

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA



FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS  
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BROMATOLOGÍA Y  
NUTRICIÓN HUMANA

## TESIS

Título:

**“Efecto hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* L. en daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono en ratas albinas”.**

**Autores:**

**Br. Canelo Saldaña, Piero Paolo**

**Br. Mendoza Gardini, Yrani Kateri**

**Asesores:**

**Ing. Alva Arévalo, Alenguer Géronimo. Dr.**

**Dr. Aranda Ventura, José**

**Ing. Villacrés Vallejo, Jorge Ysaac. Msc.**

**Blgo. González Aspajo, Germán. Msc.**

**Iquitos – Perú**

**2017**

## TESIS:


**TÍTULO:** “Efecto hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* L. en daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono en ratas albinas”.


## AUTORIZACIÓN DE LOS ASESORES

Ing. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo. Dr., docente principal del Departamento de Ingeniería de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; Dr. José Aranda Ventura, Director del Instituto de Medicina Tradicional de EsSalud; Ing. Jorge Ysaac Villacrés Vallejo. Msc, docente principal de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana y el Blgo. Germán González Aspajo. Msc. Jefe de División de Epidemiología del Instituto de Medicina Tradicional de EsSalud.

INFORMAMOS: Que la Br. Mendoza Gardini Yrani Kateri y el Br. Canelo Saldaña Piero Paolo, ha realizado bajo nuestra dirección, el trabajo contenido en el estudio de investigación titulada: "Efecto hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* L. en daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono en ratas albinas", y considerando que el mismo reúne los requisitos necesarios para ser presentado ante el Jurado Calificador; a tal efecto para la obtención del título de Licenciado (a) en Bromatología y Nutrición Humana.

AUTORIZACIÓN: A los citados Bachilleres a presentar el Trabajo Final de Carrera, para proceder a su sustentación cumpliendo así con la normativa vigente que regula los Grados y Títulos de la Facultad de Industrias Alimentarias en la Escuela Profesional de Bromatología y Nutrición Humana de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

  
\_\_\_\_\_  
Ing. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo. Dr.

  
\_\_\_\_\_  
Dr. José Aranda Ventura

  
\_\_\_\_\_  
Ing. Jorge Ysaac Villacrés Vallejo. Msc

  
\_\_\_\_\_  
Blgo. Germán González Aspajo. Msc.

**MIEMBRO DEL JURADO**

Tesis aprobada en la Sustentación Pública el 21 de Junio del 2017 por el Jurado nombrado por la Dirección de Escuela de Formación Profesional de Bromatología y Nutrición Humana para optar el Título de:

LICENCIADO (A) EN BROMATOLOGIA Y NUTRICION HUMANA



---

Blga. Jessy Patricia Vásquez Chumbe  
Presidente



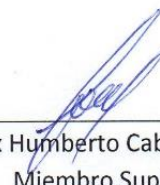
---

Lic. Miriam Ruth Alva Angulo  
Miembro Titular



---

Qf. Henry Vladimir Delgado Wong  
Miembro Titular



---

Ing. Félix Humberto Cabrera Sánchez  
Miembro Suplente



**ACTA DE SUSTENTACIÓN**

En la ciudad de Iquitos, siendo las 17:30 horas del día miércoles 21 de junio del 2017, en las instalaciones del Auditorio de la Facultad de Agronomía, ubicado en calle Samanez Ocampo con Nauta de esta ciudad, se dio inicio a la sustentación pública de la tesis **"EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ACUSOS LIOFILIZADO DE *Curcuma longa* L. EN DAÑO HEPÁTIGO AGUDO POR TETRACLORURO DE CARBONO EN RATAS ALBINAS"**, presentado por los Bachilleres **PIERO PAOLO CANELO SALDAÑA** e **YRANI KATERI MENDOZA GARDINI**, con el asesoramiento de don **ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO**, don **JOSÉ ARANDA VENTURA**, don **JORGE YSAAC VILLACRES VALLEJO** y don **GERMÁN GONZÁLEZ ASPAJO**.



Estando el Jurado Calificador conformado por los siguientes miembros, según Resolución Decanal N° 157-FIA-UNAP-2017, del 25 de mayo del 2017.


- |                                     |   |                  |
|-------------------------------------|---|------------------|
| Blga. Jessy Patricia Vásquez Chumbe | - | Presidenta       |
| Lic. Miriam Ruth Alva Angulo        | - | Miembro          |
| Q.F. Henry Vladimir Delgado Wong    | - | Miembro          |
| Ing. Félix Humberto Cabrera Sánchez | - | Miembro Suplente |

Siendo las 18:30 horas del mismo día, se dio por concluida la sustentación, habiendo sido APROBADA con la nota de 17 y el calificativo de MUY BUENA estando los bachilleres aptos para obtener el Título Profesional de Licenciado (a) en Bromatología y Nutrición Humana.

El Jurado Calificador alcanzará a los sustentantes, si el caso lo requiere, las correcciones u observaciones presentadas.

