



**UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE**

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUIMICA**

**EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE *Gentianella bicolor* “Corpus
Huay” EN EL DAÑO HEPÁTICO AGUDO INDUCIDO
POR TETRACLORURO DE CARBONO**

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

AUTOR

DELGADO VALVERDE, DIANA PAOLA

ORCID: 0000-0003-2613-2100

ASESOR

ZEVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA

ORCID: 0000-0003-2547-9831

CHIMBOTE - PERÚ

2020

**EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE
Gentianella bicolor “Corpus Huay” EN EL DAÑO
HEPÁTICO AGUDO INDUCIDO POR
TETRACLORURO DE CARBONO**

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Delgado Valverde, Diana Paola

ORCID: 0000-0003-2613-2100

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Bachiller, Chimbote,
Perú

ASESOR

Zevallos Escobar, Liz Elva

ORCID: 0000-0003-2547-9831

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de
La Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote,
Perú

JURADO

DIAZ ORTEGA, JORGE LUIS

ORCID: 0000-0002-6154-8913

RAMIREZ ROMERO, TEODORO WALTER

ORCID: 0000-0002-2809-709X

RODAS TRUJILLO, KAREM JUSTHIM

ORCID: 0000-0002-8873-8725

JURADO EVALUADOR DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Teodoro Walter Ramírez Romero

Miembro

Mgtr. Karem Justhim Rodas Trujillo

Miembro

Mgtr. Liz Elva Zevallos Escobar

Docente Tutor Investigador

AGRADECIMIENTO

Principalmente al señor divino por todas las cosas tan bellas que nos ha dado, por su inmenso amor. También por iluminarme y guiarme día a día y así poder terminar un proyecto más en mi vida.

A nuestra asesora Mgtr. Zevallos Escobar Liz Elva, por su enseñanza, ayuda y con sus indicaciones que me permitió terminar este trabajo de investigación. Y a cada uno de los maestros lo cual me brindaron conocimientos que es lo más importante que el ser humano va adquiriendo a lo largo de la vida.

A mis padres Esther y Eder por la forma de amarnos incondicionalmente y por haberme formado como la persona que soy. Nunca perdieron la fe en mí, siempre me motivaron para alcanzar una de mis metas tan anheladas, muchos de mis logros se los debo a ustedes.

A mis compañeros, amigos por gran amistad, apoyo, y contar con ellos en cada momento.

DEDICATORIA

A mis familiares y amigos, que siempre estuvieron apoyándome, que no perdieron las esperanzas en mí, a mis queridos padres: Esther Valverde Sánchez y Eder Delgado Ibáñez. Por su formación, dedicación con sus sabios consejos, me permitieron seguir adelante cumplir una de mis metas, los amo.

A mis hermanos a Dina, Erick y Daenerys, son la razón de seguir luchando por alcanzar todos mis sueños y el amor que los tengo es incondicional.

A mis papitos Lucia Sánchez y Ruperto Valverde que en paz descansen, que a pesar de su falta que me hicieron desde su partida, sus recuerdos inolvidables vividos en mi niñez, han sido mi fuerza de seguir adelante.

A mis queridos tíos Víctor Delgado Ybañez, Alberto Valverde Sanchez, Pablo Valverde Sanchez y Aurora Delgado Ybañez por haberme apoyado incondicionalmente, brindándome los mejores consejos, y un ejemplo de humildad, superación y sacrificio, con todo mi amor se los dedico.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental y enfoque cuantitativo, cuyo objetivo fue Determinar la actividad Hepatoprotectora del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* “Corpus huay” en el daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono, donde se emplearon 16 animales de experimentación, se dividió aleatoriamente en 4 grupos (n: 4). Grupo negativo: solo recibió agua ad libitum y alimento. Grupo positivo: se le indujo la hepatotoxicidad con CCl₄ a dosis de 2mL/kg durante 7 días, el grupo de Silimarina: recibió 100 mg/kg. Grupo experimental del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* recibió 200 mg/kg, mediante sonda orogástrica durante 7 días, administrando CCl₄ al 6to y 7mo día en una concentración de 2mL/kg. Al finalizar el procedimiento experimental se encontró mediante los valores séricos de las transaminasas que el grupo positivo tetracloruro de carbono tuvo una elevación de las transaminasas TGO (41.5 ± 1.3), TGP ($88.2 \pm 1.$), ALP (217.2 ± 13.3), BILd (1.0 ± 0.63), BILt (1.7 ± 0.40), una disminución de ALB (3.2 ± 0.2) y TP (7.1 ± 0.5). Mientras el grupo experimental del extracto hidroalcohólico *Gentianella bicolor*, tuvo una disminución significativa de transaminasas TGO (37.5 ± 1.7), TGP (65.7 ± 2.9), ALP (197.2 ± 16.5), BILd (0.6 ± 0.08), BILt (1.5 ± 0.16), un aumento significativo de ALB (3.9 ± 0.1) y TP (7.4 ± 0.3). Mediante la prueba ANOVA se obtuvo diferencia significativa entre grupos ($p < 0.05$). Se concluye que el extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* a una dosis de 200mg/kg demostró un efecto hepatoprotector contra la lesión hepática inducida por el tetracloruro de carbono (CCl₄).

Palabras claves: Hepatoprotector, *Gentianella bicolor*, tetracloruro de carbono, silimarina

ABSTRACT

The present research work was of an experimental type and quantitative approach, whose objective was to determine the hepatoprotective activity of the hydroalcoholic extract of *Gentianella bicolor* "Corpus huay" in the acute liver damage induced by carbon tetrachloride, where 16 experimental animals were used. randomly divided into 4 groups (n: 4). Negative group: only received water ad libitum and food. Positive group: hepatotoxicity was induced with CCl₄ at a dose of 2mL / kg for 7 days, the Silymarin group: received 100 mg / kg. Experimental group of the hydroalcoholic extract of *Gentianella bicolor* received 200 mg / kg, by orogastric tube for 7 days, administering CCl₄ on the 6th and 7th day at a concentration of 2mL / kg. At the end of the experimental procedure, it was found through the serum values of the transaminases that the positive group carbon tetrachloride had an elevation of the transaminases TGO (41.5 ± 1.3), TGP ($88.2 \pm 1.$), ALP (217.2 ± 13.3), BILd (1.0 ± 0.63), BILt (1.7 ± 0.40), a decrease in ALB (3.2 ± 0.2) and TP (7.1 ± 0.5). While the experimental group of the hydroalcoholic extract *Gentianella bicolor*, had a significant decrease in transaminases TGO (37.5 ± 1.7), TGP (65.7 ± 2.9), ALP (197.2 ± 16.5), BILd (0.6 ± 0.08), BILt (1.5 ± 0.16), a significant increase in ALB (3.9 ± 0.1) and TP (7.4 ± 0.3). Using the ANOVA test, a significant difference was obtained between groups ($p < 0.05$). It is concluded that the hydroalcoholic extract of *Gentianella bicolor* at a dose of 200mg / kg demonstrated a hepatoprotective effect against liver injury induced by carbon tetrachloride (CCl₄).

Key words: Hepatoprotective *Gentianella bicolor*, Carbon tetrachloride, silymarin.

ÍNDICE

EQUIPO DE TRABAJO.....	iii
JURADO.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT.....	viii
INDICE DE TABLAS.....	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1. Antecedentes.....	6
2.2 Bases teóricas.....	7
2.2.1. Hígado.....	7
2.2.2. Fisiología del hígado.....	9
2.2.3. Enfermedades hepáticas.....	10
2.2.4. Hepatotoxicidad.....	15
2.2.5. Enzimas hepáticas.....	16
2.2.6. Perfil Hepático.....	19
2.2.7. Tetracloruro de carbono.....	21
2.2.8. Actividad hepatoprotectora.....	24
2.2.9. <i>Gentianella bicolor</i>	25
2.2.10. Antioxidante.....	27
2.2.11. Radicales libres.....	27
2.2.12. Flavonoides.....	29
2.2.13. Fármacos hepatoprotectores del hígado.....	30
III. HIPÓTESIS.....	31
3.1 Hipótesis alternativa.....	31
3.2. Hipótesis Nula.....	31

IV. METODOLOGIA.....	32
4.1. Diseño de la investigación.....	32
4.2. Población y muestra.....	33
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	35
4.4. Técnicas e instrumento de recolección de datos.....	37
4.5. Plan de análisis.....	46
4.6. Matriz de consistencia.....	47
4.7. Principios éticos.....	48
V. RESULTADOS.....	49
5.1. Resultados.....	49
5.2. Análisis de resultados.....	52
VI. CONCLUSIÓN.....	58
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	60
ANEXOS.....	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Índice Hepático (IH) y porcentaje de incremento del tejido hepático de *Rattus rattus var. albinus* según grupo de tratamiento con toxicidad inducida por tetracloruro de carbono..... **pag 49**

Tabla 2: Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* en dosis de 200 mg/kg/pc sobre valores medios de la actividad enzimática de las transaminasas: (TGO, TGP) y Fosfatasa Alcalina en *Rattus rattus var. albinus* con toxicidad inducida por tetracloruro de carbono..... **pag 50**

Tabla 3: Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* sobre los niveles séricos de ALB, TP, BILd y BILt contra la hepatotoxicidad inducida por CCl₄ en *Rattus rattus var. Albinus*..... **pag 51**

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades hepáticas es un problema para la salud a nivel del mundo formando parte de las 10 primeras causas de muerte. Las tasas más elevadas se presentan en Moldavia un 91/100.000 de los habitantes, de la misma forma se presenta en Hungría un 85/100.000 de sus habitantes, mientras tanto la cifra más baja se da entre tres a cinco por cien mil habitantes esto corresponde a Irlanda, Holanda, Israel. Así mismo en los países latinoamericanos como: Perú, Colombia, Chile y México, las enfermedades hepáticas ocupan el quinto y sexto lugar como consecuencia de muertes en general. ^{1,2}

A Nivel mundial el principal causante en las enfermedades hepática más comunes son, por el consumo excesivo de bebidas alcohólicas y enfermedades viral crónica, además la causa menos frecuente se da por las enfermedades hepáticas autoinmune entre ello tenemos la hepatitis, cirrosis biliar primaria y colangitis.¹ Las enfermedades metabólicas como la enfermedad de Wilson, deficiencia de alfa-1-antitripsina, Hemocromatosis, fibrosis Quística, así mismo como la Esteatosis hepática no alcohólica.^{1,2}

En el Perú las enfermedades hepáticas, así como la cirrosis hepática, incrementaron al quinto puesto en el ranking de mortalidad general. Asimismo, es la segunda causa de muerte en pacientes entre los 30 y 59 años.³ Dado que el hígado es el órgano más importante, debido a sus diferentes funciones como, metabolismo energético, biotransformación de sustancias exógenas y endógenas, síntesis de proteínas.⁴ De manera que el hígado es propenso a sufrir daños por la exposición a sustancias tóxicas debido a que el sistema circulatorio lleva hasta el hígado sustancias tóxicas o

también pueden volverse tóxicas mediante la transformación que tiene lugar a la bioactivación.⁵

El daño hepático es producido por la administración de altas dosis de drogas o xenobióticos donde puede sufrir diversos daños hepáticos ya que existe más de cien enfermedades a causa de esto.⁶ El hígado es altamente delicado a los efectos adversos de los xenobióticos de su principal metabolismo y excreción.⁷ El daño producido en el hígado es causada por la prescripción de todos los medicamentos ya que existe más de (900)⁷ drogas han sido implicados como la causa del daño hepático. El resultado de la hepatotoxicidad es debido a la toxicidad directa de los compuestos primarios, así como la respuesta inmune que afecta las células epiteliales, hepatocitos.⁷ Los fármacos que están asociados en la intoxicación representan el 5 por ciento de hospitalizaciones, 10 por ciento casos por hepatitis aguda, 50 por ciento por falla hepática aguda y las enfermedades hepáticas crónicas representan el 2 por ciento, en que se presenta 40.000 muertes por año.^{7,8}

Ante una lesión hepática se da un aumento superior normal de bilirrubina conjugada o Glutámico Pirúvica sérica (TGP), o de los niveles de Transaminasa Glutámico Oxalacética sérica (TGO), fosfatasa alcalina (ALP).^{9,10} Para poder evaluar el daño hepático provocado por tetracloruro de carbono (CCl₄), existe diversos indicadores bioquímicos entre ellos tenemos: Glutámico Pirúvica sérica (TGP), Glutámico Oxalacética sérica (TGO), proteínas totales (PT) bilirrubina total, (BT), directa (BD), indirecta (BI) y fosfatasa alcalina (ALP).^{9,10,11,12}

Las plantas medicinales y los suplementos dietarios ha sido usados desde la antigüedad. Se estima que 80% de la población mundial depende de remedios

caseros y tradicionales. Este patrimonio cultural se ha transmitido de generación en generación para prevenir o curar enfermedades.^{12,13,14}

El uso de las plantas medicinales con fines curativos como *Gentianella bicolor* es una especie silvestre que se encuentra en los andes norperuanos. Según los pobladores refieren que es muy empleada por poseer diversas propiedades hipoglucemiantes, hepatoprotectoras, y su alta concentración de antioxidantes y la alta capacidad de proteger ante el daño de los radicales libres. Es considerada como tratamiento para los triglicéridos, diabetes, acné, reumatismo, colesterol, hepáticas y sangre. Actualmente en la sierra liberteña del Perú.^{13,14,15}

La familia *Gentianella* fue suficientemente investigada frente al daño del tejido hepático, estos estudios en animales han demostrados efectos reparadores de la célula del hígado ante un agente toxico como CCl₄. Gracias a sus propiedades curativas es un excelente alimento medicinal para las personas que presentan una enfermedad en el hígado.^{16,17,18}

La presente investigación se justifica por la importancia de estudiar sus propiedades curativas que contiene la especie vegetal de *Gentianella bicolor* (Corpus huay), la motivación de realizar este estudio es por el consumo de la infusión de corpus huy, por medio de familiares, para aliviar malestares y problemas de salud como: triglicéridos, acné, estimulación del apetito y problemas de hígado, dando buenos resultados.

En la metodología fue desarrollada de acuerdo al modelo experimental de manera que se emplearon 16 animales de experimentación, con un peso promedio de 215-259 mg, se dividió aleatoriamente en 4 grupos (n: 4) contando. Grupo negativo solo

recibió agua ad libitum y alimento, el grupo positivo recibió 2mL/kg de CCl₄ por vía orogástrica, el grupo de Silimarina recibió 100 mg/kg mediante sonda orogástrica, en cuanto al grupo experimental del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* recibió 200 mg/kg, mediante sonda orogástrica durante 7 días, administrando CCl₄ al 6to y 7mo día en una concentración de 2mL/kg. Se determinó el perfil hepático mediante análisis bioquímicos como: Albúmina y fosfatasa alcalina, Bilirrubina, proteínas totales, TGO, TGP. Por lo anterior mente mencionado se planteó la siguiente pregunta ¿Tendrá efecto hepatoprotector el extracto hidroalcohólico de *Gentianella Bicolor* “corpus huay” en el daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono?

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo general:

Determinar la actividad Hepatoprotectora del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* “Corpus huay” en el daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono.

