

**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**

**“Nuevos Tiempos. Nuevas Ideas”**

**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**



**EFFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE  
LA *Brassica oleracea* L. (COL MORADA) EN DAÑO HEPÁTICO  
INDUCIDO CON TETRACLORURO DE CARBONO EN RATAS**

**Tesis para optar el Título Profesional de Químico  
Farmacéutico y Bioquímico**

**TESISTAS:**

**BACHILLER MARLENY LIDA MAITA INGA**

**BACHILLER JUNIOR ERNESTO ZAMORA ZAMUDIO**

**ASESOR: Mg. LUIS ALEJANDRO ROA CHUNGA**

**LIMA –PERÚ**

**2019**

## DEDICATORIA

*A mi padre celestial por guiarme y darme fuerzas*

*Para seguir adelante.*

*A mis padres Marleni y Juan, por su amor, su cariño, su sacrificio de darme una carrera y creer siempre en mí.*

*A mis hermanos por darme aliento y motivación.*

*A Ayrton por estar siempre brindándome su apoyo.*

**Marleny Lida Maita Inga**

*A mi familia, en especial a mi madre Miriam y mi abuela Anatolia que me brindaron su apoyo incondicional, consejo y aliento en los momentos que más lo necesitaba.*

*A quienes me observan desde el cielo, mi abuelo Antero y mi padre Ernesto que siempre creyeron en mí.*

**Junior Ernesto Zamora Zamudio**

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres por la educación y formación que me han brindado.

A mi amiga Yessenia por haberme asesorado y guiado hasta lo último en la culminación del trabajo iniciado.

A Junior, mi amigo y colega, por su dedicación y disposición en la ejecución del trabajo de investigación.

Agradezco a mis maestros por los conocimientos brindados.

***Marleny Lida Maita Inga***

Tus esfuerzos son impresionantes, tu amor es invaluable para mí. Junto a mi padre me educaste y me has proporcionado todo y cada cosa que he necesitado, sin ti esto no hubiera sido posible, gracias madre.

Familia, amigos y personas especiales en mi vida conjunto de seres queridos que suponen benefactores de importancia inimaginable en la culminación de este proyecto.

***Junior Ernesto Zamora Zamudio***

# ÍNDICE

Dedicatoria

Agradecimiento

Índice

Índice De Tablas

Índice De Figuras

Resumen

Abstract

	Pagina
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	3
<b>CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	5
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA .....	5
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	6
<b>1.2.1. Problema general</b> .....	6
<b>1.2.2. Problemas específicos</b> .....	6
1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN .....	6
<b>1.3.1. Objetivo general</b> .....	6
<b>1.3.2. Objetivos específicos</b> .....	7
1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	8
1.5. LIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN. ....	8
<b>CAPITULO II: MARCO TEORICO</b> .....	9
2.1 ANTECEDENTES .....	9
2.1.1. Antecedentes Nacionales.....	9
<b>2.1.2 Antecedentes extranjeros</b> .....	11
2.2. BASES TEÓRICAS .....	14
<b>2.2.1. HIGADO</b> .....	14
<b>2.2.2. HEPATOTOXICIDAD</b> .....	26
<b>2.2.3. TETRACLORURO DE CARBONO</b> .....	34
<b>2.2.4. TRANSAMINASA HEPATICA</b> .....	39
<b>2.2.5. PERFIL HEPATICO</b> .....	41
<b>2.2.6. BRASSICA OLERACEA</b> .....	43
2.3. FORMULACION DE HIPÓTESIS.....	46

2.3.1 Hipótesis general.....	46
2.3.2 Hipótesis específica. ....	46
2.4. VARIABLES .....	46
<b>Tabla N°01: Operacionalización de Variables</b> .....	46
2.5. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	47
<b>CAPITULO III: METODOLOGIA</b> .....	49
3.1. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	49
3.1.1. Tipo .....	49
3.1.2. Diseño de la investigación.....	49
3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA .....	49
3.2.1 Población.....	49
3.2.2 Muestra .....	49
3.2.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	50
3.2.4. Descripción del Instrumento. ....	50
3.2.5. Validación del instrumento.....	50
3.2.6. Técnicas de procesamiento y análisis de datos.....	50
3.3 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS.....	51
3.3.1 Material biológico: .....	51
3.3.2. Equipos.....	51
3.3.3. Materiales de vidrio .....	51
3.3.4. Reactivos .....	52
3.3.5. Equipos de Protección Personal .....	52
3.3.6. Materiales de Adaptación.....	53
3.3.7. Otros materiales.....	53
3.4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTALES .....	54
3.4.1 Preparación del Extracto.....	54
3.4.2 <i>Marcha de solubilidad</i> .....	56
3.4.3. Tamizaje fitoquímico .....	56
3.4.4. Actividad Hepatoprotectora del Extracto etanólico de <i>Brassica Oleracea L.</i> ....	60
<b>CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	67
4.1. RESULTADOS.....	67
4.1.1. Resultados de la marcha de solubilidad.....	67
4.1.2. Resultados de la marcha fitoquímica.....	67
4.1.3. Resultados de los parámetros bioquímicos.....	68

<b>4.1.4. Resultados del Análisis Histológico</b> .....	82
4.2. CONTRASTACION DE HIPOTESIS .....	87
4.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	88
<b>CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	91
5.1. CONCLUSIONES .....	91
5.2. RECOMENDACIONES .....	91
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	92
<b>ANEXOS</b> .....	101
Anexo 1: Matriz de Consistencia .....	102
Anexo 2: Certificado Taxonómico de la <i>Brassica Oleracea L.</i> (Colmorada).....	103
Anexo 3: Validación del Instrumento de Recolección de Datos .....	104
Anexo 4: Instrumento de Recolección de Datos (Ficha de Recolección de datos).....	107
Anexo 5: Protocolo del Perfil Hepático.....	109
<b>5.1. Grupo Control Negativo</b> .....	109
<b>5.2. Grupo Control Positivo</b> .....	110
<b>5.3. Grupo CCl4 + Silimarina</b> .....	111
<b>5.4. Grupo CCl4 + Extracto 500mg/Kg</b> .....	112
<b>5.5. Grupo CCl4 + Extracto 1000mg/Kg</b> .....	113
<b>5.6. Grupo CCl4 + Extracto 2000mg/Kg</b> .....	114
Anexo 6: Hoja Control y Boleta de Pago de los Animales de Experimentación.....	115
Anexo 7: Procedimiento de la Investigación. ....	116

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°01: Operacionalización de Variables.....	46
Tabla N°02: Criterios de Inclusión y Exclusión.....	49
Tabla N°03: Equipos utilizados en la investigación.....	51
Tabla N°04: Materiales de Vidrio.....	51
Tabla N°05: Reactivos.....	52
Tabla N°06: Equipos de protección personal.....	53
Tabla N°07: Materiales de adaptación.....	53
Tabla N°08: Otros materiales.....	53
Tabla N°09: Peso promedio de cada grupo.....	60
Tabla N°10: Esquema de los grupos.....	64
Tabla N°11: Peso promedio final de cada grupo.....	66
Tabla N°12: Ensayo de Solubilidad del extracto etanólico de la <i>Brassica Oleracea</i> L. (Col morado).....	67
Tabla N°13: Metabolitos del extracto etanólico de la <i>Brassica Oleracea</i> L. (Col morada).....	67
Tabla N°14: Medias de Transaminasa G. Oxalacética según el Tratamiento....	68
Tabla N°15: Análisis de Varianza de TGO.....	69
Tabla N°16: Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias del TGO.....	70
Tabla N°17: Medias de Transaminasa G. Pirúvica según el Tratamiento.....	71
Tabla N°18: Análisis de Varianza de TGP.....	72
Tabla N°19: Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias del TGP.....	72
Tabla N°20: Medias de Fosfatasa Alcalina según Tratamiento.....	73

Tabla N°21: Analisis de Varianza de la Fosfatasa Alcalina.....	74
Tabla N°22: Pruebas simultaneas de Tukey para diferencias de las medias de la Fosfatasa Alcalina.....	75
Tabla N°23: Medias de las Proteínas Totales según Tratamiento.....	76
Tabla N°24: Analisis de Varianza de las Proteínas Totales.....	77
Tabla N°25: Pruebas simultaneas de Tukey para diferencias de las medias de las Proteínas Totales.....	77
Tabla N°26: Medias de Albuminas según Tratamiento.....	78
Tabla N°27: Analisis de Varianza de las Albuminas.....	79
Tabla N°28: Pruebas simultaneas de Tukey para diferencias de las medias de las Albuminas.....	80
Tabla N°29: Medias de los resultados de la Globulina según Tratamiento.....	81
Tabla N°30: Analisis de Varianza de la Globulina.....	81



## ÍNDICE DE FIGURA

Figura N°01: Flujograma de la extracción del extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea</i> L. (Col morada).....	55
Figura N°02: Ensayo de Solubilidad del extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea</i> L. (Col morada).....	56
Figura N°03: Grafico de Intervalos de TGO vs Tratamiento.....	71
Figura N°04: Grafico de Intervalos de TGP vs Tratamiento.....	73
Figura N°05: Grafico de Intervalos de Fosfata Alcalina vs Tratamiento.....	76
Figura N°06: Grafico de Intervalos de Proteínas Totales vs Tratamiento.....	78
Figura N°07: Grafico de Intervalos de Albuminas vs Tratamiento.....	80
Figura N°08: Grafico de Intervalos de Globulinas vs Tratamiento.....	82
Figura N°09: Análisis Histológico del Grupo control Negativo.....	83
Figura N°10: Análisis Histológico del Grupo control Positivo (4x).....	83
Figura N°11: Análisis Histológico del Grupo control Positivo (40x).....	84
Figura N°12: Análisis Histológico del Grupo CCl4 + Silimarina.....	84
Figura N°13: Análisis Histológico del Grupo CCl4 + Ext. 500mg/kg.....	85
Figura N°14: Análisis Histológico del Grupo CCl4 + Ext. 1000mg/kg.....	86
Figura N°15: Análisis Histológico del Grupo CCl4 + Ext. 2000mg/kg.....	86
Figura N°16: Macerado, extracto líquido y extracto seco de la Col morada.....	116
Figura N°17: Marcha de Solubilidad del extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea</i> L. (Col morada).....	117
Figura N°18: Marcha Fitoquímica del extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea</i> L. (Col morada).....	117
Figura N°19: Animales de experimentación.....	118
Figura N°20: Pesado Inicial de las Ratas.....	118

Figura N°21: Administración por canulación gástrica.....	118
Figura N°22: Administración por orogástrica.....	119
Figura N°23: Pesado final de las ratas.....	119
Figura N°24: Anestesia por Éter Etílico.....	120
Figura N°25: Extracción de sangre por punción cardiaca.....	120
Figura N°26: Muestras colocadas en tubos con tapón rojo.....	121
Figura N°27: Extracción y peso del hígado.....	121
Figura N°28: Centrifugado de las muestras de sangre.....	121

## RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue comprobar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de la *Brassica Oleracea* L. (Col Morada) en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono. La metodología aplicada fue de tipo experimental y aplicada. La población de estudio estuvo constituida por 30 ratas, agrupados en 6 grupos (5 ratas para control negativo, 5 ratas para control positivo sin tratamiento, 5 ratas con tratamiento de Silimarina, 5 ratas con tratamiento de extracto al 500 mg/kg, 5 ratas con tratamiento con extracto al 1000 mg/kg y 5 ratas para tratamiento con extracto al 2000 mg/kg). Como resultado tenemos que la concentración de 1000mg/kg fue la que demostró tener mayor efecto hepatoprotector, y a la comparación con la Silimarina, de igualmente se evidencia que la concentración de 1000mg/kg del extracto etanólico de *Brassica Oleracea* L. (Col Morada) fue más efectiva. En el análisis histológico se visualizó que hubo mayor daño hepático en el grupo de tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) a diferencia del grupo de CCl<sub>4</sub> + extracto 1000mg/Kg y el grupo de Silimarina donde se observó un parénquima hepático más conservado. Finalmente, se concluye que existe un efecto hepatoprotector del extracto etanólico de la Col Morada frente al daño hepático inducido en ratas.

**Palabras Clave:** Efecto hepatoprotector, *Brassica Oleracea*, Col Morada, Daño hepático

## ABSTRACT

The objective of the present investigation was to verify the hepatoprotective effect of the ethanol extract of *Brassica Oleracea* L. (Col Morada) in rats with hepatic damage induced with carbon tetrachloride. The methodology applied was experimental and applied. The study population consisted of 30 rats, grouped into 6 groups (5 rats for negative control, 5 rats for positive control without treatment, 5 rats with silymarin treatment, 5 rats with 500 mg / kg extract treatment, 5 rats with treatment with 1000 mg / kg extract and 5 rats for treatment with 2000 mg / kg extract). As a result we have that the concentration of 1000mg / kg was the one that proved to have the greatest hepatoprotective effect, and compared to Silymarin, it is also evident that the concentration of 1000mg / kg of the ethanolic extract of *Brassica Oleracea* L. (Col Morada) was more effective. The histological analysis showed that there was greater liver damage in the carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) group, unlike the CCl<sub>4</sub> + 1000mg / Kg extract group and the Silymarin group where a more conserved liver parenchyma was observed. Finally, it is concluded that there is a hepatoprotective effect of the ethanol extract of Col Morada against liver damage induced in rats.

**Keywords:** Hepatoprotective effect, *Brassica Oleracea*, Purple cabbage, Liver damage

## INTRODUCCIÓN

El hígado es un órgano de suma importancia en nuestras vidas, ya que se encarga de una gran variedad de funciones, entre las más resaltantes se encuentran la producción de bilis que luego es segregada en el intestino para la digestión de grasas, almacenamiento de glucosa en glucógeno como reserva energética, purificación de sustancias dañinas y fármacos en nuestra sangre y ser participante activo en los metabolismos de lípidos, carbohidratos y proteínas. Por lo que una enfermedad en este órgano es de importancia sanitaria y dado que en el día a día estamos propensos al estrés y a diferentes patógenos que pueden afectar al hígado, es fundamental la búsqueda de nuevos métodos para la protección de este órgano.

Los extractos obtenidos de plantas y dependiendo sus características contienen una serie de metabolitos secundarios como taninos, alcaloides, compuestos fenólicos, esteroides, flavonoides y otros más, siendo los flavonoides los que han demostrado tener un gran efecto antioxidante por su capacidad de eliminar los radicales libres de nuestro sistema, de los que se han demostrado son causantes de una gran cantidad de enfermedades, entre ellas las afecciones hepáticas.

Las plantas medicinales a diferencia de los fármacos sintetizados en el laboratorio tienen una gran ventaja, estos no se acumulan en el organismo y tienen efectos secundarios limitados, claro está que se tienen que realizar los estudios necesarios para garantizar lo anteriormente dicho y encontrar nuevos principios activos.

Esta investigación fue realizada con el fin de evaluar el efecto hepatoprotector de la "Brassica Olearacea L." también llamada col morada que presenta una gran diversidad de metabolitos secundarios destacando los flavonoides. Por otra parte, el ámbito profesional el interés está relacionado en conocer sustancias de origen natural con beneficios terapéuticos pues hoy en día es de gran importancia para las ciencias farmacéuticas por su potencial terapéutico, industrial y comercial.<sup>1</sup>

En el presente estudio se utilizó una metodología experimental preclínica, in vivo, del tipo aplicada, prospectiva, transversal orientada al estudio de indicadores bioquímico (perfil hepático). La técnica utilizada para la recolección de datos fue

la observacional, de tipo sistematizada controlada, y el instrumento utilizado fue la ficha de observación AD-HOC que se basaba en los valores establecidos en esta investigación.

## CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

El hígado es la glándula anexa más importante del aparato digestivo, encargado de metabolizar sustancias químicas que consumimos diariamente.<sup>2</sup> El daño hepático es producido por diferentes mecanismos, lo que acrecienta la incidencia de enfermedades hepática.<sup>3</sup>

Las enfermedades hepáticas crónicas como la cirrosis, forman parte de un de las causas de mortalidad y morbilidad a nivel mundial, siendo resultado en mayor porcentaje del consumo crónico de alcohol, además de las enfermedades virales crónicas como la hepatitis. En el Perú, se ha convertido en la quinta causa de mortalidad y suele manifestarse entre los 30 a 59 años de edad.<sup>3</sup>

En la actualidad la mayoría de las terapias de enfermedades hepáticas están dirigidas a ayudar a las células dañadas del hígado, mediante el suministro de agentes considerados como hepatoprotectores. Estos contrarrestan las alteraciones en los mecanismos de defensa antirradicalarios en el hígado. Es indiscutible el beneficio que con lleva a la salud humana el mantener una dieta elevada en frutas y verduras, beneficios que se atribuyen principalmente al poder antioxidante de los nutrientes y fotoquímicos ya que contienen una alta cantidad de compuestos fenólicos, que pueden ejercer efectos benéficos en aquellas enfermedades que están relacionadas con el estrés oxidativo.<sup>4</sup>

Se tiene conocimiento que las plantas tienen propiedades terapéuticas siendo importante para el tratamiento de enfermedades a nivel mundial. Por este motivo surge la necesidad de estudiarlas aplicando el método científico con el fin de respaldar el conocimiento ancestral de sus propiedades terapéuticas, así como investigar nuevas aplicaciones. La Brassica Oleracea L. (Col Morada), es una planta originaria de Europa, introducida en el Perú, es comúnmente utilizada para la alimentación posee Flavonoides en gran concentración, lo cual se le atribuye propiedades antioxidantes y entre otras propiedades beneficiosas para la salud.<sup>1</sup>

## **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

### **1.2.1. Problema general.**

¿Cuál es el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de la *Brassica oleracea* L. (Col Morada) en daño hepático inducido con tetracloruro de carbono en ratas?

### **1.2.2. Problemas específicos.**

1. ¿Qué metabolitos presenta el extracto etanólico de la *Brassica oleracea* L. (Col Morada)?
2. ¿Cuál es la concentración del extracto etanólico de la *Brassica oleracea* L. (Col Morada) que presenta efecto hepatoprotector en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono?
3. ¿Cuál es el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de la *Brassica oleracea* L. (Col Morada) en comparación con la Silimarina en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono?

## **1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **1.3.1. Objetivo general.**

Determinar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de la *Brassica oleracea* L. (Col Morada) en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono.



### **1.3.2. Objetivos específicos.**

1. Identificar algunos metabolitos en el extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col Morada) en ratas.
2. Determinar la concentración óptima del extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col Morada) que presenta efecto hepatoprotector en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono.
3. Comparar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col Morada) con Silimarina en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono.

#### **1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.**

En la actualidad las enfermedades crónicas del hígado forman parte de las principales causas de mortalidad y demanda de hospitalización, estas enfermedades pueden ser producto de diversas alteraciones en el funcionamiento de las células hepáticas. Teniendo como base el estudio hecho sobre las principales causas de defunciones en el 2016 por la OMS donde describe a la cirrosis y al cáncer de hígado entre las 10 principales en países de ingresos mediano bajos y altos.<sup>5</sup>

En otra perspectiva más cercana a nuestra realidad se realizó un estudio sobre las causas de muertes en el Perú desde 1986 al 2015 en el cual podemos comparar que en 1986 la cirrosis y enfermedades crónicas del hígado ocupan el décimo lugar con una tasa de 15.5% en 1986, mientras que en el 2015 vemos que esta cifra aumenta a un 21.3% llegando hasta el quinto lugar.<sup>6</sup>

La Brassica Oleracea (Col Morada) es comúnmente utilizada para la alimentación, no cuenta con un respaldo científico sobre sus propiedades terapéuticas. Por ello se pretende brindar con el presente estudio un mayor conocimiento sobre la especie vegetal Col Morada, sobre sus propiedades terapéuticas como agente hepatoprotector y ofrecerlo como una alternativa.

Se proporciona evidencias científicas sobre la especie en estudio. Serán beneficiados con los resultados de la presente investigación la población en general, en especial a los pacientes que sufren de enfermedades hepáticas, al brindar sustento científico sobre el uso seguro de la planta en estudio.

#### **1.5. LIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.**

Las principales limitaciones estuvieron relacionadas con la disponibilidad económica para el acceso a materiales como instrumentos y reactivos, además de un ambiente para la ejecución de la parte experimental como lo es un bioterio, ya que, la facultad no cuenta con ello.

## CAPITULO II: MARCO TEORICO

### 2.1 ANTECEDENTES

#### 2.1.1. Antecedentes Nacionales

**Fernández et al. (2015) “Estudio Etnobotánico y fotoquímico de hojas de *Brassica oleracea* L. (COL MORADA)”**<sup>1</sup>. Se elaboró un estudio etnobotánico y fotoquímico de *Brassica oleracea* L. 'col morada', con la finalidad de detectar los metabolitos secundarios fenólicos. Se trabajó con aproximadamente 1kg de hojas de col morada, pasando por una deshidratación parcial, reducción de tamaño, maceración metabólica, para posteriormente ser un extracto etanólico. En el análisis de la marcha fotoquímico del extracto etanólico de *Brassica oleracea* L. se detectó la presencia de flavonoides, antocianósidos y otros. Se realizó ensayos de cromatografía en capa fina en los diferentes sistemas de solventes (cloroformo: metanol). Mediante cromatografía de columna rápida se fracciono con diclorometano, etanol y agua, obteniéndose en el subextracto etanólico presencia de flavonoides y otros compuestos fenólicos a la luz UV, que fue corroborado al utilizar reveladores como amoniaco y tricloruro férrico. En la determinación estructural mediante espectroscopia UV-visible del subextracto etanólico se propusieron tres probables flavonoides: uno de flavanona y dos de núcleo flavona.

**Canelo P., Mendoza Y. (2017) “Efecto hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de *Cúrcuma longa* L. en daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono en ratas albinas”**<sup>7</sup>. Se realizó una investigación de tipo cuantitativo, experimental, prospectivo y longitudinal con el objetivo de evaluar el efecto hepatoprotector del extracto acuoso de la *Cúrcuma longa* L. frente al daño hepático agudo producido en ratas albinas. Se trabajó con 20 ratas machos agrupados en 5 grupos de 4 integrantes en cada grupo: 4 para control negativo, 4 para control positivo, 4 para control droga (silimarina 80%), 4 para tratamiento experimental con

extracto de *c. longa* (100mg/kg) y 4 para tratamiento experimental con extracto de *c. longa* (200mg/kg). Posteriormente se procedió a recolectar muestras de sangre para la estimación de marcadores bioquímicos. El grupo positivo mostró un aumento de ALT, AST y ALP con respecto al grupo control negativo. Los grupos experimentales de cúrcuma (100 mg y 200 mg) con CCl<sub>4</sub> mostraron una disminución significativa en los niveles séricos de AST, ALT y ALP. Finalmente concluyen que la cúrcuma, sembrada en la Región Amazónica del Perú, tiene efecto hepatoprotector frente al CCl<sub>4</sub>.

**Jauregui, Martínez (2015) “Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Ocimum Basilicum* L. "albahaca morada" en *rattus novergicus* variedad sprague dawley "ratas" intoxicados con tetracloruro de carbono Arequipa 2014”** <sup>8</sup>. Se realizó un estudio de tipo experimental y longitudinal con el objetivo de evaluar el efecto hepatoprotector del extracto de *Ocimum basilicum* L. en ratas. Se utilizaron 24 ratas distribuidas en 6 grupo de 4 integrantes cada uno. Al grupo blanco se le administró CCl<sub>4</sub> con la finalidad de producir daño hepático, al grupo experimental N° 1 se le administró CCl<sub>4</sub> y extracto acuoso de *Ocimum basilicum* L. a dosis de 0.5g/kg/día, al grupo experimental N° 2 se le administró CCl<sub>4</sub> a dosis de 0.5ml/kg/2v/semana, y extracto acuoso de *ocimum basilicum* a dosis de 1.0g/kg/día. Finalmente, al grupo experimental N° 3 se le administró CCl<sub>4</sub> a dosis de 0.5ml/kg/2v/semana y el fármaco hepatoprotector hepabionta a dosis de 1.5mg/kg/día. (Grupo control). Se utilizó el método Valtex en la determinación de TGO y TGP, siendo la actividad hepática evaluada a los diez, veinte, y treinta días. En los resultados se observa disminución significativa en la actividad de TGO y TGP en el grupo experimental N°2 y en el grupo experimental N° 3 de los animales de experimentación que recibieron hepabionta a dosis de 1.5mg/kg/día.

**Hañari, Arroyo, Herrera O, Herrera H (2015) “Efecto hepatoprotector del extracto hidroetanólico atomizado del maíz morado (*Zea mays* L.) en lesiones hepáticas inducidas en ratas”** <sup>4</sup>. Se realizó un estudio de tipo experimental con el objetivo de evaluar el efecto hepatoprotector del extracto hidroetanólico de la *Zea mays* L. en ratas. Se trabajaron con 60 ratas,

dividiendo en 6 grupos con 10 ratas en cada uno. Por 15 días, se les administró primero fenobarbital a 0,5 g/L en agua potable; luego se administró CCl<sub>4</sub> a una dosis de 0,2 mL/kg. Al grupo 1 se le administro suero fisiológico; Grupo 2: CCl<sub>4</sub> 0,2 mL/kg; Grupo 3: CCl<sub>4</sub> 0,2 mL/kg+ silimarina 25 mg/kg; Grupo 4: CCl<sub>4</sub> 0,2 mL/Kg + extracto a 500 mg/kg; Grupo 5: CCl<sub>4</sub> 0,2 mL/Kg + extracto a 1 000 mg/kg; Grupo 6: CCl<sub>4</sub> 0,2 mL/Kg + extracto a 2 000 mg/kg. En los resultados se obtuvo que el nivel de daño hepático inducido con fenobarbital mas CCl<sub>4</sub>; se redujeron con la silimarina y las diferentes concentraciones del extracto del maíz morado.

**Cuaresma, Lizárraga (2016) “Determinación del efecto de la *Brassica oleracea* L. (brócoli) sobre la hepatotoxicidad inducida con paracetamol en animales de experimentación, Arequipa 2013.”**<sup>9</sup> Se realizó un estudio de tipo experimental con el objetivo de evaluar el efecto de la *Brassica oleracea* L. sobre las enzimas hepáticas en la intoxicación aguda en ratas. Se trabajó con 35 ratas, las cuales fueron divididas en 5 grupos de 7 cada uno y de la siguiente manera: Grupo 1 al cual se le administró 1000mg/kg de paracetamol; Grupo 2, el cual solo recibió agua y alimento; Grupo 3 recibió una dosis de 1000mg/kg de brócoli liofilizado; Grupo 4, al primer grupo experimental, se le administró primero una suspensión de brócoli liofilizado y también de paracetamol; Grupo 5, segundo grupo experimental, recibió primero la suspensión de paracetamol y luego la suspensión de brócoli. La suspensión de *Brassica oleracea* a dosis de 1000mg/kg produjo una significativa disminución en los niveles de enzimas: TGO, TGP y fosfatasa alcalina, finalmente las pruebas estadísticas muestran que existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos experimentales a lo largo de catorce días de experimentación.

