



**UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE**

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUIMICA**

**EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE
Gentianella Bicolor SOBRE EL TEJIDO HEPÁTICO
FRENTE AL DAÑO INDUCIDO CON TETRACLORURO
DE CARBONO**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL
GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER EN
FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

AUTOR

DELGADO VALVERDE, DIANA PAOLA

ASESOR

ZEVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA

CHIMBOTE - PERÚ

2018

**EFECTO DEL EXTRACTO
HIDROALCOHOLICO DE *Gentianella Bicolor*
SOBRE EL TEJIDO HEPÁTICO FRENTE AL
DAÑO INDUCIDO CON TETRACLORURO DE
CARBONO**

JURADO EVALUADOR DE BACHILLER

Dr. JORGE LUIS DÍAZ ORTEGA

PRESIDENTE

Mgtr. TEODORO WALTER RAMÍREZ ROMERO

MIEMBRO

Mgtr. EDISON VÁSQUEZ CORALES

MIEMBRO

Mgtr. LIZ ELVA ZEVALLOS ESCOBAR

ASESOR

AGRADECIMIENTO

A Dios por su infinito amor que nos brinda, la fortaleza a seguir y cuidar de cada paso de nuestra vida.

A nuestra asesora Mgtr. Zevallos Escobar Liz Elva, por su enseñanza, apoyo y sabios consejos que permitieron la culminación de este trabajo de investigación. A cada uno de mis maestros que 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 forjado 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 amigos y compañeros por sus apoyos, y contar con ellos en cada momento de mi vida.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a las personas, que me apoyaron, impulsaron y nunca perdieron la fe en mí, dándome la fortaleza que necesite a mis padres Esther Valverde Sánchez y Eder Delgado Ibáñez. Que con dedicación y consejos me ayudaron a conseguir mis objetivos, y unas de mis metas, los amo

A Dios por todas las cosas tan bellas que nos ha dado, por su inmenso amor. por haberme dado la oportunidad de culminar con mi pequeño proyecto de estudio,

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 abuelitos Lucia Y Ruperto porque son mi fuerza en cada paso que doy.

A mis tíos Víctor Delgado, Alberto Valverde, Pablo Valverde y Aurora Delgado por haberme apoyado incondicionalmente, dándome ejemplo de superación humildad y sacrificio; enseñándome a valorar todo lo que tengo, Dándome los mejores consejos, guiándome y haciéndome una persona de bien, con todo mi amor y afecto se los dedico.

RESUMEN

En el daño hepático ocurren diversos cambios químicos que alteran la estructura de las células, que es provocado por diferentes factores como agentes xenobióticos, causando la apoptosis del tejido hepático. **Objetivo:** Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* sobre el tejido hepático frente al daño inducido con tetracloruro de carbono. Se evaluó el efecto protector del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor*. Se utilizaron 16 animales de experimentación lo cual se dividieron en 4 grupos contando: (4 para control negativo, 4 para control positivo, 4 para control droga silimarina, 4 para tratamiento experimental con extracto de *Gentianella bicolor*). respectivamente. La duración del tratamiento duró 7 días; el día 6° y 7°, después de 12 horas de ayuno, excepto el grupo de control negativo, fueron tratados con 2 ml/kg de CCl₄. **Resultados:** Se obtuvo una disminución del daño hepático con tratamiento de *Gentianella bicolor*. Se observó Macroscópicamente el grupo de *Gentianella bicolor* 200 mg/kg mostró una estructura normal del tejido hepático, con respecto al grupo control positivo. Así, los resultados demuestran que *Gentianella bicolor*, tiene efecto protector frente al CCl₄. **Conclusión:** El extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* a una dosis de 200mg/kg mostro una protección significativa contra la lesión hepática inducida por tetracloruro de carbono (CCl₄)

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

ABSTRACT

In the liver damage, several chemical changes occur that alter the structure of the cells, which is caused by different factors such as xenobiotic agents, causing the apoptosis of the liver tissue. Objective: To determine the effect of the hydroalcoholic extract of *Gentianella bicolor* on the liver tissue against the damage induced with carbon tetrachloride. The protective effect of the hydroalcoholic extract of *Gentianella bicolor* was evaluated. Sixteen experimental animals were used, which were divided into 4 groups counting: (4 for negative control, 4 for positive control, 4 for control drug silymarin, 4 for experimental treatment with extract of *Gentianella bicolor*). respectively. The duration of the treatment lasted 7 days; on the 6th and 7th day, after 12 hours of fasting, except for the negative control group, they were treated with 2 ml / kg of CCl₄. Results: A decrease in liver damage was obtained with *Gentianella bicolor* treatment. The group of *Gentianella bicolor* 200 mg / kg was observed macroscopically showed a normal structure of the liver tissue, with respect to the positive control group. Thus, the results show that *Gentianella bicolor* has a protective effect against CCl₄. Conclusion: The hydroalcoholic extract of *Gentianella bicolor* at a dose of 200 mg / kg showed significant protection against hepatic injury induced by carbon tetrachloride (CCl₄)

Key words: *Gentianella bicolor*, Hepatoprotective, carbon tetrachloride.

ÍNDICE

JURADO EVALUADOR DE BACHILLER.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
DEDICATORIA.....	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
ÍNDICE TANBLAS	X
I.INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo general.....	2
Objetivos específicos	2
II.REVISION DE LITERATURA.....	3
2.1 Antecedentes.....	3
2.2 Bases Teóricas	6
III. HIPÓTESIS.....	20
IV. METODOLOGIA.....	21
4.1 Diseño de la investigación.....	21
4.2. Población y muestra.....	21
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	26
4.4. Tecnicas e instrumentos de recolección de datos	27
4.5. Plan de análisis	27
4.6. Matriz de consistencia	28
4.7. Principios éticos.....	29
V. RESULTADOS.....	30
5.1 Resultados.....	30
5.2 Análisis de resultados.....	33

VI. CONCLUSIONES	35
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	36
ANEXOS.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Examen macroscópico en ratas (*Rattus rattus var albinus*) administradas tetracloruro de carbono. pag 30

Tabla 2: Medición del peso de ratas durante la investigación en ratas (*rattus rattus var albinus*) administradas tetracloruro de carbono. pag 31

Tabla 3: Índice Hepático (IH) e incremento de tejido según grupo de tratamiento.....pag 32

I. INTRODUCCIÓN

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.¹

La *Gentianella bicolor* es una especie silvestre que se encuentra en los andes norperuanos. Según los pobladores 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, reumatismo, colesterol, hepáticas y sangre. Actualmente en la sierra liberteña del Perú.^{2,3}

La familia *Gentianella* ha sido ampliamente estudiada 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 que pasado por sí mismo. Gracias a sus propiedades curativas es un excelente alimento medicinal para las personas que presentan una enfermedad en el hígado.^{4,5,6}