Objetivos específicos

- Determinar el índice Hepático (IH) y porcentaje de incremento del tejido en *Rattus rattus var. albinus* según grupo de tratamiento con toxicidad inducida por tetracloruro de carbono.
- Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* en dosis de 200 mg/kg/pc sobre valores medios de la actividad enzimática de las transaminasas: TGO, TGP y ALP en *Rattus rattus var. albinus* con toxicidad inducida por tetracloruro de carbono.
- Determinar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* sobre los niveles séricos de ALB, TP, BILd y BILt contra la hepatotoxicidad inducida por CCl₄ en *Rattus rattus var. Albinus*.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

Nacionales

Carbonel K. (Perú 2017). Realizo un estudio sobre "Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Gentianella nítida*". El estudio tuvo como **objetivo** evaluar el efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Gentianella nitida* (hercampuri) en un modelo experimental inducido por paracetamol. **Metodología:** tipo descriptivo, prospectivo y experimental, utilizándose 24 ratas Holtzman, formándose 4 grupos: grupo control, grupo paracetamol, grupo silimarina y grupo *Gentianella nitida*., se aplicó la prueba Kruskal-Wallis, y como prueba pos hoc Mann Whitney. **Resultado:** en el modelo in vivo, el grupo *Gentianella nitida* tuvo resultados significativos en la actividad de SOD y TBARs (aumento; $p < 0,05$) y en la actividad de glutatión S-transferasa y glutatión (disminución; $p < 0,05$). **Conclusión:** el extracto acuoso de *Gentianella nitida* ejerce efecto hepatoprotector a nivel de la detoxificación II del paracetamol expresado en la actividad del glutatión S-transferasa.¹⁹

En el año 2011 Baltodano E, realizo un estudio acerca del "Efecto del decocto de *Gentianella alborosea* "hercampuri" sobre niveles séricos de proteínas totales y albúmina en *rattus norvegicus var. Albinus*" con el **objetivo:** determinar si la administración de decocto de *Geantinella alborosea* "Hercampuri" provoca cambios significativos sobre los niveles de

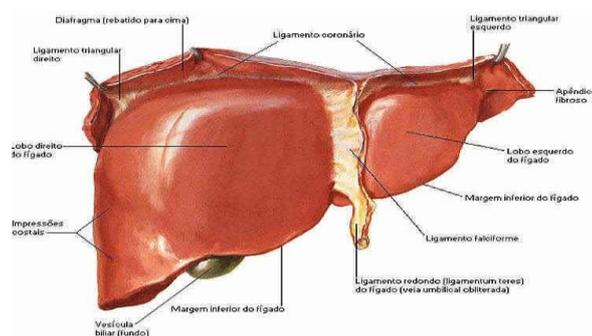
las proteínas totales y albumina. **Metodología:** se realizó un estudio de tipo experimental in vivo con el diseño clásico de estímulo creciente, utilizándose un grupo control y dos grupos problemas, el estudio se realizó durante 21 días. Aplicándose los análisis de varianza y prueba de Duncan (alfa= 0,05). como **Resultados:** no se encontró diferencia significativa de las proteínas totales, albumina y globulina ($p > 0.05$) en los tres grupos de investigación, en **conclusión:** la administración de 21 días del decocto de *Geantinella alborosea*, no genero cambios significativos en los niveles de proteínas totales, albumina y globulina en *Rattus novergicus var albinus*.²¹

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. HÍGADO

Es la glándula más grande de la anatomía del cuerpo humano, desempeña numerosas funciones metabólicas donde almacena glucógeno y secreta la bilis, transformaciones y desintoxicación.²²

FIGURA N° 1: Cara diafragmática del hígado.



Fuente: Equipo radiológico tecniScan, 2015¹³.

2.2.1.1. Anatomía del Hígado

2.2.1.1.1. Situación

El Hígado se encuentra ubicado en conexión con la superficie abdominal del diafragma y craneolateral derecha de las cavidades del estómago el que lo desplaza hacia la derecha, teniendo un peso promedio de 1.200 y 1.500g.). Esto cumple funciones como endocrinas y exocrinas.²³

2.2.1.1.1.1. Histología Hepática

La histología hepática es el implemento perfecto para establecer el patrón de toxicidad hepática; no obstante, en las prácticas clínicas la gran parte de las lesiones hepatológicas se clasifica acorde con las pruebas bioquímicas.²⁴

2.2.1.1.1.1.1. Hepatocitos

Los hepatocitos son células poliédricas que constituyen un 80% de poblamiento celular del hígado tiene una medición de 20 y 30 μm en cada dimensión. Su vida media es de 5 meses aproximadamente, así mismo forman placas anastomosantes.^{25,26} Está constituido por 3 tipos de bordes:

- a. Biliar (se forman los canalículos biliares)
- b. Delinea los bordes de senoide y formación con las células endotelial el espacio de (DISSE).^{25,26}
- c. Hepatocitarios (se van colocando con otros hepatocitos forman las láminas hepatocitarios).^{25,26}

2.2.2. FISIOLOGÍA DEL HIGADO

El hígado tiene una ubicación estratégica en la circulación es la primera visera que conecta del plasma sanguíneo procedente del intestino; esto no solamente implica que la superficie hepática absorba nutrientes, toxinas y microorganismos derivados del intestino, asimismo sugiere el papel hepático en la secreción de compuestos.²⁷ Para llevar a cabo sus funciones del hígado cuenta con un gran número de enzimas con funciones oxidativas y reductivas, entre ello se encuentra el citocromo P450, flavin-mooxigenasas, peroxidadas, hidrolasas, esterases y amidasas, también se encuentran presentes las glucuroniltransferasas, sulfotransferasas, metilasas, acetiltransferasa. Todas estas enzimas tienen una gran importancia en las biotransformaciones de los tóxicos.²⁸

Lo cual se puede determinar que atañen 3 tipos de funciones básicas, entre ello tenemos:

- **Funciones Vasculares:** El gasto cardiaco desempeña una gran función hemodinámica al actuar de reservatorio se produce una disminución de volemia que son la reserva de la sangre que pasan generalmente por la circulación mientras aumenta la reserva vascular en los sañudos hepáticos.^{27,28}

- **Función de almacenamiento:** el sistema vascular hepático funciona ofreciendo baja resistencia al flujo sanguíneo, principalmente cuando consideramos que 1,45 litro de sangre sigue esta ruta cada minuto. Puede ser que el hígado sea un

órgano más grande, venoso, con gran capacitancia, ya que es apto de almacenar el 10% del volumen total de sangre en la que puede albergar 1 L de sangre en casos de volemia se vuelve excesiva, incluso le permite suplir sangre extra cuando la volemia desciende.²⁷

- ***Función de filtración:*** las superficies internas de las sinusoides hepáticas están cubiertas por una elevada cifra de células Kupffer o macrófagos residentes en el hígado, cuya función consiste en fagocitar virus, parásitos, bacterias y macromoléculas, por ende, estas células constituyen una poderosa principalmente la barrera fagocitada para toxinas.²⁷
- **Funciones metabólicas hepáticas:** se lleva a cabo por los hepatocitos, o sea por las células parenquimatosas del metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas específicamente.²⁷
 - ***Metabolismo de los hidratos de carbono:*** El hígado deposita glucosa en forma de glucógeno transforma el glucógeno en glucosa y forma glucosa a partir de aminoácidos y lipídicos.^{29,30}
 - ***Síntesis de ácidos grasos:*** se da la formación de lipoproteínas, colesterol y fosfolípidos.²⁷

2.2.3. ENFERMEDADES HEPÁTICAS

Las enfermedades hepáticas se pueden dar de manera hereditario o por factores que causan daño al hígado, como el consumo excesivo

de bebidas alcohólicas, virus y por el consumo de fármacos en altas dosis como el paracetamol.²² Con el paso del tiempo va generando diferentes enfermedades hepáticas en las que se tiene:

2.2.3.1. Cirrosis: Es una enfermedad hepática crónica progresiva y se define histológicamente como una alteración de la arquitectura hepática conformada de nódulos de reconstrucción separados por los tabiques fibrosos, resultante de 3 procesos fundamentales: la evolución de la hipertensión portal, la insuficiencia hepatocelular.³¹ síntomas son:

- Orina color café
- Ictericia
- Atrofia tisular
- Anemia
- Uñas frágiles
- Ascitis
- Hipertensión portal
- Encefalopatía hepática.^{30,31}

2.2.3.2. Cirrosis biliar primaria: se considera una enfermedad de inmunomedibilidad autoinmune debidamente a los hallazgos serológicos, en el descubrimiento de anticuerpos antimitochondriales y

los cambios patológicos específicos del conducto biliar que son producidas en el trastorno.³²

Los síntomas son:

- Prurito de palmas, mano y plantas de los pies
- Ictericia
- Melanosis
- Trastornos de excreción biliar.
- Esteatorrea³²

2.2.3.3. Síndrome de Gilbert: Es caracterizada por hiperbilirrubinemia liviano. Con ausencia de hiperhemólisis que suele ocurrir en adulto, con resultados de prueba hepática y hallazgos clínicos normales, por ello la histología hepática que se realiza, incluyendo niveles séricos de ácidos biliares normales. Excepto por ictericia cuando es aparente.^{30,31}

Es originada por defectos en el gen de uridin difosfato glucuronosil-transferasa, esto es caracterizada por la hiperbilirrubinemia no conjugada liviana con un agrandamiento de la pigmentación lipofuscina.^{30,31}

2.2.3.4. Síndrome de Crigler-Najjar (CN). Presenta hiperbilirrubinemia superior (100–750 mmol / L) debidamente a mutaciones en UDP-glucuronosil transferasa 1A1 (UGT1A1).³³

2.2.3.5. Hepatitis viral: se caracteriza por ser infeccioso generalizada de manera específica en el hígado, la mayoría de los casos de hepatitis virales es producida por algunos de los ocho virus hepatótrofos, denominados A, B, C, D, E. La gran parte de los virus de la hepatitis viral son de tipo ARN excepto el virus de la hepatitis B que es un virus ADN.³⁴

Hepatitis A

La causa principal por un enterovirus ARN del grupo *picornaviridae*. De modo que es transmitido frecuentemente por vía oro-fecal, de través de la conexión interpersonal o por la ingesta de alimentos o agua contaminada.³⁴

Hepatitis B

Pertenece a la familia de Hepadnaviridae, tratándose de un virus con ADN redondeado y parcialmente de dúplice cadena. Cada uno tiene 42 nanómetros de largo y consta de un centro interno o nucleocápside icosaédrico rodeado de una cubierta lipoproteica externa. Estas infecciones afectan principalmente al hígado de forma aguda desarrollándose asintomática o sintomática (molestias abdominales, ictericia, náuseas, vómitos, a veces artralgias y exantema).³⁵

Hepatitis C

Es transmitido principalmente por la vía parenteral mediante a administraciones de productos sanguíneos contaminados, auto

inyecciones de drogas intravenosas y la auto inyección de drogas intravenosas y la exhibición a la sangre por hemodiálisis, saliva, transmisión sexual, cepillos de dientes.³⁴

Hepatitis D

Este virus emita al virus de la hepatitis B, sus mecanismos de transmisión son similares, no obstante, en la transmisión sexual es menos eficaz y la perinatal es poco frecuente.³⁴

Hepatitis E

Las características epidemiológicas de la hepatitis E son similares a las de la hepatitis A. la principal vía de transmisión es la oro-fecal y se tiene un fuerte indicio de transmisión parenteral en casos de pacientes drogadictos que comparten agujas o jeringas.³⁴

2.2.3.6. Hepatitis crónica

Comprende varios trastornos hepáticos que se caracterizan por inflamación y necrosis hepáticas que persisten más de seis meses. Las variedades leves no avanzan o lo hacen de manera lenta, las más graves se acompañan de cicatriz organización estructural, en fases avanzadas, termina en cirrosis. Por lo que se han determinado varios tipos de hepatitis crónica; viral, inducida por fármacos.³⁶

2.2.4. HEPATOTOXICIDAD

Se define como un daño hepático causado por la exposición a medicamentos o u otros agentes no farmacológicos. Estas reacciones afectan al hígado en las que incluyen las siguientes alteraciones de los análisis bioquímicos hepáticos³⁷:

- a. Incremento de alanino aminotransferasa
- b. Incremento de la concentración de bilirrubina directa sérica
- c. Aumento de aspartato aminotransferasa, fosfatasa alcalina y la concentración totalmente de la bilirrubina.³⁷

2.2.4.1. AGENTES ASOCIADOS A HEPATOTOXICIDAD

Las gentes hepatotóxicas frecuentemente utilizados para inducir fibrosis y cirrosis hepática como el Tetracloruro de carbono (CCl₄), el acetaminofén (A), dimetilnitrosamina (DMNS), Tioacetamida (TAA), Y D-galactosamina (GalN). De los anteriores el mayor utilizado es el CCl₄, que produce significativa inflamación, necrosis y depósitos de tejido conectivo fibrótico en hígado con daño mínimo a otros órganos, en diversos modelos de roedores; asemejando la fibrosis y cirrosis hepática humana en aspectos morfológicos y fisiopatológicos.³⁹

2.2.5. ENZIMAS HEPATICAS

Los hepatocitos intactos contienen en su protoplasma cierta cifra de sustancias o enzimas en concentraciones mayormente elevadas que en la sangre circulante. Estas sustancias pueden ser liberadas e ingresar a la sangre tras lesionarse la pared de la célula.³⁹

2.2.5.1. Transaminasas hepáticas

Las transaminasas son proteínas o catalizadores químicos de providencia biológica esencial para la existencia, permiten que se produzcan numerosas reacciones bioquímicas en las células corporales, conjugadas y sintetizadas por diferentes tejidos hepático.⁴⁰

La degeneración de los principales aminoácidos empieza con la disociación del grupo α -amino. El amino transferasas, denominadas transaminasas, catalizan esta respuesta completamente reversible. Al permitir el grupo amino α -oxoglutarato. Formándose un ácido aoxocarboxílico y glutamato. Según el aspecto clínico, son de trascendencia la transaminasa glutámica oxalacético (GOT) y glutámico pirúvico (GPT). Por lo cual las enzimas son muy importantes en la elaboración de varios aminoácidos, su medida en sangre que es utilizada para el diagnóstico y rastrear muchas enfermedades, en específico sirve para evidenciar la presencia de daño hepático, con el valor elevado de las transaminasas.^{41,42}

Transaminasas hepáticas tenemos:

2.2.5.1.1. La Glutamato-Oxalacetato Transaminasa (GOT): el

AST es una enzima intra celular, cuyo objetivo es catalizar reacciones de transaminación, se encuentra ubicado en el citosol y mitocondrias de las células musculares hepáticas y cardiacas. En casos patológicos se encuentra en el suero sanguíneo cantidades elevadas de enzimas intracelulares significa que hay un trastorno funcional u orgánica de la célula. Los valores más elevados del aspartato aminotransferasa (AST) se relacionan con los procesos necróticos del órgano; infarto del miocardio, hepatopatía, distrofia muscular.^{41,42}

Los niveles normales

➤GOT en sangre son: 5-40 U/ml

2.2.5.1.2. Transaminasa glutámico pirúvico (TGP): el Alanina

aminotransferasa (ALT) pertenece al grupo de aquella transaminasa que catalizan la modificación de los aminoácidos a los respectivos alfa cetoácidos, por medio del traspaso de un grupo amino.^{41,42,43} Esta transaminasa se encuentra en gran número en el hígado, en pequeña cantidad se encuentra en el musculo, en el corazón y en el riñón. Cuando hay lesiones en estos órganos la enzima es liberada a la sangre, por esta razón se observará elevada, aunque se verá

más elevada en enfermedades hepáticas como: tumores hepáticos, degeneración de grasa en el hígado, hepatitis infecciosa y hepatopatías glucocorticoide.

