet]*. 2015 [cited 2019 Jul 3];40(3):73–8. Available from:
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082015001000017
26. Zhao SP, Wu ZS, Chen Y, Liang X, Bao L, Li P, et al. Protective effect of Hua Tan Qu Shi decoction against liver injury in rats with nonalcoholic fatty liver disease. *Biomed Pharmacother [Internet]*. 2017 Jul 1 [cited 2020 Feb 18];91:181–90. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28458156>
27. A GB, Daza EF, Juan EF, Parciales E, Tizzano EF. Hígado. *Med y Lab*. 2008;14(11–12):2009–2009.
28. Tejada F. Hepatotoxicidad por farmacos. *Rev Clínica Med Fam*. 2010;3(3):177–91.
29. Olivera Fuentealba Germán Alonso. “Estudio del efecto protector y/o regenerador del aceite de Emú (Dromiceius oil) sobre el daño celular agudo inducido por tetracloruro de carbono en células hepáticas de ratas”. [Internet]. 2008. Available from:
<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2008/fco.48e/doc/fco.48e.pdf>
30. Bolonia C De, Filippini F, Estudios C De. Universidad Complutense de Madrid 1-. 2011;1–16.
31. Mossanen JC, Tacke F. Acetaminophen-induced acute liver injury in mice. *Lab Anim [Internet]*. 2015 Apr 2 [cited 2020 Feb 18];49(1 Suppl):30–6. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25835736>
32. Sohrabinezhad Z, Dastan D, Asl SS, Nili-Ahmadabadi A. Allium Jesdianum Extract Improve Acetaminophen-Induced Hepatic Failure through Inhibition of Oxidative/Nitrosative Stress. *J Pharmacopuncture*. 2019;22(4):239.

33. Federico A, Dallio M, Loguercio C. Silymarin/Silybin and chronic liver disease: A marriage of many years. *Molecules*. 2017 Feb 1;22(2):191.
34. Kazemifar A, Kazemifar AM, Hajaghamohammadi AA, Samimi R, Alavi Z, Abbasi E, et al. Hepatoprotective Property of Oral Silymarin is Comparable to N-Acetyl Cysteine in Acetaminophen Poisoning. *Gastroenterol Res [Internet]*. 2012 Oct 31 [cited 2020 Feb 18];5(5):190–4. Available from:
<https://www.gastrores.org/index.php/Gastrores/article/view/495>
35. Hira K, Sultana V, Ara J, Haque SE. Protective role of Sargassum species in liver and kidney dysfunctions and associated disorders in rats intoxicated with carbon tetrachloride and acetaminophen. *Pak J Pharm Sci [Internet]*. 2017 May [cited 2020 Mar 5];30(3):721–8. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28653915>
36. Balaji Raghavendran HR, Sathivel A, Devaki T. Antioxidant effect of *Sargassum polycystum* (Phaeophyceae) against acetaminophen induced changes in hepatic mitochondrial enzymes during toxic hepatitis. *Chemosphere*. 2005 Oct 1;61(2):276–81.
37. Villegas, Silva VA. Evaluacion del potencial de *Sargassum lapazeanum* Setchell & N.L. Gardner (Ochrophyta: Fucales, Phaeophyceae) como fuente de compuestos antibacterianos, antioxidantes y anticoagulantes. 2014.

GLOSARIO

Angiogénesis

Formación de una red vascular a partir de los vasos anteriores, que ocurre en diferentes condiciones patológicas como el crecimiento tumoral y la metástasis. Interviene en algunos procesos fisiológicos como el crecimiento de órganos, la curación de heridas y la reproducción.

Carragenano

Es una mezcla de polisacáridos naturales procedentes de algas de varias familias de *Rhodophyceae*, algas marinas rojas, considerado por la FDA como un agregado inocuo.

Endógeno

Que se forma o engendra en el interior de algo, como la célula que se forma en el interior de otra.

Enfermedad veno-oclusiva hepática

Afección que impide el funcionamiento de algunas venas del hígado. Esto hace que disminuya el flujo de sangre en el hígado y cause daños.