### **2.1.2 Antecedentes extranjeros**

**Jiménez, Montero, Martínez, García, Pérez (2015) “Efecto hepatoprotector del Noni-C en la intoxicación experimental inducida por tetracloruro de carbono”**<sup>10</sup>. Realizaron una investigación de tipo experimental con la finalidad de determinar el efecto hepatoprotector del

producto natural Noni-C en el daño hepático inducido por tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>). Se trabajó con 24 ratas de sepa Wistar divididas en 4 grupos de 6. Un primer grupo tratado como control negativo con agua estéril, el segundo grupo como control positivo solo con CCl<sub>4</sub> a la dosis de 0.5 mL/kg, el tercer grupo tratado con Noni-C a la dosis de 200 mg/kg + CCl<sub>4</sub> y el cuarto grupo se le administro Noni-C a dosis de 400 mg/kg de peso + CCl<sub>4</sub>. Estos grupos se trataron por un periodo de 21 días con Noni-C y posteriormente se indujo la intoxicación con CCl<sub>4</sub> intraperitoneal durante 3 días. A partir de la investigación realizada se concluye que el tratamiento preventivo con Noni-C a dosis de 400 mg/kg reduce la gravedad del daño hepático.

**Gnanadesigan, Ravikumar, Inbaneson (2011) “Propiedad hepatoprotector y antioxidante del extracto de corteza de la halófito marina *Luminetzer racemosa* en hepatotoxicidad inducida por CCL<sub>4</sub>”**

<sup>11</sup>. Elaboraron una investigación del tipo experimental con el propósito de identificar la actividad antioxidante y hepatoprotector del extracto de corteza de *Luminetzer racemosa*. Se usaron ratas machos de sepa Wistar (150-200mg) divididas en 6 grupos de 9, donde se dispuso el primer grupo como control, el segundo grupo hepatotóxico, el tercer grupo control positivo con silimarina y el cuarto, quinto y sexto grupo con diferentes dosis del extracto de corteza (100, 200, 300 mg/kg). Los resultados arrojaron que el nivel de TGO, TGP, fosfatasa alcalina, bilirrubina, azúcar, colesterol y lactato deshidrogenasa aumentaron significativamente en ratas tratadas con hepatotóxico en comparación con el grupo control y disminuyo con la dosis del extracto de 300 mg/kg. Se concluye que la propiedad hepatoprotectora y antioxidante del extracto de corteza de la halófito marina *Luminetzer racemosa* podrían ser la presencia de flavonoides, alcaloides y polifenoles.

**Muñoz, Soria, Pérez, Cedillo, Huacuja, Miranda (2017) “Efecto Hepatoprotector de una mezcla de siete plantas en cirrosis inducida con tetracloruro de carbono”<sup>12</sup>.**

Elaboraron una investigación de tipo experimental con el objetivo de demostrar de demostrar el efecto hepatoprotector de una mezcla de siete plantas (EHAM7), en ratas cirróticas

inducidas con tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>). Se utilizaron 48 ratas macho con las cuales se formaron 6 grupos de trabajo, un primer grupo sin tratamiento, al segundo se le administro 1ml de solución salina (SS) por vía oral, al siguiente grupo se le administro 0.2ml de aceite mineral (AM) por vía intraperitoneal, al cuarto grupo se le administro 200mg/kg de EHAM7 en 1ml de SS cada 3 días durante 8 semanas, al quinto grupo se le aplico 0.2ml de una mezcla de CCl<sub>4</sub>/AM cada tercer día durante 8 semanas y al último grupo se le suministro 200mg/kg de EHAM7 en 1ml de SS durante una semana previa a la inducción de daño hepático por CCl<sub>4</sub>; las ratas fueron sacrificadas con ayuda de éter etílico con la finalidad de obtener una muestra de suero para analizar la funcionabilidad del hígado (perfil hepático y lipídico).

**Favari, Arce, Ortiz, Pablo, Soto, Meléndez (2013) “Efectos hepatoprotector y antioxidante de Taraxacum Officinale en el daño hepático agudo inducido por el tetracloruro de carbono en la rata”** <sup>13</sup> Se realizó una investigación del tipo experimental con el objetivo de evaluar los efectos hepatoprotector y antioxidante de Taraxacum Officinale (100, 200 y 400mg/kg) en la intoxicación hepática aguda con tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) en ratas macho adultas wistar, divididas en 7 grupos de 6 a 8 ratas. Al primer y segundo grupo se le administro 0.5 mL de aceite de maíz y agua destilada respectivamente por cada 100g de peso corporal (PC), a los grupos 3, 4, 5, 6 y 7 se les administro 0.5 mL de CCl<sub>4</sub>. Para los grupos 2 y 4 se le administro 100mg/kg del extracto acuoso de T. Officinale y a los grupos 5 y 6 se le administro dosis oral de 200mg/kg y 400mg/kg respectivamente del extracto de T. Officinale. Mientras que el grupo 7 recibió 10µg/rata/día de colchicina para determinar el efecto antioxidante de la planta utilizada. Se llegó a la conclusión de que la planta T. Officinale presenta acción hepatoprotectora y antioxidante contra la inducción del daño hepático por CCl<sub>4</sub>.

## **2.2. BASES TEÓRICAS**

### **2.2.1. HIGADO**

Es la glándula de mayor tamaño y a su vez es considerada la víscera con mayor dimensión del cuerpo humano, cumple un papel de suma importancia para el organismo por que se encarga de la metabolización cuando se lleva a cabo la secreción y la almacenación de la glucosa, proteínas y los diversos factores pertenecientes a la coagulación.<sup>14</sup>

#### **2.2.1.1. ANATOMIA HEPATICA**

##### **2.2.1.1.1. SITUACION**

El hígado está ubicado al lado derecho a nivel superior del abdomen el cual tiene una extensión hasta el hipocondrio del lado izquierdo estando arriba del estómago, intestinos (delgado y grueso), los riñones y por debajo del diafragma. Se encuentra protegido por la parrilla costal. Pesa aproximadamente 2 kilogramos y esta dividido por dos lóbulos los cuales son izquierdo y derecho.<sup>15</sup>

##### **2.2.1.1.2. HISTOLOGIA HEPATICA**

Este órgano presenta un tejido de gran estabilidad por que tiene la capacidad de regenerarse antes los diversos estímulos causados por tumores o lesiones. Pero a su vez el hígado cuando sufre afectaciones por la ingesta de alcohol u otras infecciones esto producirá una pérdida constante del parénquima y es debido a esto que este parénquima se ve afectado y es sustituido por una acumulación de tejido fibrosos y grasas y esto conllevara al desarrollo de una cirrosis.<sup>15</sup>



### **2.2.1.2 ESTRUCTURA HEPATICA**

El hígado esta formador por el parénquima hepático, lobulillo hepático y el estroma.<sup>7</sup>

#### **2.2.1.2.1. ESTROMA**

Es un tipo de red de forma tridimensional que se encarga del transporte de las diversas células del hígado. Su principal componente que lo conforma es el tejido conectivo seguido de una capsula llamada fibrosa de Glisson. También presenta tejido conjuntivo estomático a nivel donde se convergen los vértices de los diferentes lobulillos hepáticos y donde se encuentran las diversas estructuras como los conductos biliares, arterias, venas y los vasos linfáticos.<sup>15</sup>

#### **2.2.1.2.2. PARENQUIMA**

Dentro de sus compuestos se encuentran los hepatocitos que son unas células epiteliales, las cuales se encuentran en forma de láminas y van a unirse y van a tomar una forma de estructura tridimensional. También está conformado por diversos lóbulos los cuales están conectados por un tejido de consistencia muy fina y es aquí donde se da la ramificación de las venas hepáticas, vena porta, arteria hepática, nervio y conductos del sistema linfático, todo este conjunto se encuentra recubierto por una túnica de consistencia fibrosa y otra de consistencia serosa.<sup>16</sup>

#### **2.2.1.2.3. HEPATOCITOS**

Son las células de mayor cantidad que presenta el hígado, ocupando el 80%, son de tipo epitelial los cuales tienen una medida de 20 a 30 micrómetros, también presentan ya sea 1 o 2 núcleos de forma

redonda que van al centro y presentan todos los organelos de una célula normal. Tienen tres tipos de bordes<sup>7</sup> :

- a) Sinusoidal: delimitan los bordes de la sinusoide y el espacio peri sinusoidal o DISSE se forma con las células del endotelio.<sup>15</sup>
- b) Hepatocitario: se juntan con otros hepatocitos para así dar formación a las láminas hepatocitarias.<sup>15</sup>
- c) Biliar: aquí se da la formación de los canalículos biliares.<sup>15</sup>

#### **2.2.1.2.4. LOBULILLOS HEPATICOS**

Existen tres formas de poder explicar la estructura del hígado en términos de una unidad de tipo funcional, las cuales son:

- a) Lobulillo clásico: al realizar los diversos cortes este adquiere la forma de una masa de tejido de forma hexagonal y es la manera más común para la organización del parénquima hepático y es de fácil visualización.<sup>15</sup>
- b) Lobulillo portal: es una área de forma triangular que se encuentra situada entre tres venas centrales y la bilis la cual aflora desde la periferia en dirección al centro del espacio porta hacia nivel del conducto biliar.<sup>15</sup>
- c) Acino hepático: es un área de forma romboidal conformada por hepatocitos en el cual tiene una arteria hepática en el centro y la vena porta y los extremos son dos venas centrales, tiene un tipo de circulación centrifuga es decir que la sangre circula del centro hacia la periferia.<sup>15</sup>

#### **2.2.1.3. FISILOGIA HEPATICA**

El hígado es un órgano de suma importancia para el organismo porque realiza diversas funciones y en su gran mayoría están asociadas con el metabolismo.<sup>17</sup>

- a) Funciones vasculares
- b) Funciones metabólicas

### **2.2.1.3.1. Metabolismo de carbohidratos**

para obtener un buen funcionamiento de las reacción químicas celulares es poder obtener la glucosa proveniente de la alimentación y luego trasportarla a las células que requieran de ella, este proceso lo realiza el hígado que lo tendrá almacenado en forma de glucógeno o en algunos casos si se requiere se transformara a glucosa.<sup>17</sup>

### **2.2.1.3.2. Metabolismo de lípidos**

Dentro de los tipos de lípidos se encuentras los triglicéridos, fosfolípidos y el colesterol, el más utilizado por el organismo cumpliendo la función de suministrar energía para los diversos procesos metabólicos son los triglicéridos (esta función es compartida con los carbohidratos), por otro lado los lípidos específicamente el colesterol, los fosfolípidos y una pequeña cantidad de triglicéridos se usan para que se forme la membrana celular de todas las células del cuerpo y así poder realizar funciones de tipo celular. Es por ello que la función hepática proviene en la capacidad de poder dar formación de cuerpos cetónicos mediante la oxidación de ácidos grasos, además de tener la capacidad de poder convertir las proteínas en ácidos grasos y la formación de colesterol y fosfolípidos.<sup>17</sup>

### **2.2.1.3.3. Metabolismo de proteínas**

El cuerpo humano presenta un 75% de proteínas, entre las cuales están las proteínas estructurales, enzimas, nucleoproteínas, proteínas transportadoras, proteínas del musculo y cumplen la función de la contracción y diversas funciones específicas. Este metabolismo es dañino es por ella que su durabilidad es de un periodo corto. Las funciones de mayor relevancia del hígado en relación con las proteínas es poder sintetizar la mayoría de las

proteínas plasmáticas, teniendo la capacidad de poder convertir un aminoácido en otro. Otra función del hígado es poder formar la urea mediante de  $\text{NH}_3$ .<sup>16</sup>

#### **2.2.1.3.4. Metabolismo de las grasas**

Por lo general la mayoría de las células tiene la capacidad de poder metabolizar la grasa y este proceso de metabolización tiene un lugar específico en el órgano del hígado. Teniendo como función poder oxidar los ácidos grasos para así poder brindar energía a otras funciones del cuerpo. El hígado se encarga de poder sintetizar gran volumen de colesterol, fosfolípidos y en su gran mayoría las lipoproteínas. También puede sintetizar la grasa proveniente de las proteínas y de los hidratos de carbono.<sup>17</sup>

Para poder obtener las grasas neutras, primero se convierten en glicerol y ácidos grasos, posterior a ello se separan los ácidos grasos a través de la oxidación /3 en radicales acetilos de dos tipos de carbono que pueden dar origen al acetyl coenzima A (acetyl CoA). El hígado no tiene la capacidad de hacer uso de todo el acetyl CoA formada y es por ello por lo que esta se transforma en ácido acetoacético que es de composición muy soluble. Alrededor del 80% del colesterol que se sintetiza en el hígado adquiere la forma de sales biliares los cuales tienen la función de segregar la bilis, lo restante se transporta junto con las lipoproteínas a través del torrente sanguíneo llegando a las diversas células de los tejidos. Los fosfolípidos también tienen su síntesis en el hígado y se transportan mayormente con las lipoproteínas.<sup>17</sup>

#### **2.2.1.3.5. Otras funciones metabólicas del hígado**

En este órgano se aglomeran la mayor cantidad de vitaminas. La vitamina A es la de mayor prevalencia en el hígado y la cual también tiene grandes cantidades de vitamina D y B. el hígado tiene la capacidad de poder almacenar una gran cantidad de vitamina que

sería equivalente por 10 meses para no sufrir carencias de ella. La necesidad de vitamina D puede ser almacenada por un periodo entre 3 a 4 meses y la vitamina B12 se guarda por un periodo mínimo de un año a más.<sup>17</sup>

El hígado tiene la función de poder depositar el hierro, pero en forma de ferritina, esto quiere decir que, si el hierro no se absorbe de manera correcta en el torrente sanguíneo, este migrara al hígado, pero adquiriendo la forma de ferritina. Las células del hígado tienen apoferritina en gran cantidad lo cual siempre va unido al hierro y cuando se mezclan forman la ferritina depositándose en las células hepáticas hasta que se requiera de ellas. Se hace uso de ella cuando el nivel del hierro en el organismo es muy bajo para actuar como amortiguador del hierro sanguíneo y como un depósito del hierro.<sup>17</sup>

El hígado tiene la función de producir las sustancias que se encargan de la coagulación sanguínea, y estas sustancias son fibrinógeno, protrombina, globulina aceleradora, factor VII y otros factores también de importancia. La síntesis de algunas sustancia durante el metabolismo son protombina y los factores VII, IX y X los cuales requieren de la vitamina K y si hubiera disminución de ella no se podrá lograr obtener la coagulación sanguínea.<sup>17</sup>

El hígado tiene la capacidad de desechar medicamentos, hormonas entre otros, así también uno de los principales medios para eliminar el calcio es atraes de la secreción hepática con dirección hacia la bilis, luego pasa a los intestino y finalmente se deshecha con las heces.<sup>17</sup>

#### **2.2.1.4. CAPACIDAD FUNCIONAL DEL HÍGADO**

Es un órgano del organismo que cumple múltiples funciones y es debido a ello algún tipo de metodología o examen que nos pueda permitir medir la totalidad de su funcionalidad. Es por ello por lo que puede producirse una pérdida de hasta un 80% o más de las células hepáticas, antes de que se desarrolle las diversas enfermedades hepáticas en un nivel

crónico. Para poder determinar esto se hace uso de diferentes exámenes los cuales se cómo pruebas de función hepática.<sup>18</sup>

Es de suma importancia tener conocimiento de la capacidad de funcionalidad del hígado para así poder tener un mejor diagnóstico y pronóstico del proceso morbido de las diversas patologías de este órgano. Las enfermedades del hígado son comunes y no presentan sintomatología y tiene un gran número de morbilidad a nivel mundial, se clasifican en agudas y crónicas.<sup>19</sup>

La evaluación de la volumetría se realiza mediante la tomografía computarizada y se establece como el Gold estándar para poder evaluar el volumen hepático residual, lo cual refiere que un hígado sano puede dejar un volumen entre 20 a 25% del parénquima, lo cual es equivalente a 2 segmentos. También tenemos que evaluar la patología presente para poder dar un buen diagnóstico y así poder determinar su funcionalidad ya que cuando se presente el deterioro de la funcionalidad como la esteatosis, antecedentes previos de quimioterapia, la resección debería ser en un volumen promedio entre 30 %a 60% y de un 40% a 70% cuando se presenta el cuadro clínico de cirrosis.<sup>20</sup>

#### **2.2.1.5. ENFERMEDADES HEPÁTICAS**

Las diversas alteraciones presentes en el hígado puede ser producto de un mal funcionamiento del hepatocito o por una alteración del flujo sanguíneo.<sup>18</sup>

##### **2.2.1.5.1. Hepatitis aguda complicada**

Es un tipo de inflamación difusa del hígado, la cual tiene un origen proveniente de la necrosis de las células hepáticas. Su etiología es principalmente viral, también puede darse por consumo de fármacos y diversos agentes tóxicos, en un porcentaje menor también pueden provenir del consumo excesivo de ingerir alcohol, enfermedades inmunológicas y trastornos metabólicos e isquémicos.<sup>21</sup>

#### **2.2.1.5.2. Hepatitis A**

Su etiología es causada por un enterovirus RNA del grupo picornaviridae, la cual se transmite generalmente por el medio fecal a la boca o por líquidos o alimentos contaminados, a través de las relaciones sexuales y el uso de drogas inyectables. Esta enfermedad se puede prevenir a través de vacunas.<sup>22</sup>

#### **2.2.1.5.3. Hepatitis B**

Es una enfermedad de tipo viral ADN del grupo hepadna viridae, es transmitido a través de la sangre, semen o saliva es decir por contacto cercano con una persona infectada, produciéndose la inoculación por medio de soluciones de continuidad en la piel o membranas de la mucosa.<sup>21</sup>

Los cuadros clínicos que presenta la hepatitis B son:

- Hepatitis aguda auto limitada, la cual no tiene secuelas y los pacientes están inmunes a lo largo de su vida.<sup>21</sup>
- Hepatitis fulminante, es producto de una necrosis masiva del parénquima hepático, afecta a las funciones del hígado y genera encefalopatía hepática. La sintomatología que presenta es ictericia, encefalopatía hepática, insuficiencia renal, diátesis hemorrágicas, edema cerebral, hipotensión arterial.<sup>21</sup>
- Hepatitis crónica, se produce por sustancias toxicas y toxinas, el grado de severidad va a depender de la cantidad de insumos que se halla consumido, siendo la más conocida la hepatitis alcohólica por el etanol que contiene.<sup>21</sup>
- Infección crónica asintomática: puede empezar su desarrollo posteriormente de la hepatitis crónica.<sup>21</sup>

#### **2.2.1.5.4. Hepatitis C**

Es una infección viral la cual es causada por flavivirus RNA, la cual tiene 6 subtipos que varía de acuerdo con la incidencia geográfica, se transmite por medio de la sangre, comienza en un cuadro agudo

y luego pasa a ser un cuadro crónico. Algunos síntomas específicos son la fatiga ictericia, fiebre, malestar general y anorexia.<sup>23</sup>

#### **2.2.1.5.5. Hepatitis D**

Es un vироide defectuoso del RNA hepatotrófico, el cual se desarrolla por la confección de pacientes que son portadores del virus de hepatitis B y el virus de hepatitis D, pudiendo llegar a una hepatitis aguda grave. Se adquiere esta infección con el hallazgo de IgM anti – D en el suero, en presencia de IgM anti HBc.<sup>24</sup>

#### **2.2.1.5.6. Hepatitis E**

Su etiología proviene del calicivirus proveniente de una cadena simple del Genoma de ARN, esta infección se contagia por medio de la vía ano - mano – boca el cual es transmitida por el agua contaminada, su periodo de incubación es de aproximadamente 30 días y su sintomatología más común es la ictericia.<sup>25</sup>

#### **2.2.1.5.7. Hepatitis crónica**

Es una alteración que tiene como característica principal la combinación de necrosis de las células hepáticas e inflamación de gravedad variable la cual puede durar un tiempo aproximadamente de 6 meses. Esta afectación por lo general se desarrolla por la infección hepática la cual es proveniente de los virus de la hepatitis B o C, medicamentos, toxinas, factores genéticos metabólicos o auto inmunitarios.<sup>21</sup>

Esta enfermedad puede no presentar síntomas hasta llegar a una fase grave que va a ir progresando gradualmente hasta llegar a la cirrosis, insuficiencia hepática y finalmente la muerte. La sintomatología que desarrolla es fatiga, malestar en general de organismo, anorexia, pérdida de peso, ictericia y hepatomegalia leve.<sup>26</sup>



#### **2.2.1.5.8. Enfermedad hepática alcohólica**

La característica principal de esta enfermedad es el consumo excesivo de alcohol y se divide en tres categorías dependiendo del criterio morfológico. En el hígado graso se da a cabo un cambio de ADN a ADNH debido al metabolismo del etanol y acetaldehído lo cual va a estimular la síntesis de ácido graso, la producción de triglicéridos, hepatitis alcohólica (necrosis de las células del hígado y a su vez la inflamación de las mismas) y cirrosis donde la estructura celular lobular normal del órgano hepático es reemplazada por nódulos irregulares los cuales se encuentran rodeados de tabiques de mayor grosor.<sup>27</sup>

#### **2.2.1.5.9. Enfermedad de hígado graso no alcohólica (EHGNA)**

Es cuando hay un depósito exuberante de grasas en el hígado y puede generar daños como inflamación, fibrosis y en algunos casos más severos puede terminar en una cirrosis y sus diversas complicaciones llegando a desarrollarse un carcinoma hepatocelular. Es de gran prevalencia a nivel mundial. Su incidencia ha ido aumentando junto con la epidemia de obesidad, diabetes y síndrome metabólico, y por ello que en muchas ocasiones se tiene que realizar un trasplante de hígado. Se diagnostica de forma histológica, las estrategias para combatirlas son generalmente la pérdida de peso, tener un buen estilo de hábitos alimenticios. No existen en la actualidad terapia farmacológica.<sup>28</sup>

#### **2.2.1.5.10. Cirrosis biliar primaria**

Es un tipo de afectación crónica, de causa desconocida, la cual tiene como principal sintomatología la destrucción e inflamación de los conductos biliares Inter hepáticos los cuales al someterse a las pruebas de laboratorio pueden indicar la presencia de colestasis y con los años esto va a pasar a ser una cirrosis hepática, generando manifestaciones clínicas como prurito, ictericia, presencia de xantomas y xantelasma. Tiene mayor afectación al sexo femenino y

se presenta en un rango de edad entre los 40 y 60 años, no existen estudios que refieran que sea hereditario ni que tenga ´predisponían por algún grupo en particular. Desde el punto histológico se divide en cuatro estadios que van desde la conocida lesión biliar Florida llegando a la etapa final que es la cirrosis se cree que es de naturaleza autoinmune.<sup>29</sup>

#### **2.2.1.5.11. Enfermedad de Wilson**

Es un tipo de enfermedad genética y crónica la cual tiene como signo principal la aglomeración de cobre en el cuerpo humano. La presencia del cobre se localiza a nivel del sistema nervioso, en el riñón, el ojo y el hígado causando daño en estos. Esta afectación es causada por la deficiencia de proteínas que intervienen en la transportación intrahepatocitaria del cobre, y es por esto que el cobre no puede ser expulsado al canalículo biliar y en un porcentaje del 90% no permite la unión del cobre a la apoceruloplasmina y debido a esto la concentración plasmática de la ceruloplasmina disminuye.<sup>29</sup> La mayoría de las personas afectadas presentan algún tipo de hepatopatía entre los 8 y 18 años, pero la cirrosis puede presentarse en niños menores de 5 años y a su vez también puede presentarse la sintomatología a partir de los 60 años. Es una enfermedad poco común la cual tiende a atacar a 1 de cada 30.000 recién nacidos.<sup>29</sup>

#### **2.2.1.5.12. Hematocromatosis**

Es un trastorno que se da por el gran acumulo de hierro en la sangre, hígado, corazón y otros órganos. Su etiología proviene por mutaciones en el gen HFE. En la mayoría de casos los pacientes que la padecen tienen dos copias de la mutación Cys282Tyr del gen HFE, o también pueden tener solo una y otra de la mutación His63A. su tratamiento es simple y efectivo cuando se diagnostica de forma temprana.<sup>30</sup>

#### **2.2.1.5.13. Cirrosis**

La cirrosis presenta de forma progresiva zonas con extinción del parénquima del hígado las cuales son sustituidas por fibrosis, desarrollándose nódulos de regeneración y una alteración en la estructura hepática normal. Su etiología principal es el uso excesivo de alcohol y la hepatitis C crónica.<sup>31</sup>

#### **2.2.1.5.14. Síndrome de Gilbert**

Es cuando se presenta un cuadro de hiperbilirrubinemia no conjugada de tipo leve, el resto de valores de los exámenes hepáticos es normal, también presenta una histología normal, pero puede generarse un aumento del pigmento lipofuscina en algunas personas.<sup>32</sup>

#### **2.2.1.5.15. Carcinoma hepatocelular**

Es el sexto tumor más frecuente con más de 740.000 casos nuevos cada año, generando la tercera causa de fallecimiento por neoplasia, reportándose un mayor aumento en las últimas décadas. Su causa proviene de personas que presentan algún tipo de enfermedad crónica subyacente del hígado.<sup>33</sup>

#### **2.2.1.5.16. Colangiocarcinoma intrahepático**

Son adenocarcinomas que se forman en los conductos biliares intrahepáticos, su etiología puede provenir de diversas enfermedades inflamatorias de tipo crónicas de la rama biliar intrahepática tales como la colangitis esclerosante y la enfermedad por trematodos del hígado.<sup>34</sup>

#### **2.2.1.5.17. Colecistitis**

Es cuando se produce un engrosamiento y a la misma vez una inflamación de la pared de la vesícula biliar, histológicamente esto se debe a hipertrofia muscular, fibrosis en la submucosa, e inflamación crónica, cálculos biliares.<sup>35</sup>

#### **2.2.1.5.18. Colangitis esclerosante primaria**

Es una enfermedad de tipo crónica la cual tiene como sintomatología principal la inflamación y fibrosis del árbol biliar. La fibrosis determina fenómenos que obstruyen a nivel interno o externo a nivel hepático y puede permitir el desencadenamiento de la cirrosis biliar con sus respectivas consecuencias.

No se sabe cuál es la causa que provoca esta enfermedad, en la cual la afección de los ductos biliares es de forma inmunológica. Tiene una frecuente relación con la enfermedad inflamatoria del intestino y es por ello por lo que el daño generado en el árbol biliar se debe a la presencia de antígenos comunes en el intestino y la vía biliar o la presencia de bacteriemias frecuentes en la crisis de colitis. Esta enfermedad tiene mayor prevalencia en el sexo masculino con una proporción de 2 a 1, afectando a 2 de cada 10000 personas. En un rango del 40 a 80% de los afectados presenta la enfermedad inflamatoria intestinal y entre el 2 a 4% que tienen colitis ulcerosa sufren de la colangitis esclerosante primaria. El cuadro clínico que presenta varía, teniendo como signo principal una colestasis de laboratorio que es significativa la cual en sus inicios puede no presentar síntomas lo cual irá progresando hasta llegar a una colestasis progresiva con astenia prurito e ictericia.<sup>36</sup>

#### **2.2.1.5.19. Carcinoma de conducto biliar extrahepático**

Es un tumor epitelial de tipo maligno, el cual tiene su etiología en los conductos biliares extra hepático, se describen mutaciones de KRAS y TP53; presentan ictericia obstructiva y las colangitis superpuestas pueden causar fiebre.<sup>26</sup>

### **2.2.2. HEPATOTOXICIDAD**

Es cuando el hígado sufre un daño tóxico el cual es generado por fármacos, es una afectación de tipo compleja porque tiene la capacidad de presentarse como cualquier otra patología del hígado ya sea de forma aguda o crónica,

potencial gravedad y la ausencia de biomarcadores específicos. La falta de capacidad para el proceso de desarrollo de los medicamentos de cribar completamente las moléculas hepatotóxicas y poder identificar a los sujetos susceptibles continúa haciendo imprescindible la farmacovigilancia poscomercialización.<sup>37</sup>

### **2.2.2.1. CLASIFICACION DE HEPATOTOXICIDAD**

Existen diversas formas de clasificar la hepatotoxicidad, los cuales son: Según Álvarez S. y colaboradores en el año 2016 clasifico a la hepatotoxicidad según el tipo de lesión generada en el hígado el cual tenía una etiología de origen botánico:<sup>38</sup>

a) Idiosincrática, es la forma más común de la lesión en el hígado la cual es causada por sustancias naturales, que son impredecibles e independientes de la dosis, en el periodo de latencia hay 2 subtipos ya que es variables, los cuales son:<sup>38</sup>

1) tipo metabólica: su tiempo de exposición varía entre 1 semana a 12 meses, tiene una respuesta tardía la cual es con reexposición.