Intervalo normal

ALT (TGP):

- 1 año de edad: 30 - 80 U/l y 5 - 50 U/l

- Mayor de 1 año: 10 - 40 U/l AST: y 10 - 40 U/l (55).⁴⁴

2.2.5.1.3. La fosfatasa alcalina (ALP): es una enzima correspondiente al grupo de las metaloproteínas de zinc, con la finalidad de dividir grupos fosfatos terminales de los ésteres de fosfato orgánico que se encuentra en la membrana plasmática de la célula. Asimismo, es el encargado de excluir el grupo fosfato de varios tipos de nucleótidos, proteínas y alcaloides, se encuentran aproximadamente en todos los tejidos del organismo: hígado, huesos, placenta, riñones, intestinos. La elevación de sus valores normales puede ser patológico o fisiológico.^{41,42,43}

Fosfatasa alcalina

- Máximo a un año de edad: 150/350 U/l

- un año a dieciséis años: 30/300 U/l

- Mayor de dieciséis años: 30/115 U/l.^{44,45}

2.2.5.2. Niveles de transaminasas en la sangre.²²

Esta transaminasa maneja un papel muy esencial en el organismo en la cual sirve para los diagnósticos de las diferentes enfermedades en hígado. Las diferentes transaminasas TGO, TGP y fosfatasa alcalina mantienen valores normales sin embargo están disminuidos es causados por la falta de la penetrabilidad de la membrana celular los cuales dejan libres de estas enzimas en los glóbulos rojos por ende se da el grado de aumento de transaminasas.⁴⁵

2.2.6. PERFIL HEPÁTICO

Estos valores de los análisis clínicos ayudan a ver el funcionamiento del hígado:

Pruebas de función hepática⁴⁶:

- Verificar las lesiones hepáticas.
- Diferenciar citólisis y colestasis, para tener un diagnóstico específico.
- Seguimiento y evaluación de los tratamientos de las enfermedades.⁴⁶

2.2.6.1. Examen de fosfatasa alcalina:

Se usa para medir los niveles de fosfatasa alcalina en la sangre. Ya que se encuentra en muchos tejidos, con una gran concentración en el hígado. Este examen puede realizarse para examinar el funcionamiento en el hígado y detectar lesiones que pueden provocar obstrucción biliar, como tumores.²⁷

2.2.6.2. Examen de albúmina

Este examen se usa para medir el nivel de albúmina que hay en su sangre. Ya que el hígado produce albumina. La albumina transporta sustancias, como hormonas, medicamentos y enzimas por todo el cuerpo. Este examen puede ayudar al diagnosticar, evaluar y observar las infecciones del hígado.⁴⁷

2.2.6.3. Examen de bilirrubina

Mide los niveles de bilirrubina en la sangre. La bilirrubina es producida por el hígado y es excretada en la bilis. Los valores elevados de bilirrubina indican un atasco del flujo biliar o un procesamiento de la bilis mediante el hígado.²⁷

2.2.6.4. Examen de Transaminasa glutámico pirúvico (TGP)

Se realiza con la finalidad de examinar el funcionamiento del hígado además evaluar el tratamiento de las enfermedades agudas del hígado, como la hepatitis. Debido a que es hallada predominantemente en el hígado que se libera al torrente sanguíneo como consecuencia de un daño celular en el hígado.²⁷

2.2.6.5. Examen de Glutamato-Oxalacetato Transaminasa (GOT):

Se mide el nivel de una enzima que se encuentra en el hígado, riñones, páncreas, corazón, SME, y glóbulos rojos, es liberado al torrente sanguíneo cuando existe problemas en el hígado o el corazón.²⁷

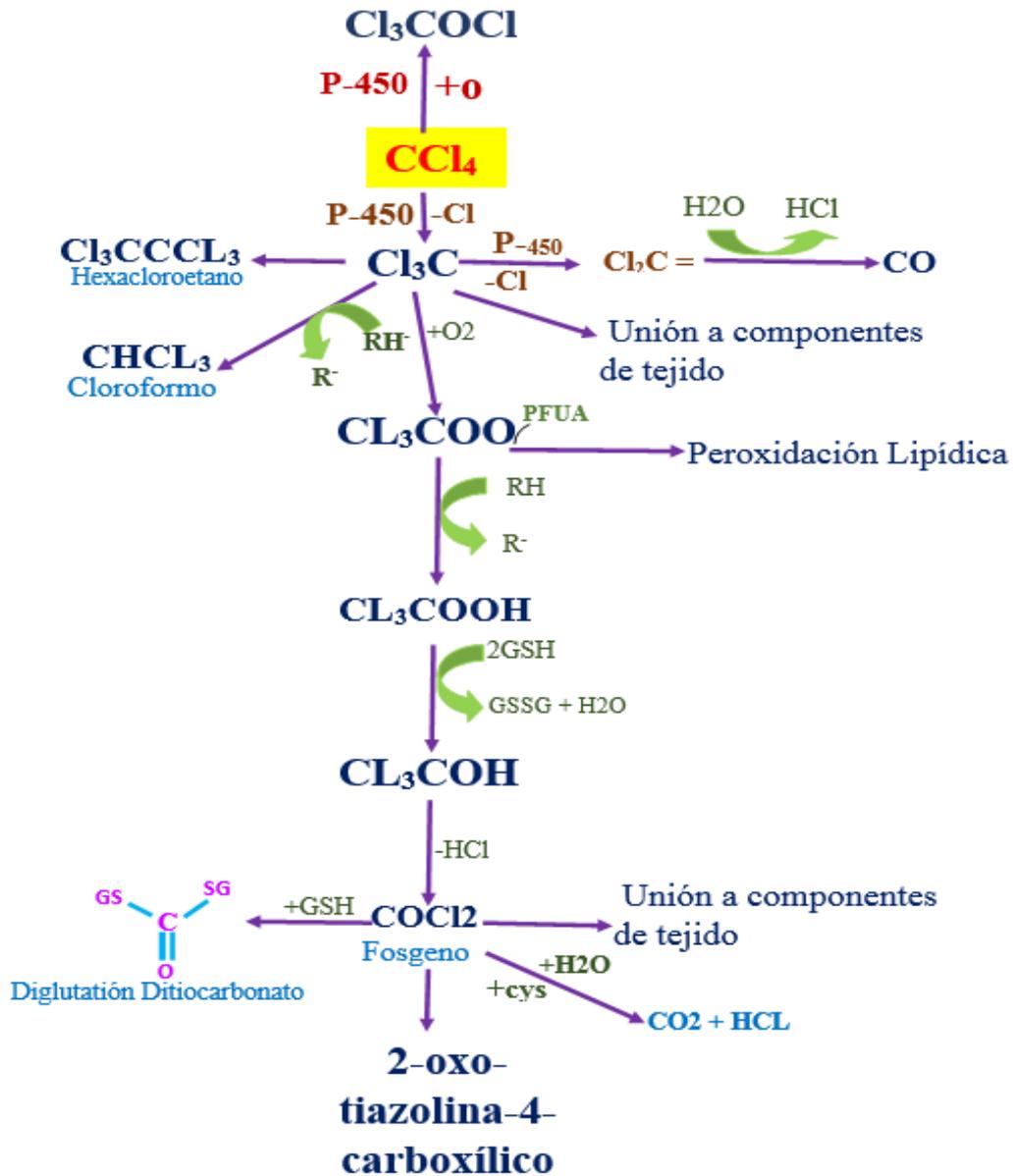
2.2.7. TETRACLORURO DE CARBONO

Pertenece al grupo de los hidrocarburos halogenados, siendo poco insoluble en H₂O y su composición térmica produce fosgeno Cl₂CO, el cual es un toxico respiratorio. Es utilizado como solvente de aceites, grasas, ceras, por ello se usa muy poco por sus propiedades cancerígenas, puede que el hepatotóxico mayormente estudiado, conocido entre aquellos xenobióticos que causan daño hepático.^{28,48}

2.2.7.1. Toxicocinética

- a. Absorción:** El CCl₄ se absorbe fácilmente de través del tracto gastrointestinal ya sea en humanos y animales. Hay demostración de absorción gastrointestinal en humanos basada en informes de toxicidad después de incidentes de envenenamiento. En cuanto en ratas que reciben bolo dosis alrededor de 18 o 180 mg/kg de CCl₄ por sonda oral, donde detectaron concentraciones de CCl₄ en el hígado en 1 min. La absorción redujo en 37-56%.⁴⁹
- b. Distribución:** El estudio en animales indican que la gran parte de una dosis oral absorbida de CCl₄ es inicialmente distribuidos a las grasas.⁴⁹
- c. Metabolismo:** el CCl₄ se metaboliza principalmente por el hígado, asimismo por el riñón, pulmón y otros tejidos que contienen CYP450.^{22,49} Como se detalla en la **figura N°2**

FIGURA No 2: Metabolismo reductor de tetracloruro de carbono a RL de triclorometilo (Cl_3C) por el citocromo P450 (CYP) E1, y las reacciones posteriores del RL de triclorometilo para generar radicales libres de triclorometilperoxi, fosgeno y carbonato de diglutación.⁴⁰

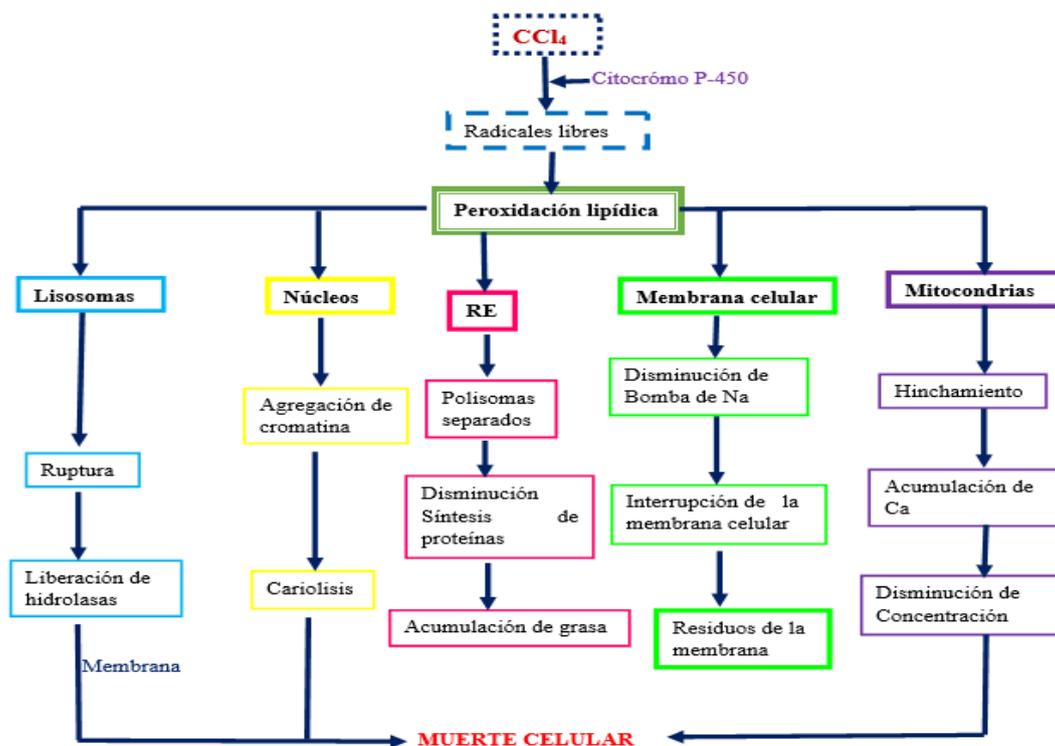


Fuente: Del Río, E y Vilanova, E. en Enciclopedia de Toxicología (Tercera Edición), 2014.⁴⁰

2.2.7.2. Mecanismo de acción del tetracloruro de carbono.²²

El CCl₄ es un analgésico apto para causar la difusión por el decaimiento del SNC. Del mismo modo es un potente hepatotóxico. En el hígado altera el funcionamiento de los hepatocitos para ligar los triglicéridos a las lipoproteínas transportadoras, originando acumulación intracelular de lípidos y el deterioro de grasa. Formándose metabolitos extremadamente tóxicos, que originan la muerte celular y necrosis hepática lobulillar, mediante por el sistema enzimático microsomal citocromo P450. El daño ocurre por el efecto directo del CCl₄ el túbulo proximal y el asa de Henle, desencadenando una necrosis tubular aguda.²⁷

FIGURA N° 3: Esquema del mecanismo de acción del daño hepático inducido por tetracloruro de carbono.²⁷



Fuente: De Jesús.²⁷

2.2.8. ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA

La actividad hepatoprotectora es la regeneración de las células hepáticas. Por ello la función natural del hígado de reemplazar las células dañadas.³⁷

Las plantas hepatoprotectoras que pueden estimular sistemas de detoxificación del hígado para eliminar los compuestos tóxicos. Uno de los mecanismos más importantes de detoxificación lo constituyen los sistemas enzimáticos de las catalasas y superóxido-dismutasa. los mecanismos son muy importantes para permitir la eliminación de radicales libres del organismo.³⁷ El uso habitual de las plantas medicinales en los mercados populares se encuentra variedades de especies de plantas, con diferentes fines mágicos, ornamentales, esotéricos, culinarios y medicinales.⁵⁰

La familia *Gentianella* ha sido ampliamente estudiada frente al daño del tejido hepático, estos estudios en animales han demostrado efectos reparadores de la célula del hígado ante un agente toxico como CCl₄. Gracias a sus propiedades curativas es un excelente alimento medicinal para las personas que presentan una enfermedad en el hígado.^{20,21}

2.2.9. “*Gentianella bicolor*”



FIGURA 3: *Gentianella bicolor*

El corpus huay, es una hierba bianual, perenne de la familia Gentianaceae, que crece en los andes de la región Cajamarca y en la región la libertad, Perú y también en Bolivia entre los 3000 y 4500 metros sobre el nivel del mar. Este alcanza la altura hasta 60 cm y las hojas basales levemente pecioladas, todas tienen borde entero y presentan color verde tanto en el haz como en el envés. Su raíz es cilíndrica, larga, fibrosa, ligeramente estriada a lo largo, de color castaño oscuro. Las semillas son pequeñas, lisas de color negro o marrón oscuro. El tallo lampiño y un poco cuadrangular, erguido, hueco, de color marrón parduzco en parte y morado en otro, con nudos donde se encuentran las hojas y nacen los pedúnculos florales.¹⁴

2.2.9.1. Clasificación Taxonómica

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE “GENTIANELLA BICOLOR”¹⁴

<i>DIVISIÓN:</i>	<i>Angiospermae</i>
<i>CLASE:</i>	<i>Dicotyledoneae</i>
<i>SUBCLASE:</i>	<i>Archychlamydeae</i>
<i>ORDEN:</i>	<i>Gentianales</i>
<i>FAMILIA:</i>	<i>Gentianaceae</i>
<i>GÉNERO:</i>	<i>Gentianella</i>
<i>ESPECIE:</i>	<i>Gentianella Bicolor.</i>

2.2.9.2. Composición química

Según estudios fitoquímicos realizados por diferentes autores se han reportado la presencia de metabolitos secundarios como: Esteroides, lípidos, flavonoides, taninos, alcaloides, azucres reductores, saponinas leucoantocianidina, compuestos fenólicos, xantofilas e iridoides.^{16,50} del mismo modo muestran el estudio de las características fisicoquímicas: densidad de 0,949 g/mL, índice de refracción de 1,369, PH de 5,1, solidos totales de 0,297 g/mL.^{18,51}

2.2.9.3.Nombres comerciales

Corpus huay, campanilla morada, campanilla, shashacuma, te amargo.⁵¹

2.2.9.4.Uso medicinal tradicional.