La hepatotoxicidad (HTX) es una lesión en el hígado, se da un deterioro de la función hepática causada por la exposición de fármacos en sobredosis que pueden ser altamente tóxicos que puede dañar al órgano. El hígado es una glándula más importante del aparato digestivo yaqué es encargado de metabolizar sustancias químicas traídas por nuestros alimentos, bebidas, medicamentos (por ejemplo, microcistinas) y remedios herbales también pueden inducir hepatotoxicidad.^{7,8,9,10}

En una lesión hepática se puede observar un aumento superior al doble que valor superior normal de alanino sérica aminotransferasa (ALT) o bilirrubina conjugada, o de los niveles de aspartato aminotransferasa, fosfatasa alcalina (ALP). Existen enfermedades hepáticas cuya gravedad puede oscilar desde elevaciones asintomáticas de las enzimas hepáticas, hasta insuficiencia hepática fulminante.^{7,8,9,10}

La presente investigación se justifica por la importancia de estudiar sus propiedades curativas que contiene *Gentianella bicolor* (Corpus huay) por otro lado me motivó ya que es utilizada por mis familiares de forma natural y económica esta especie lo utilizan para los triglicéridos, acné y para los problemas de hígado dando buenos resultados.

En la metodología se desarrolló de acuerdo al modelo experimental se utilizó como muestra 16 animales de experimentación *Rattus rattus var albinus* han sido agrupados en 4 grupos aleatoriamente (4 para control negativo, 4 para control positivo, 4 para control droga silimarina, 4 para tratamiento experimental con extracto de *Gentianella bicolor*). a dosis de 200mg/kg. Se determinó el perfil hepático, análisis bioquímicos (TGO, TGP, Albúmina y fosfatasa alcalina) y análisis hepatológicos.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo general:

- Determinar el efecto del extracto hidroalcoholico de *Gentianella bicolor* sobre el tejido hepático frente al daño inducido con tetracloruro de carbono

Objetivos específicos:

- Describir macroscópicamente las características del tejido hepático.
- Determinar el índice hepático y porcentaje de incremento de tejido.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

Bermúdez. en su estudio realizado en Trujillo en el año 2015 realizo la Evaluación fitoquímica y comparación del efecto hipoglucemiante de extractos acuosos de *Gentianella bicolor*, *Gentianella nitida*, *Gentianella chamuchui* y *Smallanthus sonchifolius* en *Rattus rattus*. Utilizo 07 grupos de experimentación de 07 animales cada uno; el primer grupo (animales sanos) y al resto de los grupos se le administró una dosis diaria de 500 mg/kg de peso de extracto acuoso de *Gentianella bicolor*, *Gentianella nítida*, *Gentianella chamuchui*, *Smallanthus sonchifolius* respectivamente, durante 21 días. como resultado, ha observado el efecto hipoglucemiante con el extracto acuoso *Gentianella bicolor* y las otras especies a un largo plazo. Como conclusión logro comparar el efecto hipoglucemiante de las diferentes especies medicinales. ²

En Trujillo en el año 2015 Huamán *et al.* evaluaron el Efecto del consumo de *Gentianella bicolor* o “Corpus Huay” sobre la tolerancia oral a la glucosa y el perfil lipídico en adultos jóvenes, como resultados de la marcha fitoquímica en la planta *Gentianella bicolor* han identificado flavonoides, taninos, saponinas, alcaloides, leucoantocianidina, compuestos fenólicos, xantofilas e iridoides.¹¹

En el año 2014, Solorsano *et al.* en Perú identificaron los metabolitos secundarios Producidos por callos inducidos en “CorpusWay. Como resultados han obtenido la presencia de metabolitos secundarios: Flavonoides, taninos, polifenoles Leucoantocianidina, saponinas y aminoácidos Libres en raíces, flores y hojas. En conclusión, Los metabolitos secundarios que han sido producidos e identificados por

los callos inducidos en *Gentianella bicolor* (corpus huay) a partir de las hojas jóvenes de una planta en floración donde a los 40 días observaron la presencia de esteroides, flavonoides, taninos, leucoantocianidinas y aminoácidos. ¹²

Según Carbonel *et al.* Durante el año 2016, lograron determinar las características fisicoquímicas y capacidad antioxidante in vitro del extracto acuoso de *Gentianella nitida*. Como conclusión el extracto acuoso de la *Gentianella nitida* exhibió capacidad antioxidante que guardó correlación con el contenido de compuestos fenólicos. ⁵

En la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en el año 2012 Ugaz S *et al.* Realizaron un estudio sobre efecto de *Gentianella alborosea* en esteatosis hepática no alcohólica inducida por dieta hiperlipídica en ratas holtzman hembras. Utilizaron 32 animales de experimentación repartidas en 4 grupos (n=8) donde encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el porcentaje de hepatocitos afectados entre los grupos dosis 1 (3.25 ± 2.27) y el control positivo (7.50 ± 3.76). ¹³

Se realizó un estudio experimental en la Universidad Nacional de Trujillo en el año 2011 Baltodano E. Efecto del extracto de *Gentianella alborosea* “hercampuri” sobre niveles séricos de proteínas totales y albúmina en *rattus norvegicus* var. Albinus utilizó un grupo de control y dos grupos problemas. Como resultados obtuvo que en los ensayos de *gentianella alborosea* no se generó val albinus. ¹⁴

En Iquitos en el año 2017 Canelo P y Mendoza Y. Evaluaron el efecto hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* L. frente al daño hepático agudo producido por tetracloruro de carbono en ratas albinas. Utilizaron 5

grupos de animales de experimentación contando con 4 integrantes. La duración del tratamiento duró 7 días como resultado obtuvieron que cúrcuma (100 mg y 200 mg) con CCl4 mostraron una disminución significativa ($p < 0,05$). en los niveles séricos de AST, ALT y ALP. ¹⁵

Nuñez J. en un estudio realizado en la universidad católica los ángeles de Chimbote Trujillo en el año 2018. Tuvo como objetivo determinar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *Gentianella nitida* sobre la glucemia en *Rattus rattus var. albinus* con hiperglicemia inducida. Utilizo como muestra a 18 especímenes y como resultado obtuvo en el grupo experimental, la glucemia post inducción con aloxano teniendo un valor de $198.33\text{mg/dl} \pm 3.55$, a comparación de la administración del extracto acuoso de *Gentianella nitida* teniendo una desviación estándar de 182.33mg/dl . Donde concluye que el extracto de *Gentianella nitida* presento un efecto hipoglucemiante estadísticamente significativo. ¹⁶

2.2. BASES TEÓRICAS DE LA INVESTIGACIÓN

2.2.1. “*Gentianella bicolor*”



FIGURA 1: *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. El cual ha sido utilizado tradicionalmente como hipoglucemiante, diurético, triglicéridos y para el hígado. 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.³