2) tipo inmunológica: su tiempo de exposición varía entre 1 a 5 semanas, presenta una respuesta rápida con la primera dosis de reexposición.<sup>38</sup>

b) Intrínseca, es un tipo de lesión predecible, tiene una dosis dependiente y un periodo corto de latencia, a su vez también tiene la capacidad de reproducirse.<sup>39</sup>

Según Tagle M. y colaboradores en el año 2015, clasifico a la hepatotoxicidad según el tipo de daño histológico, la manifestación clínica y el mecanismo de acción:

- Hepatotoxinas: tiene un tipo de dosificación dependiente y es predecible, presenta una incidencia alta, teniendo un periodo de latencia menor a 7 días, desarrolla una lesión histológica que por lo general es una necrosis celular, esteatosis, siendo en algunas ocasiones fulminante. Su mecanismo de acción es peroxidación lipídica, interferencia en la excreción biliar. Los fármacos que

producen esta lesión son: paracetamol, tetracloruro de carbono, paraquat metilendianilina.

- Hepatotoxinas: tiene un tipo de dosificación independiente y es impredecible, presenta una incidencia variable, teniendo un periodo de latencia que puede variar en días hasta un año, desarrolla una lesión histológica que es variable, dependiendo del tipo de mecanismo que genere la lesión. Su mecanismo de acción es variable y dependerá si es de tipo metabólico o inmunológico.
- Hipersensibilidad: presenta un periodo de latencia de 1 a 6 semanas, desarrolla una lesión histológica que puede ser necrosis y/o colestasis, granulomas y daño ductal. Su mecanismo de acción es inmuno-alérgico. Los fármacos que producen esta lesión son: fenitoínas, carbamazepina, amoxiclav.
- Alteración metabólica: tiene una incidencia que puede ser inmune, presenta un periodo de latencia que varía desde una semana hasta un año, desarrolla una lesión histológica que puede ser necrosis, esteatosis, fibrosis, colestasis, daño vascular, tumores, entre otros. Su mecanismo de acción es ser un depósito de metabolismo tóxico. Los fármacos que producen esta lesión son: ciproterona, isoniazida.<sup>40</sup>

Según Francisco Tejada, clasifica a la hepatotoxicidad en dos:

- a) Hepatotoxicidad intrínseca: se le conoce también como dosis dependiente, es predecible y tiene la capacidad de reproducirse y se produce con un número pequeño de fármacos. Algunas Hepatotoxinas tienen su mecanismo de acción directamente en el hepatocito, pero también otras lo hacen mediante un compuesto tóxico que se va a desarrollar en su metabolismo como es el caso del paracetamol, el ácido acetilsalicílico, la intoxicación por setas y las alteraciones hepáticas producidas por productos industriales CCL4.
- b) Hepatotoxicidad idiosincrásica: es impredecible, no tiene relación con la dosis y no se produce en animales de experimentación, pudiendo ser de tipo metabólica e inmunológica.<sup>41</sup>

Según Bosia, clasifica a la hepatotoxicidad según el criterio clínico, bioquímico y epidemiológico, los cuales son:

- Fuente y tipo químico de la sustancia tóxica.
- Circunstancias de la exposición.
- Tipo de lesión producida.
- Estructura celular que queda principalmente dañada.
- Mecanismos moleculares o celulares que intervienen en la lesión.<sup>30</sup>

#### **2.2.2.2. MECANISMO HEPATICO**

Para que un xenobiótico pueda salir de nuestro cuerpo y no llegue a ser toxico, debe pasar por diversos procesos los cuales son: absorción, distribución, metabolismo (biotransformación) y excreción.<sup>38</sup>

La biotransformación tiene una gran importancia por que se inicia desde que la sustancia toxica hace su ingreso, lo cual es una de las principales funciones hepáticas y por lo tanto constituirá uno de los diversos factores que determinan el mecanismo de hepatotoxicidad y hepatocarcinogenicidad.<sup>42</sup>

El metabolismo de los xenobióticos se refiere a diversas reacciones que se dan cuando intervienen algunas enzimas las cuales pueden generar diversas modificaciones químicas en la molécula lo cual puede cambiar de liposoluble a hidrosoluble y su vez elevar su polaridad.<sup>42</sup>

Cuando las sustancias generan mas daño durante el proceso se le cínica como bioactivacion, y es aquí donde el metabolismo mismo del toxico va ser la causa del daño al hígado, generando agentes agresores de los ácidos nucleicos.<sup>38</sup>

La biotransformación ocurre en tres fases:

La fase I hace referencia a la oxidación, reducción, e hidrolisis de los xenobióticos. Los productos de estas reacciones pueden ser catalizada por diversas enzimas con diferente especificidad de sustrato de fase II o ligandos de proteínas de transporte en fase III.<sup>38</sup>

El sistema del citocromo P-450 ocupa el primer puesto entre las enzimas de la fase I en cuanto a versatilidad catalítica y número de xenobióticos que activa e inactiva. Los términos oxidasa de función mixta, sistema citocromo P-450 y mono oxigenasas son empleados como términos equivalentes.<sup>43</sup>

Es durante esta fase en que se pueden producir bioactivaciones.<sup>38</sup>

La fase II se localizan principalmente en el citosol encargada de la conjugación de enlaces covalentes con las sustancias absorbidas, catalizadas por un conjunto de enzimas, y comprenden la glucuronidación, la sulfatación, la acetilación, la metilación, la conjugación con glutatión y la conjugación con aminoácidos tales como glicina, taurina.<sup>42</sup>

Estas reacciones aumentan la hidrófila del xenobiótico a excepción de la metilación y la acetilación que aumentan la liposolubilidad y disminuyen la actividad farmacológica y tóxica de los xenobióticos, pero a veces es más fácil de excretar y eliminar, la sulfatación activa aminas aromáticas e hidrocarburos aromáticos policíclicos produciendo metabolitos carcinógenos.<sup>42</sup>

### **2.2.2.3. MECANISMO RESPONSABLE DE LA HEPATOTOXICIDAD**

Los principales mecanismos que se encargan de generar la hepatotoxicidad son:

- **LIPOPEROXIDACION:** Es un tipo de reacción que genera una degradación oxidativa de los lípidos que pertenecen a la membrana celular, los cuales se producen cuando hay oxígeno y diversos lípidos insaturados, lo cual generara cambios en las propiedades fisico químicas de la membrana y la función de las enzimas desencadenando en la muerte celular. El componente principal que genera la lipoperoxidación es el tetracloruro de carbono.<sup>38</sup>

Existe una buena relación de los radicales libres lo cual generara la lipoperoxidación a nivel del retículo endoplasmático y a su vez se captara a los átomos de hidrogeno de los ácidos grasos



insaturados y la síntesis definitiva de peroxidación lipídica (esteatosis hepática); generando un daño en las membranas de la célula y diversos cambios de la bomba de calcio microsómico lo cual generara una elevación de la concentración de calcio libre intracelular, esto genera daño tales como: aglomeración de triglicéridos, lesión mitocondrial y de la membrana plasmática con salida de enzimas y potasio, y la muerte de la célula.<sup>38</sup>

- **ESTRÉS OXIDATIVO Y DEPLECION DE GLUTACION:** se refiere al desequilibrio bioquímico que se genera en los radicales libres y los antioxidantes lo cual va a generar daño a las células y al organismo, también esto generara el aumento de radicales libre lo cual producirá lipoperoxidación y cambios en la función de las proteínas celulares.<sup>38</sup>

- **INHIBICION DE LA SINTESIS PROTEICA:** su afección es referente a la necrosis hepatocelular la cual se desarrolla por ingerir amanita phalloides. Sus toxinas inhiben la RNA polimerasa, necesaria para la síntesis de RNA mensajero (RNAm). Como resultado tenemos una inhibición de la producción de enzimas, proteínas estructurales y apoproteínas para la sinterización de las lipoproteínas, lo cual va a generar que se desarrolle un mayor acumulo de grasa y dará lugar a la necrosis celular.<sup>38</sup>

- **ALTERACION DE LA SISTESIS DEL HEM:** algunas sustancias químicas como el hexaclorobenceno y sus derivados generan alteraciones en la síntesis de las porfirinas inhibiendo la coproporfirinógeno oxidasa y la uroporfirinógenodescarboxilasa, generando porfiria cutánea tarda (PCT).<sup>38</sup>

- **MUTACION Y CARCINOGENESIS:** Las aflatoxinas se unen al ADN en forma covalente produciendo una mutación que favorece el desarrollo de carcinoma hepatocelular. El Cloruro de vinilo (PVC)

es una sustancia carcinogénica similar a las aflatoxinas; esta sustancia produce angiosarcoma en trabajadores expuestos.<sup>38</sup>

#### **2.2.2.4. FACTORES QUE PREDISPONEN AL HIGADO A SUFRIR TOXICIDAD**

La susceptibilidad de forma individual puede aumentar o reducir debido a la exposición de forma simultánea o consecutiva que va de un compuesto a otro, aumentando la posibilidad de generar un daño en el hígado son la relación con algunas patologías, el consumo de alcohol, el uso de algunos fármacos la edad, el sexo, los factores genéticos, metabólicos y hormonales.<sup>41</sup>

##### **2.2.2.4.1. FACTORES GENETICOS:**

Este es el factor con mayor importancia para el desarrollo de la hepatotoxicidad, debido a que el polimorfismo genético tiene una gran influencia en la metabolización de los fármacos y diversas sustancias, biotransformándolos en un compuesto exógeno lo cual modificara su toxicidad generando afectaciones en la capacidad del organismo.<sup>41</sup>

Los factores genéticos también son determinantes de la efectividad de los diversos factores que protegen al huésped tales como los antioxidantes y la regularización de la respuesta inmunológica. La existencia de polimorfismos genéticos del complejo enzimático citocromo P-450 y de otras enzimas hepáticas genera una variación individual en el metabolismo de los fármacos lo cual puede ser favorable o generar reacciones de hepatotoxicidad.<sup>41</sup>

##### **2.2.2.4.2. EDAD**

Esta afectación se da cuando se consume medicamentos tales como isoniazida, halotano y la nitrofurantoina y parece que es generado por un conjunto de eventos tales como una capacidad metabólica reducida, cambios en el torrente sanguíneo hepático y

en la respuesta inmune tisular, disminución del aclaramiento renal y la polimedicación a la que se encuentran expuestas.<sup>44</sup>

#### **2.2.2.4.3. SEXO**

El género sexual femenino es el que sufre mayor afección de hepatotoxicidad, en especial las pacientes que presentan fallo hepático fulminante y al sexo masculino se registró una mayor afectación en edad avanzada.<sup>44</sup>

#### **2.2.2.4.4. FACTORES METABOLICOS Y HORMONALES**

Diversos factores que alteran el metabolismo y la estabilidad hormonal tales como la desnutrición, obesidad, embarazado e hipertiroidismo aumentan el riesgo de toxicidad hepática por la ingesta de fármacos.<sup>44</sup>

#### **2.2.2.4.5. ALCOHOL**

La ingesta de alcohol aumenta el potencial de hepatotoxicidad de algunos fármacos tales como el metrotexato, el halotano, la isoniazida, el paracetamol y la cocaína.<sup>41</sup>

#### **2.2.2.4.6. FARMACOS**

La hepatotoxicidad por fármacos puede ser inducida por algunas isoenzimas del CYP, incrementando la tasa de producción de algunos metabolitos reactivos, así como inhibición del mismo.<sup>41</sup>

#### **2.2.2.4.7. ENFERMEDADES ASOCIADAS**

Algunas enfermedades pueden provocar hepatotoxicidad por la ingesta de medicamentos, tales como: VIH, artritis reumatoide, hepatitis alcohólica, etc.<sup>40</sup>

#### **2.2.2.4.8. DOSIS**

Algunos fármacos generan hepatotoxicidad si es que se ingieren en altas cantidades.

#### **2.2.2.4.9. COMPUESTOS HEPATOTOXICOS**

Los cuales son:

- **SUSTANCIAS QUIMICAS INDUSTRIALES**

Aquí tenemos a los compuestos hepatotóxicos, los cuales son: hidrocarburos, hidrocarburos aromáticos (BTX), hidrocarburos alifáticos clorados (tetracloruro de carbono), hidrocarburos alifáticos bromado, hidrocarburos alifáticos fluorados, hidrocarburos alifáticos nitrogenados, hidrocarburos cíclicos halogenados, amidas y aminas, mezclas de disolventes, cloruro de vinilo, metales, difenilos (bifenilos; fenilbencenos), tóxicos agrícolas (paraquat, dicloropropeno, hexaclorociclohexano (lindano)), tóxicos en el ámbito hospitalario (halotano).<sup>38</sup>

- **COMPUESTOS BOTANICOS**

En este grupo encontramos a la cebolla china, té verde, aceite de margosa, cascada sagrada entre otros.<sup>39</sup>

- **COMPUESTOS FARMACEUTICOS**

Algunos fármacos que producen daño hepático son: la abacavir, aspirina, amoxicilina/ácido clavulánico, azitromicina, paracetamol, carbamazepina, clindamicina, clorpromazina, cotrimoxazol, dapsona, dihidroartemisinina/piperaquina, efaviremz, etc.<sup>45</sup>

#### **2.2.3. TETRACLORURO DE CARBONO**

Es una sustancia de consistencia líquida la cual no tiene color, se considera un compuesto orgánico volátil, presenta un aroma dulce, muy similar al cloroformo. Tiene la capacidad de poder biodegradarse en condiciones anaeróbicas tales como el suelo o agua.<sup>46</sup>

Se hace uso del tetracloruro de carbono como un intermediario en la síntesis de producción de diversos compuestos químicos tales como los hidrocarburos fluorados; también es usado para la fabricación de refrigerantes, como propulsor para aerosoles, desengrasante, pesticida, fumigante, agente de limpieza en seco, agente anti fuego (extintores),

reactivo en la síntesis química, disolvente, pero su uso principal fue la producción de clorofluorocarbonos.<sup>46</sup>

Tiene la capacidad de poderse vaporizar con facilidad es por ello por lo que se encuentra como un gas en el medio ambiente en el cual puede estar mucho tiempo sin romperse, no se junta a las diversas partículas del suelo o del agua es por ello por lo que se vaporiza o filtra en el agua subterránea. Este compuesto no se acumula en los peces.<sup>46</sup>

### **2.2.3.1. TOXICOCINETICA Y MECANISMO DE ACCION DEL TETRACLORURO DE CARBONO**

El tetracloruro de carbono tiene la capacidad de absorción rápida en los seres vivos, se distribuye en los diversos tejidos, especialmente en los que tienen alto contenido de lípidos, llegando a su concentración máxima en un rango de 1 a 6 horas. Se metaboliza en el hígado, pulmón, y otros tejidos. Se excreta con facilidad principalmente en el aliento exhalado.<sup>46</sup>

#### **2.2.3.1.1. METABOLISMO**

Se han hallado CO<sub>2</sub>, cloroformo y trazas de hexacloroetano como diversos metabolitos de tetracloruro de carbono. El CO<sub>2</sub> que se encuentra en el aire y es exhalado es del 10% del tetracloruro de carbono metabolizado total. En estudios realizados en roedores que estuvieron expuestos a concentraciones de tetracloruro de carbono de 100 ml/ m<sup>3</sup>, aproximadamente el 60% de tetracloruro de carbono es metabolizado. Por otro lado, se estimó que el tetracloruro de carbono es acumulado en personas en el tejido adiposo en personas expuestas a 5ml/m<sup>3</sup> en un rango de 8 horas al día. En perros después de un periodo de 12 a 48 horas que se administró la sustancia en inyectables al realizar análisis en la orina se encontró: formaldehído, acetaldehído, acetona, alcohol propílico, alcohol butílico, pentanal, hexanal y malondialdehído. Llegando a la conclusión que se evidencia peroxidación de lípidos in vivo.<sup>47</sup>

En estudios in vitro hay evidencias que el tetracloruro de carbono se junta al citocromo P450-2E1 del retículo endoplasmático de la célula

del hígado en el lugar de unión al oxígeno. La transferencia de electrones genera una escisión reductora del tetracloruro de carbono, en un inicio para así poder formar el CCl<sub>3</sub> radical. El hexacloroetano es el producto de la condensación de dos radicales CCl<sub>3</sub>.<sup>47</sup>

El CO<sub>2</sub> también puede formarse de fosgeno y puede formar monóxido de carbono.

La activación metabólica del tetracloruro de carbono que se genera por el citocromo P-450 a nivel del retículo endoplasmático de las células mitocondriales y hepáticas, se han evidenciado también a nivel del riñón, la glándula suprarrenal y en los pulmones. El metabolismo del tetracloruro de carbono puede ser inducido por fenobarbital o DDT. Tiene mayor énfasis en los roedores machos, el metabolismo del tetracloruro de carbono en el hígado también depende de la especie.<sup>47</sup>

### **2.2.3.2. MANIFESTACIONES CLINICAS**

Cuando una persona se encuentra expuesta a altas concentraciones de tetracloruro de carbono en el agua potable esto genera daños a nivel de hígado y riñones, presentando sintomatología tales como, cefalea, mareos, cansancio, en algunos casos presenta vomito y dolor estomacal. Cuando se exhala en altas concentraciones eso genera daño en los pulmones y puede fallecer la persona.<sup>46</sup>

### **2.2.3.3. EFECTOS DEL TETRACLORURO DE CARBONO EN LA SALUD**

Por lo general la información sobre efectos del tetracloruro de carbono es cuando una persona ha estado expuesta a niveles altos de tetracloruro de carbono ya sea una vez o por un corto periodo como por ejemplo por envenenamiento accidental o estando expuesto al compuesto en un espacio cerrado en el cual no hay ventilación.<sup>46</sup>

#### **2.2.3.3.1. DOSIS EXPUESTA SOLO UNA VEZ**

Las manifestaciones clínicas de intoxicación por tetracloruro se dan en las 24 horas produciendo daños gastrointestinales, así como también daños neurológicos. El daño al hígado se da después de las 24 horas. En los casos más graves se genera ascitis y coma hepático que por lo general van acompañados de hemorragia. La afectación a los riñones se da entre 2 días a 3 semanas después de ocurrida la intoxicación.<sup>46</sup>

#### **2.2.3.3.2. EXPOSICIONES REPETIDAS**

Un grupo de personas estuvieron expuestas al tetracloruro de carbono en diferentes concentraciones, en las cuales fueron subdivididas en tres grupos los cuales dependían del tiempo de la actividad: menores a 1 año, de 1 a 5 años, mayores a 5 años que ingerían el mismo porcentaje de alcohol. A las pruebas hematológicas se encontró cambios a nivel de la hemoglobina, glóbulos rojos y hematocrito en el grupo de exposición media, también las actividades de  $\gamma$ -glutamyltransferasa y fosfatasa alcalina en cloruro de sodio. En el grupo de baja exposición se evidenció que el hematocrito disminuyó de forma significativa. En el grupo de alta exposición no se observó cambios. Las personas expuestas durante 2 años aproximadamente al compuesto presentaron sintomatología de náuseas, falta de apetito, vómitos, flatulencia, mareos y malestar general.<sup>47</sup>

#### **2.2.3.3.3. EFECTOS LOCALES SOBRE LA PIEL Y LAS MEMBRANAS MUCOSAS**

En un ensayo tres personas introdujeron el dedo pulgar dentro del tetracloruro de carbono por un periodo de 30 minutos lo cual generó un leve eritema el cual retrocedió en un periodo de 1 o 2 horas después de estar en contacto con el compuesto. Las personas refirieron tener la sensación de dolor en el dedo en los primeros 10 minutos.<sup>47</sup>

#### **2.2.3.3.4. EFECTOS ALERGENICOS**

Un estudio refiere que una femenina hizo uso de una loción anti-grasa para el cuero cabelludo el cual tenía como componente 100 gramos de tetracloruro de carbono, lo cual genero una dermatitis en un periodo posterior a las 48 horas.<sup>47</sup>

#### **2.2.3.3.5. TOXICIDAD PARA LA REPRODUCCION Y EL DESARROLLO**

Se ha hallado una sola publicación, en la cual se estudiaron 11 muestras de sangre tomadas a madres e hijos después del nacimiento. En el cual se encontró el mismo nivel de tetracloruro de carbono en madres tanto como en sus hijos, lo cual refiere que el compuesto puede atravesar la barrera placentaria.<sup>47</sup>

#### **2.2.3.3.6. EFECTOS CARCINOGENOS**

En un estudio epidemiológico que se hizo en la industria del caucho en una muestra de 7000 personas los cuales fueron estudiados por un periodo de 10 años, se indujo que el tetracloruro era quien generaba cáncer. Así como también la leucemia linfática y linfosarcomas en los trabajadores estaban relacionada con la exposición al compuesto.<sup>47</sup>

#### **2.2.3.4. *TRANSTORNOS HISTOPATOLOGICOS POR TETRACLORURO DE CARBONO***

Hay un 90% de lesiones de la célula, aquí tenemos a la intoxicación por tetracloruro de carbono la cual es una sustancia lipoquímica que tiene mayor predominio por los lípidos, a las cuales hidroliza. Cuando estas células sufren intoxicación por aspirar tetracloruro de carbono, se genera una alteración de hepatocitos y la membrana celular se va a diluir porque es lipofílica, es por ello que se hace permeable y se genera una hinchazón de la célula.<sup>49</sup>



#### **2.2.3.4.1. LESIONES REVERSIBLES O DEGENERACIONES**

Es un tipo de afección submortal o subletal la cual tiene alteraciones bioquímicas y en su estructura, si se administra oxígeno a la célula puede regenerarse pero si ya hubo afección a nivel del lisosoma pasa a ser una necrosis.<sup>49</sup>

#### **CLASES DE DEGENERACION CELULAR**

- **TUMEFACCION CELULAR:** Se produce cuando las células se llenan de agua generando una acidófila citoplásmica, y la célula va a hincharse debido a que es permeable, afecta al corazón, los riñones, hígado, musculo esquelético, piel y mucosas.<sup>49</sup>
- **DEGENERACION VACUOLAR O HIDROPICA:** se genera después de la tumefacción celular, y aquí la célula presenta vacuolas en su citoplasma, espacios o huecos generados por el ingreso del agua, los órganos afectados son el riñón, corazón, musculo esquelético, piel y mucosas.
- **DEGENERACION GRASA:** se le conoce también como infiltración grasa, metamorfosis grasa o esteatosis grasa, se define como la alteración del metabolismo de lípidos en una célula que esta lesionada. Afecta a hígado, corazón y riñones.<sup>49</sup>

#### **2.2.4. TRANSAMINASA HEPATICA**

Son enzimas que tienen un rol metabólico dentro de algunas células, se encuentran en los diversos tejidos de algunos órganos tales como el hígado, el corazón, el riñón, los músculos, entre otros. La cantidad de transaminasa en la sangre se verá reflejada en la actividad del hígado y corazón.<sup>16</sup>

Las principales transaminasas son las hepáticas como:

- **Glutamato-piruvato transaminasa (GPT) o alanina aminotransferasa (ALT):** generalmente está ubicado en el citosol del hepatocito, en riñón y también un poco en glóbulos rojos y músculos estriados.<sup>51</sup>

- Glutamato-oxalacetato transaminasa (GOT) o aspartato aminotransferasa (AST): se localiza principalmente en el hígado, pero también en el miocardio, musculo esquelético, riñón, cerebro, páncreas, pulmones, leucocitos y eritrocitos.<sup>51</sup>
- Fosfatasa alcalina (ALP): Se encuentra en el hígado, huesos, intestinos, placenta y en diversos tejidos que tienen relación con los tumores.<sup>51</sup>

#### **2.2.4.1. NIVELES DE TRANSAMINASAS EN LA SANGRE**

Las transaminasas son de gran importancia para poder diagnosticar algunas enfermedades relacionadas con el hígado. Los niveles de aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa y fosfatasa alcalina poseen valores predeterminados y normales, pero si sufren algún daño esto es debido a la falta de permeabilidad de la membrana celular quien deja libre a las enzimas en el torrente sanguíneo.<sup>51</sup>

#### **2.2.4.2. PAPEL IMPORTANTE DE LA TRANSAMINASAS EN EL METABOLISMO**

El nitrógeno ingresa al cuerpo humano a través de aminoácidos, proteínas y amoniaco fijado por las nitrogenasas de las bacterias pertenecientes al intestino y glutamina. La glutamina sintasa cambia el amoniaco a glutamato y glutamina y las transaminasa dan a sus grupos amino y amido a otros esqueletos del carbono por reacciones de transaminación y transamidacion.<sup>47</sup>

La reacción de transaminación se da a nivel del citosol y mitocondrias. Son reversibles y pueden usarse los  $\alpha$ -cetoácidos, el sentido de la reacción es determinada por la concentración de productos y reactivos hepáticos ya que aquí los metabolitos están próximos a estar equilibrados.<sup>47</sup>

La alanina aminotransferasa es de gran importancia en la catálisis de reacciones que transfieren carbono y nitrógeno del musculo esquelético a la zona hepática en forma de alanina. A nivel del musculo esquelético el piruvato actúa como receptor de un grupo amino y se convierte en

alanina, que se transporta mediante la sangre hasta el hígado, en donde la alanina aminotransferasa transfiere el grupo amino al  $\alpha$ -cetoglutarato, regenerando el piruvato que puede acoplarse a la glucogénesis como una fuente de carbono, la glucosa sobrante se puede añadir nuevamente al musculo. Este es el ciclo de la glucosa-alanina lo cual permite poder eliminar el nitrógeno del musculo esquelético en forma de urea.<sup>47</sup>

### **2.2.5. PERFIL HEPATICO**

Los valores que se encuentren en los análisis clínicos van a servir para poder determinar la funcionabilidad del hígado:

Utilidad de las pruebas de función hepática:

- Determinación de la lesión hepática
- Diferencia entre citólisis y colestasis
- Diagnosticar el daño de gravedad y el pronostico
- Seguimiento de la enfermedad y evaluación del tratamiento.<sup>47</sup>

#### **2.2.5.1. FOSFATA ALCALINA**

Se puede examinar que hay un aumento de la fosfatasa debido a la separación electroforética de sus isoenzimas cuando se da la gestación, pero con mayor énfasis en el tercer trimestre debido al aumento de la enzima placentaria.<sup>52</sup>

En las patologías:

- Con origen óseo: se da debido a la actividad osteoblástica
- Con origen hepático: se produce debido a la colestasis.<sup>52</sup>

#### **2.2.5.2. NUCLEOTIDASA (5-NT)**

Es un tipo de proteína la cual proviene del hígado, se puede realizar evaluación para ver la cantidad<sup>53</sup> de nucleotidasa a nivel de la sangre y si tiene un aumento es porque podemos estar frente a una colestasis intra o extrahepática, enfermedades hepatobiliares y cáncer de hígado.<sup>52</sup>