Según los pobladores del caserío de Cruz Pampa de la provincia de Julcán departamento de la Libertad, manifiestan que la planta es comúnmente conocida como corpus huay (*Gentianella bicolor*). Por ello, las partes utilizadas son las hojas, flores, tallos y raíz, mediante infusión y decocción. Mayormente es utilizada para el tratamiento de: Acné, hipoglucemiante, diurético, triglicéridos y para el hígado.¹⁴

2.2.10. Antioxidantes

Un antioxidante es una sustancia que se encuentra presente en las plantas, verduras, frutas, semillas y flores.¹⁷ Son captadores de radicales libres donde inhiben la etapa inicial del proceso de oxidación.¹⁷ La oxidación es una reacción química que transfiere electrones de una sustancia a un agente oxidante, por ello puede producir reacciones de oxidación lo que genera radicales libres cuando hay una transferencia univalente dado inicio a reacciones que dañan a la célula.¹⁷ Existen variedades de antioxidantes, de acuerdo a sus estructuras y funciones biológicas, entre ellas se encuentran: enzimáticas y no enzimáticas.¹⁷

2.2.11. Radicales libres

Los (R.L) son todas aquellas estructuras químicas que presentan un electrón desapareado dentro de su estructura, generando una inestabilidad. Además,

posee una estructura birradicálico, son muy reactivas, algunos presentan una vida media corta, teniendo una de las funciones fisiológica en el organismo como en la participación de la fagocitosis, que favorece en la síntesis de colágeno, prostaglandinas, activan enzimas de la membrana celular, disminuyen la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, modifican la biomembrana y favorecen la quimiotaxis.^{17,52}

Radicales libres es también endógena y está constituida por el metabolismo de los fagocitos (neutrófilos y macrófagos). Estos están dotados de diversas enzimas líticas (proteasas, lipasas, nucleasas), como de vías metabólicas (mieloperoxidasa en los neutrófilos) que generan diversas especies químicas agresivas como O_2^- , H_2O_2 , OH .^{52,53}

Las principales especies reactivas del oxígeno o sustancias prooxidantes son⁵²:

- Radical hidroxilo (HO)⁺
- Peróxido de hidrógeno ($H_2 O_2$)
- Anión superóxido (O_2)
- Oxígeno singlete ($1 O_2$)
- Oxígeno nítrico (NO)
- Peróxido (ROO)
- Semiquinona (Q)
- Ozono.⁵²

2.2.12. Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos naturales que se encuentran presentes en los vegetales, protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los radicales libres.⁵⁴ Su formación comienza a partir de los aminoácidos aromáticos como la fenilalanina y tirosina, la cual están unidas al acetato, a la que estos dos aminoácidos aromáticos dan lugar al ácido cinámico y al ácido parahidroxicinámico, al condensarse con unidades de acetato, origina una estructura de cinamol de los flavonoides. continuamente se forman los derivados glicosilados o sulfatados.⁵⁴

La metabolización de los flavonoides es muy amplia y una parte importante es excretada por la orina. La transformación de los flavonoides se da en dos localizaciones.⁵⁴

- La primera se da en el hígado mediante reacciones de biotransformación en:

Fase I: se introducen o se exponen a grupos polares.⁵⁴

- En segundo lugar, se da en el colon.

Fase II: en esta fase se da en el colon, donde los microorganismos degradan a los flavonoides no absorbido.⁵⁴

2.2.13. FÁRMACOS HEPATOPROTECTORAS DEL HÍGADO

2.2.13.1.Silimarina

La silimarina es un flavonoide extraído de las semillas y los frutos de *Silybum marianum* o «Cardo Mariano», y es una combinación de tres compuestos diferentes: silibinina, silidianina y silcristina. Ha sido ampliamente utilizada en intoxicaciones producidas por la seta venosa *Amanita phalloides*, como también los procedimientos hepáticos por su efecto regenerador de la estructura del hígado, inhibidor de leucotrienos y efecto antioxidante.⁵⁵

2.2.13.1.1. Mecanismo de acción

- Efecto inhibidor sobre la conversión del tetracloruro de carbono en sus metabolitos tóxicos (radicales libres)
- Efecto inductor sobre el citocromo P450 microsomal, demostrado en la desmetilación del p-nitrosanisol.
- Efecto estabilizador de la membrana del hepatocito.⁵⁵

III. HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis Nula (H0):

El extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* “Corpus huay” no tiene efecto Hepatoprotector en la toxicidad inducida por tetracloruro de carbono en *Rattus rattus Albinus*.

3.2. Hipótesis Alternativa (H1):

El extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* “Corpus huay” tiene efecto Hepatoprotector en la toxicidad inducida por tetracloruro de carbono en *Rattus rattus Albinus*.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación.

El presente trabajo de investigación corresponde a un estudio de tipo experimental y enfoque cuantitativo, por lo que se realiza: La manipulación, evaluación así mismo la aleatorización de las variables concorde a los objetivos de la investigación, con el motivo de investigar las posibles causas y efectos; con un nivel explicativo, diseño experimental con medición antes y después. El presente estudio es con medición después. (grupos: control negativo y positivo, control con silimarina, como el grupo experimental)

G1 -----O1
G2 -----X1-----O2
G3 -----X2-----O3
G4-----X3-----O4

Donde:

G1: Es el Grupo control negativo.

G2: Es el grupo control positivo CCl₄.

G3: Es el grupo de Silimarina.

G4: Es el grupo experimental extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor*.

O1, O2, O3, O4: Observaciones de los valores medios de la actividad enzimática de las transaminasas al final de los tratamientos: (TGO, TGP) y ALP, ALB, TP, BILd, BILt. en *Rattus rattus var. albinus*.

X2: Inducción del daño hepático con CCl₄ 2,0 ml/kg p.c

X3: Tratamiento con Silimarina 100mg/kg/día.

X4: Tratamiento con extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* 200mg/kg/día.

4.2. Población y muestra

Población vegetal: Está conformada por una especie vegetal andina, *Gentianella bicolor* (Corpus huay) originaria de la Provincia de Julcán Departamento de la Libertad, que crece en los meses de octubre a noviembre.

Muestra vegetal: Se realizó la recolección de 2kg de hojas, tallos y flores. de *Gentianella bicolor* (Corpus huay) en la provincia de Julcán Departamento La Libertad. donde se seleccionó bajo las condiciones de exclusión e inclusión.

Criterio de inclusión y exclusión

- a. *Criterio de inclusión:* la recolección del espécimen vegetal de las hojas, tallos y flores fueron de un solo lugar en unas buenas condiciones.
- b. *Criterio de exclusión:* se debe excluir las hojas, flores y tallos que se encuentran maltratas o en un mal estado.

Población biológica:

Los animales de experimentación que se utilizaron son *Rratus rratus var albinus* machos con un, peso promedio de 215 a 259g. que fueron adquiridas en el bioterio de la universidad católica los ángeles de Chimbote de la ciudad de Chimbote provincia del Santa.

Muestra biológica:

Estuvo conformada por 16 *Rratus rratus var albinus* machos de peso promedio 215 a 259g. donde fueron distribuidos de manera aleatoria conformando de cuatro grupos con 4 animales de experimentación (Grupo

negativo, grupo positivo, Silimarina 100 mg y *Gentianella bicolor* 200mg)
Se mantuvieron acondicionados en el bioterio de la universidad Uladech en cajas plásticas con tapa de acero inoxidable; con un control de temperatura de 20-23 °C y una humedad de 53%. Fueron alimentados con la formula elaborada en la Universidad Agraria La Molina, agua ad libitum, y un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

Criterio de inclusión y exclusión

- a. *Criterio de inclusión:* la selección de *Rattus rratus var albinus* fueron sanos, *Rattus rratus var albinus* Machos.
- b. *Criterio de exclusión:* se debe excluir *Rattus rratus var albinus* machos enfermos.

4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
<p>Independiente: Extracto hidroalcohólico de <i>Gentianella bicolor</i> (Corpus huay)</p>	<p>Los extractos son preparados mediante la utilización de alcohol para extraer metabolitos secundarios que tienen las propiedades antioxidantes así poder proteger de diferentes daños hepáticos.</p>	<p>Es realizado con las hojas, tallos y flores secas y trituradas, se agrega una cierta cantidad de alcohol, se coloca a un destilador para obtener metabolitos secundarios. En la que es administrada según kg/peso del animal.</p>	<p>Prevención de la intoxicación hepática Control negativo: agua ad libitum y alimento. Control positivo: CCl₄ 2 mL/kg p.c Silimarina: 100 mg/kg de silimarina + CCl₄ 2 mL/kg Grupo experimental: 200 mg/kg. <i>Gentianella bicolor</i>+ CCl₄ 2 mL/kg</p>
<p>Dependiente: Efecto hepatoprotector en <i>Rattus rratus var albinus</i> con toxicidad inducida con tetracloruro de carbono (CCl₄)</p>	<p>El efecto hepatoprotector tiene la capacidad de proteger la estructura celular del hígado donde permite la regeneración de las células hepáticas.</p>	<p>El efecto hepatoprotector está relacionado con: Análisis del índice hepático (% de incremento) de los hígados de <i>Rattus rratus var albinus</i>. Cuantificación de los marcadores hepáticos: transaminasas (TGO, TGP) y ALP, ALB, TP, BILd, BILt. en suero</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Índice hepático (% de incremento) • Nivel de enzimas marcadoras del daño hepático (TGO, TGP U/L) y ALP U/L, ALB(mg/dL), TP (g/dL), BILd (mg/L), BILt (mg/L).

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Recolección de las hojas, tallos y flores de *Gentianella bicolor*

Las hojas, tallos y flores frescas de *Gentianella bicolor*, fue recolectada en el caserío de Cuzpampa, provincia de Julcán, departamento la Libertad, aproximadamente 2 kg incluyendo hojas, tallos y flores, teniendo en cuenta el estado de la planta que este en buenas condiciones, luego fueron trasladadas al laboratorio de bioquímica de la universidad ULADECH donde fueron lavadas con agua corriente, posteriormente lavadas con agua destilada y limpiadas, luego fueron acondicionadas en papel Kraf hasta su posterior utilización.

Para la certificación de la determinación taxonómica de planta se recolecto 6 ramas completas (Hojas, tallos, raíz y flores) las cuales fueron colocados en prensas para ser secadas correctamente, para su identificación fue emitida por Herbarium Truxillense (HUT). Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Facultad de Ciencias Biológicas, con el número de constancia: 77-2017-HUT, (Anexo N° 1).

Preparación del extracto:

Secado

Las hojas, tallos y flores, de *Gentianella bicolor* fueron previamente lavadas con agua corriente, posteriormente lavadas con agua destilada y limpiadas, se seleccionó la planta en buenas condiciones y fueron acondicionadas en papel Kraf, llevándose a una estufa de secado a temperatura de 40 a 50 °C con un tiempo promedio de 2 a 3 días.

Molienda

Las hojas, tallos y flores, fueron pulverizadas en un molino mecánico hasta obtener partículas finas

Maceración

La maceración se realizó pesando aproximadamente 200g de la muestra pulverizada en una solución hidroalcohólica al 80%, agregando 800 ml de solución hidroalcohólica, preparada a partir de alcohol de 96°, la maceración se realizó en un frasco color ámbar durante 7 días.

Destilación

Pasado los 7 días se procedió al filtrado al vacío con una bomba (Zeny) y papel Whatman, el mismo fue evaporado en un rotavapor a una temperatura de 35°C; hasta lograr un peso constante, donde se obtuvo 22.37g de extracto seco y se almaceno en un tubo cónico que fue envuelto con papel aluminio conservados una temperatura 4 °C hasta su posterior utilización.

Pesos y selección de *Rattus rattus var Albinus*.

Se utilizaron 16 *Rattus rattus var Albinus* machos adultos, con 4 grupos de trabajo grupo control negativo, grupo control positivo, grupo experimental con Silimarina y grupo experimental con el extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor*. Se mantuvieron acondicionados en el bioterio de la universidad ULADECH en cajas plásticas con tapa de acero inoxidable; controladas a una temperatura de 20-23 °C y una humedad de 53%. Fueron alimentados con la formula elaborada en la Universidad Agraria La Molina, agua ad libitum, y un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

Las que fueron pesados en una balanza digital gramera y marcados con tinta de lapicero para la identificación de cada grupo de trabajo. Se trabajo con una libreta de notas la que se redactaba el procedimiento del pesado de los animales de experimentación y a que grupo pertenece cada uno.

Identificación de los animales de experimentación *Rattus rattus var. Albinus*, se realizó de la siguiente manera

Grupo negativo: se identificó a los 4 animales de experimentación *Rattus rattus var. Albinus*, mediante una marca con la tinta de lapicero de color azul, realizada en la cabeza, brazo derecho, pata izquierda y cola.

Grupo positivo: se identificó a los 4 animales de experimentación *Rattus rattus var. Albinus*, mediante una marca con la tinta de lapicero de color Rojo, realizada en la cabeza, brazo derecho, pata izquierda y cola.

Grupo silimarina: se identificó a los 4 animales de experimentación *Rattus rattus var. Albinus*, mediante una marca con la tinta de lapicero de color negro, realizada en la cabeza, brazo derecho, pata izquierda y cola.

Grupo *Gentianella bicolor*: se identificó a los 4 animales de experimentación *Rattus rattus var. Albinus*, mediante una marca con la tinta de lapicero de color morado, realizada en la cabeza, brazo derecho, pata izquierda y cola.

Preparación del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor*.

Se realizó los siguientes cálculos para la preparación del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* para administrar por dosis de acuerdo al peso promedio de las ratas por grupo.

Esquema: peso promedio de cada grupo para la preparación del extracto.²²

GRUPO	PESO PROMEDIO DE LAS RATAS
GRUPO NEGATIVO	215.50 gr
GRUPO POSITIVO CCl₄	259.10 gr
SILIMARINA 100 MG	208.13 gr
GENTIANELLA BICOLOR 200 MG(N°5)	259.25 gr

Grupo experimental *Gentianella bicolor*

Para la preparación de 200 mg/kg/día del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* se realizaron los siguientes cálculos.

Datos:

❖ 200 mg del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor*

❖ 259.25 gr del peso promedio de *Rattus rattus var Albinus*

200 mg.....1000 gr

X.....259.25gr

X= 51.85mg

X= 51.85 mg del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor*

Calculo de la cantidad preparada por grupo

➤ 51.85 mg x 4 ratas x 7 días = 1452 mg

Calculo de la cantidad de agua para diluir el extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor*.²²

➤ 0.5 ml x 4 ratas x 7 días = 14 ml

Se realizo el pesado de las muestras del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* para cada grupo en una balanza analítica del laboratorio de bioquímica de la ULADECH, posteriormente se pasó el extracto seco a un frasco color ámbar, diluyendo con agua destilada, así mismo fue llevada al vortex a 500 rpm.

Concentración del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor*: 0.25%

Preparación de la solución de Silimarina

La solución de silimarina se obtuvo a partir de capsulas blandas con el nombre comercial “Higanatur 300 mg” se vertió el contenido de 1 cápsula en una fiola y se aforo a 25 mL de aceite de oliva, obteniendo una concentración de 12 mg/mL (Anexo 4).⁴⁸

Preparación de tetracloruro de carbono.