Según en su estudio fitoquímico se ha identificado flavonoides, taninos, saponinas, leucoantocianidina, compuestos fenólicos, xantofilas e iridoides. ² uno que predomina son los flavonoides siendo los inhibidores de la formación de leucotrieno B4, potenciadores de la formación de prostaglandina E2 e inhibidores de la liberación de óxido nítrico.^{11,12}

2.2.1.1. Clasificación Taxonómica (anexo N°1)

División:	<i>Angiospermae</i>
Clase:	<i>Dicotyledoneae</i>
Subclase:	<i>Archychlamydeae</i>
Orden:	<i>Gentianales</i>
Familia:	<i>Gentianaceae</i>
Género:	<i>Gentianella</i>
Especie:	<i>Gentianella</i> <i>Bicolor.</i>

2.2.2. HÍGADO

El hígado es la glándula más voluminosa del organismo desempeña numerosas funciones metabólicas donde almacena glucógeno y secreta la bilis, transformaciones y desintoxicación. ¹⁷

2.2.2.1. Anatomía Hepática

2.2.2.1.1. Situación

El Hígado se encuentra situado en el hipocondrio derecho, con una extensión hacia hipocondrio izquierdo se encuentra protegido por la parrilla costal. Tiene un peso aproximadamente de 1.200 y 1.500g de peso, es de color pardo rojizo, está dividido anatómicamente por dos lóbulos (derecho e izquierdo). Esto cumple funciones como endocrinas y exocrinas. ¹⁸

2.2.2.1.1.1. Hepatocitos

Los hepatocitos son células poliédricas que constituyen un 80 % de la población celular del hígado que miden entre 20 y 30 μm en cada dimensión. Su vida media es de 5 meses aproximadamente también forman placas anastomosantes. ¹⁹ Están constituidos por tres tipos de bordes:

- a. Biliar (se forman los canalículos biliares)
- b. Sinusoidal que delinean los bordes de la sinusoide y forman con las células endoteliales el espacio de DISSE.
- c. Hepatocitario (se adosan con otros hepatocitos para formar las láminas hepatocitarias). ¹⁹

2.2.2.1.2. Espacio portal o de Kiernan

El espacio portal o de Kiernan se caracteriza por la presencia de tríadas portales. Este está limitado por los hepatocitos más externos del lobulillo. Los lobulillos se encuentran delimitados por tejido conjuntivo procedente de la cápsula, lugares que confluyen los extremos aguzados, una zona que se denomina espacio porta (puerta de entrada), donde pueden observarse las siguientes estructuras: ^{19,20}

- Rama de la vena porta
- Rama de la arteria hepática
- Conductillo biliar
- Vaso linfático ^{19,20}

2.2.2.2. Fisiología Hepática

El hígado siendo un órgano glandular del cuerpo humano en la cual intervine en diferentes funciones como:

- **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.¹⁷
- **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.²¹
- **Síntesis de Ácidos Grasos:** Se da una formación de lipoproteínas, colesterol y fosfolípidos.¹⁷

2.2.2.3. Enfermedades hepáticas

Las enfermedades hepáticas pueden ser hereditario o por factores que causan daño al hígado, como el consumo excesivo de alcohol, virus y por el consumo de medicamentos en altas dosis como el paracetamol.¹⁵ Con el paso del tiempo va generando diferentes enfermedades hepáticas en las que se tiene:

2.2.2.3.1. Cirrosis

La cirrosis es una enfermedad crónica del hígado que se caracteriza por una fibrosis hepática que conlleva a un daño irreversible los hepatocitos, necrosis difusa, regeneración nodular y fibrosis; alterando así la arquitectura tisular y su función normal del hígado.²⁰

Los síntomas son:

- Orina color café
- Ictericia
- Atrofia tisular
- Anemia
- Uñas frágiles
- Ascitis
- Hipertensión portal
- Encefalopatía hepática²⁰

2.2.2.3.2. Síndrome de Gilbert

El síndrome de Gilbert se origina por defectos en el gen de uridin difosfato glucuronosil-transferasa, esto se caracteriza por una hiperbilirrubinemia no conjugada leve con un incremento del pigmento lipofuscina.^{22,23}

2.2.2.3.3. Hepatitis aguda

La hepatitis aguda es causada por una necrosis de las células hepáticas. La principal causa de este es viral, es por el consumo excesivo de bebidas alcohólicas, enfermedades inmunológicas, trastornos metabólicos o isquémicos y fármacos altamente tóxicos.²³

Hepatitis A

La hepatitis A es causada principalmente por un enterovirus RNA del grupo *picornaviridae*. Es transmitida por la vía mano ano-boca.^{23,24}

Hepatitis B

La hepatitis B es un virus del DNA del grupo *hepadna viridae*. El virus infectado se transmite a través de la sangre, semen y saliva, este cuadro infeccioso puede producir ciertos cuadros clínicos infecciosos como la hepatitis aguda autolimitada, hepatitis fulminante, hepatitis crónica e infección crónica asintomática.²³

Hepatitis C

La hepatitis C es causada por un flavivirus RNA; esto presenta seis subtipos de acuerdo a la incidencia geográfica. El periodo que se da la

incubación es de dos meses seguido, con manifestaciones clínicas de, fiebre, malestar general, anorexia e ictericia.^{22,23.}

Hepatitis D

La hepatitis D es un virus del RNA hepatotrófico, esto requiere la presencia de la infección por HVB esto es defectuoso. Se transmite de la misma forma que la hepatitis B. la infección se confirma con el hallazgo de IgM anti-D en el suero, en presencia de IgM anti-HBc. Con manifestaciones clínicas de malestar general del cuerpo, fiebre y anorexia.^{23,24}

Hepatitis E

La hepatitis E, es causado por un virus calicivirus RNA que se transmite por la vía anomano-boca, esto es causado por abastecimiento de aguas contaminadas. Tiene un periodo de incubación cerca de un mes, esto podría causar ictericia.^{23,24}

2.2.2.3.4. Hepatitis crónica

Las hepatitis crónicas se caracterizan por la combinación de necrosis de las células del hígado e inflamación de gravedad variable que persiste durante más de seis meses. Esta se debe en la mayoría de los casos por la infección del hígado producida por virus de hepatitis B o C, medicamentos, factores genéticos, metabólicos o autoinmunitarios. Las manifestaciones clínicas que presentan son: fatiga, malestar general, anorexia, pérdida de peso, ictericia, y hepatomegalia leve ^{23,24}

2.2.3. HEPATOTOXICIDAD

La hepatotoxicidad (HTX) es una lesión en el hígado, se da un deterioro de la función hepática causada por la exposición de fármacos en sobredosis que pueden ser altamente tóxicos que puede dañar al órgano. Otros agentes químicos, que se asocian son laboratorios e industrias, productos químicos naturales (por ejemplo, microcistinas) y remedios herbales también pueden inducir hepatotoxicidad. ^{8,25,26}