### **2.2.5.3. TIEMPO DE PROTROMBINA Y RESPUESTA A LA VITAMINA K**

El tiempo de protrombina es lo que tarda en generarse la coagulación de un plasma cuando se añade trombina, esta aumentada en el déficit de los factores de coagulación II, V, VII y X. El factor VII es el que tiene una durabilidad menor, pero con mayor déficit se deprime la producción del factor II y X y es por ello que también se alargara el tiempo de tromboplastina parcial activa.<sup>53</sup>

Por lo general estos factores viene a ser vitamina K dependientes y de síntesis del hígado, su análisis es de gran importancia para poder evaluar la función del hígado, controlar el tratamiento con la ayuda de anticoagulantes vía oral de tipo cumarínico, pero teniendo en cuenta que el tiempo de protrombina no es sensible para déficit de factores VIII, IX, XI, XII.<sup>53</sup>

### **2.2.5.4. EXAMEN DE ALBUMINA SERICA**

La albumina representa entre el 55% a 65% de las proteínas plasmáticas. Cumple funciones tales como poder equilibrar la presión coloidosmótica a nivel del plasma, transportar y almacenar ligandos, también sirve como fuente endógena de aminoácidos.<sup>54</sup>

La albumina tiene la capacidad de fijar y desdoblar diversos compuesto tales como la bilirrubina, el calcio y ácidos grasos de cadena larga, fija iones de metales pesados tóxicos y diversos fármacos.<sup>54</sup>

Cuando se determina la albumina se puede hacer un seguimiento de pacientes que estén con dieta controlada y poder así realizar un buen test de funcionamiento hepático.<sup>54</sup>

### **2.2.5.5. EXAMEN DE FOSFATA ALCALINA SERICA**

La alcalina sérica tiene etiología en diversos órganos del cuerpo humano, pero tiene mayor énfasis a nivel de hígado, tejido óseo e intestino. Aumenta su nivel frente a enfermedades del hígado, en el crecimiento de los infantes y en el tercer trimestre del embarazo. Es de

gran relevancia determinarla para así poder diagnosticar enfermedades Oseas tales como osteítis deformante, hipo paratiroides y neoplasias.<sup>15</sup>

#### **2.2.5.6. EXAMEN DE LACTATO DESHIDROGENASA**

El lactato deshidrogenasa es una enzima tetramérica la cual está formada por la combinación de dos tipos de cadenas diferentes: H y M, las cuales pueden mezclarse de forma diferente generando a cinco isoenzimas. Los niveles séricos del lactato deshidrogenasa son visualizados en algunos cuadros clínicos como las anemias megaloblásticas, infarto de miocardio y pulmonar, enfermedad o congestión hepática, hemolisis, entre otros.<sup>15</sup>

#### **2.2.6. BRASSICA OLERACEA L.**

Se le conoce comúnmente como col silvestre, es una planta que pertenece al género *Brassica* nativa, es un tipo de cultivo que tiene gran tolerancia a ambientes con gran cantidad de sal y yeso, tiene un hábitat de caliza marítimos y acantilado.<sup>55</sup>

##### **2.2.6.1. ETIMOLOGIA**

Su etimología proviene de la costa sur y del oeste de Europa, con mayor predilecto en zonas de litorales y costeras.<sup>56</sup>

##### **2.2.6.2. HISTORIA**

La *Brassica oleracea L.* ha tenido gran importancia desde mucho antes en todo Europa la cual era muy común entre los españoles y griegos la cual era utilizada para comidas públicas y también lo usaban como remedio medicinal. Catón la menciona en su obra "De re rustica" como alternativa médica para tratar trastornos intestinales y pulmonares, pero haciendo un mayor énfasis en las mujeres que daban de lactar para que así puedan aumentar su producción.<sup>57</sup>

No se sabe con exactitud en que momento llego a América, pero tuvo una gran importancia y fue una de las pocas plantas aceptadas gracias a los nativos ya que era una planta silvestre comestible.<sup>57</sup>

### **2.2.6.3. CLASIFICACION TAXONOMICA**

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Subclase: Dillenidae.
- Orden: Capparales.
- Familia: Brassicaceae.
- Género: *Brassicca*.
- Especie: *Brassica oleracea L.*

### **2.2.6.4. DESCRIPCION BOTÁNICA**

La *Brassica oleracea L.* existe en diversas tonalidades del color verde, pero también hay en colores rojos o purpuras. La forma típica de esta col va a variar de redondeado a plano o también puede ser puntiagudo. Las hojas de esta especie es multicolor y están cubiertas por una capa de cera que no permite ingresar agua.<sup>57</sup>

La parte que se puede comer está conformada por hojas, tallos o inflorescencia. Esta especie presenta glucosinato, el cual se da por algunos cambios bioquímicos, con un olor y sabor característico. Cuando se consume altas concentraciones esto puede bloquear el suministro del yodo lo cual generara un aumento glandular conocido como bocio.<sup>57</sup>

### **2.2.6.5. PARTES USADAS DEL REPOLLO**

#### **2.2.6.5.1. RAIZ**

El tallo tiene un sistema radical profundo, pivotante pero que con el tiempo se vuelve superficial, la cual limita la capacidad para explorar

del suelo, generando que la planta requiera de la presencia del agua.<sup>58</sup>

#### **2.2.6.5.2. TALLO**

El tallo en los primeros 365 días tiene una consistencia lechosa por lo que no tiene ramificaciones y no llega a medir más de 30 centímetros, esto es debido a que el crecimiento en longitud se paraliza en el inicio del desarrollo.<sup>58</sup>

#### **2.2.6.5.3. HOJAS**

El punto de crecimiento sigue formando primordios foliares y una roseta de hojas. Las primeras hojas son de fácil desprendimiento y tienen un tamaño de 45 centímetros de largo y 35 centímetros de ancho y cortamente pecioladas.

Sigue un proceso continuo de formación y crecimiento las hojas jóvenes, en el cual se dará formación de cabeza la cual está conformada por hojas pertenecientes al órgano de consumo.<sup>58</sup>

#### **2.2.6.6. COMPOSICION QUIMICA**

Agua 90%, hidratos de carbono 4% (fibra 1%), proteínas 3.3%, lípidos 0.3%, potasio 228 mg/100g, sodio 18 mg/100g, fosfato 4mg/100g, calcio 40mg/100g, hierro 1mg/100g, vitamina C 65mg/100g y vitamina A 0.8 mg/100g.<sup>58</sup>

#### **2.2.6.7. REQUERIMIENTOS ECOLOGICOS**

La *Brassica oleracea L.* se adapta a una altitud de 1000m.s.n.m. a 3100 m.s.n.m., en un clima cálido y subcálido, de preferencia que sea templado o frío, con una precipitación de 700 a 1500 mm, su temperatura optima esta entre 12°C a 18°C, soportando un mínimo de 10°C y máximo de 27°C, requiere entre 4 a 8 horas diarias de sol, con una humedad de entre 90 a 95%.<sup>58</sup>

## 2.3. FORMULACION DE HIPÓTESIS

### 2.3.1 Hipótesis general.

El extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col Morada) posee efecto hepatoprotector en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono.

### 2.3.2 Hipótesis específica.

1. Existen algunos metabolitos en el extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col Morada).
2. Existe una concentración óptima del extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col Morada) que posee efecto hepatoprotector en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono.
3. El extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col Morada) posee efecto hepatoprotector comparado con Silimarina en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono.

## 2.4. VARIABLES

Tabla N°01: Operacionalización de Variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES
<b>INDEPENDIENTE:</b> Extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea L.</i> (Col Morada)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Marcha de Solubilidad</li><li>• Tamizaje fitoquímico</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Solubilidad (+++ , ++ , + , -)</li><li>• Identificación de metabolitos (+++ , ++ , + , -)</li></ul>
<b>DEPENDIENTE:</b> Efecto Hepatoprotector	<ul style="list-style-type: none"><li>• Perfil hepático</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Transaminasa Glutámico Oxalacética</li></ul>



		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Transaminasa Glutámico Pirúvica</li> <li>• Fosfatasa Alcalina</li> <li>• Proteínas Totales</li> <li>• Albuminas</li> <li>• Globulinas</li> </ul>
--	--	---

## 2.5. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.

a) Hepatocito: Son células parenquimatosas del hígado que conforman el 80% de este órgano, forman estructuras tridimensionales simulando la forma de una esponja; entre sus cualidades esta su gran capacidad de proliferación y de reparación.<sup>59</sup>

b) Biopsia hepática: Se refiere al proceso quirúrgico que consiste en realizar una punción del hígado para extraer una pequeña muestra de este tejido para su posterior estudio para detectar o descartar una enfermedad o afección.<sup>60</sup>

c) Silimarina: Es una hierba tradicional antioxidante usada para tratar los desórdenes del hígado ya que elimina los radicales libres y regula el metabolismo del glutatión. Tiene aproximadamente 3 veces mayor potencial que la vitamina E resguardando el hígado del daño por fármacos.<sup>61</sup>

d) *Brassica olearacea L.* : Llamada comúnmente como Col morada, col lombarda o repollo morado es una hortaliza de variadas propiedades beneficiosas para nuestra salud, entre ellas la más destacable es su capacidad antioxidante debido a su gran contenido de antocianinas.<sup>62</sup>

e) Hepatoprotector: Es aquella sustancia que tiene la capacidad de proteger el hígado de algún daño externo y elevar las transaminasas.<sup>63</sup>

f) Perfil hepático: Batería de análisis realizados en sangre para saber el funcionamiento del hígado, además de conocer si este se encuentra frente a una infección, lesión e inflamación.<sup>64</sup>

## CAPITULO III: METODOLOGIA

### 3.1. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

#### 3.1.1. Tipo

Aplicada porque busca actuar sobre un problema de la realidad concreta.

#### 3.1.2. Diseño de la investigación.

El diseño utilizado fue de tipo experimental y transversal, es decir se realizó una manipulación intencional en las variables, para luego observar el efecto que la manipulación tiene sobre la variable.

### 3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

#### 3.2.1 Población

Ratas albinas de la cepa Hotzman machos, adquiridos en el Bioterio de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

#### 3.2.2 Muestra

Treinta (30) ratas albinas divididas en seis grupos, cada grupo conformado por cinco ratas, con peso entre 220 g.  $\pm$  50 g, de tres meses de edad.

**Tabla N°02: Criterios de Inclusión y Exclusión**

<b>Criterios de Inclusión</b>	<b>Criterios de Exclusión</b>
Ratas albinas machos	Ratas albinas hembras
Ratas con peso entre 220 g. $\pm$ 50 g	Ratas con peso mayor a 270g y menor a 170g
Ratas adquiridas en la Universidad Nacional Agraria La Molina	Ratas adquiridas en otros centros

### **3.2.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.**

La técnica para la recolección de datos empleada en la presente investigación fue la observacional, en donde se extrae los datos determinados fenómenos y se restringe la participación de los investigadores.

### **3.2.4. Descripción del Instrumento.**

El instrumento fue una ficha de observación ad-hoc (Ficha de recolección de datos) elaborada por los investigadores, basándose en los indicadores establecidos.

### **3.2.5. Validación del instrumento.**

El instrumento empleado fue viable, económico y sencillo en su estructura al poseer dos hojas. La validez de contenido se obtuvo mediante la evaluación por juicio de 3 expertos, quienes fueron: Mg. Oscar Flores López, Mg. Pinedo Pérez Neuman y Dr. Pablo Bonilla Rivera.

Los jueces calificaron las características del instrumento por medio de una ficha de validación por expertos (anexo 06), para lo que se le entregó a cada uno la matriz de consistencia interna del estudio (anexo 01); las puntuaciones obtenidas por la evaluación de cada uno de los jueces validadores fueron integradas en la matriz de validación por jueces (anexo 07), lo que permitió obtener la validez de contenido global.

### **3.2.6. Técnicas de procesamiento y análisis de datos.**

Para desarrollar el análisis de nuestros datos, emplearemos la media aritmética y la desviación estándar en cada una de las variables del perfil hepático; posteriormente haremos el análisis de varianza (ANOVA) para un factor; con el objetivo de determinar si hay diferencias significativas entre las medias para la variable evaluada en los distintos grupos y finalmente de

existir diferencias estadísticamente significativas , la prueba de Tukey que permitió identificar entre que grupos existen estas diferencias. El software estadístico con el que se realiza estos cálculos es el MINITAB.

### 3.3 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS.

#### 3.3.1 Material biológico:

- **Animal de experimentación:** Ratas Hotlzman albinos machos de 220 g  $\pm$  51 g. de peso, obtenidos del Bioterio de la Universidad Nacional Agraria La Molina.
- **Muestra vegetal:** Extracto etanólico de las hojas de *Brassica Oleracea L.*

#### 3.3.2. Equipos

**Tabla N°03: Equipos utilizados en la investigación**

N°	Equipos
1	Balanza Analítica
2	Balanza
3	Estufa
4	Lámpara UV
5	Equipo de filtración con bomba de vacío

#### 3.3.3. Materiales de vidrio

**Tabla N°04: Materiales de Vidrio**

N°	Materiales de vidrio
1	Tubos de ensayo
2	Tubos de ensayo tapa rosca
3	Pipetas de 1 mL, 2 mL, 5 mL y 10 mL.
4	Baquetas
5	Beacker

6	Cubeta para cromatografía
7	Frascos de color ámbar
8	Frascos
9	Capilares
10	Bandeja Pyrex

### 3.3.4. Reactivos

**Tabla N°05: Reactivos**

<b>N°</b>	<b>Reactivos</b>
1	Etanol
2	Agua Destilada
3	Cloroformo
4	Metanol
5	Éter Etílico
6	Ácido Sulfúrico
7	Reactivo de Dragendorff
8	Reactivo de Mayer
9	Reactivo de Wagner
10	Reactivo de Sonnenschein
11	Reactivo de Fehling A
12	Reactivo de Fehling B
13	Reactivo de Benedict
14	Reactivo de Shinoda
15	Reactivo de Lieberman – Buchard
16	Reactivo de Rosenheim
17	Reactivo de Borntrager
18	Gelatina
19	Cloruro triferrico
20	Éter de Petróleo

### 3.3.5. Equipos de Protección Personal

**Tabla N°06: Equipos de protección personal**

<b>N°</b>	<b>Equipos de Protección personal (EPPs)</b>
1	Mascarillas
2	Tocas o gorros descartables
3	Guardapolvo
4	Guantes de Nitrilo

### **3.3.6. Materiales de Adaptación**

**Tabla N°07: Materiales de adaptación**

<b>N°</b>	<b>Materiales de adaptación</b>
1	Jaula con rejas de acero
2	Alimento balanceado
3	Bebedores
4	Viruta estéril

### **3.3.7. Otros materiales**

**Tabla N°08: Otros materiales**

<b>N°</b>	<b>Otros Materiales</b>
1	Propipeta
2	Gradillas
3	Papel kraft
4	Papel filtro
5	Cromatoplacas
6	Tubos de ensayo con tapón roja para pruebas biológicas
7	Jeringas de 1 mL y 5 mL
8	Agujas de 21
9	Frascos de plástico para muestras
10	Cooler
11	Lapiceros

12	Marcadores (negro, azul, rojo y verde.)
13	Algodón estéril
14	Estuche de disección
15	Tijera
16	Cámara digital
17	Paños yes

### 3.4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTALES

#### 3.4.1 Preparación del Extracto

##### **3.4.1.1. Recolección.**

Se recolectaron hojas frescas de la *Brassica oleracea L.* (Col morada), procedentes del departamento de Junín en la ciudad de Tarma a 3050 m.s.n.m. Durante el mes de febrero del 2018.

##### **3.4.1.2 Certificación de la Muestra vegetal.**

La especie botánica fue certificada por el Biólogo Hamilton Beltrán del Museo Botánico, autorizado por el INRENA.

##### **3.4.1.3 Secado de la Muestra vegetal**

Una vez obtenida la muestra se procedió a limpiarla y lavar las hojas de *Brassica oleracea L.* (Col Morada) con agua potable para retirar los residuos de tierra. El secado de las hojas fue natural, se realizó en un ambiente seco y bajo sombra por 14 días. (Metodología de Kuklinski).<sup>65</sup>

##### **3.4.1.4 Maceración de las hojas de las hojas de *Brassica oleracea L.***



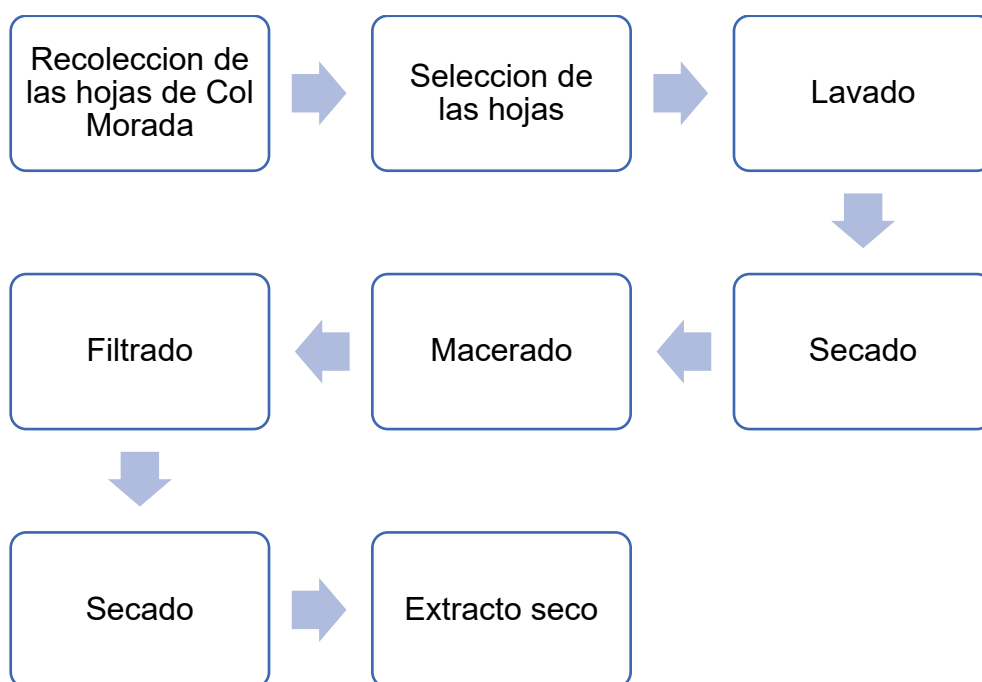
Las hojas secas fueron envasadas en seis frascos ámbar de 1000 mL de boca ancha, se le añadió alcohol de 96° hasta cubrirlo por completo, se dejó macerar por 21 días. Durante este tiempo de maceración se fue agitando 2 veces al día.

#### 3.4.1.5 Filtrado del macerado del extracto etanólico

El macerado se filtró con ayuda de un equipo de filtración con bomba al vacío obteniéndose el extracto etanólico.

#### 3.4.1.6 Secado del extracto etanólico

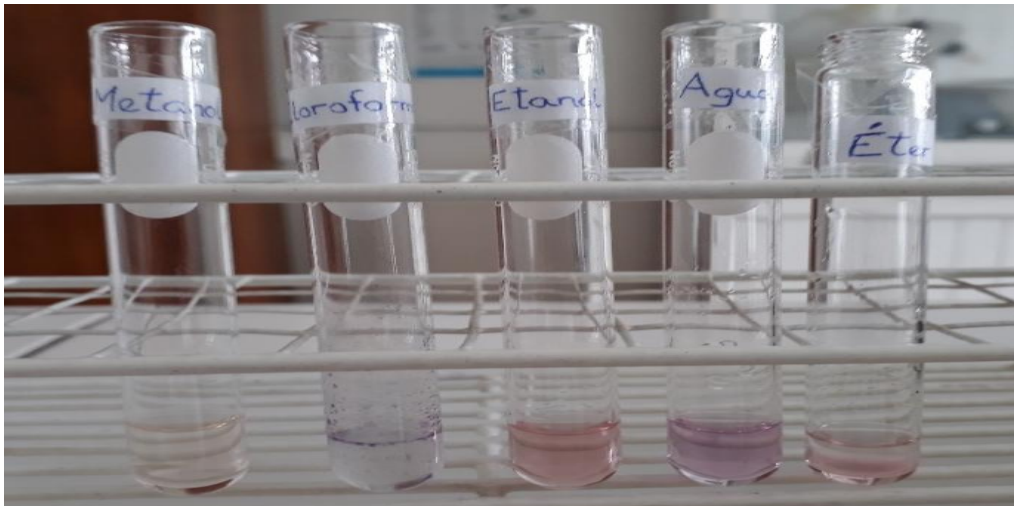
Finalmente, el extracto se colocó en bandejas Pyrex y se llevó a secar a la estufa a 40°C. Al producto obtenido se le denominó extracto seco. Luego el extracto seco fue colocado en un frasco de vidrio de color ámbar para conservarlo en refrigeración.



**Figura N°01: Flujograma de la extracción del extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col Morada)**

### 3.4.2 Marcha de solubilidad

Esta marcha de solubilidad sirve para identificar en que solvente es más soluble el extracto seco de la *Brassica oleracea L.* "Col Morada". Se utilizaron cinco tubos y en cada uno, un solvente diferente (metanol, cloroformo, etanol, agua y éter de petróleo), para observar la solubilidad.



**Figura N°02: Ensayo de Solubilidad del extracto etanólico de la *Brassica Oleracea L.* (Col morada)**

### 3.4.3. Tamizaje fitoquímico

Se desarrolla para la detección de los diferentes constituyentes químicos en las plantas, realizando una extracción con solventes apropiados.

Se realizó en el laboratorio de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega según la Metodología de Olga Lock de Ugaz<sup>66</sup>.

#### 3.4.3.1. Determinación Alcaloides

##### a. Reacción de Dragendorff

Se colocó 1 mL de la muestra en un tubo de ensayo, se agregó una mezcla de yoduro de bismuto y potasio, y se añadió 2 gotas de Ácido Clorhídrico 1%, se observó un precipitado color rojo ladrillo indicando la presencia de alcaloides.

#### **b. Reacción de Mayer**

Se colocó 1 mL de la muestra en un tubo de ensayo, se agregó una mezcla de yoduro de Mercurio y Potasio. Se observó una leve presencia de precipitado blanco en el tubo de ensayo, indicando la presencia de alcaloides.

#### **c. Reacción de Wagner**

El reactivo de Wagner es una solución de yoduro de potasio y yodo. Que al reaccionar con los alcaloides dan precipitados floculentos de color marrón a pardo oscuro.<sup>66</sup>

Se colocó 1 mL de la muestra en un tubo de ensayo, se agregó 0,5 mL del reactivo de Wagner, el cual produce un leve precipitado marrón, dando así positivo para este ensayo.

### **3.4.3.2. Determinación de Taninos**

#### **Reacción de Gelatina 1%**

La gelatina es una proteína, la cual tiene la propiedad de detectar a los taninos, al unirse a estos polifenoles da como resultado un precipitado blanco.<sup>67</sup>

Se colocó 1 mL de la muestra en un tubo de ensayo, se llevó a concentrar a sequedad y se agregó 1 mL de agua destilada, luego se le agregó 2 gotas de Gelatina 1%, el cual produce un leve precipitado blanco, dando así positivo para este ensayo.

### **3.4.3.3. Determinación de Carbohidratos**

#### **a. Reacción de Fehling**

El reactivo de Fehling consiste en dos soluciones: Fehling A (sulfato de cobre) y Fehling B (Sal de Seignette), están separadas para prevenir la formación del precipitado del hidróxido de cobre. Que al reaccionar con una forma de aldehído se reduce a un grupo carboxilo y óxido de cobre, dando un precipitado rojo. Esta reacción determina la presencia de azúcares reductores.<sup>67</sup>

Se colocó 0,5 mL de la muestra en un tubo de ensayo. Se mezcló 3 mL de Fehling A y B. Luego se agregó 1 mL de la mezcla a la muestra y se llevó a baño maría. No se observó un precipitado rojo del óxido de cobre.

#### **b. Reacción de Benedict**

El reactivo de Benedict es una solución de sulfato de cobre II, carbonato de sodio y citrato de sodio. Que al reaccionar con una azúcar ocurre una reacción de oxidación, ya que el cobre II se reduce a óxido de cobre I, formando una precipitación de color rojo.<sup>67</sup>

Se colocó 0,5 mL de la muestra en un tubo de ensayo y se agregó NaOH 3M, para obtener un pH entre 9 y 10, luego se agregó 4 mL del reactivo de Benedict y se llevó a baño maría. No se observó un precipitado rojo del óxido de cobre I.

### **3.4.3.4. Determinación de Compuestos Fenólicos**

#### **Reacción de Tricloruro Férrico**

Reactivo de Tricloruro Férrico, detecta la presencia de fenoles, se considera positivo cuando da coloraciones de verde a marrón (derivados de catecol) y coloraciones azuladas (derivados de pirogalol)<sup>66</sup>.

Se colocó 1 mL de la muestra en un tubo de ensayo y se agregó 2 gotas de Tricloruro Férrico al 5%. Se observó la coloración verde oscuro.

### **3.4.3.5. Determinación Triterpenos y Esteroides**

#### **Reacción de Lieberman -Burchard**

El reactivo de Lieberman- Burchard está constituido por una reacción entre ácidos fuertes, los cuales son: el ácido acético, anhídrido acético y ácido sulfúrico.<sup>66</sup> Esta reacción sirve para la detección de colesterol. Se colocó 0,5 mL de la muestra en un tubo y se agregó 3 gotas de ácido acético y 3 mL de anhídrido acético, se mezcló. Luego se añadió

3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Se observó la coloración azul verdosa, significando positiva la reacción.

#### **3.4.3.6. Determinación de Flavonoides**

##### **Reacción de Shinoda**

El reactivo de Shinoda o reacción de cianidina, detecta a flavonoides, se considera positivo cuando da coloración rojiza, naranja o violeta.<sup>66</sup>

Se colocó 1 mL de la muestra en un tubo y se agregó un trocito de limadura de magnesio, luego se le agregó lentamente 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado. Se observó la coloración rojiza, significando positivo la reacción.

#### **3.4.3.7. Determinación de Antocianócidos**

##### **Reacción del Ácido Sulfúrico concentrado**

El reactivo de Ácido Sulfúrico concentrado, detecta flavonas y flavonoles (coloración amarilla), chalconas y auronas (coloración rojo guinda a rojo azulado) y flavanonas (coloración anaranjada a guinda).

<sup>66</sup>

Se colocó 1 mL de la muestra en un tubo y se agregó lentamente 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Se observó la coloración rojiza, significando positivo la reacción.

#### **3.4.3.8. Determinación de Quinonas**

##### **Reacción de Borntranger**

La reacción de Borntrager detecta la presencia de antraquinonas. Consiste en agregar una solución alcalina, la cual reaccionara dando una coloración rojiza, anaranjada o rosada, dependiendo la intensidad detectada del metabolito.<sup>66</sup>

Se colocó 2 mL de la muestra en un tubo de ensayo, se lleva a concentrar a sequedad, y se añadió 0,5 mL de tolueno, luego se le

agrega 1 mL de Hidróxido de sodio al 5%. Se observó la coloración anaranjada.

### 3.4.3.9. Determinación de Saponinas

#### Prueba de espuma

Se colocó 1 mL de la muestra en un tubo tapa rosca y se agregó 2 mL de agua purificada, se procedió a sacudir por 30 minutos. No se observó presencia de espuma.