Se realizó una mezcla de tetracloruro de carbono (1:1v/v) a una concentración de 0.2 ml/100g (0,1 ml de CCl₄ + 0,1 ml de aceite de oliva extra virgen). (Anexo 5)

Administración de los tratamientos

Para evaluar el efecto preventivo, se administraron a los *Rattus rattus var albinus* oralmente con una sonda orogástrica N° 4, posteriormente, se realizó la inducción del daño hepático después de cada administración de tratamiento.²³

- ✚ Al grupo control negativo solo se le administro agua ad libitum y Fueron alimentados con la formula elaborada en la Universidad Agraria La Molina, durante 7 días; encontrándose biológicamente saludables.
- ✚ Al grupo control positivo se indujo la hepatotoxicidad con 0.5 mL CCl₄ (1:1v/v) a una concentración de 0.2 ml/100g (0,1 ml de CCl₄ + 0,1 ml de aceite de oliva extra virgen) mediante una sonda orogástrica N° 4 durante 7 días, la administración fue una vez al día por la mañana antes de la administración de la comida.
- ✚ Al grupo silimarina se le administro 0.5 a 0,6 ml de Silimarina en una concentración de 100 mg/kg mediante una sonda orogástrica N° 4, durante 7 días, una vez al día por la mañana antes de la alimentación de los animales.
- ✚ Al grupo experimental *Gentianella bicolor*: Se administró 0.5 ml del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* en concentraciones de 200 mg/kg atreves de una sonda orogástrica N°4 durante 7 días. La administración fue una vez al día por la mañana antes de la alimentación de los animales.

Administración de tetracloruro de carbono (CCl₄)

La inducción del daño hepático se realizó al 6to y 7mo día por vía oral 2ml/kg de peso de tetracloruro de carbono (CCl₄) disuelta en aceite de oliva extra virgen a los grupos: control positivo, control silimarina y grupo experimentación, siendo este un compuesto que produce daño hepático.²²

- El 6to día se administró 2,0 ml/kg p.c de CCl₄, (v/v) de aceite de oliva.²²
- El 7mo día se administró 2,0 ml/kg p.c de CCl₄, al (v/v) de aceite de oliva.

Esquema experimental

Para el dosaje se considerarán 4 grupos experimentales de 4 *Rattus rattus var albinus* por grupo.²²:

Nº GRUPO	GRUPO EXPERIMENTALES	SUSTANCIAS	CANTIDAD
GRUPO 1	Grupo Negativo	Agua destilada +Alimentación	04
GRUPO 2	Grupo Positivo	Agua destilada + CCl ₄	04
GRUPO 3	Silimarina 100 mg	Silimarina 100mg/kg/día + CCl ₄	04
GRUPO 4	<i>Gentianella bicolor</i> 200mg	Extracto hidroalcohólico de <i>Gentianella bicolor</i> 200mg/kg/día + CCl ₄	04

Esquema de los grupos de experimentación.²²

Sexto y séptimo día de tratamiento:

- Se realizó el pesado de todos los animales correspondientes a cada grupo conformado.
- La administración de los tratamientos a cada grupo conformado se dio de la siguiente manera:
 - Grupo de control negativo: se mantuvo con agua ad libitum y alimentados con la formula elaborada en la Universidad Agraria La Molina.
 - Al grupo control positivo se indujo la hepatotoxicidad con 0.5 mL CCl₄ (1:1v/v) a una concentración de 0.2 ml/100g (0,1 ml de CCl₄ + 0,1 ml de aceite de oliva extra virgen) mediante una sonda orogástrica N° 4.
 - Se realizó los cálculos de CCl₄ para el 6to y 7mo día de administración, esto fue calculado con el peso actual de cada animal de experimentación. La dosis para el 6to y 7mo día fue 2 ml/kg V/V con aceite de oliva. La administración realizada fue por vía oral a los grupos de tratamiento con silimarina y tratamiento con el extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor*.

Al octavo día se realizó la recolección de las muestras sanguíneas mediante punción cardiaca luego se procedió al sacrificio de los animales por dislocación cervical, se realizó la extracción de los hígados donde fueron pesados y examinados macroscópicamente luego conservados en formol en una concentración del 10%.²³

Evaluación de la actividad hepática

Determinación de indicadores

Pruebas Bioquímicas de TGO, TGP, ALP, ALB, TB, BD, TP.

Colección de sangre

Después de 24 h de la última administración de tratamiento, se anestesió los animales de experimentación con 2.5 ml de propofol 1% (200 mg / 20 mL. a una dosis de 2,5 mg/kg, debido a lo cual se utilizó una jeringa de 3 ml para la administración por vía intraperitoneal, esperando 10 minutos para lograr la anestesia completa, luego se pasó a extraer 5 ml de sangre mediante la técnica de punción cardiaca, empleándose una jeringa de 5 ml con aguja N° 21, donde se traspasó rápidamente a un tubo BD Vacutainer® SSTTM para Suero con Gel Separador, previamente rotulado y llevado al laboratorio de análisis clínico *FAST LAB*, donde el laboratorista clínico M. C. R. analizo cada una de las pruebas bioquímicas lo que utilizo como muestra biológica fue el suero.

Índice hepático

Para determinar el índice hepático (porcentaje del tejido respecto al peso del animal) y porcentaje de incremento del tejido (hepatomegalia), se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Índice hepático} = \frac{W \text{ hígado}}{W \text{ animal}} \times 100$$

Donde:

- ❖ $W_{\text{hígado}}$: Peso del hígado
- ❖ W_{animal} : Peso del animal

Además, se determinó el porcentaje de incremento del IH de los grupos tratamiento, en relación al IH del grupo I (Grupo -), con la siguiente fórmula

Donde:

$$\% \text{ de incremento} = \frac{\text{IH}_{\text{GTTO}} - \text{IH}_{\text{G1}}}{\text{IH}_{\text{G1}}} \times 100$$

Donde:

- IH Gtto: Índice hepático del grupo tratamiento
- IH G1: Índice hepático del grupo 1

4.5. Plan de análisis.

Los datos fueron tabulados en software Microsoft Excel versión 2016, para determinar el procesamiento. Para determinar la normalidad de los grupos de estudio los resultados fueron sometidas a la prueba de CHAPIRO – WILKS; para la comparación entre los grupos control positivo, control negativo, Silimarina y el grupo del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* se utilizó la prueba de TUKEY y la prueba de ANOVA para encontrar la significancia de los grupos de estudio.

4.6. Matriz de consistencia

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos:	Hipótesis	Tipo y diseño	Variables	Definición de operaciones	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de <i>Gentianella bicolor</i> “corpus huay” en el daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono	¿Tendrá efecto el extracto hidroalcohólico de <i>Gentianella bicolor</i> sobre el tejido hepático frente al daño inducido con tetracloruro de carbono	<p>Objetivo general: Determinar la actividad Hepatoprotectora del extracto hidroalcohólico de <i>Gentianella bicolor</i> “Corpus huay” en el daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Determinar el índice hepático y porcentaje de incremento de tejido según grupo de tratamiento. -Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de <i>Gentianella bicolor</i> en dosis de 200 mg/kg/pc sobre valores medios de la actividad enzimática de las transaminasas: TGO, TGP y ALP en <i>Rattus rattus var. albinus</i> con toxicidad inducida por tetracloruro de carbono. -Determinar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de <i>Gentianella bicolor</i> sobre los niveles séricos de ALB, TP, BILd y BILt contra la hepatotoxicidad inducida por CCl₄ en <i>Rattus rattus var. Albinus</i> 	<p>-Hipótesis Nula (H0): El extracto hidroalcohólico de <i>Gentianella bicolor</i> “Corpus huay” no tiene efecto Hepatoprotector en la toxicidad inducida por tetracloruro de carbono en <i>Rattus rattus Albinus</i>.</p> <p>-Hipótesis Alternativa (H1): El extracto hidroalcohólico de <i>Gentianella bicolor</i> “Corpus huay” tiene efecto Hepatoprotector en la toxicidad inducida por tetracloruro de carbono en <i>Rattus rattus Albinus</i>.</p>	El Presente Trabajo de investigación fue de tipo experimental de nivel explicativo y enfoque cuantitativo	<p>Independiente: Extracto hidroalcohólico de <i>Gentianella bicolor</i> (Corpus huay)</p> <p>Dependiente: Efecto hepatoprotector en <i>Rattus rattus var albinus</i> con toxicidad inducida con tetracloruro de carbono (CCl₄)</p>	<p>Es realizado con las hojas, tallos y flores secas y trituradas, se agrega una cierta cantidad de alcohol, se coloca a un destilador para obtener metabolitos secundarios. En la que es administrada según kg/peso del animal.</p> <p>El efecto hepatoprotector está relacionado con: Análisis del índice hepático (% de incremento) de los hígados de <i>Rattus rattus var albinus</i>. Cuantificación de los marcadores hepáticos: transaminasas (TGO, TGP) y ALP, ALB, TP, BILd, BILt. en suero.</p>	<p>Control negativo: agua ad libitum y alimento.</p> <p>Control positivo: CCl₄ 2 mL/kg p.c</p> <p>Silimarina: 100 mg/kg de silimarina + CCl₄ 2 mL/kg</p> <p>Grupo experimental: 200 mg/kg. <i>Gentianella bicolor</i>+ CCl₄ 2 mL/kg</p>	Prueba CHAPIRO WILKS para determinar la normalidad de los grupos de estudio, Pruebas paramétricas de ANOVA y TUKEY para el análisis de los Resultado

4.7. Principios éticos

Para este desarrollo del trabajo de investigación se consideró los principios éticos, Helsinki establecidos por la Universidad Católica Los Ángeles De Chimbote, para el trabajo con animales de experimentación donde tienen como base legal a nivel internacional, los cuales se considera lo siguiente: protección al animal, integridad científica, justicia, consentimiento informado y expreso, todas estas técnicas son consideradas para obtener una buena investigación.⁵⁶

V. RESULTADOS

5.1. Resultados

Tabla 1: Índice Hepático (IH) y porcentaje de incremento del tejido hepático de *Rattus rattus var. albinus* según grupo de tratamiento con toxicidad inducida por tetracloruro de carbono.

GRUPOS	IH* (%)	% DE INCREMENTO
NEGATIVO	4.00 ± 0.03	-
CCl₄	4.79 ± 0.49	19.7
SILIMARINA + CCl₄	4.18 ± 0.61	4.34
EXTRACTO DE GENTIANELLA BICOLOR 200 Mg + CCl₄	4.11 ± 0.48	2.65

Fuente: Datos propios de la investigación

5.1.1. PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Tabla 2: Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* en dosis de 200 mg/kg/pc sobre valores medios de la actividad enzimática de las transaminasas: (TGO, TGP) y ALP en *Rattus rattus var. albinus* con toxicidad inducida por tetracloruro de carbono.

GRUPO DE TRATAMIENTO	Negativo $\bar{x} \pm s$	CCl₄ $\bar{x} \pm s$	Silimarina+ CCl₄ $\bar{x} \pm s$	Extracto <i>Gentianella</i> <i>bicolor</i> 200 mg/kg + CCl₄ $\bar{x} \pm s$	Significancia (p)
TGO U/L	36.7±1.3	41.5±1.3	36.5±1.7	37.5±2.5	0.006
TGP U/L	62.4±3.1	88.2±1.0	71.6±15.3	65.7±17.7	0.047
ALP U/L	187.8±5.3	217.2±13.3	176.5±16.0	197.2±16.5	0.018

* Prueba ANOVA (p<0.05)

*Donde: \bar{x} =promedio; s = desviación estándar

TABLA 3: Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* sobre los niveles séricos de ALB, TP, BILd y BILt contra la hepatotoxicidad inducida por CCl₄ en *Rattus rattus var. Albinus*.

GRUPO DE TRATAMIENTO	Negativo $\bar{x} \pm s$	CCl₄ $\bar{x} \pm s$	Silimarina + CCl₄ $\bar{x} \pm s$	Extracto <i>Gentianella bicolor</i> 200 mg/kg + CCl₄ $\bar{x} \pm s$
ALB (mg/dL)	3.9 ± 0.1	3.2 ± 0.2	4.0 ± 0.1	3.9 ± 0.1
TP (g/dL)	7.3 ± 0.6	7.1 ± 0.5	7.5 ± 0.5	7.4 ± 0.3
BILd (mg/L)	0.6 ± 0.13	1.0 ± 0.63	0.6 ± 0.18	0.6 ± 0.08
BILt (mg/dL)	1.4 ± 0.15	1.7 ± 0.40	1.4 ± 0.30	1.5 ± 0.16

Fuente: Datos propios de la investigación

5.2. Análisis de resultados

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la actividad hepatoprotectora del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* “Corpus huay” en el daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono. En vista que existen antecedentes de la familia *Gentianella* que atribuye a dicha planta que presenta una actividad hepatoprotectora.^{19,55} Se estudiaron las hojas, tallos y flores de *Gentianella bicolor* “Corpus huay” debido que es utilizada la planta completa.

Se utilizó el modelo de inducción de daño hepático agudo en la presente investigación fue por tetracloruro de carbono (CCl₄), a una dosis de (2 ml/kg) esté se administró al sexto y séptimo día con lo que se coincide con **Canelo P, Mendoza Y.**²² Una vez administrado el tetracloruro de carbono (CCl₄) los valores medios de la actividad enzimática de las transaminasas de TGO, TGP Y ALP se incrementaron (**tabla 2**).

Olivera G.⁶¹ menciona que el tetracloruro de carbono (CCl₄) es utilizado frecuentemente para llevar a cabo un modelo de hepatotoxicidad, debido a que, el mecanismo de la necrosis hepática inducida por tetracloruro de carbono (CCl₄) ha sido objeto de investigación extensa y, es quizás el hepatotóxico mejor estudiado y evidente entre aquellos xenobióticos que se sabe causan daño hepático.⁶¹

En la **tabla 1** se observa el aumento del índice hepático y % incremento del tejido hepático en el grupo de tetracloruro de carbono con 4.79% y 19.7%. Sin embargo, en el grupo blanco, grupo silimarina + CCl₄ y el grupo de tratamiento con el extracto hidroalcohólico *Gentianella bicolor* 200 mg/kg + CCl₄, presentan una disminución del índice hepático con 4.00%, 4.18% y 4.11% respectivamente. De igual forma se da la reducción del % incremento del tejido hepático en los grupos de silimarina + CCl₄ y el grupo de tratamiento con el extracto hidroalcohólico *Gentianella bicolor* 200 mg/kg +

CCl₄, 4.34% y 2.65%. Siendo estos valores más bajos en el grupo de tratamiento con el extracto hidroalcohólico *Gentianella bicolor* 200 mg/kg + CCl₄ estos resultados pueden ser explicados por la dosis empleada del extracto hidroalcohólico.⁶²

Según el estudio de **Huamán O. et al.**⁶² Señala que el paracetamol a dosis de 200 mg/kg aumenta el porcentaje del índice hepático con un 5,8% y 3,1%, en comparación con la administración de CCl₄ a dosis de 2,0 ml/kg se ve incrementado el IH (%) con 4.79%. donde se asemejan estos valores, debido a que no existe estudios que se justifique que el CCl₄ aumente el IH (%). Sin embargo, en la administración de los tratamientos con los extractos disminuye IH (%) e % incremento del tejido hepático esto se debe a los metabolitos secundarios presentes en la planta.⁶²

Las isoenzimas hepáticas, usadas como marcadores citotóxicos, se encuentran normalmente en el plasma sanguíneo, de providencia citosólico TGO, TGP.⁶³ **Jauregill P, Martínez C.**⁶³ Manifiesta que al encontrarse en el plasma se relaciona con la gravedad del daño celular, indicando la extensión de la irreversibilidad del daño en la disfunción celular, los síntomas que se da ante un daño hepático es hepatomegalia, dolor, etc.⁶³