En una lesión hepática se puede observar un aumento superior al doble que valor superior normal de alanino sérica aminotransferasa (ALT) o bilirrubina conjugada, o de los niveles de aspartato aminotransferasa, fosfatasa alcalina (ALP). Existen enfermedades hepáticas cuya gravedad puede oscilar desde elevaciones asintomáticas de las enzimas hepáticas, hasta insuficiencia hepática fulminante. Desde el incremento asintomáticos y reversibles de las enzimas hepáticas, hasta necrosis hepática masiva con insuficiencia hepática aguda (IHA), cirrosis o carcinoma hepatocelular. ^{8,25,26}

2.2.3.1. Mecanismo hepático

El mecanismo hepático se da mediante tres fases para que un xenobiótico se pueda eliminar del organismo así no llegue a ser tóxicos, esto necesita pasar por el proceso (LADME): Liberación absorción, distribución, metabolismo (biotransformación) y excreción. La biotransformación comienza desde el momento que ingresa la sustancia toxica, el rol principal del hígado constituyendo uno de los factores determinantes del mecanismo hepatotoxicidad y hepatocarcinogenicidad. ^{8,27}

La biotransformación ocurre en tres fases:

Fase I

La fase I se da mediante las reacciones de hidrólisis, oxidación, desalquilación, reducciones. Los productos de estas reacciones pueden ser catalizada por diversas enzimas con diferente especificidad de sustrato de fase II o ligandos de proteínas de transporte en fase III.⁸

Fase II

La fase II se localizan en el citosol que es encargado de la conjugación de enlaces covalentes, catalizadas por enzimas, como la glucuronidación, sulfatación, acetilación, metilación, la conjugación con glutatión y la conjugación con aminoácidos tales como glicina, taurina.^{8,27,28} Estas reacciones aumentan la hidrófila del xenobiótico a excepción de la metilación y la acetilación que aumentan la liposolubilidad y disminuyen la actividad farmacológica y tóxica de los xenobióticos, la sulfatación activa aminas aromáticas e hidrocarburos aromáticos policíclicos produciendo metabolitos carcinógenos.^{27,28}

Fase III

La fase III constituye el transporte o excreción de los productos originados en la fase II a través de la membrana celular, para su posterior eliminación. Los transportadores de esta fase se expresan en varios tejidos como hígado, intestino, riñón y cerebro. En esta fase se da las reacciones de conjugación con glutatión pueden dar origen a la bioactivación de las sustancias tóxicas y facilitar su excreción de la célula.²⁷

2.2.3.2. Factores que predisponen al hígado a sufrir toxicidad

Los factores que influyen principalmente son genéticos, edad, sexo, también se da por factores metabólicos y hormonales, y otra causa es el consumo de bebidas alcohólicas, el uso de medicamentos en altas dosis hasta incrementar una toxicidad.⁸

2.2.4. Tetracloruro de carbono

El tetracloruro de carbono (CCl_4) es un líquido incoloro, compuesto orgánico volátil, con un olor a cloroformo. Se puede biodegradarse en agua. Algunos de los productos de degradación pueden atacar a proteínas en las células, interfiriendo así con las funciones de las células del hígado en casos de intoxicación leve, el hígado se dilata y se pone delicado, y se acumula grasa dentro del órgano. En casos graves, las células del hígado pueden ser dañadas o destruidas, lo que produce una disminución en la función del hígado.^{28,29,30}

El (CCl_4) se vaporiza fácilmente, y el producto químico que existe en el aire como un gas, esto puede permanecer durante años. Donde no se adhiere a las partículas del suelo o del agua y en lugar de otro se vaporiza o filtra en el agua subterránea. Mediante esto se puede estar expuesto al tetracloruro de carbono a través de varios factores como respirar vapores en fabricas que usas este tipo de compuesto químicos. También puede estar expuesto respirando aire exterior que contiene CCl_4 . Consumir o bañarse en agua contaminada con (CCl_4), Tocar el suelo que está contaminado.^{30,31}

2.2.4.1. Mecanismo de acción del tetracloruro de carbono

El tetracloruro de carbono (CCl₄) se absorbe rápidamente por cualquier vía del organismo que es expuesto a este compuesto químico. Una vez absorbido, se distribuye entre los tejidos, con alto contenido de lípidos, esto alcanza concentraciones máximas de <1-6 h, esto depende de la concentración o dosis de exposición. Es metabolizado por el hígado, el pulmón y otros tejidos. El (CCl₄) es excretado rápidamente, por el aliento exhalado.^{30,31}

2.2.5. Transaminasas hepáticas

Las transaminasas son enzimas que cumplen una función metabólica en el interior de células. Estas enzimas encontramos tejidos de muchos órganos (hígado, corazón, riñones, músculos). La cantidad de concentración de las transaminasas en la sangre demuestra la actividad del corazón y del hígado.

³²

Transaminasas hepáticas tenemos:

- **Glutamato-Piruvato Transaminasa (GPT) o Alanina Aminotransferasa (ALT):** Se encuentra en diferentes partes de nuestro organismo como el citosol del hepatocito, riñones, glóbulos rojos y en los músculos estriados.³³
- **Glutamato-Oxalacetato Transaminasa (GOT) o Aspartato Aminotransferasa (AST):** se encuentra en el hígado, también en otros órganos como: miocardio, músculo esquelético, los riñones, cerebro, páncreas, pulmón.

- **Fosfatasa alcalina (ALP):** Se encuentra presente en el hígado, huesos, intestinos, la placenta y en los tejidos relacionados con tumores.^{33,34}

Intervalo normal

ALT:

- ✓ 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).³⁵

Fosfatasa alcalina

- ✓ Hasta 1 año de edad: 150 - 350 U/l
- ✓ 1 año a 16 años: 30 - 300 U/l
- ✓ Mayores de 16 años: 30 - 115 U/l^{34,35}

2.2.5.1. Niveles de transaminasas en la sangre

Las transaminasas cumplen un papel importante para los diagnósticos de enfermedades hepáticas. Los niveles de AST, ALT y Fosfatasa alcalina tienen valores normales, pero si estos están disminuidos o alterados, es ocasionados por la falta de permeabilidad de la membrana celular, el cual deja libre a estas enzimas en la sangre. Por lo tanto, el grado de elevación de las transaminasas.³⁵

2.2.6. Perfil hepático

Los valores del análisis clínico ayudan a dar una visión del estado funcional del hígado:

Utilidad de las pruebas de función hepática:³⁶

- Detección de lesión hepática.
- Diferenciación entre citólisis y colestasis, así establecer un diagnóstico específico.
- Seguimiento de la enfermedad y evaluación del tratamiento

2.2.6.1. Fosfatasa alcalina

Se observa un aumento de la fosfatasa por la separación electroforética de sus isoenzimas. En las patologías que se presenta de origen óseo se produce por la actividad osteoblástica aumentada y cuando es de origen hepático se produce por el proceso de colestasis.³⁶