### 3.4.4. Actividad Hepatoprotectora del Extracto etanólico de *Brassica oleracea L.*

#### 3.4.4.1. Animales de experimentación

Los animales utilizados fueron ratas machos, que fueron acondicionados en el Bioterio de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, se emplearon 30 ratas de la cepa Holtzman, agrupados en 6 grupos (5 ratas para control negativo, 5 ratas para control positivo sin tratamiento, 5 ratas con tratamiento de silimarina, 5 ratas con tratamiento de extracto al 500 mg/kg, 5 ratas con tratamiento con extracto al 1000 mg/kg y 5 ratas para tratamiento con extracto al 2000 mg/kg). Las ratas tenían 3 meses de edad y fueron aclimatadas a 14 días antes de iniciar el experimento, con ciclo de luz y oscuridad de 12 horas, con temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , humedad relativa de  $55 \pm 5\%$ , agua y alimento.

#### 3.4.4.2. Preparación de la dosificación

Las ratas fueron pesadas inicialmente para realizar los cálculos de la dosificación.

**Tabla N°09: Peso promedio de cada grupo**

N°	Grupo	Peso promedio Inicial
Grupo 1	Control negativo	184,6

Grupo 2	Control positivo	258,2
Grupo 3	CCL <sub>4</sub> + Silimarina	192,2
Grupo 4	CCL <sub>4</sub> + extracto al 500 mg/kg	219,4
Grupo 5	CCL <sub>4</sub> + extracto al 1000 mg/kg	234,6
Grupo 6	CCL <sub>4</sub> + extracto al 2000 mg/kg	200,6

#### **3.4.4.2.1 Preparación de la Administración del Tetracloruro de Carbono (CCL<sub>4</sub>)**

Se preparó tetracloruro de carbono de 0,2 mL/Kg, disuelto en aceite de olivo en relación 1:1 respectivamente.

- Dosis para el Grupo 2 (Control Positivo)

$$0,2 \text{ mL} - 1000 \text{ g}$$

$$x \text{ mL} - 258,2 \text{ g}$$

$$x = 0,05 \text{ mL de Tetracloruro de carbono}$$

Se le agrega 0,05 mL de aceite de olivo, total de dosis por rata 0,1 mL por día.

- Dosis para el Grupo 3 (CCL<sub>4</sub> + Silimarina)

$$0,2 \text{ mL} - 1000 \text{ g}$$

$$x \text{ mL} - 192,2 \text{ g}$$

$$x = 0,04 \text{ mL de Tetracloruro de carbono}$$

Se le agrega 0,04 mL de aceite de olivo, total de dosis por rata 0,08 mL por día.

- Dosis para el Grupo 4 (CCL<sub>4</sub> + extracto al 500 mg/kg)

$$0,2 \text{ mL} - 1000 \text{ g}$$

$$x \text{ mL} - 219,4 \text{ g}$$

$$x = 0,04 \text{ mL de Tetracloruro de carbono}$$

Se le agrega 0,04 mL de aceite de olivo, total de dosis por rata 0,08 mL por día.

- Dosis para el Grupo 5 (CCL<sub>4</sub> + extracto al 1000 mg/kg)

$$0,2 \text{ mL} - 1000 \text{ g}$$

$$x \text{ mL} - 234,6 \text{ g}$$

$$x = 0,05 \text{ mL de Tetracloruro de carbono}$$

Se le agrega 0,05 mL de aceite de olivo, total de dosis por rata 0,1 mL por día.

- Dosis para el Grupo 6 (CCL<sub>4</sub> + extracto al 2000 mg/kg)

$$0,2 \text{ mL} - 1000 \text{ g}$$

$$x \text{ mL} - 200,6 \text{ g}$$

$$x = 0,04 \text{ mL de Tetracloruro de carbono}$$

Se le agrega 0,04 mL de aceite de olivo, total de dosis por rata 0,08 mL por día.

#### 3.4.4.2 Preparación de la Administración de la Silimarina

Se preparó Silimarina al 25 mg/Kg.

- Dosis para el Grupo 3 (CCL<sub>4</sub> + Silimarina)

$$25 \text{ mg} - 1000 \text{ g}$$

$$x \text{ mg} - 192,2 \text{ g}$$

$$x = 4,81 \text{ mg de Silimarina}$$

Se le administro 4,81 mg de Silimarina por día cada rata.

#### 3.4.4.2.3 Preparación de la Administración del Extracto de Brassica Oleracea

- Dosis para el Grupo 4 (CCL<sub>4</sub> + extracto al 500 mg/kg)

$$500 \text{ mg} - 1000 \text{ g}$$

$$x \text{ mg} - 219,4 \text{ g}$$

$$x = 109,7 \text{ mg de extracto seco por rata}$$

Se pesó 109,7 mg del extracto seco, y se disolvió en 0,4 mL de agua para administrarle a la rata.

#### Cantidad por grupo:

$$109,7 \text{ mg de extracto seco} \times 5 \text{ ratas} \times 5 \text{ dias}$$

$$= 2742,5 \text{ mg de extracto seco por grupo}$$

$$0,4 \text{ mL} \times 5 \text{ ratas} \times 5 \text{ dias} = 10 \text{ mL agua destilada}$$



Se pesó 2742,5 mg del extracto seco, y se disolvió en 10 mL de agua para administrarle al grupo 4.

- Dosis para el Grupo 5 (CCL<sub>4</sub> + extracto al 1000 mg/kg)

$$1000 \text{ mg} - 1000 \text{ g}$$

$$x \text{ mg} - 234,6 \text{ g}$$

$$x = 234,6 \text{ mg de extracto seco por rata}$$

Se pesó 234,6 mg del extracto seco, y se disolvió en 0,8 mL de agua para administrarle a la rata.

**Cantidad por grupo:**

234,6 mg de extracto seco x 5 ratas x 5 días= 5865 mg de extracto seco por grupo

0,8 mL x 5 ratas x 5 días= 20 mL agua destilada

Se pesó 5865 mg del extracto seco, y se disolvió en 20 mL de agua para administrarle al grupo 5.

- Dosis para el Grupo 6 (CCL<sub>4</sub> + extracto al 2000 mg/kg)

$$2000 \text{ mg} - 1000 \text{ g}$$

$$x \text{ mg} - 200,6 \text{ g}$$

$$x = 401,2 \text{ mg de extracto seco por rata}$$

Se pesó 401,2 mg del extracto seco, y se disolvió en 1,6 mL de agua para administrarle a la rata.

**Cantidad por grupo:**

401,2 mg de extracto seco x 5 ratas x 5 días= 10030 mg de extracto seco por grupo

1,6 mL x 5 ratas x 5 días= 40 mL agua destilada

Se pesó 10030 mg del extracto seco, y se disolvió en 40 mL de agua para administrarle al grupo 6.

**Tabla N°10: Esquema de los grupos**

<b>N°</b>	<b>Grupo</b>	<b>Sustancias</b>	<b>Cantidad</b>
Grupo 1	Control negativo	Agua destilada + alimentación	5
Grupo 2	Control positivo	CCL <sub>4</sub> 0,2 mL/kg + agua destilada	5
Grupo 3	CCL <sub>4</sub> + Silimarina	CCL <sub>4</sub> 0,2 mL/kg + Silimarina 25mg/kg/dia	5
Grupo 4	CCL <sub>4</sub> + extracto al 500 mg/kg	CCL <sub>4</sub> 0,2 mL/kg + Extracto de Brassica Oleracea 500mg/kg/dia	5
Grupo 5	CCL <sub>4</sub> + extracto al 1000 mg/kg	CCL <sub>4</sub> 0,2 mL/kg + Extracto de Brassica Oleracea 1000mg/kg/dia	5
Grupo 6	CCL <sub>4</sub> + extracto al 2000 mg/kg	CCL <sub>4</sub> 0,2 mL/kg + Extracto de Brassica Oleracea 2000mg/kg/dia	5

- **Grupo control negativo:** No se le administro el tetracloruro de carbono.
- **Grupo positivo sin tratamiento:** Se le administro 0,1 mL por orogastrica tetracloruro de carbono diariamente por 5 días.
- **Grupo positivo con tratamiento de Silimarina:** Se le administro 0,5 mL por canulación gástrica silimarina y luego de una hora 0,08 mL por orogástrica tetracloruro de carbono diariamente por 5 días.
- **Grupo positivo con tratamiento de extracto al 500 mg/kg:** Se le administro 0,4 mL por canulación gástrica extracto de Col morada (500 mg/kg) y luego de una hora 0.08 mL por orogástrica tetracloruro de carbono diariamente por 5 días.
- **Grupo positivo con tratamiento de extracto al 1000 mg/kg:** Se le administro 0,8 mL por canulación gástrica extracto de Col morada (1000 mg/kg) y luego de una hora 0,1 mL por orogástrica tetracloruro de carbono diariamente por 5 días.

• **Grupo positivo con tratamiento de extracto al 2000 mg/kg:** Se le administro 1,6 mL por canulación gástrica extracto de Col morada (2000 mg/kg) y luego de una hora 0,08 mL por orogástrica tetracloruro de carbono diariamente por 5 días.

#### **3.4.4.3. Análisis Bioquímico**

Las ratas fueron pesadas al quinto día antes de ser sacrificadas, se procedió después a tomar la muestra de sangre por punción cardiaca. Con ayuda del éter etílico se anestesió a las ratas, se muestreo aproximadamente 3 mL de sangre con jeringa de 5mL y aguja N°27 en tubos de ensayo con tapón rojo. Estos tubos fueron transportados en un cooler hacia el laboratorio de análisis clínico Centro de Apoyo Diagnostico Villarán, donde se realizaron los siguientes análisis del Perfil Hepático:

- Transaminasa Glutámico Oxalacetica
- Transaminasa Glutámico Pirúvica
- Fosfatasa Alcalina
- Proteínas Totales
- Albuminas
- Globulinas

#### **3.4.4.4. Análisis Histológico**

Después de haber extraído la sangre, se procedió a sacrificar a las ratas por dislocación cervical y se extrajeron los hígados. Los hígados fueron lavados con suero fisiológico, pesados, observados, conservados en formol y transportados en un cooler a un Laboratorio de Patología del Hospital Guillermo Almenara Irigoyen, donde se realizaron cortes de aproximadamente 5µm con un micrótomo y se les realizó el procedimiento de tinción Hematoxilina –Eosina.

**Tabla N°11: Peso promedio final de cada grupo**

<b>N°</b>	<b>Grupo</b>	<b>Peso promedio Final</b>	<b>Intervalo del Peso del hígado</b>	<b>Color del hígado</b>
Grupo 1	Control negativo	208,6	9,5 ± 2,5	Marrón
Grupo 2	Control positivo	264,8	11 ± 1	Marrón con manchas blancas
Grupo 3	CCL <sub>4</sub> + Silimarina	200,8	8,5 ± 1,5	Marrón con manchas blancas
Grupo 4	CCL <sub>4</sub> + extracto al 500 mg/kg	223	10 ± 3	Marrón con manchas blancas
Grupo 5	CCL <sub>4</sub> + extracto al 1000 mg/kg	243,8	11 ± 1	Marrón
Grupo 6	CCL <sub>4</sub> + extracto al 2000 mg/kg	215,4	11 ± 1	Rojizo

## CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. RESULTADOS

#### 4.1.1. Resultados de la marcha de solubilidad

**Tabla N°12: Ensayo de Solubilidad del extracto etanólico de la *Brassica Oleracea L.* (Col morada)**

SOLVENTE	RESULTADO
Metanol	++
Etanol	+++
Cloroformo	+
Éter de Petróleo	+
Agua Destilada	++

**Leyenda:**

- +++ Muy soluble
- ++ Soluble
- + Poco Soluble
- Insoluble

**Fuente:** Elaboración propia

El extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col morada) demostró ser muy soluble en Etanol, soluble en Metanol y Agua destilada, y poco soluble Cloroformo y éter de Petróleo. Como se aprecia en la Tabla N°12.

#### 4.1.2. Resultados de la marcha fitoquímica

**Tabla N°13: Metabolitos del extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col morada).**

METABOLITO	REACCION	RESULTADO
Alcaloides	Dragendorff	+++
	Mayer	++
	Wagner	++
Taninos	Gelatina	++
Carbohidratos	Molish	++
	Benedict	+++

	Fehling	++
Compuestos Fenólicos	FeCl <sub>3</sub>	+++
Triterpenos y Esteroides	Lieberman -Buchard	++
Flavonoides	Shinoda	+++
Antocianosidos	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentrado	+++
Quinonas	Borntrager	+
Saponinas	Agua (Espuma)	-

**Leyenda:**

+++ Abundante

++ Bastante

+ Regular

- Ausencia

**Fuente:** Elaboración propia

En el extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (col morada) se realizó la marcha fitoquímica para la identificación de los metabolitos, donde se observó la abundante presencia de Flavonoides, Compuestos Fenólicos y Antocianosidos, bastante presencia de Alcaloides, Carbohidratos, Taninos y Triterpenos y Esteroides, regular presencia de quinonas y la ausencia de saponinas. Como se aprecia en la Tabla N°13.

#### 4.1.3. Resultados de los parámetros bioquímicos

##### 4.1.3.1. Transaminasa G. Oxalacética (TGO)

**Tabla N°14: Medias de Transaminasa G. Oxalacética según el Tratamiento**

Tratamiento	N°	Media	Desv. Est.	IC de 95%
NORMAL	5	85.4	5.86	(70.31, 100.49)
TETRACLORURO	5	149.4	25.2	(134.3, 164.5)
SILIMARINA	5	92	20.12	(76.91, 107.09)
CCL4 + EXT 500 mg/kg	5	82	11.02	(66.91, 97.09)
CCL4 + EXT 1000 mg/kg	5	85.8	4.02	(70.71, 100.89)
CCL4 + EXT 2000 mg/kg	5	82.6	19.74	(67.51, 97.69)

**Fuente:** Elaboración propia

En la Tabla N°14, podemos apreciar el resultado de las medias del TGO en los diferentes grupos de tratamiento. Se observó una similitud en las medias del TRATAMIENTO NORMAL, SILIMARINA, CCL4 + EXT. 500 mg/Kg, CCL4 + EXT. 1000 mg/Kg y CCL4 + EXT. 2000 mg/Kg. Posteriormente haremos el ANOVA; para ello nos planteamos la siguiente hipótesis:

**Método:**

Hipótesis nula: Todas las medias son iguales  
 Hipótesis alterna: No todas las medias son iguales  
 Nivel de significancia:  $\alpha = 0.05$

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

**Tabla N°15: Análisis de Varianza de TGO**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTO	5	17296	3459.3	12.95	0.001
Error	24	6412	267.2		
Total	29	23709			

Fuente: Elaboración propia

El p-valor obtenido es  $0.001 < 0.05$ ; por ello rechazamos la hipótesis nula, esto nos indica que no todas las medias son iguales. Para determinar cuáles son las medias que difieren usaremos la prueba de Tukey, aplicaremos esta prueba por que las muestras en todos los casos son del mismo tamaño.

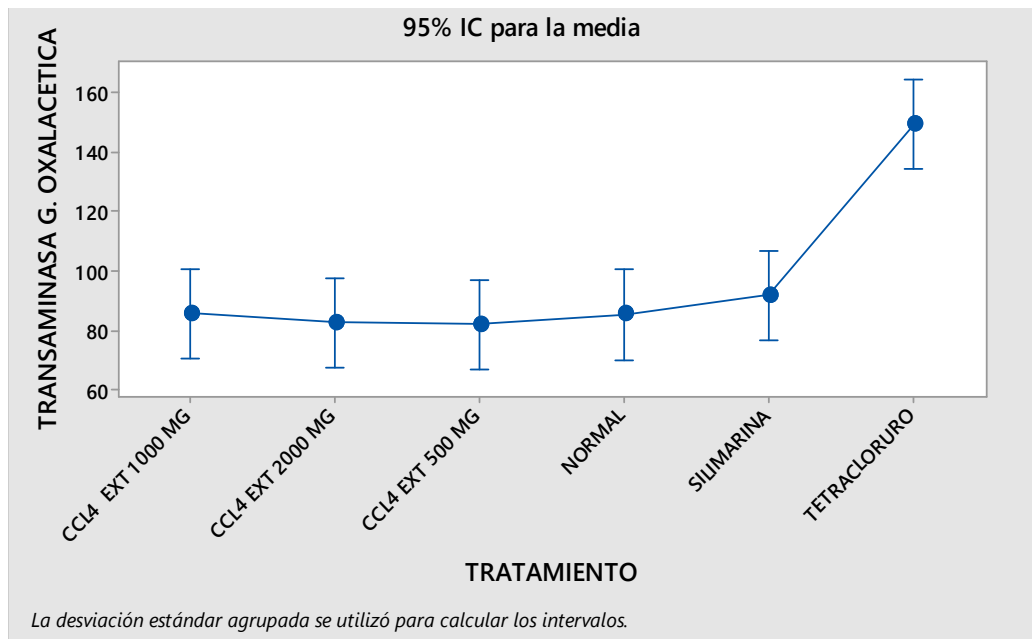
**Tabla N°16: Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias del TGO**

<b>Diferencia de niveles</b>	<b>Diferencia de las medias</b>	<b>EE de diferencia</b>	<b>IC de 95%</b>	<b>Valor T</b>	<b>Valor p ajustado</b>
TETRACLORURO – NORMAL	64	10.3	(32.1, 95.9)	6.19	0.001
SILIMARINA – NORMAL	6.6	10.3	(-25.3, 38.5)	0.64	0.987
NORMAL - CCL4 EXT 500	3.4	10.3	(-28.5, 35.3)	0.33	0.999
NORMAL - CCL4 EXT 1000	-0.4	10.3	(-32.3, 31.5)	-0.04	0.999
NORMAL - CCL4 EXT 2000	2.8	10.3	(-29.1, 34.7)	0.27	0.999

Fuente: Elaboración propia

Podemos apreciar el p-valor obtenido para TETRACLORURO – NORMAL; es  $0.001 < 0.05$  con lo cual rechazamos la hipótesis nula de igualdad de medias. Pero apreciamos que para SILIMARINA – NORMAL; NORMAL - CCL4 EXT 500; NORMAL - CCL4 EXT 1000; NORMAL - CCL4 EXT 2000; los p-valores son  $> 0.05$ , con ello asumimos que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias para cada uno de estos grupos. El gráfico confirma lo encontrado.





**Figura N°03: Grafico de Intervalos de TGO vs Tratamiento**

#### 4.1.3.2. Transaminasa G. Pirúvica (TGP)

**Tabla N°17: Medias de Transaminasa G. Pirúvica según el Tratamiento**

TRATAMIENTO	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
NORMAL	5	23.4	3.51	(14.27, 32.53)
TETRACLORURO	5	45.8	21.7	(36.67, 54.93)
SILIMARINA	5	27.4	7.5	(18.27, 36.53)
CCL4 EXT 500 MG	5	26.2	5.31	(17.07, 35.33)
CCL4 EXT 1000 MG	5	30.2	3.56	(21.07, 39.33)
CCL4 EXT 2000 MG	5	24.6	2.51	(15.47, 33.73)

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla N°17, podemos apreciar el resultado de las medias del TGP en los diferentes grupos de tratamiento. Se observó una similitud en las medias del TRATAMIENTO NORMAL, SILIMARINA, CCL4 + EXT. 500 mg/Kg, CCL4 + EXT. 1000 mg/Kg y CCL4 + EXT. 2000 mg/Kg.

Nos planteamos la hipótesis:

**Método:**

Hipótesis nula: Todas las medias son iguales

Hipótesis alterna: No todas las medias son iguales

Nivel de significancia:  $\alpha = 0.05$

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

**Tabla N°18: Análisis de Varianza de TGP**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTO	5	1713	342.64	3.51	0.016
Error	24	2346	97.75		
Total	29	4059			

Fuente: Elaboración propia

El p-valor obtenido es  $0.01 < 0.05$ ; por ello rechazamos la hipótesis nula, con lo cual no hay igualdad de medias; por ello debemos averiguar mediante la prueba de Tukey cuáles son las medias que difieren.

**Tabla N°19: Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias del TGP**

Diferencia de niveles	Diferencia de las Medias	EE de diferencia	IC de 95%	Valor T	Valor p ajustado
TETRACLORURO–NORMAL	22.4	6.25	(3.08, 41.72)	3.58	0.017
SILIMARINA –NORMAL	4	6.25	(-15.32, 23.32)	0.64	0.987
NORMAL - CCL4 EXT 500	-2.8	6.25	(-22.12, 16.52)	-0.45	0.997
NORMAL - CCL4 EXT 1000	-6.8	6.25	(-26.12, 12.52)	-1.09	0.882

NORMAL - CCL4 EXT 2000	-1.2	6.25	(-20.52, 18.12)	-0.19	0.999
---------------------------	------	------	-----------------	-------	-------

Fuente: Elaboración propia

El p-valor obtenido para el TETRACLORURO – NORMAL es  $0.017 < 0.05$ , lo cual nos indica que debemos rechazar la hipótesis nula de igualdad de medias, para este nivel. Pero para los niveles; SILIMARINA – NORMAL; NORMAL - CCL4 EXT 500; NORMAL - CCL4 EXT 1000; NORMAL - CCL4 EXT 2000 los p-valores obtenidos son  $> 0.05$  lo cual nos indica que no podemos rechazar la hipótesis nula; con ello asumimos que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias para cada uno de estos grupos. El gráfico confirma lo encontrado.

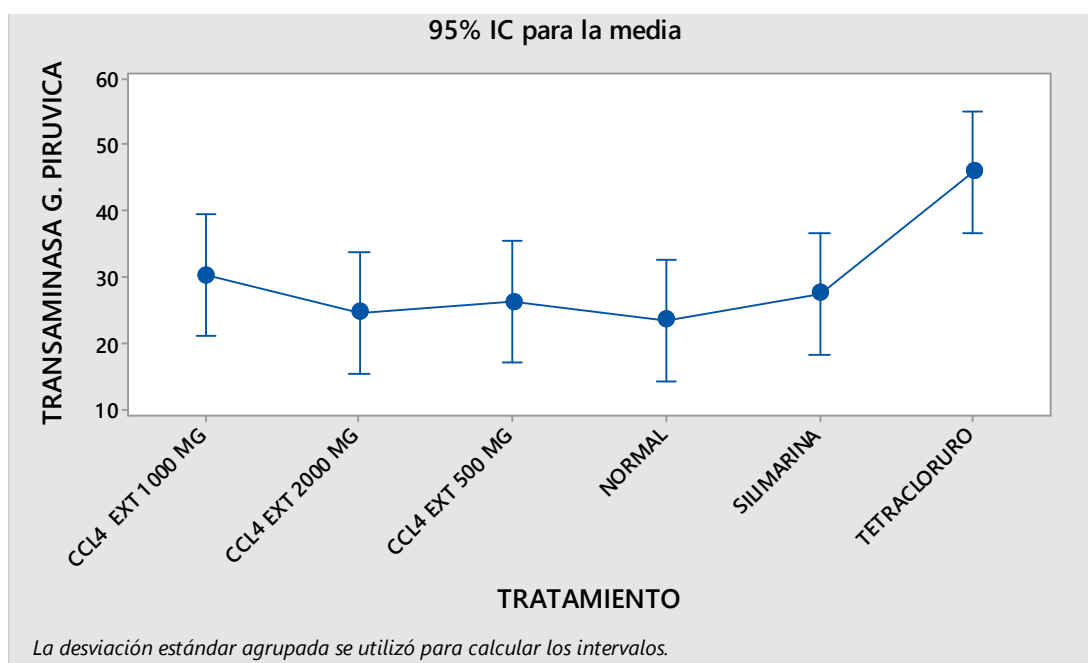


Figura N°04: Gráfico de Intervalos de TGP vs Tratamiento

#### 4.1.3.3 Fosfatasa Alcalina

Tabla N°20: Medias de Fosfatasa Alcalina según Tratamiento

TRATAMIENTO	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
NORMAL	5	343.8	13.52	(289.85, 397.75)
TETRACLORURO	5	617.2	83.4	(563.2, 671.2)
SILIMARINA	5	369.4	34.2	(315.4, 423.4)

CCL4 EXT 500 MG	5	485.6	106.7	(431.6, 539.6)
CCL4 EXT 1000 MG	5	372.8	15.58	(318.85, 426.75)
CCL4 EXT 2000 MG	5	537.2	23.8	(483.2, 591.2)

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla N°20, podemos apreciar el resultado de las medias de la Fosfatasa Alcalina en los diferentes grupos de tratamiento. Se observo una similitud en las medias del TRATAMIENTO NORMAL, SILIMARINA y CCL4 + EXT. 1000 mg/Kg.

Nos planteamos la hipótesis

**Método:**

Hipótesis nula: Todas las medias son iguales

Hipótesis alterna: No todas las medias son iguales

Nivel de significancia:  $\alpha = 0.05$

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

**Tabla N°21: Análisis de Varianza de la Fosfatasa Alcalina**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTO	5	302245	60449	17.69	0.001
Error	24	82008	3417		
Total	29	384253			

Fuente: Elaboración propia

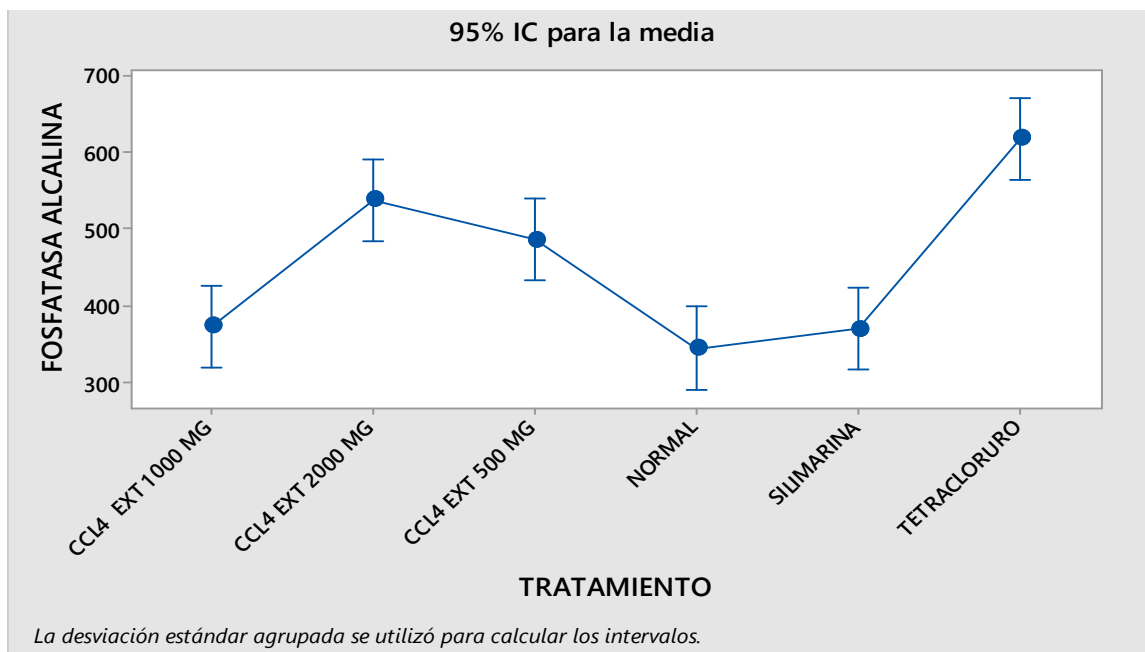
El p-valor obtenido es de  $0.001 < 0.05$  con lo cual rechazamos la hipótesis nula; por ello afirmamos que no hay igualdad en las medias, Para determinar cuál de ellas difieren, aplicaremos la prueba de Tukey.