El principal mecanismo porque se da el aumento de las transaminasas TGO, TGP y ALP BILd, BILt. Es debido a su conversión de radicales libres de tiorometilo (CCl₃) altamente toxico por el sistema citocromo p450, que inicia una peroxidación lipídica cuando se combina con lípidos y proteínas de la célula en presencia de oxígeno para formar el radical triclorometil peroxil (CCl₃O-), el cual ataca a las células induciendo necrosis y daño de la membrana plasmática a causa del incremento de su permeabilidad y dándose cambios grasos. Seguido de la hinchazón progresiva de la célula con entrada masiva de calcio que conduce a la muerte.^{28,40,48,57}

Por ello, se considera al estrés oxidativo como el principal mecanismo molecular involucrado en la toxicidad por tetracloruro de carbono.^{28,40,48}

Este presente estudio reveló que el tetracloruro de carbono (CCl₄) aumentó significativamente los niveles de transaminasas TGO, TGP, fosfatasa alcalina (ALP), bilirrubina total (BILt) y bilirrubina directa (BILd) y la reducción de la concentración sérica de las proteínas totales (TP) por CCl₄ que es otro indicador de toxicidad hepática, disociando los polirribosomas en el retículo endoplasmático que conlleva a una disminución de la síntesis proteica.⁶⁰ De igual manera la reducción de los niveles de albumina (ALB). Se redujeron en comparación al grupo control negativo (Blanco), como se evidencia en las (**tablas 2 y 3**), que indica el daño hepatocelular grave.⁵⁷

Panahi E.⁶⁰ refiere que el incremento de las transaminasas se debe que TGO, TGP Y ALP ALB, BILt, BILd. son liberadas de las células hepáticas dañadas a la sangre, lo que indica un daño en el hígado como la presencia de necrosis centro lobular, la degeneración del globo e infiltración celular.⁶⁰ De igual manera que **Jauregill P, Martinez C.**⁶³ menciona que el CCl₄ provoca esteatosis, acumulación de grasa, que tiende principalmente a ser centrilobular, en oposición a una localización periportal en proceso, como cirrosis biliar primaria u obstrucción biliar.⁶³ Se puede comprobar que el CCl₄ provoca daño en el hígado desde un simple cambio graso a cirrosis hepática.⁶³

La actividad hepatoprotectora es la regeneración de las células hepáticas. Por ello la función natural del hígado es reemplazar las células dañadas.³⁷ La administración del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* en una concentración de 200 mg/kg durante 7 días resultó con una reducción significativa $p < 0.05\%$ de la elevación inducida por CCl₄ de los marcadores de las enzimas séricas.

En la administración del extracto hidroalcohólico *Gentianella bicolor* en dosis de 200 mg/kg se observa la disminución de los valores séricos de: TGO, TGP y fosfatasa alcalina (ALP), bilirrubina total (BILt) y bilirrubina directa (BILd) y un aumento significativo de albumina (ALB) y Proteínas totales (TP) El efecto observado fue similar al control de silimarina 100 mg/kg, con una disminución de los valores medios de las transaminasas de: TGO, TGP, ALP. BILd, BILt y un aumento ALB y TP, Como se observa en la **tabla (2 y 3)**.

La reducción de los niveles séricos de TGO, TG, ALP, BILd y BILt podrían deberse a que el extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* posee diversos componentes que tengan la capacidad antioxidante.⁵⁵ En el estudio realizado por **Camacho D, Villanueva R.**⁵¹ Determinaron, los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* (Campanilla morada). En la que identificaron cualitativamente la presencia de triterpenoides y/o esteroides, lípidos, flavonoides taninos, antocianidinas, alcaloides, azúcares reductores, saponinas y aminoácidos.⁵¹ Del mismo modo en los estudios de **Huamán J, et al. y Solórzano A, et al** Realizaron una marcha fotoquímica, la que identificaron la presencia flavonoides, taninos, saponinas, alcaloides, leucoantocianidina, compuestos fenólicos, xantofilas e iridoides. Lo que se justifica su capacidad antioxidante ^{18,20,55}.

El alto contenido de compuestos fenólicos y flavonoides presentes en la planta de *Gentianella bicolor*. son poderosos antioxidantes y poseen diversas actividades antiinflamatorias ya que los flavonoides son captadores de radicales libres, donde inhiben la etapa inicial del proceso de oxidación.¹⁷

Existe diversos tipos de flavonoides que presentan efectos biológicos que incluyen propiedades antiinflamatorias e inhibidores de la xantina, oxidasa y la proteína quinasa

C, anticancerígenos, entre ellas tenemos la morina y quercetina.⁶⁰ La morina actúa como un inhibidor del daño hepático agudo bloqueando las expresiones de citocinas inflamatorias y mediadores, incluidos TNF- α , IL-1 β . La quercetina es uno de los compuestos flavonoides más abundantes que se distribuyen como metabolitos secundarios en muchas plantas. Las actividades antiinflamatorias de la quercetina pueden surgir de sus efectos inhibitorios sobre las enzimas ciclooxigenasa (COX) y lipooxigenasa (LOX). Lo cual se atribuye con el estudio **Carbonel K.**¹⁹

El estudio **Carbonel K.**¹⁹ manifiesta mediante la evaluación del “Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Gentianella nítida* ” las proteínas totales no tienen diferencia significativa: el grupo control, grupo paracetamol, el grupo silimarina y el grupo *Gentianella nitida* todos tuvieron la misma concentración.¹⁹ Sin embargo en la presente investigación muestra una diferencia significativa en la administración de CCl₄ las proteínas totales se encuentran disminuidos en comparación con la administración del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor*, administración de silimarina y el grupo blanco se observa un aumento de los valores medios de la proteína total. Ya que en el estudio sobre ‘Efecto del decocto de *Gentianella alborosea* “hercampuri” sobre niveles séricos de proteínas totales y albúmina en *rattus norvegicus var. Albinus*’ realizado por **Baltodano E** no generó cambios significativos en los niveles de proteínas totales, albumina y globulina en *Rattus novergieus var albinus*. Lo que atribuye a dicha investigación.

En el tratamiento con silimarina se ha observado su efecto protector ante el daño hepático causado por CCl₄ como se evidencia en la presente investigación. Se conoce como silimarina que es la combinación de tres compuestos diferentes: silibinina, silidianina y silicristina.⁵⁵ ha sido ampliamente utilizada en los procedimientos hepáticos

por su efecto regenerador de la estructura del hígado.⁵⁵ En cuanto a la administración de Silimarina mas CCl_4 disminuyeron las elevaciones significativamente de las transaminasas, probablemente al proteger la membrana celular del hígado.

Según la prueba de normalidad de shapiro- wilks, análisis de varianza ANOVA y la prueba de Post hoc de Tukey. Dio como resultado el cumplimiento de normalidad, donde se observa que diferencias significativas se encuentran entre los grupos control negativo y Tetracloruro, extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* + CCl_4 y tetracloruro ($p < 0.05$). Lo cual nos indica que el extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* + CCl_4 está influyendo sobre las transaminasas de TGO, TGP Y ALP.

VI. CONCLUSIONES

- El extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* “Corpus huay” a una dosis de 200mg/kg demostró un efecto hepatoprotector contra el daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono (CCl₄).
- El grupo de tratamiento del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* + tetracloruro de carbono mostraron una reducción del índice hepático con 4.11 % y un incremento de tejido hepático con 2.65%. en *Rattus rattus var albinus* con toxicidad inducida por tetracloruro de carbono.
- El extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* “Corpus huay” a dosis de 200 mg/kg/pc en *Rattus rattus var albinus* con toxicidad inducida por tetracloruro de carbono presento un efecto hepatoprotector demostrado a través de la disminución de los valores medios de la actividad enzimática de las transaminasas: TGO 37.5 ± 1.7 U/L, TGP 65.7 ± 2.9 U/L y para ALP 197.2 ± 16.5 U/L
- El extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* presento un efecto hepatoprotector contra la hepatotoxicidad inducida por CCl₄ en *Rattus rattus var. Albinus* demostrado a través de la disminución significativa de BILd (0.6 ± 0.08 mg/L), BILt (1.5 ± 0.16 mg/dL) y un aumento significativo de ALB (3.9 ± 0.1 g/dL) y TP (7.4 ± 0.3 g/dL).

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS:

Recomendaciones:

- A las futuras investigaciones se recomienda realizar el estudio histopatológico del tejido hepático.
- Se recomienda el aislamiento de los metabolitos secundarios con capacidad hepatoprotectora presentes en *Gentianella bicolor* para obtener nuevas utilidades de dicha planta.
- Se sugiere a las posteriores investigaciones realizar a diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* para la obtención de mejores resultados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Velázquez S, Giralda M. Etiología, estadio y complicaciones de la cirrosis hepática en un hospital de referencia en Paraguay. [Artículo Internet] 2018 [Consultado el 26 de junio del 2020]; 5 (2):53-61. Disponible en: <http://scielo.iics.una.py/pdf/spmi/v5n2/2312-3893-spmi-5-02-53.pdf>
2. Escorcía E, Marrugo W. Caracterización epidemiológica y clínica de la cirrosis hepática en un centro regional del caribe colombiano: clínica general del norte. Enero 2012 a marzo 2017. [Artículo Internet] 2018 [Consultado el 26 de junio del 2020]; 13 (2):31 – 35. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6769284.pdf>.
3. Ministerio de Salud. HEVES ofrece consultorio abierto gratuito para pacientes con problemas hepáticos. [Artículo Internet] 2018 [Consultado el 26 de junio del 2020]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/23343-heves-ofrece-consultorio-abierto-gratuito-para-pacientes-con-problemas-hepaticos>
4. Torres R. Características clínica y epidemiológica de la cirrosis hepática en pacientes del Hospital III ESSALUD, Puno – 2018. [Proyecto de investigación]. Perú: Universidad Nacional Del Altiplano; 2019 [Consultado el 26 de junio del 2020] 9-56. Disponible en: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/9459/Roberto_Torres_Lerma.pdf?sequence=3&isAllowed=y
5. Díaz H. “Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de germinado medicago sativa en rattus norvegicus variedad sprague dawley inducidas a daño hepático con tetracloruro de carbono. [Tesis]. Perú: Universidad nacional de san Agustín

- de Arequipa; 2018 [Consultado el 29 de junio del 2020]. 8-69. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/6047/BIcogowa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Blas E. Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de la raíz de taraxacum officinale (diente de león) en rattus novergicus var. albinus con hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono. [Tesis]. Perú; Universidad católica los ángeles; 2018 [Consultado el 29 de junio del 2020]. 15-92. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/8852>
 7. 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. An. Fac. med. [Artículo Internet]. 2015 [Consultado el 29 de junio del 2020]; 76(2): 123-128. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832015000300003
 8. Astohuillca L, Nuñez E. “Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de myriopteris aurea (cuti-cuti) en daño hepático agudo inducido con paracetamol en ratas”. [Tesis]. Perú: Universidad Inca Garcilaso De La Vega. 2017. [Consultado el 29 de junio del 2020]; 10-75. Disponible en: http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/1876/TESIS_AST_OHUILLCA%20Y%20NU%C3%91EZ%20TAMAY.pdf?sequence=3
 9. Cabrera J. Enfermedades del Hígado [Artículo Internet] 2017 [Consultado el 29 de junio del 2020]; 6 (7). Disponible en: http://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/38/38482/metodos_diagnosticos_en_hepatologia_.pdf

10. Bosia J D. Afectación hepática en trabajadores de una industria petroquímica [tesis doctoral]. Ensenada: Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Médicas. 2015. [Consultado el 29 de junio del 2020];135 (15). Disponible en: http://biblioteca.universia.net/html_bura/ficha/params/title/afectacion-hepatica-trabajadores-industria-petroquimica/id/55244425.html
11. Quispe K. “Factores predictores de coledocolitiasis en pacientes sometidos a colangiografía retrógrada endoscópica en el hospital luis saenz-pnp” [Tesis]. Perú: Universidad Ricardo Palma. 2016 [Consultado el 29 de junio del 2020]; 8-66. Disponible en: http://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/urp/744/Quispe_K.pdf?sequence=1&isAllowed=y
12. Tarun P, Sachdeva T, Bafna P. Drug-Induced Hepatotoxicity: A Review. Journal of Applied Pharmaceutical Science. [Online Magazine]. 2016; [Consultado el 30 de junio Del 2020]; 02 (05): 233-243. Disponible en: www.japsonline.com/admin/php/uploads/490_pdf.pdf
13. Salazar J. Contribución al estudio químico y farmacológico de la *Gentianella umbellata*(G. Don) Fabris [Tesis]. Perú: Universidad Católica Del Perú;2015 [Consultado: 8 de septiembre de 2018]; (1-119) Disponible en: <http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/123456789/549>
14. Bermudez L. Evaluación Fitoquímica Y Comparación Del Efecto Hipoglucemiante De Extractos Acuósos De *Gentianella Bicolor* (Wedd.) Fabris Ex J.S. Pringle, *Gentianella Nitida*, *Gentianella Chamuchui* Y *Smallanthus Sonchifolius* En *Rattus Rattus* [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de

- Trujillo;2015[Consultado: 8 de septiembre de 2018]; (1-119) Disponible en:
<http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1033>
15. Garcia M, Sandoval J. Efecto de los flavonoides totales de hojas de *cordia lutea Lam* sobre hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono en *Rattus norvegicus var. Albinus* [Tesis]. Perú: Universidad nacional de Trujillo; 2016 [Consultado el 25 de abril del 2019]. 20-68. Disponible en:
[http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1442/Garc%C3%ADa%20M%C3%A9ndez%20Maritza%20Elizabeth%20II.pdf?sequence=1&isAllowed](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1442/Garc%C3%ADa%20M%C3%A9ndez%20Maritza%20Elizabeth%20II.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
[≡y](#)
16. Jorge C, Rocío S, A. Catálogo florístico de plantas medicinales peruanas - ministerio de salud del Perú [Artículo internet] 2016 [Consultado el 28 de abril del 2019]; 14(103). (6-7). Disponible en:
www.bvs.ins.gob.pe/insprint/CENSI/catalogo_floristico_plantas_medicinales.pdf
17. Carbonel K, Suárez S, Arnao A. Características fisicoquímicas y capacidad antioxidante in vitro del extracto de *Gentianella nitida*. An Fac med [Revista en Internet].2016[Consultado el 28 de abril del 2019]; 77(4):333-7. Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a03v77n4.pdf>
18. Huamán J, Torres K, García J, Lino B, Méndez E, Mariños A, et al. Efecto del consumo de *Gentianella bicolor* o “Corpus Huay” sobre la tolerancia oral a la glucosa y el perfil lipídico en adultos jóvenes. Rev. med. truj. [Revista en Internet]. 2015 [Consultado: 11 de septiembre de 2018];11 (2). Disponible en:
<http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/RMT/article/download/985/921>

19. Carbonel K. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Gentianella nitida* en un modelo experimental inducido por paracetamol. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor De San Marcos; 2017 [Consultado el 30 de junio Del 2020]; 12-98. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/bd7d/085399ceb99449c3bb23f863ac13b6ae99f9.pdf>
20. Solorzano A, Ruiz G, Venegas E. Identificación preliminar de metabolitos secundarios Producidos por callos inducidos en “Corpus Way” *Gentianella bicolor*(Wedd.) Fabris exJ. s. Pringle. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2015 [Consultado: 12 de septiembre de 2018];15(1): 149 – 152.Disponible en: 132.248.9.34/hevila/UCVScientia/2014/vol6/no2/5.pdf
21. Baltodano E Efecto del decocto de *gentianella alborosea* “hercampuri” sobre niveles séricos de proteínas totales y albúmina en *rattus norvegicus* var. *Albinus*. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo;2011 [Consultado: 12 de septiembre de 2018]; 5(2) 39. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2200>
22. Canelo P. Mendoza Y. “Efecto hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* L. en daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono en ratas albinas”. [Tesis]. Perú; universidad nacional de la amazonia peruana: 2017 [Consultado: 25 de junio de 2018]; 134(26). Disponible en:http://repositorio.unapikitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4879/Piero_Tesis_Titulo_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y