2.2.6.2. Examen de albúmina

La albúmina es una proteína sin carbohidratos que constituye un 55-65% de la totalidad de las proteínas plasmáticas. Es fijada y desdobla varios compuestos, como bilirrubina, calcio y ácidos grasos de cadena larga. Además, fija iones de metales pesados tóxicos, una disminución de albúmina en sangre tiene graves efectos farmacocinéticos. La determinación de albúmina permite el seguimiento de pacientes bajo dieta controlada y constituye un excelente test de funcionamiento hepático.^{36,37}

2.2.6.3. Examen de fosfatasa alcalina

La ALP sérica tiene orígenes (hígado, riñón, placenta, intestino, hueso, leucocitos), aunque las fuentes más importantes son el hígado, los huesos y el intestino. La elevación sérica de la fosfatasa alcalina en algunas enfermedades hepáticas puede ser distinguida mediante otras pruebas de laboratorio y por sus rasgos clínicos. ^{36,37}

2.2.7. ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA

La actividad hepatoprotectora es la regeneración de las células hepáticas. Por ello la función natural del hígado de reemplazar las células dañadas. ³⁸

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. Entre las plantas que cumplen con esta función es: 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. ^{4,5,6,38}

2.2.8. DROGAS HEPATOPROTECTORAS

2.2.8.1. Silimarina

La silimarina es un antioxidante que es utilizado en diferentes enfermedades hepáticas, como intoxicación por *Amanita phalloides*, enfermedades tóxicas o iatrogénicas hepáticas, enfermedad hepática alcohólica, cirrosis hepática. La silimarina inhibe la síntesis de leucotrienos (mediadores de la inflamación) que puede resultar en la psoriasis, entre otras patologías.^{34,39}

III. HIPÓTESIS

El extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* “Corpus huay” posee efecto protector 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

4.2. Población y muestra

4.2.1. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO

4.2.2.1. Certificación de la especie vegetal

La certificación de la especie botánica fue emitida por Herbarium Truxillense (HUT). Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Facultad de Ciencias Biológicas.

4.2.2.2. Secado de las especies vegetales

Para realizar el secado de las muestras vegetales se colocaron en una estufa a una temperatura entre 40 – 50 ° C. el tiempo de este proceso puede demorar entre 2 a 3 días.

4.2.2.3. Molienda

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

4.2.2.4. Maceración

Se pesó aproximadamente 100 g de la muestra pulverizada se prosigue a la maceración en un frasco color ámbar durante 7 días.

4.2.2.5. Destilación

El mismo que será filtrado, se concentrará en un rota-evaporador y se almacenará a 4 °C hasta su utilización.

4.2.3. ACTIVIDAD PROTECTORA DEL EXTRACTO

4.2.3.1. Animales de experimentación

Todos los animales fueron acondicionados en el Bioterio de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, se emplearon 16 animales de experimentación *Rattus rattus* Albinus agrupados en grupo de 4 aleatoriamente (4 para control negativo, 4 para control positivo, 4 para control droga silimarina, 4 para tratamiento experimental con extracto de *Gentianella bicolor*). Los animales de 2 meses de edad fueron acondicionados en cajas plásticas con tapa de rejilla de acero inoxidable y recambiables; en condiciones ambientales controladas (con una temperatura a $25 \pm 1^\circ \text{C}$, humedad relativa $81 \pm 5\%$ y fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad ciclo (06 am – 06: 00 pm)), por un periodo de adaptación de 15 días.¹⁵ Se alimentaron con la formula proveído por la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote y agua tratada dándoles en biberones de plástico de 500 ml.

La identificación de los animales se realizó mediante marcas permanente de la siguiente manera

- Rata sin marca
- Brazo derecho
- Brazo izquierda
- Pata izquierda

Agua

Para realizar el control de agua y la influencia en el estado de salud de los animales se les administrara 200 ml de agua/cada grupo/día durante todo el estudio hasta el día del sacrificio. ¹⁵

4.2.3.2. Preparación del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor*.

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

Grupo	Peso promedio de las ratas
Control negativo (n°1)	215.50 gr
Control positivo (n°2)	259.10 gr
Silimarina 100 mg (n°3)	208.13 gr
<i>Gentianella bicolor</i> 200 mg(n°5)	259.25 gr

4.2.3.3. Administración de los tratamientos

Para evaluar el efecto preventivo, se administraron a las ratas albinas oralmente con una sonda orogástrica, posteriormente, se realizó la inducción del daño hepático después de cada administración de tratamiento

- Al grupo silimarina 100 mg se le administro 0.5ml de Silimarina al 80% en una concentración de 100 mg/kg durante 7 días, una vez al día por la mañana antes de la alimentación de los animales.
- Se administró 0.6 ml del extracto *Gentianella bicolor* en concentraciones de 200 mg/kg a un grupo de tratamiento *Gentianella bicolor* respectivamente durante 7 días. La administración fue una vez al día por la mañana antes de la alimentación de los animales.
- Al grupo control positivo se le administro 0,5ml de CCl₄ + agua destilada durante 7 días, la administración fue una vez al día por la mañana antes de la administración de la comida.
- Al grupo control negativo se le administro 0,5ml de agua destilada durante 7 días, sin ningún tratamiento y se los mantuvo en condiciones normales de agua y comida.

Conservación de las muestras hepatoprotectoras en la refrigeración a 4 °C.

4.2.3.4. 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 a los grupos: control positivo, control silimarina y grupo de experimentación, siendo este un compuesto que produce daño hepático.

- El 1er día se administró 2,0 ml/kg p.c de CCl₄, (v/v) de aceite de oliva
- El 2do 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 ratas por grupo:

Nº GRUPO	GRUPO EXPERIMENTALES	SUSTANCIAS	CANTIDAD
GRUPO 1	Control Negativo	Agua destilada +Alimentación	04
GRUPO 2	Control 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 de <i>Gentianella bicolor</i> 200mg/kg/día + CCl ₄	04

4.2.4. DETERMINACIÓN DE INDICADORES

4.2.4.1. 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

$$\% \text{ de incremento} = \frac{IH_{G_{\text{tto}}} - IH_{G_1}}{IH_{G_1}} \times 100$$

Donde:

- $IH_{G_{\text{tto}}}$: Índice hepático del grupo tratamiento
- IH_{G_1} : Índice hepático del grupo 1

4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
Variable dependiente	Actividad protector	Protección del tejido hepático de la inducción del Tetracloruro de carbono por vía orogastrica	Índice hepático, comparación macroscópicamente las características del órgano problema (hígado)
Variable independiente	Concentración del Extracto hidroalcohólico de las hojas, flores, y tallos de <i>Gentianella bicolor</i>	Concentración de 200mg/kg/día extracto hidroalcohólico.	Prevención de la intoxicación hepática

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se utilizará la observación directa, medición, registro y otras características que se observen en la evaluación de la actividad Hepatoprotector. Los datos obtenidos serán registrados en fichas de recolección de datos.