**Tabla N°22: Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias de la Fosfatasa Alcalina**

<b>Diferencia de niveles</b>	<b>Diferencia de las medias</b>	<b>EE de diferencia</b>	<b>IC de 95%</b>	<b>Valor T</b>	<b>Valor p ajustado</b>
TETRACLORURO – NORMAL	273.4	37	(159.2, 387.6)	7.4	0.001
SILIMARINA – NORMAL	25.6	37	(-88.6, 139.8)	0.69	0.981
NORMAL - CCL4 EXT 500	-141.8	37	(-256.0, -27.6)	-3.84	0.009
NORMAL - CCL4 EXT 1000	-29	37	(-143.2, 85.2)	-0.78	0.968
NORMAL - CCL4 EXT 2000	-193.4	37	(-307.6, -79.2)	-5.23	0.001

Fuente: Elaboración propia

Aquí podemos apreciar que existen diferencias estadísticamente significativas en las medias ( $p$ -valor  $< 0.05$ ) para los niveles de TETRACLORURO – NORMAL; NORMAL - CCL4 EXT 500 y NORMAL - CCL4 EXT 2000; viéndose en estos dos últimos niveles un aumento en las medias; indicando un daño en el perfil hepático. Esto lo confirmamos en el gráfico.



**Figura N°05: Grafico de Intervalos de Fosfatasa Alcalina vs Tratamiento**

#### 4.1.3.4. Proteínas Totales

**Tabla N°23: Medias de las Proteínas Totales según Tratamiento**

TRATAMIENTO	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
NORMAL	5	6.818	0.243	(6.590, 7.046)
TETRACLORURO	5	5.83	0.254	(5.602, 6.058)
SILIMARINA	5	6.05	0.42	(5.822, 6.278)
CCL4 EXT 500 MG	5	6.286	0.1365	(6.057, 6.514)
CCL4 EXT 1000 MG	5	6.472	0.0939	(6.243, 6.700)
CCL4 EXT 2000 MG	5	5.884	0.1991	(5.655, 6.112)

**Fuente:** Elaboración propia

En la Tabla N°23, podemos apreciar el resultado de las medias de las Proteínas Totales en los diferentes grupos de tratamiento. Se observó una similitud en las medias del TRATAMIENTO NORMAL, SILIMARINA, CCL4 + EXT. 500 mg/Kg y CCL4 + EXT. 1000 mg/Kg.

Nos planteamos la hipótesis:

**Método:**

Hipótesis nula:	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna:	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia:	$\alpha = 0.05$

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

**Tabla N°24: Análisis de Varianza de las Proteínas Totales**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTO	5	3.596	0.71929	11.75	0.001
Error	24	1.47	0.06123		
Total	29	5.066			

Fuente: Elaboración propia

Observamos un p-valor  $0.001 < 0.05$ , con lo cual rechazamos nuestra hipótesis nula; esto nos indica que no hay igualdad entre las medias; para determinar en qué nivel se encuentran estas diferencias aplicamos la prueba de Tukey.

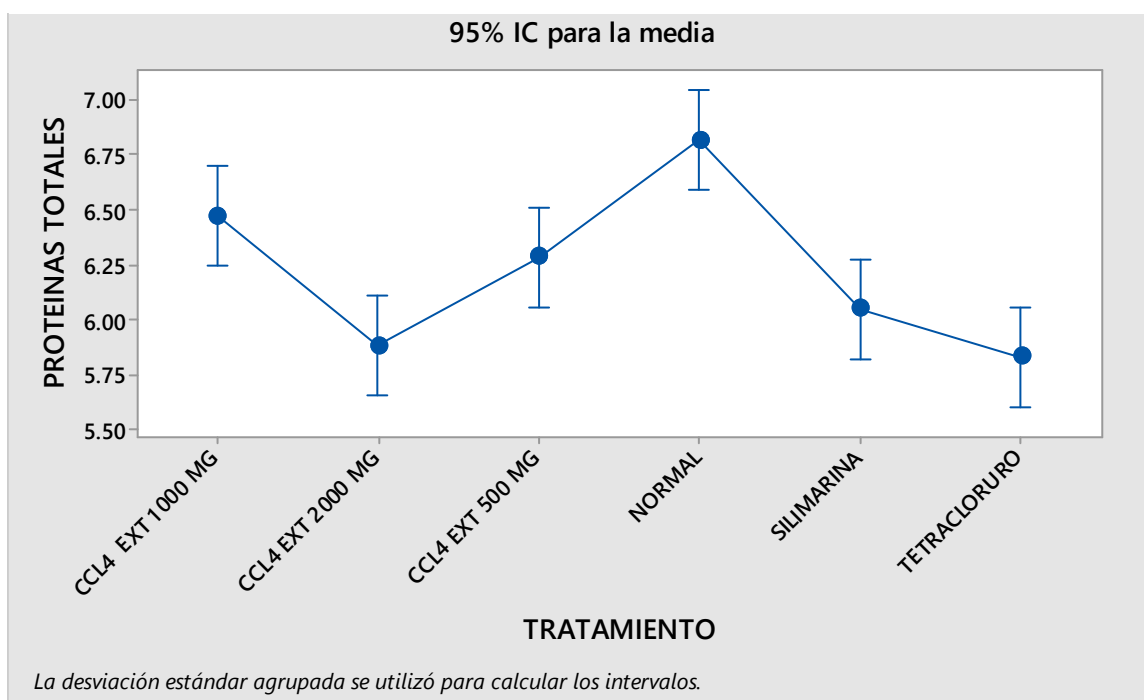
**Tabla N°25: Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias de las Proteínas Totales**

Diferencia de niveles	Diferencia de las Medias	EE de diferencia	IC de 95%	Valor T	Valor p ajustado
TETRACLORURO– NORMAL	-0.988	0.157	(-1.472, -0.504)	-6.31	0.000
SILIMARINA – NORMAL	-0.768	0.157	(-1.252, -0.284)	-4.91	0.001
NORMAL - CCL4 EXT 500	0.532	0.157	(0.048, 1.016)	3.4	0.025

NORMAL - CCL4 EXT 1000	0.346	0.157	(-0.138, 0.830)	2.21	0.269
NORMAL - CCL4 EXT 2000	0.934	0.157	(0.450, 1.418)	5.97	0.000

Fuente: Elaboración propia

Apreciamos diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor < 0.05) en los niveles TETRACLORURO – NORMAL; SILIMARINA – NORMAL; NORMAL - CCL4 EXT 500; NORMAL - CCL4 EXT 2000; siendo estos dos últimos niveles los que muestran una disminución en el promedio; lo cual indica un daño en el perfil hepático. Esto lo confirmamos en el gráfico.



**Figura N°06: Grafico de Intervalos de Proteínas Totales vs Tratamiento**

#### 4.1.3.4. Albuminas

**Tabla N°26: Medias de Albuminas según Tratamiento**

TRATAMIENTO	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
NORMAL	5	2.98	0.03	(2.8809, 3.0791)



TETRACLORURO	5	2.076	0.1542	(1.9769, 2.1751)
SILIMARINA	5	2.2	0.1746	(2.1009, 2.2991)
CCL4 EXT 1000 MG	5	2.302	0.0669	(2.2029, 2.4011)
CCL4 EXT 2000 MG	5	2.096	0.055	(1.9969, 2.1951)
CCL4 EXT 500 MG	5	2.174	0.0805	(2.0749, 2.2731)

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla N°26, podemos apreciar el resultado de las medias de Albuminas en los diferentes grupos de tratamiento. Se observó que no hubo una similitud en las medias.

Nos planteamos la hipótesis:

### Método

Hipótesis nula: Todas las medias son iguales

Hipótesis alterna: No todas las medias son iguales

Nivel de significancia:  $\alpha = 0.05$

*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

**Tabla N°27: Análisis de Varianza de las Albuminas**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTO	5	2.8997	0.57994	50.31	0.001
Error	24	0.2766	0.01153		
Total	29	3.1763			

Fuente: Elaboración propia

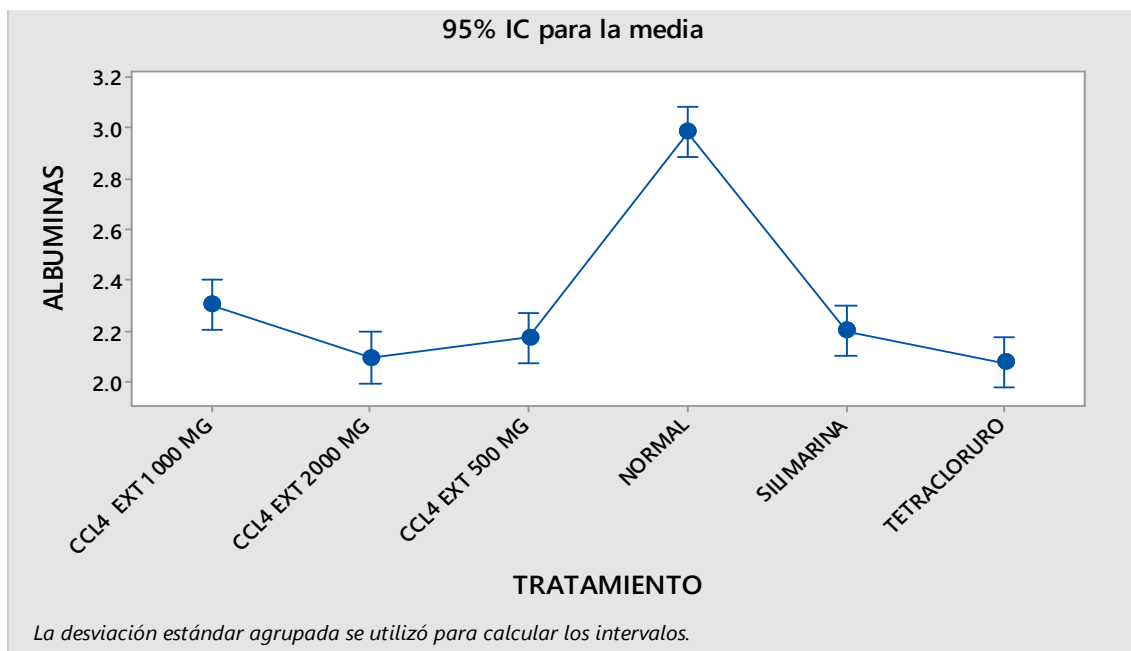
El p-valor obtenido es  $0.001 < 0.05$  por ello rechazamos la hipótesis nula; con lo cual podemos afirmar que las medias no son iguales en todos los grupos; para ver en cuales grupos hay diferencias aplicaremos la prueba de Tukey.

**Tabla N°28: Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias de las Albuminas**

Diferencia de niveles	Diferencia de las Medias	EE de Diferencia	IC de 95%	Valor T	Valor p ajustado
TETRACLORURO – NORMAL	-0.904	0.0679	(-1.1138, -0.6942)	-13.31	0.001
SILIMARINA – NORMAL	-0.78	0.0679	(-0.9898, -0.5702)	-11.49	0.001
NORMAL - CCL4 EXT 500	0.806	0.0679	(0.5962, 1.0158)	11.87	0.001
NORMAL - CCL4 EXT 1000	0.678	0.0679	(0.4682, 0.8878)	9.98	0.001
NORMAL - CCL4 EXT 2000	0.884	0.0679	(0.6742, 1.0938)	13.02	0.001

Fuente: Elaboración propia

Apreciamos diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor  $< 0.05$ ) en todos los niveles; mostrando una disminución en el promedio; indicando con ello un daño en el perfil hepático, esto se confirma con el gráfico.



**Figura N°07: Grafico de Intervalos de Albuminas vs Tratamiento**

#### 4.1.3.5. Globulinas

**Tabla N°29: Medias de los resultados de la Globulina según Tratamiento**

TRATAMIENTO	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
NORMAL	5	3.838	0.2138	(3.637, 4.038)
TETRACLORURO	5	3.738	0.2117	(3.537, 3.938)
SILIMARINA	5	3.788	0.347	(3.587, 3.989)
CCL4 EXT 500 MG	5	4.076	0.0777	(3.875, 4.276)
CCL4 EXT 1000 MG	5	4.17	0.1554	(3.969, 4.370)
CCL4 EXT 2000 MG	5	3.866	0.2055	(3.665, 4.066)

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla N°29, podemos apreciar el resultado de las medias de la Globulina en los diferentes grupos de tratamiento. Se observó una similitud en las medias del TRATAMIENTO NORMAL, TETRACLORURO, SILIMARINA, CCL4 + EXT. 500 mg/Kg y CCL4 + EXT. 1000 mg/Kg.

Nos planteamos la hipótesis:

**Método:**

- Hipótesis nula: Todas las medias son iguales
- Hipótesis alterna: No todas las medias son iguales
- Nivel de significancia:  $\alpha = 0.05$

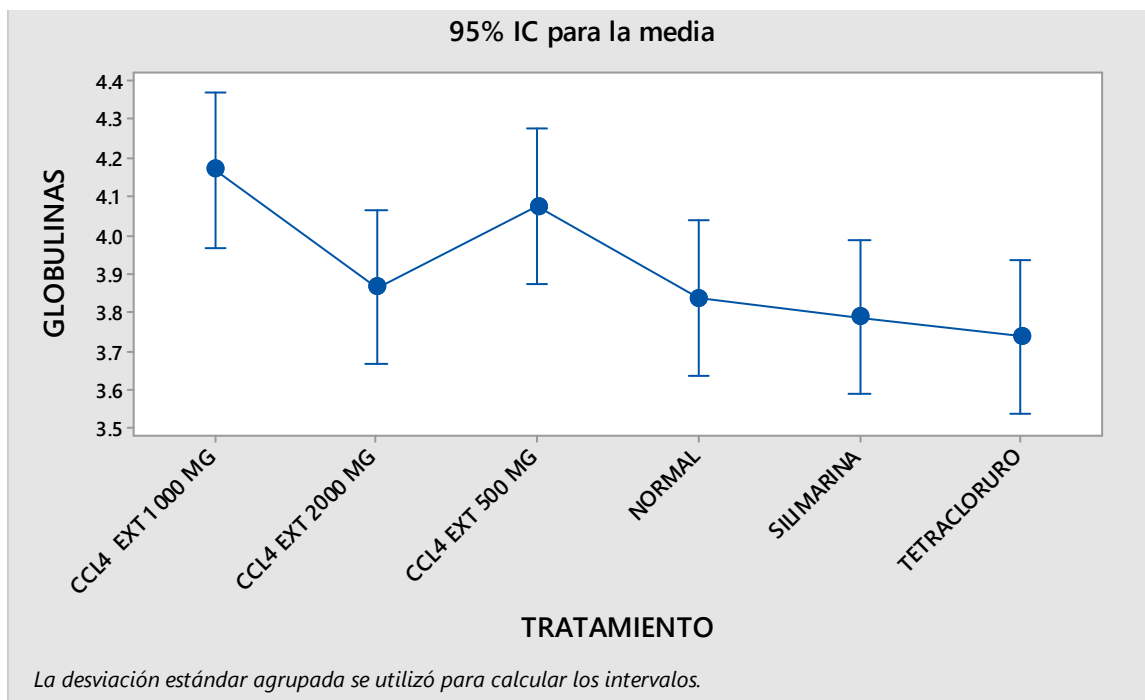
*Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.*

**Tabla N°30: Análisis de Varianza de la Globulina**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTO	5	0.7335	0.14670	3.11	0.07
Error	24	1.1337	0.04724		
Total	29	1.8672			

Fuente: Elaboración propia

Observamos un p-valor de  $0.07 > 0.05$  por ello no podemos rechazar la hipótesis nula, con lo cual podemos afirmar con un nivel de confianza del 95 % que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias de cada grupo, esto se confirma con el gráfico

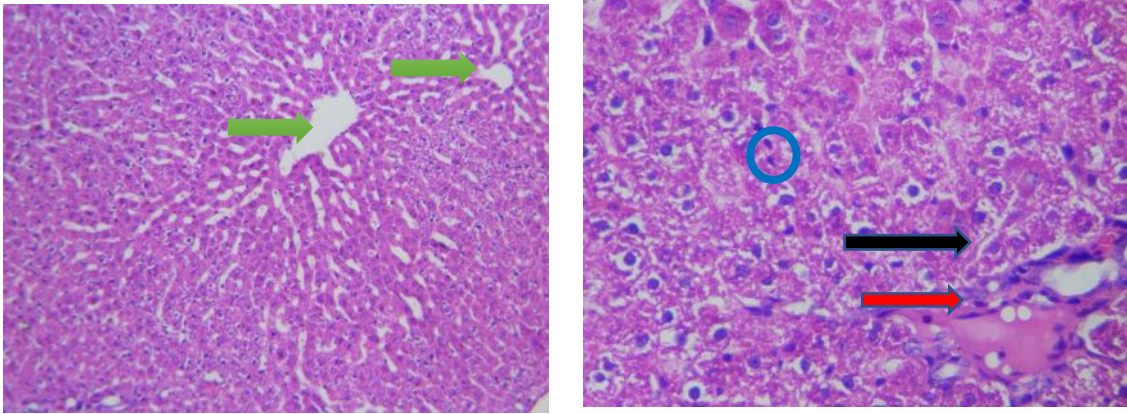


**Figura N°08: Grafico de Intervalos de Globulinas vs Tratamiento**

#### 4.1.4. Resultados del Análisis Histológico

##### 4.1.4.1. Grupo control negativo

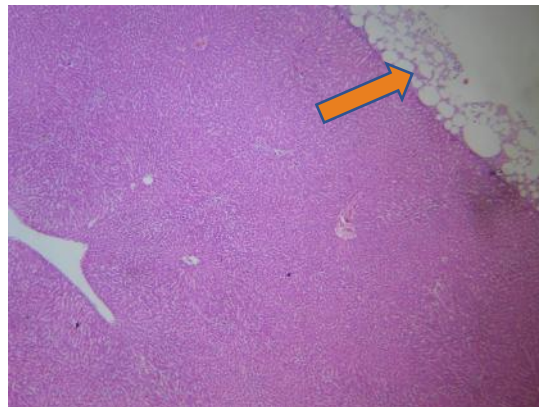
Se observa parénquima hepático normal. Se identifican las estructuras normales, las venas centrolobulillares (flechas verdes), los espacios porta (círculos lilas) y las trabéculas de hepatocitos, que son las columnas de uno o dos hepatocitos (en círculos azules). En los espacios porta se encuentran los conductos biliares (flecha negra) y las arteriolas (flecha roja).



**Figura N°09: Análisis Histológico del Grupo control Negativo**

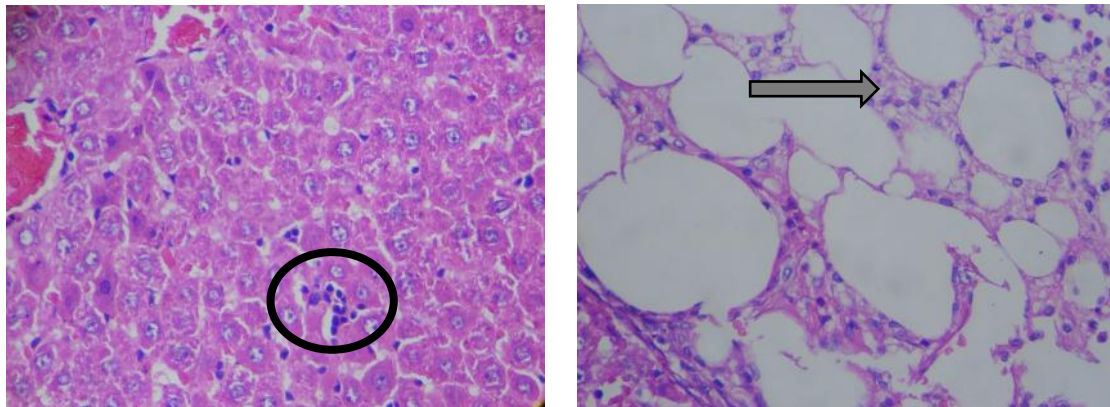
#### 4.1.4.2. Grupo Control Positivo

En la vista panorámica (4x) se observa el parénquima hepático, y también llama la atención el infiltrado inflamatorio a nivel de la grasa perihepática (flecha naranja). El resto del hígado parece normal.



**Figura N°10: Análisis Histológico del Grupo control Positivo (4x)**

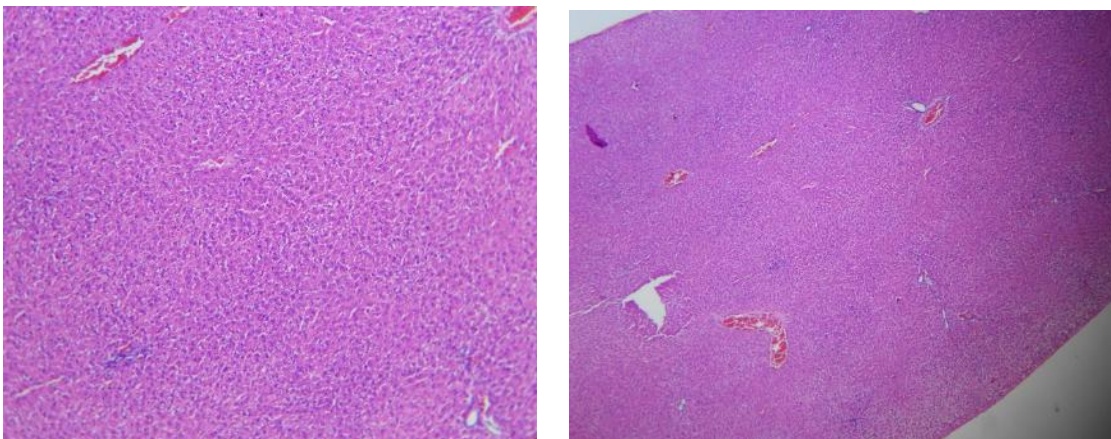
En el mayor aumento (40X), el parénquima sigue observándose mayormente normal, excepto unos pequeños focos entre los hepatocitos, donde se ve un reducido grupo de linfocitos (círculo negro) o dispersos, unos pocos, entre los hepatocitos (otro círculo negro). También llama la atención el aumento de macrófagos a nivel de la cápsula hepática (flecha gris).



**Figura N°11: Análisis Histológico del Grupo control Positivo (40x).**

#### **4.1.4.3. Grupo CCl4 + Silimarina**

Se observa un parénquima hepático conservado, dentro de límites normales, y con características similares tanto en la zona 1 como en la zona 3 de Rappaport.



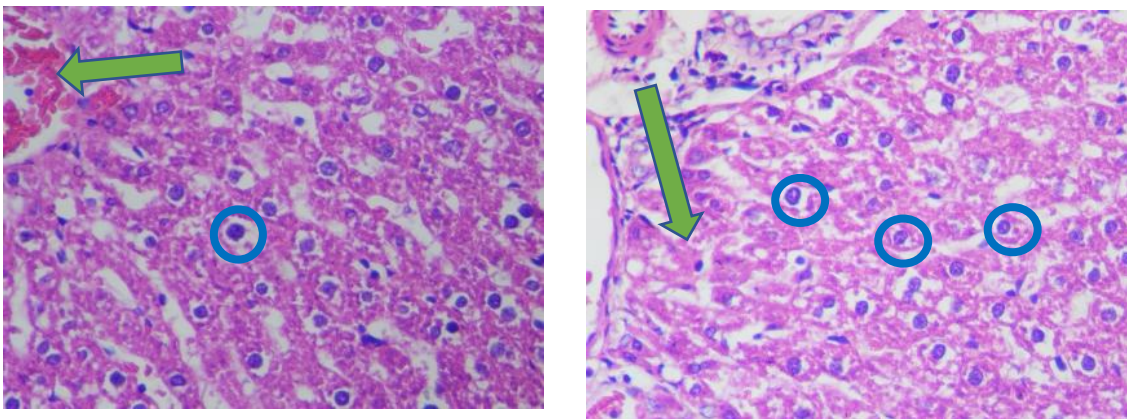
**Figura N°12: Análisis Histológico del Grupo CCl4 + Silimarina.**

#### **4.1.4.4. Grupo CCl4 + Extracto 500 mg/Kg**

Se observa que el parénquima tiene un color más claro que en lo normal. A mayor aumento, se observa que los hepatocitos tienen espacios claros dentro de su citoplasma, que correspondería a un estado de edema

intracelular o en el presente caso, a acumulaciones de sustancias o daño intracelular debido a un tóxico (degeneración balonizante) en azul.

Debido a este edema, a pesar que todavía se percibe la disposición en columnas de los hepatocitos, los espacios entre dichas columnas, denominados sinusoides, se encuentran de diámetro disminuido, y parece haber aumentado la congestión de hematíes dentro de las venas centrolobulillares (en verde), de donde transcurre la sangre venosa hacia la vena cava inferior.



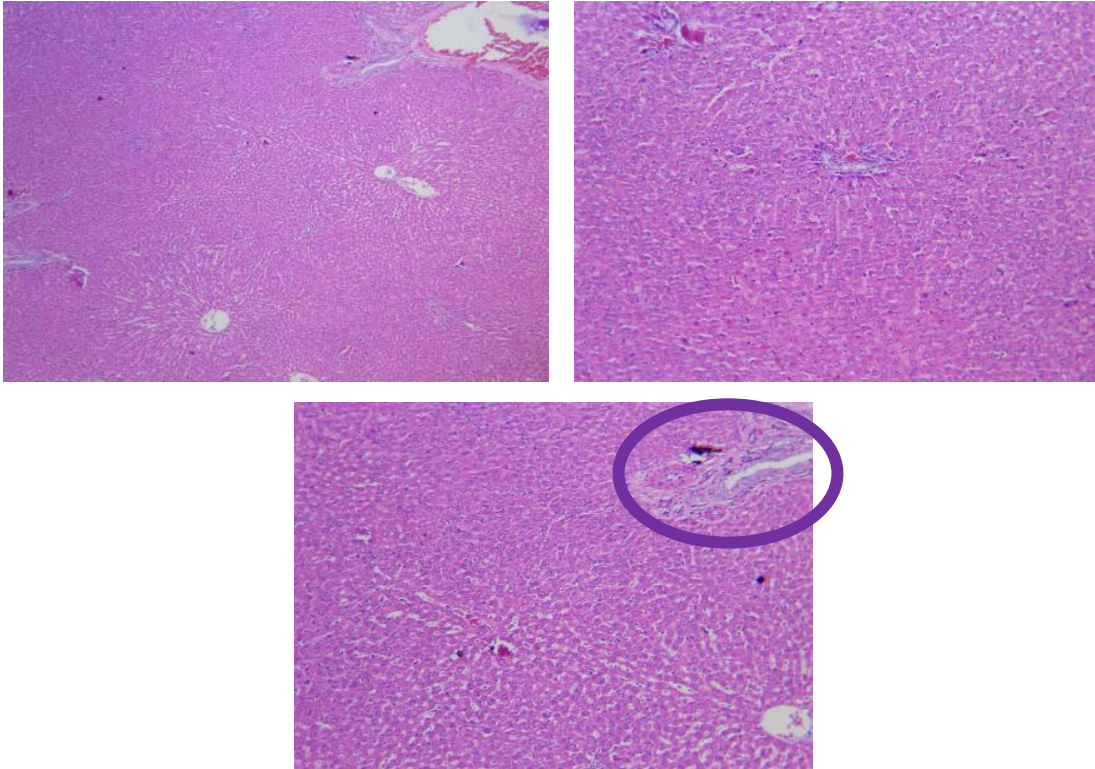
**Figura N°13: Análisis Histológico del Grupo CCl4 + Ext. 500mg/Kg.**

#### **4.1.4.5. Grupo CCl4 + Extracto 1000 mg/Kg**

En la vista panorámica (4x) se observa mayor definición de las columnas o trabéculas hepáticas a nivel de las venas centrolobulillares, y menos, cerca de los espacios porta, que corresponden, la primera, a la zona 3 del acino de Rappaport y la segunda, a la zona 1 de Rappaport.