23. Gomes V, Ribeiro J. Anatomía Y Fisiología Hepática. [Artículo Internet]. 2015 [Consultado: 30 de junio de 2020]; 2 (6). Disponible en: http://www.cirugiasanchinarro.com/sites/default/files/anatomia_y_fisiologia_hepatica.pdf
24. Cano A, Cifuentes L, Amariles P. Toxicidad hepática causada por medicamentos: revisión estructurada. Rev Colomb Gastroenterol. [Revista Internet].2017 [Consultado: 30 de junio de 2020]; 32 (4). Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcg/v32n4/0120-9957-rcg-32-04-00337.pdf>
25. Ross M, Pawlina W. Histopatología.: Texto y atlas color con biología celular y molecular. [libro electrónico]. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2016. [Consultado: 25 de junio de 2018]; p. 627-643. Disponible en: <http://booksmedicos.org/histologia-texto-y-atlas-color-con-biologia-celular-y-molecular-ross-pawlina-6a-edicion/>
26. Krishna M. Anatomía microscópica del hígado. Clin Liver Dis (Hoboken) [Revista en Internet]. 2014 [Consultado el 30 de junio del 2020]; 2(5): 109–112. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6448680/>
27. Veloz D. “Determinación de la actividad hepatoprotectora de boldo (peumus boldus) en ratas (rattus novergicus) con intoxicación hepática inducida por paracetamol.” [Tesis]. Ecuador; Escuela superior politécnica de Chimborazo: 2015 [Consultado: 2 de julio de 2020]; 17-135. Disponible en:<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2474/1/56T00342.pdf>
28. De Jesus M. Actividad hepatoprotectora del extracto de diente de león (taraxacumofficinale)en ratas (rattusnovergicus) con hepatotoxicidad inducida

- por tetracloruro de carbono.” [Tesis]. Ecuador; Escuela superior politécnica de Chimborazo: 2012 [Consultado: 25 de junio de 2018];3-70. Disponible en:
<https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:jnYVxoKbOn0J:https://docplayer.es/28579883-Bioquimica-farmaceutica.html+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=pe>
29. Ross M, Pawlina W. Histopatología.: Texto y atlas color con biología celular y molecular. [libro electrónico]. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2016. [Consultado: 25 de junio de 2018]; p. 627-643. Disponible en:
<http://booksmedicos.org/histologia-texto-y-atlas-color-con-biologia-celular-y-molecular-ross-pawlina-6a-edicion/>
30. Ross M, Pawlina W. Histopatología.: Texto y atlas color con biología celular y molecular. [libro electrónico]. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2016. [Consultado: 25 de junio de 2018]; p. 627-643. Disponible en:
<http://booksmedicos.org/histologia-texto-y-atlas-color-con-biologia-celular-y-molecular-ross-pawlina-6a-edicion/>
31. Fortea J. Estudio del efecto de enoxaparina sobre la cirrosis e hipertensión portal experimental. [Tesis]. Madrid: Universidad Complutense De Madrid: 2017 [Consultado: 2 de julio de 2020]; 23 -190. Disponible en:
<https://eprints.ucm.es/44957/1/T39315.pdf>
32. Hidalgo K. Complicaciones En Pacientes Con Cirrosis Hepatica En Hombres Entre 45 – 60. [Tesis]. Guayaquil; Universidad De Guayaquil: 2018. [Consultado: 2 de julio de 2020]; 8 -65. Disponible en:
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/30946/1/CD-2386-TESIS-HIDALGO%20CARPIO.pdf>

33. Huamani J, Rojas Y. Relación De Transaminasas Y Bilirrubinas En Personas Adultas De Chilca, Año 2018. [Tesis]. Perú; universidad Norbert Wiener:2018 [Consultado: 2 de julio de 2020];2-15. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/2568/TESIS%20Huamani%20Jessica%20-%20Rojas%20Yanet.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
34. Calderón J. Diseño de una herramienta pedagógica para la enseñanza de los remedios más usados en niños con Hepatitis Viral. [Tesis]. Colombia; Universidad nacional de Colombia :2015 [Consultado: 5 de julio de 2020]; 6-50. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/77276937.pdf>
35. Narro D. Seroprevalencia de los marcadores infecciosos de Hepatitis B en los predonantes que acudieron al servicio de banco de sangre del Hospital Regional Docente de Cajamarca durante el período 2016. [Tesis]. Perú; Universidad San Pedro: 2018 [Consultado: 5 de julio de 2020]. Disponible en:http://repositorio.usanpedro.edu.pe/bitstream/handle/USANPEDRO/7839/Tesis_59282.pdf?sequence=1&isAllowed=y
36. Dienstag J. Hepatitis crónica. Access medicina. [Revista en internet]. 2016 [Consultado: 5 de julio de 2020]. 18 (3). Disponible en:<https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1622§ionid=101847196>
37. Quispe E. Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de momordica charantia l. “caigua amarga” en ratones, con intoxicación aguda hepática inducida por paracetamol. [Tesis]. Perú: universidad Norbert Wiener: 2018 [Consultado: 5 de julio de 2020]. Disponible en:

<http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/2905/TESIS%20Quispe%20Edwin.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

38. Martín J. Hepatotoxicidad en la infancia [Tesis]. Granada: Universidad de Granada: 2014 [Consultado: 5 de julio de 2020]. Disponible en: <https://hera.ugr.es/tesisugr/24075449.pdf>
39. Huamaní M, Rachumí E. Efecto hepatoprotector del extracto de zanahoria (*daucus carota* L.) sobre la intoxicación hepática inducida con paracetamol en ratas (*rattus norvegicus*), comparado con la silimarina, Arequipa 2018. [Tesis]. Perú; Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa: 2018 [Consultado: 5 de julio de 2020]. Disponible en: <http://bibliotecas.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/6819/NUMehuma.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
40. Del Río E, Carbon Tetrachloride, Sciencedirect. [Revista en internet] 2014 [Consultado: 5 de julio de 2020]. 2(9). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/carbon-tetrachloride>
41. Vilcatoma S. Niveles de transaminasas séricas y bilirrubina en pacientes ambulatorios diagnosticados con hipertensión arterial en los servicios de medicina general de EsSalud. Ayacucho, 2015. [Tesis]. Perú; Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga. 2015. [Consultado: 5 de julio de 2020]. Disponible en: http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/1161/Tesis%20Far426_Bar.pdf?sequence=1&isAllowed=y

42. Soncco L. Actividad enzimática de fosfatasa alcalina, transaminasa glutámica oxaloacético y glutámico piruvico en cuyes (cavia porcellus l.) del cip majes, arequipa. [Tesis]. Perú; Universidad Nacional Del Altiplano; 2019. [Consultado: 5 de julio de 2020]. Disponible en:http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/11063/Soncco_Sullcarana_Luis_Miguel.pdf?sequence=1&isAllowed=y
43. Fortuol T. Histología y biología celular. 2da edición. [libro electrónico] Editorial McGrawHill. 2014. [consultado 20 junio 2017]; Pág. 243. Disponible en: <http://booksmedicos.org/histologia-y-biologia-celular-teresa-fortoul-2a-edicion/>
44. Moore K, Dalley A. Anatomía con Orientación Clínica. [libro electrónico] 4ª. ed., Madrid, España., Médica Panamericana.1993. [consultado 20 junio 2017]; Pp, 200-203. Disponible en:<https://books.google.com.pe/books?id=4ywjo9aQDt8C&printsec=frontcover&dq=Anatom%C3%ADa+con+Orientaci%C3%B3n+Cl%C3%ADnica.,+3%C2%AA.+ed&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwi9xrGelejbAhVOuFMKHfmfCE8Q6AEIJzAA#v=onenpage&q=Anatom%C3%ADa%20con%20Orientaci%C3%B3n%20Cl%C3%ADnica.%2C%203%C2%AA.%20ed&f=false>
45. Baladron J, Villacampa T, Vega T Aldecoa B, Alonso S, Alonso A, et al. Exámenes Mir Y Familia 96. Comentados Por Los Profesores Del Curso Intensivo Mir Asturias. Volumen 3. Ebook [Libro Electrónico]. España: MAD-Eduforma; 1997 [Consultado: 20 de junio de 2017]; 674 p. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=JwNjM3KiSTEC&pg=PA333&dq=meta-bolitos+hepatoprotectores&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjn8Z2wypbVAhXBKy>

YKHTHQA4IQ6wEIJTAA#v=onepage&q=metabolitos%20hepatoprotectores&f=false

46. Williamson M. Interpretación clínica de pruebas diagnósticas. [libro electrónico] 9ª. ed., Wolters Kluwer. 2012. [consultado 20 junio 2017]; pág. 37. Disponible en: <http://booksmedicos.org/wallach-interpretacion-clinica-de-pruebas-diagnosticas-9a-edicion/>
47. Krames S. Albúmina (En Sangre). Now, M Health fairview. [Revista en Internet] 2017 [consultado 20 junio 2017]; 3(5). Disponible en: <https://www.mhealth.org/patient-education/albuminbloodes>
48. Bazalar J. Evaluación de la actividad antioxidante y antihepatotóxica de la pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) en ratas con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2018. [consultado 06 junio 2020]. Disponible en: <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:t5RIHYUjYj8J:https://core.ac.uk/download/pdf/168384679.pdf+&cd=5&hl=es&ct=clnk&gl=pe>
49. Asqui M. “Actividad Hepatoprotectora Del Extracto De Diente De León (*Taraxacum Officinale*) En Ratas (*Rattus Novergicus*) Con Hepatotoxicidad Inducida Por Tetracloruro De Carbono.” [Tesis]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica De Chimborazo: 2016 [Consultado 15 De octubre Del 2018]. Disponible En: <Http://Dspace.Espoch.Edu.Ec/Bitstream/123456789/2590/1/56t00367.Pdf>
50. Toloza C, Gonzalez M. Análisis del uso tradicional de plantas medicinales que se comercializan en bogota, colombia; un abordaje desde las ciencias ambientales. [Tesis]. Bogota; Universidad De Ciencias Aplicadas Y

Ambientales - U.D.C.A; 2018 [consultado 07 julio del 2020]; 25-58. Disponible en:

https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/1125/1/DOC_PMPSM%20FINA%20L1pdf.pdf

51. Camacho D, Villanueva R. Efecto in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Gentianella bicolor* “Campanilla morada” frente a *Escherichia coli* y *staphylococcus aureus*. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2017, [consultado 07 julio del 2020];43-93. Disponible en: <http://www.dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/9343/Aranguri%20Camacho%20Danitza%20Wendy.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
52. Venereo J. Daño Oxidativo, Radicales Libres Y Antioxidantes. Rev Cubana Med Milit [Revista en internet] 2015 [consultado 07 julio del 2020];;31(2):126-33. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mil/v31n2/mil09202.pdf>
53. León M, Cedeño Morales R, Rivero R, Rivero J, García D, Bordón L. La teoría del estrés oxidativo como causa directa del envejecimiento celular. ISSN 1727-897X . [Revista en internet]; 2018 [consultado 07 julio del 2020]; 16(5). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ms/v16n5/ms12516.pdf>
54. Martínez S, González J Culebras J, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr. Hosp. [Revista en internet] 2002 [consultado 07 julio del 2020]; XVII (6) 271-278. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>

55. Arce F, Magaña M. “Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcoholico de morus nigra l. (mora), en daño hepático inducido en *rattus novergicus*, arequipa 2018” [Tesis]. Perú; Universidad Privada Autónoma Del Sur. 2018 [consultado 10 julio del 2020]. Disponible en:<http://repositorio.upads.edu.pe/bitstream/UPADS/34/1/TESIS%20%20%20%20FIORELA%20ARCE-MARIA%20MAGA%C3%91O.pdf>
56. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Código de ética para la investigación versión 002. [internet].2019. [Consultado el 7 de julio del 2020]. Disponible en : [Ehttps://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v002.pdf](https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v002.pdf)
57. Mehdi T, Behzad J, Heibatollah S, Hossein S, Mehrzad J, Mohammad. *Et al.* Actividad hepatoprotectora de partes aéreas de *Otostegia persica* contra daño hepático inducido por tetracloruro de carbono en ratas. PMID: PMC4469958 [Revista en Internet] 2015. [Consultado el 7 de julio del 2020]. 5(3) Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4469958/>
58. Jiménez M, Montero T, Martínez S, García M, Pérez J. Efecto hepatoprotector del Noni-C® en la intoxicación experimental inducida por tetracloruro de carbono. Rev Cub Med Mil [Revista en Internet]. 2015 [Consultado 15 de Octubre del 2018];44(1):24-32. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572015000100004
59. Panocca R, Valdez Y. Efecto protector y regenerativo del extracto puro del apio (*Apium Graveolens*) en ratas (*Rattus Norvergicus*) con daño hepático inducido

- por tetracloruro de carbono, Arequipa 2014, [Tesis]. Perú: Universidad Nacional De San Agustín; 2014 [Consultado 26 de junio del 2019]. Disponible en: <http://bibliotecas.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/396/M-21333.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
60. Panahi E, Heibatollah K, Hossein S, Dadgary N, Nazanin D. Efecto hepatoprotector del extracto de etanol *Stachys pilifera* en hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono en ratas. *Biología farmacéutica* [Revista en internet] 2017 [Consultado 26 de junio del 2019];55(1). Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13880209.2017.1302484>
61. Olivera G. "Estudio del efecto protector y/o regenerador del aceite de Emú (*Dromiceius oil*) sobre el daño celular agudo inducido por tetracloruro de carbono en células hepáticas de ratas". [Tesis]. Chile: Universidad Austral de Chile; 2016 [Consultado 02 de agosto del 2020]. 9-10 Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2008/fco.48e/doc/fco.48e.pdf>
62. Huamán O, Sandoval M, Béjar E, Huamán Z, Tarazona V. Efecto de los extractos acuoso e hidroetanólico de hojas de *Bixa orellana* (achiote) sobre los indicadores no enzimáticos de la hepatotoxicidad por paracetamol, en ratas. *An. Fac. med* [Revista en internet] 2013 [Consultado el 02 de Agosto del 2020]; 74 (4). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832013000400003
63. Jauregill 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. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa [Consultado 12 de agosto del 2020].61-88. Disponible en: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/915858/efecto-hepatoprotector-del-extracto-acuoso-de-ocimum-basilicum- NJz4BPf.pdf>

ANEXOS

Anexo N° 01: *Gentianella bicolor* (Corpus Huay)



Fuente: Imagen obtenida por la investigadora.

Anexo N° 02: Constancia de la determinación taxonómica de *Gentianella bicolor* (Corpus huay)



Herbarium Truxillense (HUT)

Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N° 77 – 2017- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

División : Angiospermae
Clase : Dicotyledoneae
Subclase : Archychlamydeae
Orden : Gentianales
Familia : Gentianaceae
Género : ***Gentianella***
Especie : ***G. bicolor (Wedd.) Fabris ex J.S. Pringle***

Muestra alcanzada a este despacho por DIANA PAOLA DELGADO VALVERDE, identificado con DNI N°74143689, con domicilio legal Villa maria, Mz. F LT. 11, Nuevo Chimbote; estudiante procedente de la Universidad Católica los Angeles de Chimbote, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del proyecto para optar el grado de Bachiller "Efecto hepatoprotector del extracto de las hojas, flores y tallos de *Gentianella bicolor (Wedd.) Fabris ex J.S. Pringle* " corpus huay"

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 01 de Setiembre del 2017




Dr. JOSÉ MOSTACERO LEÓN
Director del Herbario HUT

cc. Herbario HUT

E- mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

Fuente: Imagen obtenida por la investigadora.