4.5. Plan de análisis.

Los resultados serán presentados según datos estadísticos (gráficos y tablas). Se presentará con gráficos para ver los valores que se obtienen a la realizar los análisis del perfil hepático. También se realizará tablas estadísticas que serán la Distribución de Frecuencia y la Prueba Kruskal- Wallis para poder ver los resultados y porcentajes de las cuatro pruebas de experimentación.

4.6. Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULA CIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS:	HIPOTESIS	VARIABLES	TIPO DE INVESTIGACIÓN	METODOLOGÍA
Efecto del extracto hidroalcoholico de <i>Gentianella bicolor</i> sobre el tejido hepático frente al daño inducido con tetracloruro de carbono	¿Tendrá efecto el extracto hidroalcoholico de <i>Gentianella bicolor</i> sobre el tejido hepático frente al daño inducido con tetracloruro de carbono	<p>Objetivo general: Determinar el efecto del extracto hidroalcoholico de <i>Gentianella bicolor</i> sobre el tejido hepático frente al daño inducido con tetracloruro de carbono</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Describir macroscópicamente las características del tejido hepático. -Determinar el índice hepático y porcentaje de incremento de tejido 	El extracto hidroalcohólico de <i>Gentianella bicolor</i> “Corpus huay” posee efecto protector en la toxicidad inducida por tetracloruro de carbono en <i>Rattus rattus Albinus</i> .	Se clasifica en dos: Variable Dependiente: actividad hepatoprotectora Variable Independiente: Extracto hidroalcoholico.	Este estudio de tipo experimental se evaluará del extracto hidroalcoholico de <i>Gentianella bicolor</i> sobre el tejido hepático frente al daño inducido con tetracloruro de carbono	Población vegetal: Hojas, flores y tallos de <i>Gentianella bicolor</i> Muestra vegetal: Se emplearán aproximadamente 2Kg de la planta. Muestra animal: 16 animales de experimentación

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

5.1.1 Exámenes macroscópico a Ratas (*Rattus rattus var albinus*)

TABLA 1: Examen macroscópico en ratas (*Rattus rattus var albinus*) administradas tetracloruro de carbono.

MUESTRA	EXAMEN MACROSCÓPICO
<i>BLANCO</i>	Hígado: Color: Rojo Vinoso Ancho:4.2 cm Largo: 5.4 cm Profundidad: 2cm Peso: 12,10 g
CONTROL POSITIVO (CCl ₄)	Hígado: Color: Rojo Palido Ancho:4.2 cm Largo: 5.2 cm Profundidad: 1.9cm Peso: 11.90 g
SILIMARINA 100 mg + CCL ₄	Hígado: Color: Rojo Vinoso Ancho: 3.9 cm Largo: 5.6 cm Profundidad: 2cm Peso: 11,85 g
<i>Extracto de Gentianella Bicolor 200 mg + CCL₄</i>	Hígado: Color: Rojo Vinoso Ancho:4.4 cm Largo: 6.2 cm Profundidad: 2cm Peso: 11.74, g

Fuente: Datos propios de la investigación

TABLA 2: Medición del peso de ratas durante la investigación en ratas (*rattus rattus var albinus*) administradas tetracloruro de carbono.

GRUPOS EXPERIMENTALES	N°	Media	Error típico
BLANCO	4	7.7	0.1
CONTROL POSITIVO (CCl ₄)	4	11.9	1.2
SILIMARINA 100 mg + CCL ₄	4	10.8	0.2
EXTRACTO DE <i>Gentianella</i> <i>Bicolor</i> 200 mg + CCL ₄	4	11.7	2.0

Fuente: Datos propios de la investigación

TABLA 3 Índice Hepático (IH) e incremento de tejido según grupo de tratamiento.

Grupos	IH* (%)	% de Incremento
Blanco	4.00 ± 0.03	-
CONTROL POSITIVO (CCl ₄)	4.79 ± 0.49	19.7
SILIMARINA 100 M+mg + CCl ₄	4.18 ± 0.61	4.34
Extracto de <i>Gentianella Bicolor</i> 200 mg + CCL ₄	4.11 ± 0.48	2.65

Fuente: Datos propios de la investigación

5.2. Análisis de resultados

Debido a que el hígado es uno de los principales blancos de intoxicación por xenobióticos y drogas. El presente trabajo se evaluó el efecto protector del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* frente al daño hepático agudo producido por tetracloruro de carbono (CCl₄). Se utilizó el modelo de inducción de daño hepático agudo por CCl₄, éste se administró al sexto y séptimo día de la administración (2 ml/kg,) con lo que se coincide con diferentes autores como **Canelo P, Mendoza Y**¹⁵. Este estudio reveló que el tetracloruro de carbono (CCl₄) aumentó significativamente los niveles de las enzimas presentes en el hígado. Asimismo, el tratamiento a largo plazo en *Rattus rattus var albinus* resulta, una disminución y pérdida de regeneración hepática, ya que el tetracloruro de carbono (CCl₄) se metaboliza por el cito-cromo P450 al radical triclorometilo, el cual inicia la lipoperoxidación celular, produciendo daño hepático al implicar la integridad de las membranas y por la unión covalente de intermedios reactivos a moléculas biológicamente importantes, como el glutatión, induciendo necrosis y daño hepático en general ⁴³. Por ello, se considera al estrés oxidativo como el principal mecanismo molecular involucrado en la toxicidad por tetracloruro de carbono, el cual tiene rol importante para la inactivación de células Kupffer en la fibrosis hepática inicial inducida por tetracloruro de carbono (CCl₄)⁴³. Así mismo el alto contenido de polifenoles en *Gentianella bicolor* reportados por **Huamán et al**¹¹ y **Solorsano et al**¹². son poderosos antioxidantes y poseen diversas actividades antiinflamatorias ya que uno de los componentes de polifenoles son los flavonoides siendo los inhibidores de la formación de leucotrieno B₄, potenciadores de la formación de prostaglandina E₂ e inhibidores de la liberación de óxido nítrico. En el presente trabajo se ha demostrado la reducción del

marcador del estrés oxidativo. Se justifica por la presencia de compuestos polifenólicos⁴³. Al evaluar mediante el examen macroscópico, no hubo diferencia en cuanto el color entre los grupos de tratamiento de *Gentianella bicolor* y el grupo de tratamiento con silimarina. En comparación con el estudio de **Veloz D**³⁸, refiere mediante el examen macroscópico de los hígados del tratamiento con boldo y silimarina donde observo una coloración rojo vinoso en ambos grupos, esto quiere decir que no se confirmaron alteraciones macroscópicas en el hígado. En cambio, en el grupo tratados con tetracloruro de carbono (CCl₄) se observó una gran diferencia del color rojo pálido a comparación de los otros grupos. Así como refiere en el estudio de **Asqui M**⁴¹. en la inducción de tetracloruro de carbono el hígado muestra una coloración de rojo pálido esto se puede decir que hay una destrucción del 90% del hígado. Sin embargo, sí hubo diferencia en el peso del hígado y el tamaño. En los animales con lesiones hepáticas fue significativamente menor comparado con los animales del grupo control y los otros grupos de tratamiento que recibieron el extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor*, mostrando una disminución del índice de hepatomegalia ($p < 0,001$) causado por la administración del tóxico.