En la zona 1 se observa más concentración de oxígeno, pero también la mayor afectación en el caso de tóxicos que se distribuyen por la sangre arterial, lo cual podría estar en relación con el experimento.

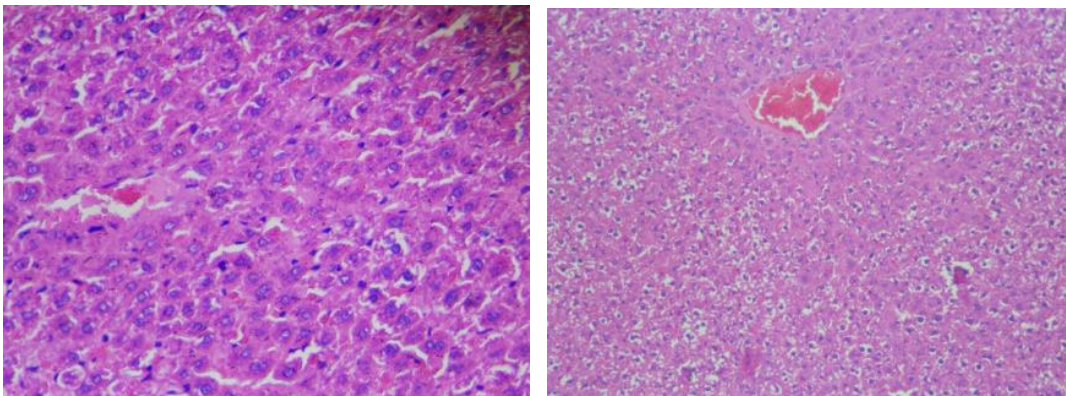
Otra diferencia con la normalidad es el aumento de fibroblastos a nivel del espacio porto (círculo lila), más visible en la tercera foto de esta serie.



**Figura N°14: Análisis Histológico del Grupo CCL4 + Ext. 1000mg/Kg.**

#### **4.1.4.6. Grupo CCL4 + Extracto 2000 mg/Kg**

Obtenemos resultados parecidos al anterior, con mejor definición de las trabéculas o columnas hepáticas en las zonas cercanas a la vena centrolobulillar, y menos en las zonas correspondientes a los espacios porta, ya desde las dos primeras vistas panorámicas. Es decir, hay más edema en los hepatocitos cercanos a la zona porta.



**Figura N°15: Análisis Histológico Grupo CCL4 + Ext. 2000mg/Kg.**



## 4.2. CONTRASTACION DE HIPOTESIS

### Hipótesis específica N°1

- Hipótesis nula: No existen metabolitos en el extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col morada).
- Hipótesis alterna: Existen metabolitos en el extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col morada).
- Nivel de significancia:  $\alpha = 0.05$

En la tabla N°13 demostró la presencia de metabolitos en el extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col morada), por ello rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna.

### Hipótesis específica N°2

Según el análisis de Varianza y la prueba de Tukey el extracto de la *Brassica oleracea L.* (Col morada) presento efecto hepatoprotector.

- Hipótesis nula: Todos los tratamientos presentan igual efecto hepatoprotector.
- Hipótesis alterna: No todos los tratamientos presentan igual efecto hepatoprotector.
- Nivel de significancia:  $\alpha = 0.05$

Con un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  (nivel de confianza del 95 %) rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alterna, esto nos indica que los tratamientos (500 mg/kg, 1000 mg/kg y 2000 mg/kg) no presentaron igual efecto hepatoprotector. Esto se confirma con los resultados. Podemos determinar que el tratamiento 1000 mg/kg del extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* es el de mayor efecto hepatoprotector.

### Hipótesis específica N°3

Según ANOVA el extracto de la *Brassica oleracea L.* (Col morada) presento efecto hepatoprotector en comparación con la Silimarina.

Hipótesis nula: Todos los tratamientos presentan igual efecto hepatoprotector en comparación con la Silimarina.

Hipótesis alterna: No todos los tratamientos presentan igual efecto hepatoprotector en comparación con la Silimarina.

Nivel de significancia:  $\alpha = 0.05$

Con un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alterna, esto nos indica que los tratamientos (500 mg/kg, 1000 mg/kg y 2000 mg/kg) no presentaron igual efecto hepatoprotector en comparación con la Silimarina. Esto se confirma con los resultados. Podemos determinar que el tratamiento 1000 mg/kg del extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* tiene efecto similar a la Silimarina.

### 4.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la presente investigación se determinó la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, compuesto fenólicos y antocianósidos. De manera similar en la investigación de Fernández G. et al.<sup>1</sup>, se halló compuestos fenólicos, antocianinas, flavonoides y antocianósidos. La identificación de estos metabolitos secundarios se indica en la tabla 13.

En la tabla 12, la marcha de solubilidad se evidencio que el mejor solvente fue el Etanol, porque demostró ser más soluble.

Como principal objetivo se analizó el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de la *Brassica Oleracea L.* (Col Morada) en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>). El modelo de inducción de daño hepático se basó en el uso de CCl<sub>4</sub> en 0,2ml/kg (diluido al 50% en aceite de

oliva), así mismo este método fue utilizado por Hañari R., Arroyo J., Herrera O., Herrera H.<sup>4</sup>

En los grupos inducidos con tetracloruro de carbono se evidenció un cambio en los indicadores bioquímicos (para la transaminasa G. Oxalacética, transaminasa G. pirúvica y fosfatasa alcalina se observó un aumento en sus niveles y disminución en los niveles de globulinas, albuminas y proteínas totales) en comparación del grupo control normal. Canelo P., Mendoza Y.<sup>6</sup> afirma que el grupo control positivo (CCl<sub>4</sub>) muestra un aumento en los niveles de TGO, TGP y fosfatasa alcalina con respecto al grupo control negativo. El aumento y/o disminución de estos indicadores bioquímicos tiene importancia ya que indican la presencia de daño hepático. En base a esto se podrá explicar si existe o no el efecto hepatoprotector. Para evidenciar el efecto hepatoprotector y el grado de concentración más efectivo haremos uso de las tablas.

En las Tablas relacionadas al estudio de Transaminasa G. Oxalacética (Tablas 14,15 y 16) y Transaminasa G. Pirúvica (Tablas 17,18,19), se halló, según el análisis de varianza, el p-valor fue de  $0.001 < 0.05$  lo que indica que no todas las medias son iguales para lo cual se procedió a realizar las pruebas simultáneas de Tukey, demostrándose que el único que presenta diferencia es el grupo de CCl<sub>4</sub> (p-valor 0.001). Entonces se puede observar la disminución de los niveles de estos indicadores bioquímicos lo cual evidenció el efecto hepatoprotector, pero este efecto no está asociado con las diferentes dosis que se utilizaron en los grupos (CCl<sub>4</sub> + Extracto 500mg/kg, CCl<sub>4</sub>+ Extracto 1000 mg/kg y CCl<sub>4</sub> + Extracto 2000 mg/kg). De manera similar en la investigación de Cuaresma, Lizárraga.<sup>7</sup>, el extracto de la *Brassica oleracea L.* (brócoli) a dosis de 1000mg/kg produjo una significativa disminución en los niveles de TGO, TGP y fosfatasa alcalina.

Las Tablas 20, 21 y 22 vinculadas al estudio de la Fosfatasa alcalina se observó que la concentración de 1000mg/kg fue la que demostró tener mayor efecto hepatoprotector. El grupo tratado con silimarina fue comparado con todos los

grupos de tratamiento, siendo el de similar valor el grupo CCl<sub>4</sub> + Extracto 1000mg/kg.

En las tablas 23,24 y 25 se observa las variaciones en los valores de las Proteínas Totales, en donde se encontró de igual manera que la concentración más efectiva fue la de 1000mg/Kg. Porque se visualiza el aumento significativo de sus valores. El extracto de 1000mg/Kg fue más efectivo que el grupo de la silimarina.

En las tablas 9 y 11, se puede apreciar una variación en el peso y coloración de los hígados, y el peso corporal de los animales de experimentación. Se observó un aumento en el peso corporal de las ratas al final del trabajo.

En el análisis histológico se visualizó que hubo mayor daño hepático en el grupo de CCl<sub>4</sub>, a diferencia del grupo de CCl<sub>4</sub> + extracto 1000mg/Kg y el grupo de silimarina donde se observó un parénquima hepático más conservado.

## CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. CONCLUSIONES

1. Existen metabolitos secundarios en el extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col morada) como fueron los compuestos fenólicos, flavonoides y antocianocidos en mayor cantidad, y en menor cantidad alcaloides, carbohidratos, taninos, triterpenos y esteroides.
2. Se determino una concentración optima del extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col morada) donde se evidencio mayor efecto hepatoprotector en ratas inducidas con tetracloruro de carbono.
3. Se encontró similitud en los indicadores bioquímicos y el análisis histológico entre la silimarina y el extracto etanólico de la *Brassica oleracea L.* (Col morada) durante el efecto hepatoprotector en ratas.

### 5.2. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda aplicar estudios para evaluar los resultados del efecto hepatoprotector del extracto de *Brassica oleracea L.* (Col morada) en poblaciones humanas.
2. Realizar estudios de elucidación de estructura química de los componentes activos de la col morada.
3. Según los resultados obtenidos se recomienda desarrollar otras técnicas experimentales para determinar y comprobar los resultados encontrados sobre *Brassica oleracea L.*
4. Tomar como base el presente estudio para posteriores investigaciones relacionadas al efecto hepatoprotector o a la col morada (*Brassica oleracea L.*).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fernández et al. Estudio Etnobotánico y fitoquímico de hojas de *Brassica oleracea* L. (COL MORADA). Ciencia y Desarrollo [Internet]. 2015 [Consultado 20 Nov 2018]. Disponible en: <http://181.176.223.10/index.php/CYD/article/view/315/269>
2. Ricard F. Tratado de Osteopatía Visceral y Medicina Interna. España: Editorial Medica Panamericana; 2008. p. 147-234.
3. Bustíos C., Davalos M., Román R., Zumaeta E. Características Epidemiológicas y Clínicas de la Cirrosis Hepática en la Unidad de Hígado del HNERM Es- Salud [Internet]. 2007 [Consultado 20 Nov 2018]. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1022-51292007000300003](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292007000300003)
4. Hañari R., Arroyo J., Herrera O., Herrera H. Efecto hepatoprotector del extracto hidroetanólico atomizado del maíz morado (*Zea mays* L.) en lesiones hepáticas inducidas en ratas [Internet]. 2015 [Consultado 21 Nov 2018]. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832015000300003](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832015000300003)
5. Organización Mundial de la Salud [Página principal de internet]: Las 10 principales causas de defunción. 2016 [actualizado 24 de May 2018; consultado 15 de Jul 2019]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
6. MINSA. Análisis de causas de mortalidad en el Perú, 1986-2015 [Internet]. 2018 [citado 15 de Jul 2019]; disponible en: [https://www.dge.gob.pe/portal/docs/asis/Asis\\_mortalidad.pdf](https://www.dge.gob.pe/portal/docs/asis/Asis_mortalidad.pdf)

7. Canelo P., Mendoza Y. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de *Cúrcuma longa* L. en daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono en ratas albinas [Internet]. 2017 [Consultado 20 Nov 2018]. Disponible en: [http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4879/Piero\\_Tesis\\_Titulo\\_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4879/Piero_Tesis_Titulo_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  
8. Jauregui P., Martínez C. 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 [Internet]. 2015 [Consultado 20 Nov 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/385/M-21332.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  
9. Cuaresma E., Lizárraga E. Determinación del efecto de la *Brassica oleracea* L. (brócoli) sobre la hepatotoxicidad inducida con paracetamol en animales de experimentación, Arequipa 2013 [Internet]. 2016 [Consultado 21 Nov 2018]. Disponible en: [https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UCSM\\_c14a489288e28a94c87a641f4f3a7c07/Details](https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UCSM_c14a489288e28a94c87a641f4f3a7c07/Details)
  
10. Jiménez, Montero, Martínez, García, Pérez. Efecto hepatoprotector del Noni-C en la intoxicación experimental inducida por tetracloruro de carbono [Internet]. 2015 [Consultado 21 Nov 2018]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-65572015000100004](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572015000100004)
  
11. Gnanadesigan M., Ravikumar S., Inbaneson S. Propiedad hepatoprotector y antioxidante del extracto de corteza de la halófito marina *Luminetzer racemosa* en hepatotoxicidad inducida por CCL4 [Internet]. 2011 [Consultado 21 Nov 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1995764511601260>

12. Muñoz C., Soria C., Pérez M., Cedillo L., Huacuja L., Miranda M. Efecto Hepatoprotector de una mezcla de siete plantas en cirrosis inducida con tetracloruro de carbono [Internet]. 2017 [Consultado 21 Nov 2018]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962017000100001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962017000100001)
13. Favari L., Arce C., Ortiz J., Pablo S., Soto C., Meléndez M. Efectos hepatoprotector y antioxidante de *Taraxacum Officinale* en el daño hepático agudo inducido por el tetracloruro de carbono en la rata [Internet]. 2013 [Consultado 21 Nov 2018]. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-01952013000400007](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952013000400007)
14. Rouvière M, Delma A. Anatomía humana descriptiva topografía y funcional. 11a ed. Madrid: Editorial Masson; 2005.
15. Ross M, Pawlina S. Texto y atlas color con biología celular y molecular. 6a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2012.
16. Pedone F. Hepatopatías crónicas y soporte nutricional. Buenos Aires: Universidad FASTA [Tesis de titulación]; 2013.
17. Guyton A. Tratado de fisiología médica. 12a ed. Barcelona: Editorial Elsevier; 2006.
18. Fernández E, Fernández J, Moreno I, Moreno M. Aproximaciones al diagnóstico de enfermedades hepáticas por el laboratorio. Ed Med Lab. 2008; 2914:533–46.
19. Meneghello J, Rossel I. Estudio de la función antotóxica del hígado por medio del Rosa de Bengala en las enfermedades infecciosas de la infancia. Santiago de Chile: Revista chilena de pediatría; 2015.



20. Concha M, Jarufe N. Cirugía hepática: algunas consideraciones mas allá de la técnica quirúrgica. Rev Chil Cir. 2017;69(1):89–93.
21. Stevens A, Mérito J. Patología clínica. 3a ed. México: Manual Moderno; 2011.
22. Bradley A, Smith A, Hawkins G, Gunson R. Hepatitis A - 2017 an unusual year in Scotland. J Clin Virol. 2019;115(1):1–4.
23. Gardenier D, Olson MC. The Journal for Nurse Practitioners Hepatitis C in 2019: Are We There Yet? TJNP J Nurse Pract. Elsevier Inc; 2019;15(6):415–9.
24. Caplan M. Módulo de referencia en ciencias biomédicas. Elseiver. 2014;15(1):1–17.
25. Tam A, Smith M, Guerra M, Cadena C, Bradley D, Fry K, et al. Virus de la hepatitis E (HEV): clonación molecular y secuenciación del genoma viral de longitud completa. Elseiver. 1991;185(1):120–31.
26. Carton J. Manual de Patología. 1a ed. México: McGraw-Hill Interamericana Editores; 2012.
27. Galicia M, Gutiérrez G. Papel del estrés oxidativo en el desarrollo de la enfermedad hepática alcohólica. Rev Gastroenterol México. 2014;79(2):135–44.
28. Augustin S, Graupera I, Caballeria J. Non-alcoholic fatty liver disease: A poorly known pandemic. Elseiver. 2017; 14912:542–8.
29. Méndez E, Orbe I, Parra V. Prevalencia, características de hepatopatías y factores asociados en el área de medicina interna del hospital Vicente Corral Moscoso durante el periodo Enero 2009 -

Diciembre 2010. Cuenca: Universidad de Cuenca [Tesis de titulación]; 2010.

30. San Miguel A, Alonso N, Calvo B, Iglesias R, San Miguel R, Gil M. Molecular diagnosis of the hereditary hemochromatosis gene (HFE). Herentziako hemokromatosiaren HFE genearen diagnostiko molekularra. Gac Médica Bilbao. 2008;105(3):85–93.

31. Rincón D, Bañares R. Hepatic cirrhosis. Medicine (Baltimore). 2016;12(11):597–605.

32. Torres A, Escartín N, Monzó C, Guzmán C, Ferrer I, Gonzáles C, et al. Genetic susceptibility to Gilbert's syndrome in a valencian population; efficacy of the fasting test. Rev Clin española. 2017;217(1):1–6.

33. Armengol C, Sarrias M, Sala M. Hepatocelular carcinoma: Present and future. Med Clin (Barc). 2018;150(10):390–7.

34. Golse N, Vibert E. Cirugía del colangiocarcinoma intrahepático y perihiliar. EMC. 2019;35(1):1–15.

35. López A, Valenzuela J, Álvarez F. Protocolo terapéutico del cólico biliar y la colecistitis aguda. Med Programa Form médica Contin acreditado. 2016;12(8):467–71.

36. Vélez H, Rojas W, Borrero J, Restrepo J. Gastroenterología y hepatología. 5a ed. Bogotá: Fondo Editorial CIB; 2004.

37. Lucena M, Cohen H, Hernández N, Bessone F, Dacoll C, Stephens C, et al. Hepatotoxicity, a global problem with local features: toward the creation of a Pan-American Hepatotoxicity Network. Gastroenterol Hepatol. 2011;34(5):361–8.

38. Bosia J. Afectación hepática en trabajadores de una industria petroquímica. La Plata: Universidad nacional de La Plata [Tesis de titulación]; 2005.
39. Alvarez S, Soto J, Quirós V, Gonzáles M. Hepatotoxicidad por sustancias de origen botánico. *Med Leg Costa Rica*. 2016;33(1):1–8.
40. Tagle M, Bussalleu A. Escenarios clínicos y controversiales. Lima: Editores; 2015.
41. Tejada F. Hepatotoxicidad por fármacos. *Rev Clínica Médica Fam*. 2010;3(3):177–91.
42. Calvo M, Méndez E. Toxicología de los alimentos. 1a ed. México: Mc Graw Hill; 2012.
43. Swaroop T, Gowda S. Hepatotoxicity Mechanisms and its Biomarkers. *J Pharm Chem Sci*. 2012;1(2):675–82.
44. Lozano M, Robles M, Lucena M, Andrade R. Hepatotoxicidad en 2011: avanzando decididamente. *Rev Española Enfermedades Dig*. 2011;103(9):1–7.
45. Fernández C. Hepatotoxicidad por medicamentos. *Rev Clin Hosp San Juan Dios*. 2015;8(5):1–7.
46. Fuertes J, Martí G, Sanz P. Hepatopatías tóxicas laborales. Instituto. Barcelona: Ministerio de trabajo e inmigración; 2011. 18-19 p.
47. Mak K. Carbon tetrachloride. *J Clin Virol*. 2000; 118:82–106.

48. Faroon O, Taylor J, Roney N, Fransen M, Bogaczyk S, Diamond G. Toxicological profile for carbon tetrachloride. Estados Unidos: Department of Health and Human Services; 2005.
49. Osorio D. Efecto hepatoprotector del extracto de las hojas de alcachofa. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chomborazo; 2012.
50. Fortuol T. Histología y biología celular. 2a ed. México: Editorial McGraw Hill; 2013.
51. Moore K. Anatomía con Orientación Clínica. 3a ed. Madrid: Revista Médica Panamericana; 1993.
52. Prieto J. La clínica y el laboratorio. 20a ed. Barcelona: Editorial Masson; 2006.
53. Jourdi G, Calmette L, Maistre E, Hurtaud M, Siguret V, Gouin I. Tiempo de Quick (tasa de protrombina), INR. *Emc-Tratado Med.* 2017;21(4):1–7.
54. Impacto clínico de la albúmina sérica en la hemorragia de tubo digestivo alto no variceal Clinical impact of serum albumin on nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. Montaña, A. 2016;81(4):181–2.
55. Macedo E, Almeida A, Santos H, Rodríguez A, Souza K, Nunes J, et al. Mechanism of Brassica oleracea performance in bovine infectious mastitis by bioinformatic analysis. *Microb Pathog.* 2019;129(1):19–29.
56. Maroto J. Horticultura Herbácea Especial. 1a ed. Madrid: Editorial Mundi-Prensa; 1995.

57. Guambo M. Estudio bioagronómico de 20 cultivos de col (*Brassica oleracea L. var capitata*), EsPOCH, Cantón Riobamba, provincia de Chimborazo. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2010.
58. Velásquez M. Control químico de las principales enfermedades y plagas del repollo (*Brassica oleracea var. capitata*). La Paz: Universidad mayor de San Andrés [Tesis de titulación]; 2006.
59. Megías M, Molist P, Pombal MA. Atlas de histología vegetal y animal. Tipos celulares. [Internet]. [Consultado 13 de Sep 2019]. Disponible en: <http://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/inicio.html>
60. Miguel G, Carla S. Biopsia hepática percutánea. Rev. esp. enferm. dig. [Internet] 2013 [Consultado 13 Sep 2019]; vol.105: no.2. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4321/S1130-01082013000200011>.
61. María A., Gabriel A. Efecto hepatoprotector de plantas medicinales y compuestos naturales contra el daño provocados por fármacos antituberculosos. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas [Internet] 2015 [Consultado 13 Sep 2019]; vol. 46, núm. 3. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/579/57945705002.pdf>
62. Diego A. Respuesta del cultivo de col morada (*Brassica oleracea*) a la aplicación de abonos orgánicos en la zona de Babahoyo [Tesis de grado]. Ecuador: Universidad técnica de Babahoyo Facultad de ciencias agropecuarias Escuela de ingeniería agropecuaria; 2015.
63. Delia W. Actividad energética y hepatoprotectora de las hojas de *baccharis lanceolata* (chilca) [Tesis doctoral] Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.

64. Ángel L. Determinación del perfil hepático y su relación con La hepatotoxicidad en pacientes con terapia Anticonvulsivante que asisten al hospital general Docente Ambato [Tesis doctoral] Ecuador: Universidad técnica de Ambato Facultad de ciencias de la Salud; 2016.
65. Kuklinski C. Farmacognosia. 1ª ed. Barcelona: Ediciones Omega. España; 2003. P 504.
66. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica. 2ª ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Perú; 1994. p. 300
67. Carranza D., Huayanay J. Determinación de Metabolitos Secundarios del Tallo de Croton Alnifolius L. (Tunga) [Tesis de titulación].2009 [Consultado 13 Sep 2019]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4852/Carranza%20Vega%20Dhaily%20Elaine.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

# **ANEXOS**

## Anexo 1: Matriz de Consistencia

EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LA <i>BRASSICA OLERACEA L.</i> (COL MORADA) EN DAÑO HEPÁTICO INDUCIDO CON TETRACLORURO DE CARBONO EN RATAS.							
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES			METODOLOGÍA	INTRUMENTOS
¿Cuál es el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de la <i>Brassica Oleracea L.</i> (Col Morada) en daño hepático inducido con tetracloruro de carbono?	Determinar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea L.</i> (Col Morada) en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono.	El extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea L.</i> (Col Morada) posee efecto hepatoprotector en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono.	VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES	TIPO	
			Extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea L.</i> (Col Morada)	- Marcha de Solubilidad  - Tamizaje fitoquímico	- Solubilidad (+++ , ++ , + , -)  - Identificación de metabolitos (+++ , ++ , + , -)	Aplicada	
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPOTESIS ESPECÍFICAS	VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES	NIVEL	<b>-Población:</b> Ratas Albinas ( <i>Rattus norvegicus</i> )  <b>-Muestra:</b> 30 ratas albinas  <b>-Técnica:</b> Observacional  <b>-Instrumento:</b> Ficha de observación ad-hoc (Ficha de recolección de datos)
1. ¿Qué metabolitos presenta el extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea L.</i> (Col morada)?	1. Identificar algunos metabolitos en el extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea L.</i> (Col Morada) en ratas.	1. Existen algunos metabolitos en el extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea L.</i> (Col Morada).	Efecto Hepatoprotector	- Perfil hepático	- Transaminasa Glutámico Oxalacética - Transaminasa Glutámico Pirúvica - Fosfatasa Alcalina - Proteínas Totales - Albuminas - Globulinas	Experimental	
2. ¿Cuál es la concentración del extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea L.</i> (Col Morada) que presenta efecto hepatoprotector en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono?	2. Determinar la concentración óptima del extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea L.</i> (Col Morada) que presenta efecto hepatoprotector en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono.	2. Existe una concentración óptima del extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea L.</i> (Col Morada) que posee efecto hepatoprotector en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono.				DISEÑO	
3. ¿Cuál es el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea L.</i> (Col Morada) en comparación con la Silimarina en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono?	3. Comparar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea L.</i> (Col Morada) con Silimarina en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono.	3. El extracto etanólico de la <i>Brassica oleracea L.</i> (Col Morada) posee efecto hepatoprotector comparado con Silimarina en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono.				Experimental	



## Anexo 2: Certificado Taxonómico de la *Brassica Oleracea* L. (Col morada)

Hamilton W. Beltrán S.  
Consultor Botánico  
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María  
hamiltonbeltran@yahoo.com

### CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta conocida como "COL MORADA" proporcionada por, MARLENY LIDA MAITA INGA y JUNIOR ERNESTO ZAMORA ZAMUDIO, estudiantes de la UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Brassica oleracea* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae  
División: Magnoliophyta  
Clase: Magnoliopsida  
Subclase: Dillenidae  
Orden: Capparales  
Familia: Brassicaceae  
Genero: *Brassica*  
Especie: *Brassica oleracea* L.

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 15 febrero 2018

  
Bigo. Hamilton Beltrán  
Hamilton Wilner Beltrán Santiago  
Biólogo - Botánico  
COP. 2018

**Anexo 3: Validación del Instrumento de Recolección de Datos**



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS  
Y BIOQUÍMICA**

Nº: .....

**HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO**

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

*EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LA BRASSICA OLERACEA L. (COL MORADA) EN DAÑO HEPATICO INDUCIDO CON TETRACLORURO DE CARBONO EN RATAS*

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

- |  | <b>MENOS DE</b>                                   |
|--|---|
|  | <b>50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100</b>               |
| 1. ¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograrán los objetivos propuesto?.....                                  | ( ) ( ) ( ) ( ) ( ) <del>( )</del>                |
| 2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?.....                                     | ( ) ( ) ( ) ( ) ( ) <del>( )</del> <del>( )</del> |
| 3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos? .....                             | ( ) ( ) ( ) <del>( )</del> <del>( )</del> ( )     |
| 4. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de ejecución viable?.....   | ( ) ( ) ( ) ( ) ( ) <del>( )</del> <del>( )</del> |
| 5. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?.....  | ( ) ( ) ( ) ( ) ( ) <del>( )</del> <del>( )</del> |
| 6. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrían datos similares si se aplicara en otras muestras?..... | ( ) ( ) ( ) ( ) ( ) <del>( )</del> <del>( )</del> |

**SUGERENCIAS**

1. ¿Qué preguntas considera usted que deberían agregarse?