Anexo N° 03: Distribución de manera aleatoria animales de experimentación *Rratus rratus var albinus*.



Fuente: Imagen obtenida por la investigadora.

Anexo N° 04: Pulverización y maceración de *Gentianella bicolor* (Corpus huay)

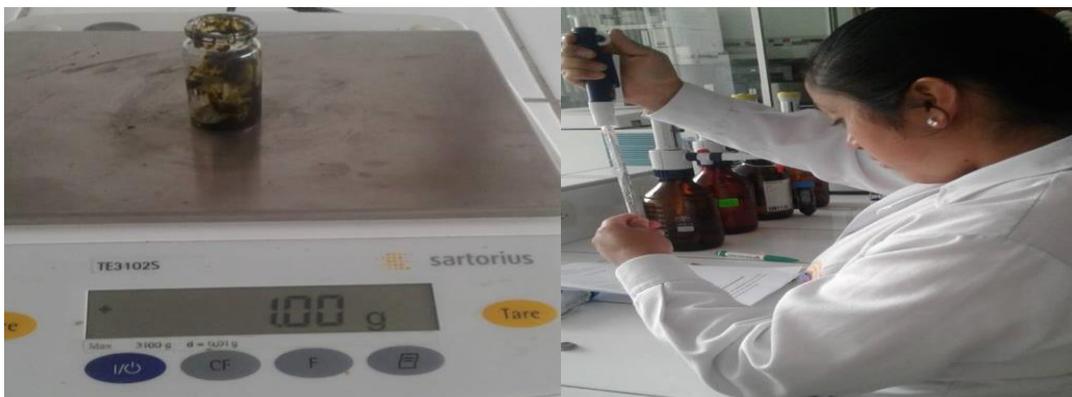


Anexo N° 05: Filtración al vacío con una bomba (Zeny) y papel Whatman, el mismo fue evaporado en un rotavapor.



Fuente: Imagen obtenida por la investigadora.

Anexo N° 06: La investigadora realizando la preparación del extracto Corpus Huay
(*Gentianella bicolor*)



Fuente: Imagen obtenida por la investigadora.

Anexo N° 07: Investigadora realizando la preparación de CCl_4



Fuente: Imagen obtenida por la investigadora.

Anexo N° 08: Investigadora realizando la Preparación de silimarina.



Fuente: Imagen obtenida por la investigadora.

Anexo N° 09: Proceso del pesado de *Rattus rattus var Albinus*. realizado por la investigadora



Fuente: Imagen obtenida por la investigadora.

Anexo N° 10: Proceso de la administración de tratamientos vía oral (sonda orogastrica) realizado por la investigadora



Fuente: Imagen obtenida por la investigadora.

Anexo N° 11: Investigadora realizando la técnica de punción cardiaca para la obtención de las muestras de sangre.



Fuente: Imagen obtenida por la investigadora.

Anexo N° 12: Proceso de extracción del hígado realizado por la investigadora.



Fuente: Imagen obtenida por la investigadora.

Anexo N° 13: Proceso del pesado de los hígados de *Rattus rattus var albinus*



Fuente: Imagen obtenida por la investigadora.

Anexo N° 14: Examen macroscópico de los hígados de *Rattus rattus var albinus*



BLANCO

CCl₄

Silimarina

**Gentianella
Bicolor 200 mg**

Tabla N° 1. Valores séricos de las transaminasas (TGPY TGP) ALT, ALB, TP, BILd y BILt del grupo negativo

GRUPO DE TRATAMIENTOS	TGO	TGP	ALT	ALB	TP	BILd	BILt
CONTROL NEGATIVO	U/L	U/L	U/L	(mg/dL)	(g/dL)	(mg/L)	(mg/dL)
R1	37	65.0	202	3.9	6.5	0.7	1.2
R2	38	58	201	3.8	7.8	0.8	1.5
R3	35	63	175	4.1	7.2	0.5	1.3
R4	37	64	175	3.9	7.7	0.6	1.5
PROMEDIO	36.7	62.4	187.8	3.9	7.3	0.6	1.4
DESVIACION ESTANDAR	1.3	3.1	15.3	0.1	0.6	0.13	0.15

Fuente: Datos propios de la investigación

Tabla N° 2. Valores séricos de las transaminasas (TGPY TGP) ALT, ALB,TP,BILd y BILt del grupo positivo CCl₄

GRUPO DE TRATAMIENTOS	TGO	TGP	ALT	ALB	TP	BILd	BILt
CONTROL CCl₄	U/L	U/L	U/L	(mg/dL)	(g/dL)	(mg/L)	(mg/dL)
R1	42	89.0	236	3	7.6	0.9	2
R2	40	87	206	3.3	7.5	0.6	1.2
R3	43	88	210	3.1	7	2	2.1
R4	41	89	218	3.3	6.5	0.8	1.8
PROMEDIO	41.5	88.2	217.2	3.2	7.1	1	1.7
DESVIACION ESTANDAR	1.3	1	13.3	0.2	0.5	0.63	0.4

Fuente: Datos propios de la investigación

Tabla N° 3. Valores séricos de las transaminasas (TGPY TGP) ALT, ALB,TP,BILd y BILt del grupo Silimarina.

GRUPO DE TRATAMIENTOS	TGO	TGP	ALT	ALB	TP	BILd	BILt
CONTROL SILIMARINA	U/L	U/L	U/L	(mg/dL)	(g/dL)	(mg/L)	(mg/dL)
R1	36	78.0	201	4	7.1	0.4	1
R2	39	92	168	4	8	0.8	1.5
R3	35	60	170	3.9	7.9	0.7	1.7
R4	36	61	169	4.1	7.1	0.5	1.5
PROMEDIO	36.5	71.6	176.5	4	7.5	0.6	1.4
DESVIACION ESTANDAR	1.7	15.3	16	0.1	0.5	0.18	0.3

Fuente: Datos propios de la investigación

Tabla N° 4. Valores séricos de las transaminasas (TGPY TGP) ALT, ALB,TP,BILd y BILt del grupo del extracto de *Gentianella bicolor*

GRUPO DE TRATAMIENTOS	TGO	TGP	ALT	ALB	TP	BILd	BILt
CONTROL EXTRACTO DE <i>Gentianella bicolor</i>	U/L	U/L	U/L	(mg/dL)	(g/dL)	(mg/L)	(mg/dL)
R1	39	64.0	193	4	7	0.6	1.6
R2	40.3	53	221	3.8	7.6	0.5	1.4
R3	35	59	195	3.9	7.2	0.7	1.6
R4	36	93	182	4	7.7	0.6	1.6
PROMEDIO	37.5	65.7	197.2	3.9	7.4	0.6	1.5
DESVIACION ESTANDAR	2.5	17.7	16.5	0.1	0.3	0.08	0.1

Fuente: Datos propios de la investigación

Anexo N° 14: Prueba de SHAPIRO – WILKS para determinar la normalidad de la transaminasa (TGO U/L).

GRUPOS	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Negativo	0.89494522	4	0.40638745
CCl₄	0.99291201	4	0.97187706
Gentianella bicolor 200 mg + CCl₄	0.92377028	4	0.5582866
Silimarina + CCl₄	0.83970169	4	0.19453448

a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: elaboración propia (SPSS Versión 24)

Interpretación

La prueba de normalidad Shapiro-Wilks indica que se cumple el supuesto de normalidad (estadísticos de prueba entre 0.837 y 0.9238, gl=4, p>0.05). por lo cual podemos pasar a realizar la prueba de análisis de varianza.

Anexo N° 15: Prueba de ANOVA (Análisis de varianza) para encontrar la significancia de los grupos de estudios de la transaminasa TGO U/L.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	64.867	3	21.622	6.953	0.006
Dentro de grupos	37.318	12	3.110		
Total	102.184	15			

Fuente: elaboración propia (SPSS Versión 24)

Interpretación: La prueba ANOVA de un factor indica (análisis de varianza) que hay diferencias en la puntuación de T.G.O, de acuerdo con los tratamientos usados (F= 6.953, p<0.05%).

Tabla N° 5: Prueba de comparaciones múltiples hsd tukey para los grupos de estudio de la transaminasa TGO U/L

COMPARACIONES MÚLTIPLES HSD Tukey			
(I) GRUPOS	(J) GRUPOS	Desv. Error	Sig.
Negativo	CCl ₄	1.24695	0.01151717
	<i>Extracto Gentianella bicolor</i> 200 mg/kg + CCl ₄	1.24695	0.90941896
	Silimarina + CCl ₄	1.24695	0.99698599
CCl₄	Negativo	1.24695	0.01151717
	<i>Extracto Gentianella bicolor</i> 200 mg/kg + CCl ₄	1.24695	0.03666743
	Silimarina + CCl ₄	1.24695	0.00812262
<i>Extracto Gentianella bicolor</i> 200 mg/kg + CCl₄	Negativo	1.24695	0.90941896
	CCl ₄	1.24695	0.03666743
	Silimarina + CCl ₄	1.24695	0.82392923
Silimarina + CCl₄	Negativo	1.24695	0.99698599
	CCl ₄	1.24695	0.00812262
	<i>Extracto Gentianella bicolor</i> 200 mg/kg + CCl ₄	1.24695	0.82392923
		1.24695	0.82392923

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: elaboración propia (SPSS Versión 24)

Interpretación: De acuerdo con la prueba Post hoc de Tukey se observa que diferencias significativas se encuentran entre los grupos negativo y Tetracloruro, extracto hidroalcohólico *Gentianella bicolor* 200 mg/kg + CCl₄ y tetracloruro (p<0.05). Lo cual nos indica que el Extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* 200 mg + CCl₄ está influyendo sobre el T.G.O U/L.

Anexo N° 16 Prueba de SHAPIRO – WILKS para determinar la normalidad de la transaminasa (TGP U/L).

GRUPOS	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Negativo	0.85422016	4	0.24012272
CCl ₄	0.86336905	4	0.27245316
Extracto de <i>Gentianella bicolor</i> 200 mg + CCl ₄	0.88163312	4	0.34565791
Silimarina + CCl ₄	0.84906064	4	0.22313256

a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: elaboración propia (SPSS Versión 24)

Interpretación: La prueba de normalidad Shapiro -Wilks indica que se cumple el supuesto de normalidad (estadísticos de prueba entre 0.849 y 0.882, gl=4, p>0.05). por lo cual podemos pasar a realizar la prueba de análisis de varianza.

Anexo N° 17: Prueba de ANOVA (Análisis de varianza) para encontrar la significancia de los grupos de estudios de la transaminasa TGP U/L.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1502.188	3	500.729	3.587	0.047
Dentro de grupos	1675.250	12	139.604		
Total	3177.438	15			

Fuente: elaboración propia (SPSS Versión 24)

Interpretación: La prueba ANOVA de un factor indica (análisis de varianza) que hay diferencias en la puntuación de T.G.P, de acuerdo con los tratamientos usados (F= 3.587, p<0.05%).

Tabla N° 6: Prueba de comparaciones múltiples hsd tukey para los grupos de estudio de la transaminasa TGP U/L

(I) GRUPOS		Desv. Error	Sig.
Negativo	CCl ₄	8.35476	0.04109987
	Extracto de Gentianella bicolor 200 mg + CCl ₄	8.35476	0.62267381
CCl₄	Silimarina + CCl ₄	8.35476	0.93955947
	Negativo	8.35476	0.04109987
	Extracto de Gentianella bicolor 200 mg + CCl ₄	8.35476	0.29647357
	Silimarina + CCl ₄	8.35476	0.10801747
Extracto de Gentianella bicolor 200 mg + CCl₄	Negativo	8.35476	0.62267381
	CCl ₄	8.35476	0.29647357
	Silimarina + CCl ₄	8.35476	0.91060019
Silimarina + CCl₄	Negativo	8.35476	0.93955947
	CCl ₄	8.35476	0.10801747
	Extracto de Gentianella bicolor 200 mg + CCl ₄	8.35476411	0.91060019

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: elaboración propia (SPSS Versión 24)

Interpretación: De acuerdo con la prueba Post hoc de Tukey se observa que diferencias significativas se encuentran entre los grupos negativo y Tetracloruro de carbono (CCl₄) (p<0.05). Lo cual nos indica que el tetracloruro de carbono (CCl₄) + Extracto hidroalcohólico de Gentianella bicolor 200 mg + CCl₄ está influyendo sobre el T.G.P.

Anexo N° 18: Prueba de SHAPIRO – WILKS para determinar la normalidad de Fosfatasa alcalina (ALP U/L).

GRUPOS	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Negativo	0.74498012	4	0.03462644
CCl ₄	0.90723524	4	0.46787706
Extracto de Gentianella bicolor 200 mg +			
CCl ₄	0.67784722	4	0.00621554
Silimarina + CCl ₄	0.89937271	4	0.42794996

a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: elaboración propia (SPSS Versión 24)

Interpretación: La prueba de normalidad Shapiro-Wilks indica que se cumple el supuesto de normalidad (estadísticos de prueba entre 0.6778 y 0.9072, gl=4, p>0.05). por lo cual podemos pasar a realizar la prueba de análisis de varianza.

Anexo N° 19: Prueba de ANOVA (Análisis de varianza) para encontrar la significancia de los grupos de estudios de Fosfatasa alcalina (ALP U/L).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
	3533.250	3	1177.750	5.007	0.018
Entre grupos	2822.500	12	235.208		
Dentro de grupos	6355.750	15			
Total					

Fuente: elaboración propia (SPSS Versión 24)

Interpretación: La prueba ANOVA de un factor indica (análisis de varianza) que hay diferencias en la puntuación de Fosfatasa Alcalina de acuerdo con los tratamientos usados (F= 5.007, p<0.05%).

Tabla N° 7: Prueba de comparaciones múltiples hsd tukey para los grupos de estudio de Fosfatasa alcalina (ALP U/L).

(I) GRUPOS		Desv. Error	Sig.
Negativo	CCl ₄	10.84455	0.07952668
	Extracto de <i>Gentianella</i> bicolor 200 mg + CCl ₄	10.84455	0.73165569
CCl₄	Silimarina + CCl ₄	10.84455	0.81709736
	Negativo	10.84455	0.07952668
	Extracto de <i>Gentianella</i> bicolor 200 mg + CCl ₄	10.84455	0.01312337
Extracto de <i>Gentianella</i> bicolor 200 mg + CCl₄	Silimarina + CCl ₄	10.84455	0.31072473
	Negativo	10.84455	0.73165569
	CCl ₄	10.84455	0.01312337
Silimarina + CCl₄	Silimarina + CCl ₄	10.84455	0.27321356
	Negativo	10.84455	0.81709736
	CCl ₄	10.84455	0.31072473
	<i>Extracto de Gentianella</i> bicolor 200 mg + CCl ₄	10.8445455	0.27321356

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: elaboración propia (SPSS Versión 24)

Interpretación: De acuerdo con la prueba Post hoc de Tukey se observa que diferencias significativas se encuentran entre los grupos negativo y Tetracloruro, Extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* 200 mg Y Tetracloruro de carbono (CCl₄) (p<0.05). Lo cual nos indica que el Extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* 200mg/kg está influyendo sobre el Fosfatasa Alcalina.