Esteatosis

Es una acumulación de grasa en el hígado. Se debe a un aumento de los lípidos en las células hepáticas y puede ser fuente de complicaciones en caso de obesidad, de intoxicación alcohólica (asociada a un consumo excesivo de alcohol) o de trastornos hepáticos (como la diabetes de tipo 2).

Esteatosis Hepática

Es una acumulación de grasa en el hígado. Se debe a un aumento de los lípidos en las células hepáticas y puede ser fuente de complicaciones en caso de

obesidad, de intoxicación alcohólica asociada a un consumo excesivo de alcohol o de trastornos hepáticos como la diabetes de tipo 2.

Esteatohepatitis

La esteatohepatitis no alcohólica (NASH) es una forma de enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD) en la que, además de acumulación de grasa en el hígado, hay inflamación y lesión de las células hepáticas.

Epigastrio

Región superior del abdomen que va desde la punta del esternón hasta el ombligo.

Exocrino

Que tiene un conducto excretor por el cual salen las sustancias que elabora.

Hemocromatosis

Afección por la que el cuerpo absorbe y almacena más hierro de lo que necesita. La cantidad extra de hierro se almacena en el hígado, el corazón y el páncreas, y a veces causa enfermedad del hígado, problemas cardíacos, insuficiencia orgánica y cáncer.

Hepatitis colestásica

Es una forma infrecuente de evolución de hepatitis aguda en la infancia y puede estar causada por el virus A o B de la hepatitis.

Hipocondrio

Cada una de las dos partes, izquierda y derecha, del epigastrio situado debajo de las costillas falsas.

Hipolipidemia

Es una disminución de la concentración plasmática de lipoproteínas causada por factores primarios (genéticos) o secundario.

Isquemia

Detención o disminución de la circulación de sangre a través de las arterias de una determinada zona, que comporta un estado de sufrimiento celular por falta de oxígeno y materias nutritivas en la parte afectada.

Metaloproteinasas de la matriz

Son proteínas integrantes de la matriz extracelular (MEC) las cuales son capaces de activar factores de crecimiento, receptores de superficie y moléculas de adhesión. Son encargadas de la remodelación de los componentes proteicos de la matriz extracelular de todos los tejidos.

Parénquima

Tejido esencial de determinados órganos, como los pulmones, el hígado o los riñones.

Peliosis hepática

Es una enfermedad vascular poco frecuente, caracterizada por nódulos hepáticos únicos o múltiples, constituidos por sinusoides dilatados y múltiples espacios lacunares llenos de sangre.

Síndrome de Budd-Chiari

Es una obstrucción del flujo en la vena hepática originada en algún sitio desde las pequeñas venas hepáticas localizadas dentro del hígado hasta la vena cava inferior y la aurícula derecha.

ANEXOS

Recolecta de algas pardas *Sargassum ecuadoreanum*



Lavado, secado y molienda de las algas



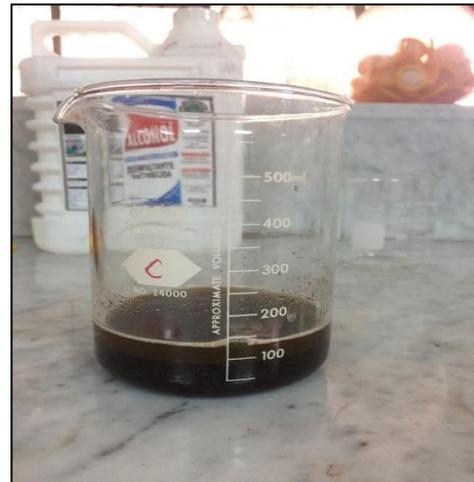
Determinación de grasas, polisacáridos y cenizas totales