VI. CONCLUSIONES

- El extracto hidroalcoholico de *Gentianella bicolor* a una dosis de 200mg/kg mostro una protecci3n significativa contra la lesi3n hep3tica inducida por tetracloruro de carbono (CCl₄)
- Las caracteristicas macrosc3picas evidencian un mejor aspecto en relaci3n al color, tama1o y peso del tejido hep3tico al que se administr3 el extracto hidroalcoh3lico de *Gentianella bicolor*.
- El 3ndice hep3tico fue de 4.11 ± 0.48 Y el porcentaje de incremento de tejido fue 2.65%

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Pérez C. El uso de las plantas medicinales [revista intercultural] 2008 [consultado 2 junio 2017]; 4 (26). Disponible en: http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/8921/1/tra6_p23-26_2010-0.pdf
2. Salazar J. Contribución al estudio químico y farmacológico de la *Gentianella umbellata*(G. Don) Fabris [Tesis]. Perú: Universidad Católica Del Perú;2010 [Consultado: 8 de septiembre de 2018]; (1-119) Disponible en: <http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/123456789/549>
3. Bermudez L. Evaluación Fitoquímica Y Comparación Del Efecto Hipoglucemiante De Extractos Acuosos 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>
4. Jorge C, Rocío S, A. Catálogo florístico de plantas medicinales peruanas - ministerio de salud del Perú [Artículo internet] 2013 [Consultado: 8 de septiembre de 2018]; 14(103). (6-7). Disponible en: www.bvs.ins.gob.pe/insprint/CENSI/catalogo_floristico_plantas_medicinales.pdf
5. 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: 8 de septiembre de 2018];
77(4):333-7. Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a03v77n4.pdf>
6. Akram M, et al. Curcuma longa and curcumin: A review article.
Revista:ROM. J. BIOL. – PLANT BIOL. 2010; 2(55): 66-70.
7. Gómez F. Plantas medicinales aprobadas en Colombia [Libro
Electrónico]. Colombia: Universidad de Antioquia; 2007 [Consultado: 10
de septiembre de 2018]; 368 Disponible en:
https://books.google.com.pe/books?id=K8eI-7ZeFpsC&pg=PA40&lpg=PA40&dq=uso+de+plantas+con+actividad+hepatoprotectora&source=bl&ots=6DA6wdxUey&sig=amqlAtDTFdwjhVp_IAqsQDfGurY&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwizmLTX39LUAhWJ2yYKHX95CVIQ6AEIRzAE#v=onepage&q=uso%20de%20plantas%20con%20actividad%20hepatoprotectora&f=false
8. 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: 10 de
septiembre de 2018];135 (15). Disponible en:
http://biblioteca.universia.net/html_bura/ficha/params/title/afectacion-hepatica-trabajadores-industria-petroquimica/id/55244425.html
9. Swaroop T. VSS., Gowda. Hepatotoxicity Mechanisms and its
Biomarkers. Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences. [Online

- Magazine]. 2012[Consultado: 10 de septiembre de 2018];1 (2): 675-682.
Disponible en:
<https://pdfs.semanticscholar.org/cf58/c439eadc52cdbe4bcb166f0b43de48709a79.pdf>
10. Tarun P, Sachdeva T, Bafna P. Drug-Induced Hepatotoxicity: A Review. Journal of Applied Pharmaceutical Science. [Online Magazine]. 2012; [Consultado: 11 de septiembre de 2018];02 (05): 233-243. Disponible en:www.japsonline.com/admin/php/uploads/490_pdf.pdf
11. 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>
12. 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 Cesar Vallejo de de Trujillo;2014 [Consultado: 12 de septiembre de 2018];15(1): 149 – 152.Disponible en:
132.248.9.34/hevila/UCVScientia/2014/vol6/no2/5.pdf
13. Ugaz L, Zafra J, Tapia E. Efecto de *gentianella alborosea* en esteatosis hepática no alcohólica inducida por dieta hiperlipídica en ratas holtzman hembras. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San

Marcos;2012[Consultado: 12 de septiembre de 2018];18(1). Disponible en:

<http://www.cimel.felsocem.net/index.php/CIMEL/article/download/225/164/>

14. 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>
15. 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.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4879/Pi_ero_Tesis_Titulo_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y
16. Nuñez J. Efecto del extracto acuoso DE *Gentianella nitida* (hercampuri) sobre los niveles de glucemia EN *Rattus rattus* var. *albinus* con hiperglucemia inducida [Tesis].Perú; Universidad los ángeles de Chimbote:2018 [Consultado: 25 de junio de 2018]; 20(49). Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/5159>

17. Segarra E. fisiología de los aparatos y sistemas [Libro Electrónico]. Ecuador: Universidad de Cuenca, 2006 [Consultado: 20 de junio de 2017]; 431 Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=4wWXYal1ubAC&pg=PA98&dq=fisiologia++del++higado&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiyr6j4t5bVAhXGOSYKHVi-B1IQ6wEIJTAA#v=onepage&q=fisiologia%20del%20higado&f=false>
18. García E, Fernández H. Histología humana practica enfermería [Libro Electrónico]. España: editorial universitaria ramón areces, 1983 [Consultado: 20 de junio de 2018]; 249 Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=72uUDAAAQBAJ&pg=PA237&dq=parenquima+y+estroma+del+higado&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwj9vZ6_rKLbAhUMuVMKHciuBDMQ6AEIMTAC#v=onepage&q=parenquima%20y%20estroma%20del%20higado&f=false
19. Ross M, Pawlina W. Histopatología.: Texto y atlas color con biología celular y molecular. [libro electrónico]. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2012. [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/>