Ninguna

2. ¿Qué preguntas estima que deberían eliminarse?

Ninguna

3. ¿Qué preguntas considera que deberán reformularse o precisarse mejor?

Ninguna

Fecha: .....

Validado por: Mg. Q.F. Oscar Flores López

Firma: .....

*[Handwritten Signature]*  
1394



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS**  
**Y BIOQUÍMICA**

Nº: .....

**HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO**

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**  
**EFFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LA BRASSICA OLERACEA L. (COL MORADA) EN DAÑO HEPATICO INDUCIDO CON TETRACLORURO DE CARBONO EN RATAS**

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	MENOS DE					
	50	60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograrán los objetivos propuesto?.....	( )	( )	( )	( )	(X)	( )
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?.....	( )	( )	( )	( )	( )	(X)
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos? .....	( )	( )	( )	( )	(X)	( )
4. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de ejecución viable?.....	( )	( )	( )	( )	(X)	( )
5. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?.....	( )	( )	( )	( )	( )	(X)
6. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrían datos similares si se aplicara en otras muestras?.....	( )	( )	( )	( )	(X)	( )

**SUGERENCIAS**

1. ¿Qué preguntas considera usted que deberían agregarse?

*NINGUNA*

2. ¿Qué preguntas estima que deberían eliminarse?

*NINGUNA*

3. ¿Qué preguntas considera que deberán reformularse o precisarse mejor?

*NINGUNA*

Fecha: *15 Octubre 2019*

Validado por: *DR. PABLO ENRIQUE BOWILLA RIVERA*

Firma: *[Firma manuscrita]*



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS**  
**Y BIOQUÍMICA**

Nº: .....

**HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO**

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

*EFFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LA BRASSICA OLERACEA L. (COL MORADA) EN DAÑO HEPATICO INDUCIDO CON TETRACLORURO DE CARBONO EN RATAS*

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	MENOS DE				
	50	60	70	80	90 - 100
1. ¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograrán los objetivos propuesto?.....	( )	( )	( )	( )	( ) <input checked="" type="checkbox"/>
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?.....	( )	( )	( )	( )	<input checked="" type="checkbox"/> ( )
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos? .....	( )	( )	( )	( )	( ) <input checked="" type="checkbox"/>
4. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de ejecución viable?.....	( )	( )	( )	( )	( ) <input checked="" type="checkbox"/>
5. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?.....	( )	( )	( )	( )	<input checked="" type="checkbox"/> ( )
6. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrían datos similares si se aplicara en otras muestras?.....	( )	( )	( )	( )	( ) <input checked="" type="checkbox"/>

**SUGERENCIAS**

1. ¿Qué preguntas considera usted que deberían agregarse?

.....NINGUNA.....

2. ¿Qué preguntas estima que deberían eliminarse?

.....NINGUNA.....

3. ¿Qué preguntas considera que deberán reformularse o precisarse mejor?

.....NINGUNA.....

Fecha: .....

Validado por: *ILS. OF. Pineda Rosa Neuron*

Firma: *Mg. OF. Pineda Rosa*  
 C.O.F.P. 18130

**Anexo 4: Instrumento de Recolección de Datos (Ficha de Recolección de datos)**



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS**  
**Y BIOQUÍMICA**

Nº: .....

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

*EFFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LA BRASSICA OLERACEA L. (COL MORADA) EN DAÑO HEPATICO INDUCIDO CON TETRACLORURO DE CARBONO EN RATAS*

**a) DATOS GENERALES. -**

NÚMERO DE FICHA: .....

EDAD: ..... SEXO: Macho  Hembra

PESO: .....

COLOR: .....

FECHA DE LA EVALUACIÓN: .....

**b) ENSAYO DE SOLUBILIDAD**

ENSAYO DE SOLUBILIDAD	
SOLVENTE	RESULTADO
Metanol	
Etanol	
Cloroformo	
Eter de Petróleo	
Agua Destilada	

+++ Muy soluble  
 ++ Soluble  
 + Poco Soluble  
 - Insoluble

**c) TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LA BRASSICA OLERACEA L. (COL MORADA)**

TAMIZAJE FITOQUÍMICO		
METABOLITO	REACCION	RESULTADO
Alcaloides	Dragendorff	
	Mayer	
	Wagner	
Taninos	Gelatina	
Carbohidratos	Benedict	
	Fehling	
Compuestos Fenólicos	FeCl <sub>3</sub>	
Triterpenos y Esteroides	Lieberman -Buchard	
Flavonoides	Shinoda	
Antocianocidos	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentrado	
Quinonas	Bomtrager	
Saponinas	Agua (Espuma)	

+++ Abundante  
 ++ Bastante  
 + Regular  
 - Ausencia

**D) ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *BRASSICA OLERACEA L.***

**GRUPO EVALUADO:**

Normal

Tetracloruro de carbono (T)

T+ Silimarina

T + Extracto 500mg/kg

T + Extracto 1000mg/kg

T + Extracto 2000mg/kg

**PESO DEL HIGADO:** .....

**COLOR DEL HIGADO:** .....

**PERFIL HEPATICO:**

TGO	TGP	FOSFATA ALCALINA	PROTEINAS TOTALES	BILIRRUBINA	ALBUMINAS	GLOBULINAS

## Anexo 5: Protocolo del Perfil Hepático.

### 5.1. Grupo Control Negativo



**CENTRO DE APOYO DIAGNOSTICO VILLARAN**

**LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS**

Av. El Sauce N° 595 Urb. Los Sauces III - Surquillo  
Cel.: 960-102-769

Código 1150

Nombre : RATA- NORMAL N° 2  
Indicación: Cepa : Holtzman

Sexo: Macho

Edad: 3 meses  
Fecha de Recepción 26/10/2018

#### BIOQUIMICA


#### Resultado

#### PERFIL HEPÁTICO

TRANSAMINASA G. OXALACETICA	89 U/L
TRANSAMINASA G. PIRUVICA	27 U/L
FOSFATASA ALCALINA	357 U/L
BILIRRUBINA TOTAL	0.13 mg/dl
BILIRRUBINA DIRECTA	0.01 mg/dl
BILIRRUBINA INDIRECTA	0.12 mg/dl
PROTEINAS TOTALES	6.89 gr/dl
ALBUMINAS	2.98 gr/dl
GLOBULINAS	3.91 gr/dl

CENTRO DE APOYO DIAGNOSTICO VILLARAN  
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO  
  
Lic. Ruth L. Villagra Herreiros  
E.T.M.P. 8223

## 5.2. Grupo Control Positivo

	<b>CENTRO DE APOYO DIAGNOSTICO VILLARAN</b>	
	<b>LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS</b>	
Av. El Sauce N° 595 Urb. Los Sauces III - Surquillo Cel.: 960-102-769		
	<b>Código</b>	<b>1153</b>
Nombre : RATA- TOXICO N° 6	Edad: 3 meses	
Indicación: Cepa : Holtzman	Sexo: Macho	Fecha de Recepción 26/10/2018

### BIOQUIMICA

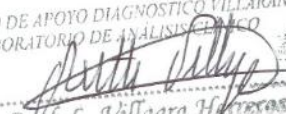
### Resultado

#### PERFIL HEPÁTICO

TRANSAMINASA G. OXALACETICA	177 U/L
TRANSAMINASA G. PIRUVICA	66 U/L
FOSFATASA ALCALINA	706 U/L
BILIRRUBINA TOTAL	0.03 mg/dl
BILIRRUBINA DIRECTA	0.01 mg/dl
BILIRRUBINA INDIRECTA	0.02 mg/dl
PROTEINAS TOTALES	6.10 gr/dl
ALBUMINAS	2.14 gr/dl
GLOBULINAS	3.96 gr/dl

CENTRO DE APOYO DIAGNOSTICO VILLARAN  
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO  
  
Lic. Rith L. Villagra Herrerias  
B.T.M.P. 0211



### 5.3. Grupo CCl4 + Silimarina



## CENTRO DE APOYO DIAGNOSTICO VILLARAN

### LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

Av. El Sauce N° 595 Urb. Los Sauces III - Surquillo  
Cel.: 960-102-769

Código 1156

Nombre : RATA- TOXICO + SILIMARINA N° 12

Edad: 3 meses

Indicación: Cepa : Holtzman

Sexo: Macho

Fecha de Recepción 26/10/2018

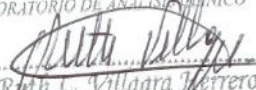
## BIOQUIMICA

## Resultado

### PERFIL HEPÁTICO


TRANSAMINASA G. OXALACETICA	73 U/L
TRANSAMINASA G. PIRUVICA	27 U/L
FOSFATASA ALCALINA	393 U/L
BILIRRUBINA TOTAL	0.11 mg/dl
BILIRRUBINA DIRECTA	0.05 mg/dl
BILIRRUBINA INDIRECTA	0.06 mg/dl
PROTEINAS TOTALES	5.73 gr/dl
ALBUMINAS	2.01 gr/dl
GLOBULINAS	3.72 gr/dl

CENTRO DE APOYO DIAGNOSTICO VILLARAN  
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO

  
Lic. Ruth L. Villagra Ferreros

C.T.M.P. 8244

## 5.4. Grupo CCl4 + Extracto 500mg/Kg

	<b>CENTRO DE APOYO DIAGNOSTICO VILLARAN</b>	
	<b>LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS</b> Av. El Sauce N° 595 Urb. Los Sauces III - Surquillo Cel.: 960-102-769	
	<b>Código</b>	<b>1159</b>
Nombre : RATA- TOXICO + EXTRACTO de 500 mg/Kg N° 18	Edad: 3 meses	
Indicación: Cepa : Holtzman	Sexo: Macho	Fecha de Recepción 26/10/2018

### BIOQUIMICA

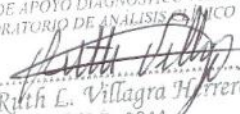
### Resultado

#### PERFIL HEPÁTICO

TRANSAMINASA G. OXALACETICA	82 U/L
TRANSAMINASA G. PIRUVICA	26 U/L
FOSFATASA ALCALINA	424 U/L
BILIRRUBINA TOTAL	0.09 mg/dl
BILIRRUBINA DIRECTA	0.03 mg/dl
BILIRRUBINA INDIRECTA	0.06 mg/dl
PROTEINAS TOTALES	6.22 gr/dl
ALBUMINAS	2.21 gr/dl
GLOBULINAS	4.01 gr/dl

CENTRO DE APOYO DIAGNOSTICO VILLARAN  
LABORATORIO DE ANALISIS CLINICO  
  
.....  
Lic. Ruth L. Villagra Herreros  
CTMP 8244

## 5.5. Grupo CCl4 + Extracto 1000mg/Kg



### CENTRO DE APOYO DIAGNOSTICO VILLARAN

#### LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

Av. El Sauce N° 595 Urb. Los Sauces III - Surquillo

Cel.: 960-102-769

Código 1162

Nombre : RATA- TOXICO + EXTRACTO de 1,000 mg/Kg N° 22      Edad: 3 meses  
Indicación: Cepa : Holtzman      Sexo: Macho      Fecha de Recepción 26/10/2018

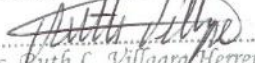
### BIOQUIMICA

### Resultado

#### PERFIL HEPÁTICO

TRANSAMINASA G. OXALACETICA	90 U/L
TRANSAMINASA G. PIRUVICA	27 U/L
FOSFATASA ALCALINA	389 U/L
BILIRRUBINA TOTAL	0.23 mg/dl
BILIRRUBINA DIRECTA	0.10 mg/dl
BILIRRUBINA INDIRECTA	0.13 mg/dl
PROTEINAS TOTALES	6.52 gr/dl
ALBUMINAS	2.33 gr/dl
GLOBULINAS	4.19 gr/dl

CENTRO DE APOYO DIAGNOSTICO VILLARAN  
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO

  
Cic. Ruth L. Villagra Herreros  
C.T.M.P. 8244

## 5.6. Grupo CCl4 + Extracto 2000mg/Kg



**CENTRO DE APOYO DIAGNOSTICO VILLARAN**

**LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS**

Av. El Sauce N° 595 Urb. Los Sauces III - Surquillo  
Cel.: 960-102-769

Código 1165


Nombre : RATA- TOXICO + EXTRACTO de 2,000 mg/Kg N° 26      Edad: 3 meses  
Indicación: Cepa : Holtzman      Sexo: Macho      Fecha de Recepción 26/10/2018

### BIOQUIMICA

### Resultado

#### PERFIL HEPÁTICO

TRANSAMINASA G. OXALACETICA	73 U/L
TRANSAMINASA G. PIRUVICA	25 U/L
FOSFATASA ALCALINA	563 U/L
BILIRRUBINA TOTAL	0.09 mg/dl
BILIRRUBINA DIRECTA	0.02 mg/dl
BILIRRUBINA INDIRECTA	0.07 mg/dl
PROTEINAS TOTALES	5.79 gr/dl
ALBUMINAS	2.04 gr/dl
GLOBULINAS	3.75 gr/dl

CENTRO DE APOYO DIAGNOSTICO VILLARAN  
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO  
  
.....  
f. ic. Ruth L. Villagra Herreros  
C.T.M.P. 8241

## Anexo 6: Hoja Control y Boleta de Pago de los Animales de Experimentación.

		Nº	PESO INICIAL (g)	DIA 1 al 5			DIA 5		
				CCL4 TOXICO (mL)	SILIMARINA (mL)	EXTRACTO	PESO FINAL (g)	PESO HIGADO (g)	
CAJA 1	ROJO	GRUPO CONTROL NEGATIVO G1	1	199				194	10
			2	179				242	12
			3	169				200	9
			4	184				200	8
			5	192				207	7
	AZUL	GRUPO CONTROL POSITIVO (CCL4) G2	1	261	0.1			276	12
			2	271	0.1			274	10
			3	256	0.1			256	11
			4	269	0.1			272	11
			5	234	0.1			246	12
	NEGRO	CCL4 + SILIMARINA G3	1	191	0.08	0.5		200	9
			2	185	0.08	0.5		195	7
			3	198	0.08	0.5		201	10
			4	182	0.08	0.5		196	9
			5	205	0.08	0.5		212	9
CAJA 2	VERDE	CCL4 + EXTRACTO 500mg/kg G4	1	224	0.08		0.4	205	7
			2	227	0.1		0.4	235	13
			3	205	0.08		0.4	214	12
			4	212	0.08		0.4	214	8
			5	229	0.1		0.4	247	10
	ROJO	CCL4 + EXTRACTO 1000mg/kg G5	1	240	0.1		0.8	256	10
			2	228	0.1		0.8	241	12
			3	231	0.1		0.8	238	12
			4	230	0.1		0.8	242	12
			5	244	0.1		0.8	242	12
	AZUL + ROJO	CCL4 + EXTRACTO 2000mg/kg G6	1	193	0.08		1.6	200	10
			2	206	0.08		1.6	230	12
			3	208	0.08		1.6	221	10
			4	209	0.08		1.6	220	10
			5	187	0.08		1.6	206	12



**FDA**  
FUNDACION PARA EL DESARROLLO AGRARIO

Datos del documento  
 Tipo de documento: BOLETA DE VENTA ELECTRONICA  
 Serie y correlativo: B215-00000950  
 Fecha: 26-09-2018  
 Forma pago: EFECTIVO

---

**Datos del emisor**

RUC: 20 10 12590 14  
 Nombre: FUNDACION PARA EL DESARROLLO AGRARIO  
 Dirección: JR. CAMILO CARRILLO NRO. 325, - JESUS MARIA, LIMA, DEPARTAMENTO LIMA.

**Adquiriente**

Identificación: DNI - DOCUMENTO DE NACIONAL DE IDENTIDAD  
 Número de identificación: 72166720  
 Nombre: MATAINGAMARLENYMILAGROS  
 Dirección: ASOC. FORTALEZA DE VITARTE MZ. 1LT. 5 LIMA-LIMA-ATE

---

Cantidad	Unidad	Código	Descripción	Valor unitario	Importe
30.00	NIU	4309	RATAS ALBINAS (+2 MESES)	S/ 12.710	S/ 381.36

**Información adicional**

**Totales impuestos**

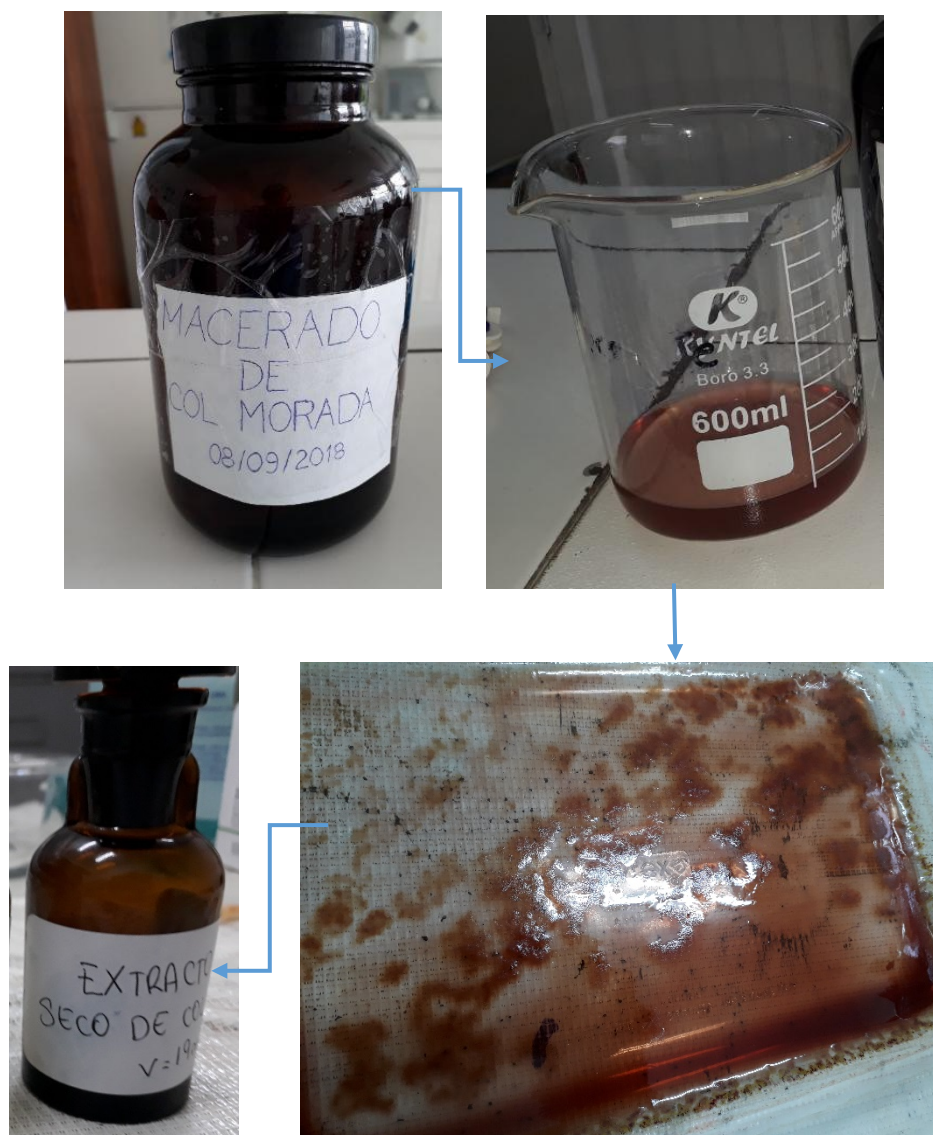
Total IGV 18%: S/ 68.64

**Totales del documento**

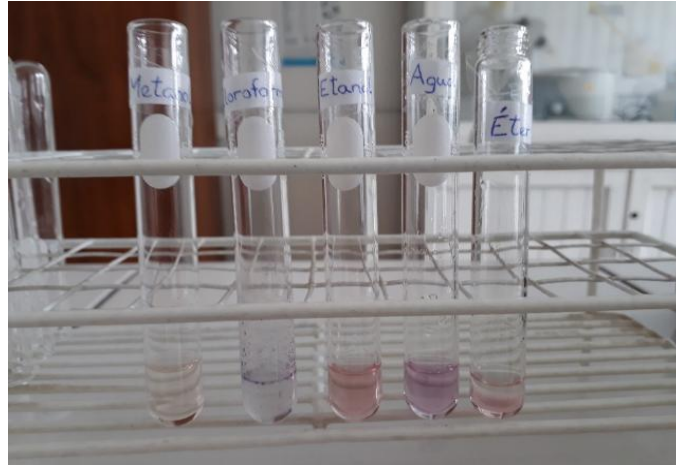
Total Gravadas: S/ 381.36  
 Importe total de la venta: S/ 450.00

Monto en letra: CUATROCIENTOS CINCUENTA Y 00/100 SOLES

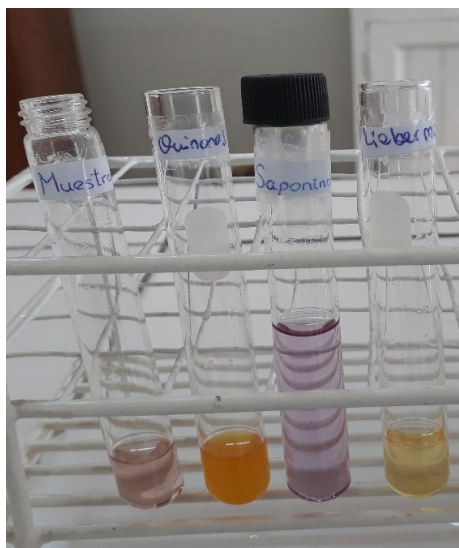
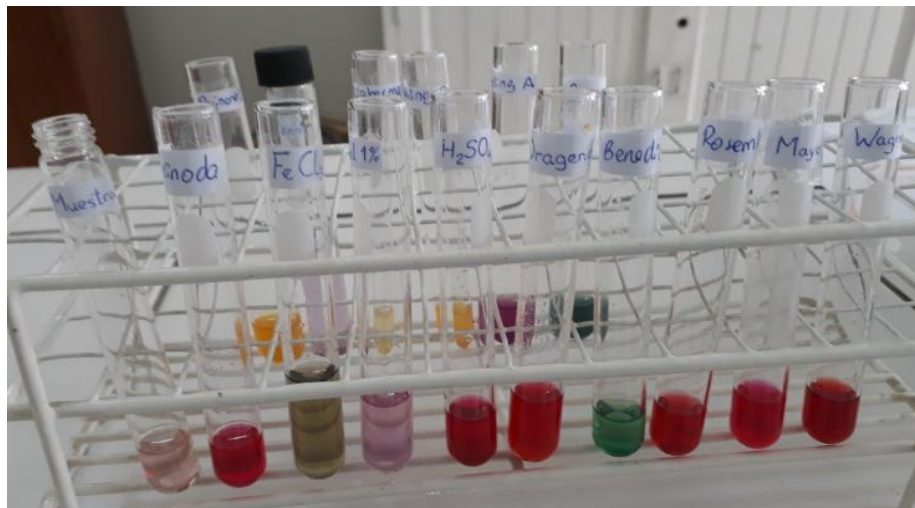
## Anexo 7: Procedimiento de la Investigación.



**Figura N°16: Macerado, extracto líquido y extracto seco de la Col morada**



**Figura N°17: Marcha de Solubilidad del extracto etanólico de la *Brassica oleracea* L. (Col morada)**



**Figura N°18: Marcha Fitoquímica del extracto etanólico de la *Brassica oleracea* L. (Col morada)**



**Figura N°19: Animales de experimentación.**



**Figura N°20: Pesado inicial de las Ratas.**



**Figura N°21: Administración por canulación gástrica.**

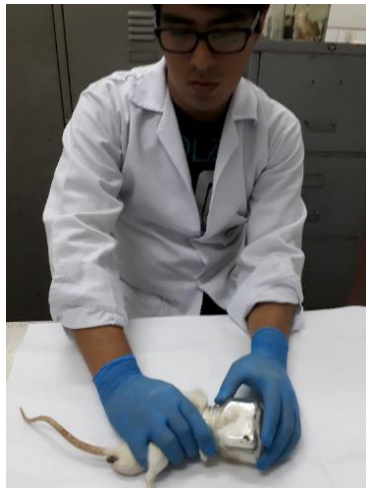
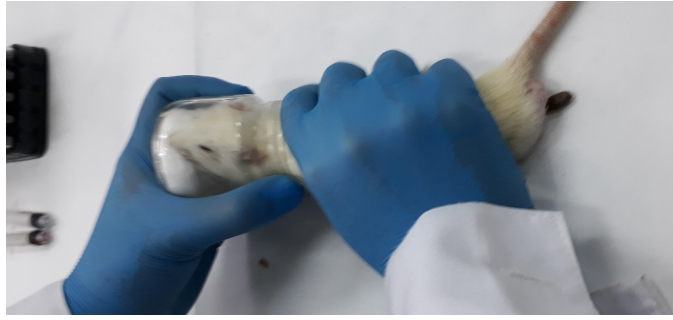




**Figura N°22: Administración por orogástrica.**



**Figura N°23: Pesado final de las Ratas.**



**Figura N°24: Anestesia por Éter Etilico.**



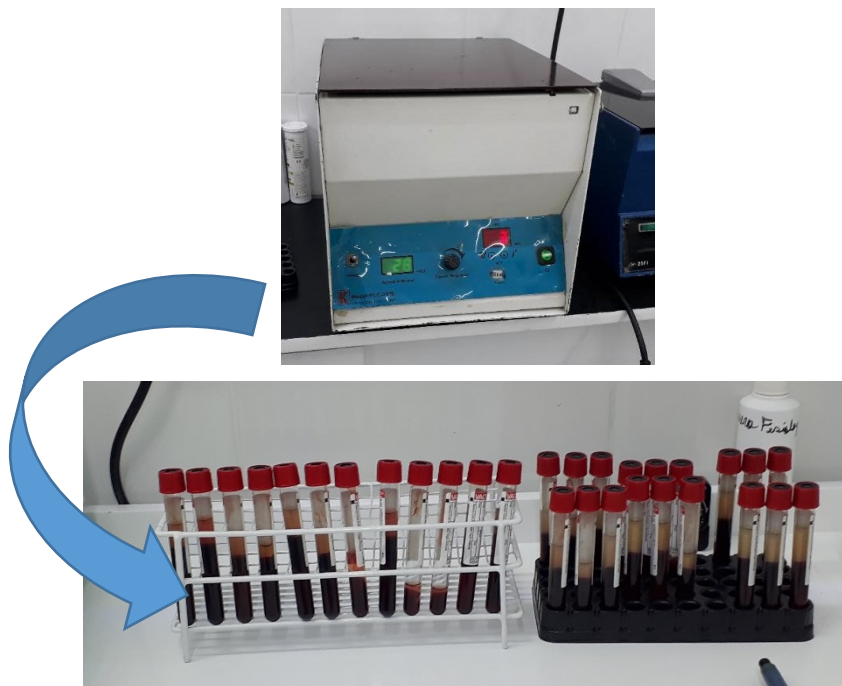
**Figura N°25: Extracción de sangre por punción cardiaca**



**Figura N°26: Muestras colocadas en tubos con tapón rojo.**



**Figura N°27: Extracción y peso del hígado.**



**Figura N°28: Centrifugado de las muestras de sangre.**