Determinación de sólidos totales

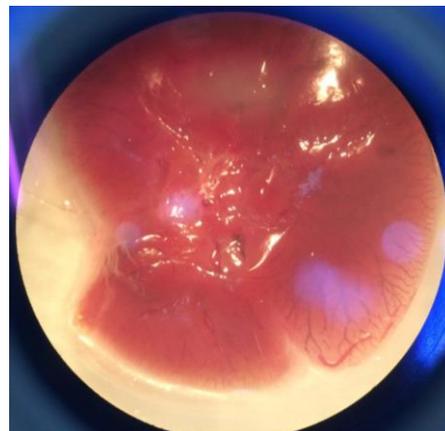
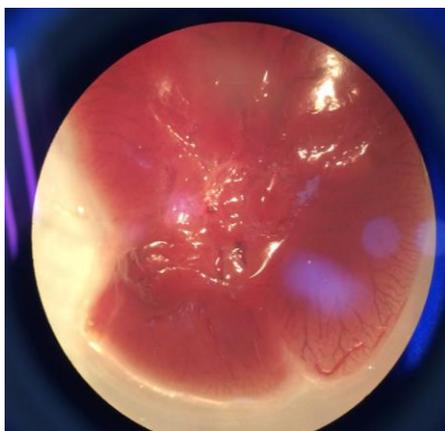


Preparación del extracto hidroalcohólico del alga parda

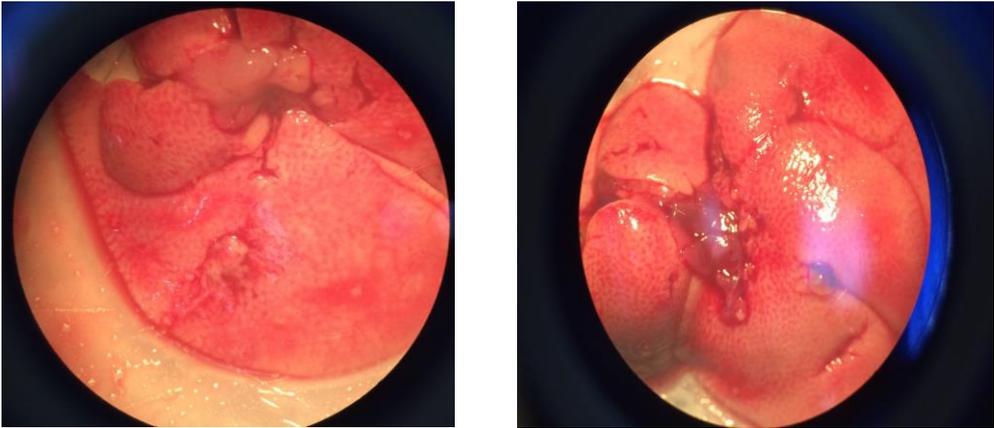


Análisis macroscópico del hígado de los animales de experimentación

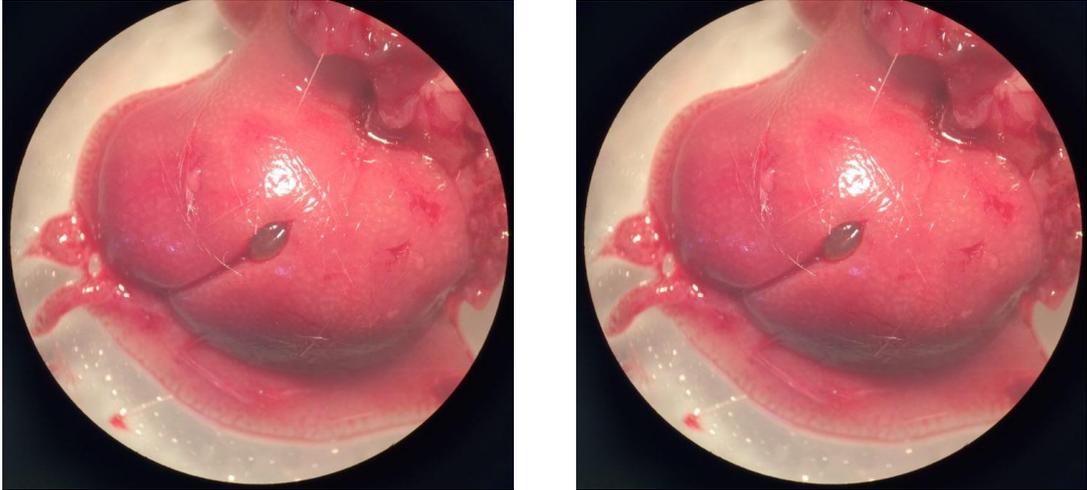
Grupo 1 Control normal sin tratamiento y sin inducción