20. Mataix J. Nutrición y alimentación. [libro electrónico]. España: ©MMIX Editorial Océano. 2000 [Consultado: 25 de junio de 2018];p. 1356, 1362, 1362 Disponible en: <http://ergon.es/producto/nutricion-y-alimentacion-humana-2a-edicion/>
21. Equipo radiológico tecniScan, 7 ligamentos hepáticos. MediCloud [Revista en Internet]. 2015 [Consultado: 20 de junio de 2017]; 62 (1-2). Disponible en: <https://medicloudme.wordpress.com/2015/09/04/los-7-ligamentos-hepaticos/>
22. Branunwald F, Kasper, H, Longo, J. Harrison Principios de Medicina Interna. 15a ed. [libro electrónico]. McGRAW W-HILL INTERAMERICANA EDITORES EDITORES, S.A. DE C.V., 2001. [Consultado: 25 de junio de 2018]; Pp. 2007-2056. Disponible en: http://www.axon.es/Axon/LibroFicha.asp?Libro=105759&T=HARRISON+PRINCIPIOS+DE+MEDICINA+INTERNA%2C+2+VOLS%2E+%2B+VIDEOS+ONLINE&gclid=CjwKCAjw9qfZBRA5EiwAiq0AbexAV-qK6WR4yFXup3SYT39ZOjeTKt7JQUWk4yokKeBI7V22DVqYbBoCkdMQAvD_BwE
23. Stevens A. et al. Patología clínica. México: 3ªed Mérito; [libro electrónico] México; Manual Moderno®; 2011. [Consultado: 14 de junio de 2018]; p. 282-300. Disponible en: <https://www.casadellibro.com/libro-patologia-clinica-3-ed/9786074480832/1897973>
24. Stephen J, McPHEE D. Fisiopatología de la enfermedad. Una introducción a la medicina. 7a ed. [libro electrónico] McGraw-Hill. 2015 [Consultado: 14 de junio de 2018]; p.373-412. Disponible en:

<https://www.amazon.es/Fisiopatolog%C3%ADa-Enfermedad-Introducci%C3%B3n-Medicina-CI%C3%ADnica/dp/6071512638>

25. Swaroop T. VSS., Gowda. Hepatotoxicity Mechanisms and its Biomarkers. Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences. [Online Magazine]. 2012 [Consultado: 24 de junio de 2017];1 (2): 675-682. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/cf58/c439eadc52cdbe4bcb166f0b43de48709a79.pdf>
26. Tarun P, Sachdeva T, Bafna P. Drug-Induced Hepatotoxicity: A Review. Journal of Applied Pharmaceutical Science. [Online Magazine]. 2012; [Consultado: 24 de junio de 2017]; 02 (05): 233-243. Disponible en: www.japsonline.com/admin/php/uploads/490_pdf.pdf
27. Calvo M, Mendoza E. Toxicología de los alimentos. [libro electrónico] México: Mc Graw Hill; 2012. [Consultado: 14 de junio de 2018]; p. 47-64. Disponible en: <https://www.laleo.com/toxicologia-de-los-alimentos-p-10663.html>
28. Fuertes J, Martí G, Sanz P. Hepatopatías tóxicas laborales. Ministerio de Trabajo e Inmigración.. [Revista en Internet] 2011 [consultado 20 junio 2017]; p. 18-19. Disponible en: www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/.../Hepatopatias/Hepatopatias.pdf

29. Arroyo J, Almora Y, Quino M, Raez E, Martínez J, Buendía J, Baca D, Hañari R. An Fac med [Revista en Internet]. 2012[consultado 20 junio 2017];73(2):85-91. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v73n2/a02v73n2.pdf>
30. Manibusan M, Jinot J, Kopylev L, White P, Schlosser P. TOXICOLOGICAL REVIEW OF CARBON TETRACHLORIDE. Washington: U.S. Environmental Protection Agency. [Online Magazine]. 2010 [consultado 20 junio 2017]; pp. 3-23. Disponible en: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/toxreviews/0020tr.pdf
31. Delaware Health and Social Services. Carbón tetrachloride. Division of Public Health. [Online Magazine]. 2015. [consultado 20 junio 2017]; pp. 1-2. Disponible en: www.dhss.delaware.gov/dph/files/cartetrafaq.pdf
32. 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/>
33. 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=0ahUKEwi9xrGelejAhVOuFMKHfmfCE8Q6AEIJzA>

[A#v=onepage&q=Anatom%C3%ADa%20con%20Orientaci%C3%B3n%20Cl%C3%ADnica.%2C%203%C2%AA.%20ed&f=false](#)

34. 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=metabolitos+hepatoprotectores&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjn8Z2wypbVAhXBKyYKHTHQA4IQ6wEIJTAA#v=onepage&q=metabolitos%20hepatoprotectores&f=false>
35. 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/>
36. Prieto J. La clínica y el laboratorio. [libro electrónico] 20va Ed. Editorial Masson Barcelona, España. 2006. [consultado 20 junio 2017]; Pàg. 100. <https://www.casadellibro.com/libro-la-clinica-y-el-laboratorio-20-ed/9788445816127/1078680>
37. Álvares F. Bibliotecas de pruebas bioquímica clínica. 02a ed. AGC – Laboratorio de Medicina. [Revista en Internet]. 2013. [Consultado: 25 de junio de 2017]; p. 33. Disponible en: www.hca.es/huca/web/contenidos/websdepartam/.../pruebas_completas-201306.pdf

38. 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: 2013 [Consultado: 25 de junio de 2018]; 136(8) Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2474/1/56T00342.pdf>
39. Vázquez R, Gerardo J, FernándezC, Anaya M, Rizzoli A. Silimarina, ácido alfa-lipoico y seleniometionina en el tratamiento de hígado graso: revisión sistemática de la literatura. Anales Médicos [Revista en Internet]. Mexico: Trabajo de revisión; 2011 [Consultado: 20 de junio de 2017]; 58, (1) 2013p. 37 – 46. Disponible en: www.medigraphic.com/pdfs/abc/bc-2013/bc131g.pdf
40. 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
41. 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: 2012 [Consultado 15 De octubre Del 2018]. Disponible En:

[Http://Dspace.Espoch.Edu.Ec/Bitstream/123456789/2590/1/56t00367.Pd](http://Dspace.Espoch.Edu.Ec/Bitstream/123456789/2590/1/56t00367.Pdf)

[f](#)

42. Huamán G. “Efecto Hepatoprotector del Zumo de Fruta de la Opuntia Ficus Indica (Tuna), variedad morada, en Ratas con Intoxicación Hepática Inducida por Paracetamol” [Tesis]. Peru; Universidad Nacional Mayor De San Marcos: 2015 [Consultado 15 De octubre Del 2018]. Disponible En:

http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/4192/S%C3%A1nchez_tc.pdf?sequence=3&isAllowed=y

43. Hañari R, 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. [Revista en Internet]. 2015 Abr [Consultado 15 de Octubre del 2018]; 76(2): 123-128. Disponible en:http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832015000300003

ANEXO 01



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 Ángeles 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

Anexo N° 02: Procedimiento experimental



Anexo N° 03: Preparación del extracto Corpus Huay (*Gentianella bicolor*)



Anexo N° 04: Preparación de silimarina



Anexo N° 05: Preparación del tetracloruro de carbono (CCl₄)



Anexo N° 06: Proceso de administración de tratamientos vía oral (sonda orogastrica)



Anexo N° 07: Extracción de sangre



Anexo N° 08: Proceso de extracción del hígado



Anexo N° 09: pesos de los hígados



Anexo N° 10: examen macroscópico de los hígados de *Rattus rattus var albinus*



BLANCO

CCl₄

Silimarina

***Gentianella
Bicolor* 200 mg**