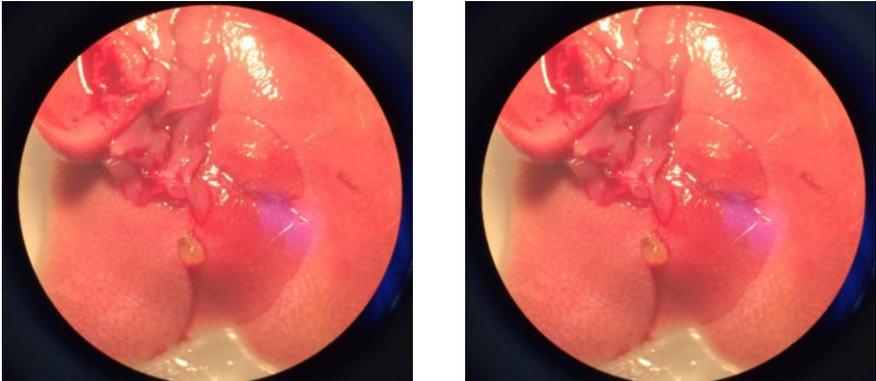
Grupo 2 Control negativo con tetracloruro de carbono CCl4



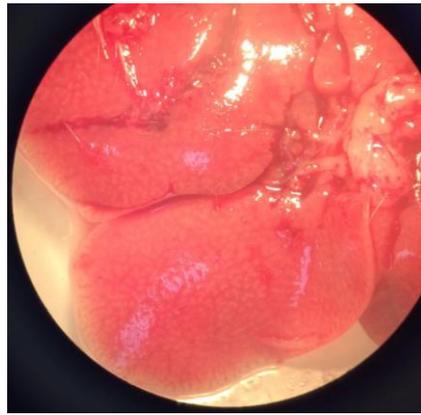
Grupo 3 Control positivo Silimarina + CCl4



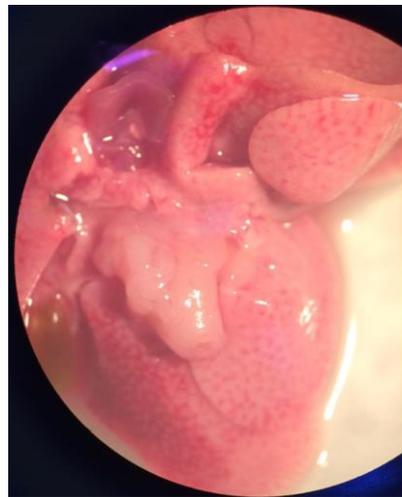
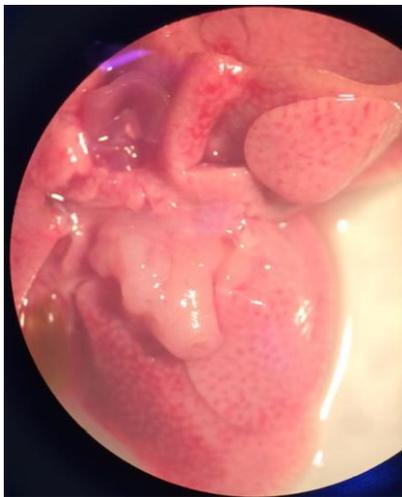
Grupo 4 Control positivo N- acetil cisteína + CCL4



Grupo 5 Extracto hidroalcohólico Dosis de 1000 mg /kg + CCl4



Grupo 6 Extracto hidroalcohólico Dosis de 500 mg /kg + CCl4



Grupo 6 Extracto hidroalcohólico Dosis de 500 mg /kg + CCl4