  
Blga. Jessy Patricia Vásquez Chumbe  
Presidente  
CBP: 2584

  
Miriam Ruth Alva Angulo  
Licenciada en Nutrición  
C.N.P. N° 0130  
Miembro Titular

  
Henry Vladimir Delgado Wong  
Químico Farmacéutico  
Miembro Titular

  
Félix Humberto Cabrera Sánchez  
Ingeniero en Industrias Alimentarias  
CIP: 77142  
Miembro Suplente



## DEDICATORIA

Dedico este trabajo a las dos personas, que me apoyaron, me impulsaron y nunca perdieron la fe en mí, dándome la fortaleza que necesite a mi madre Lastenia Gardini Silva y Julia Granger. A ellas, que con dedicación y consejos me ayudaron a conseguir mis objetivos, y unas de mis metas, las amo.

A mis hermanos y sobrinos a Lady, Gegner, Ludith, Viccar, Anghelo, Lucas, Melany, Jung Pyo y Cielo, porque el amor incondicional que les tengo, fueron mi fuerza en cada paso que doy, a ellos con mucho cariño.

A mi padre que su forma de amarnos fueron uno de los impulsos, a que pueda llegar a cumplir uno de mis objetivos.

A Joel Fredy Granados Mercado, por el apoyo incondicional que me brinda y por darme ánimos en superarme cada día.

A mis amigos por sus apoyos, y contar con ellos en cada momento de mi vida, por sus hermosos regalos de amistad que me dan. Para ustedes, en especial a mi compañero de todo un camino universitario me refiero a Piero Paolo Canelo Saldaña gracias amigo por tu apoyo por acompañarme en cada travesía que decido tomar haciendo mis proyectos e ideas tuyas también, gracias por escucharme y estar siempre a mi lado.

De Yrani Kateri Mendoza Gardini

Dedico a Dios, por haberme dado la oportunidad de culminar con mi pequeño proyecto de estudio, por tener padres maravillosos, amigos leales, salud y la paciencia para poder cumplir todos mis proyectos.

Dedico mi esfuerzo a mi mejor aliada, que me ayudó a recorrer este largo camino, quien estuvo y estará en mi querida madre: Marcia Saldaña Rengifo.

A mis amigos, en especial a Yrani Kateri Mendoza Gardini, por su gran apoyo, por ser mi cómplice, por acompañarme en todos mis proyectos.

Dedico a mis docentes, por la exigencia, la dedicación, los consejos que me brindaron de todos estos años.

De Piero Paolo Canelo Saldaña



## AGRADECIMIENTO

A Dios por su infinito amor que nos brinda, que desde el cielo está siempre dándonos la fortaleza a seguir y cuidar de cada paso que damos en la vida. Por hacer que en cada obstáculo que se presentaron en nuestras vidas veamos una luz de esperanza, y que sus enseñanzas nos ayudaron a encontrar el camino en un sendero oscuro donde las estrellas todavía titilaban de brillo.

A nuestros asesores el Dr. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo, Dr. José Aranda Ventura, Ing. Jorge Ysaac Villacrés Vallejo, Blgo. Germán González Aspajo, y a nuestros profesores: Anatómopatólogo Francisco Flores Echevarría, Ing. Julio Arce y Q.F. Henry Vladimir Delgado Wong, Lic. Eliseo Zapata, Lic. Luis Orejuela Arellano por guiarnos, orientarnos, por las enseñanzas impartidas dentro y fuera de las aulas, por toda la paciencia, comprensión que nos tienen; por el apoyo y confianza en nosotros, brindándonos sus conocimientos.

Al IMET-EsSalud por darnos la confianza y permitimos formar parte de su grandioso equipo de trabajo en especial Q.F. Williams Vigo, Sandra, Bch que en el laboran.

A IVITA en especial a la Dra. Nofre Sánchez por brindarnos sus conocimientos y su apoyo incondicional.



## ÍNDICE CONTENIDO

ÍNDICE CONTENIDO .....	VII
INDICE DE TABLAS.....	XII
INDICE DE FIGURAS .....	XIII
LISTAS DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	XIV
RESUMEN.....	XVI
ABSTRACT.....	XVII
CAPITULO I: INTRODUCCIÓN .....	1
CAPITULO II: REVISIÓN DE LITERATURA .....	2
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN .....	2
2.2. Marco Teórico .....	7
2.2.1. HÍGADO.....	7
2.2.1.1. Anatomía Hepática .....	7
2.2.1.1.1. Situación.....	7
2.2.1.2. Histología Hepática.....	7
2.2.1.2.1. Estroma .....	7
2.2.1.2.2. Parénquima .....	8
<b>2.2.1.2.2.1. Hepatocitos .....</b>	<b>8</b>
<b>2.2.1.2.2.2. Lobulillos hepáticos .....</b>	<b>8</b>
<b>2.2.1.2.3. Espacio portal o de kiernan.....</b>	<b>8</b>
2.2.1.3. Fisiología del hígado .....	9
2.2.1.3.1. Metabolismo de carbohidratos.....	9
2.2.1.3.2. Metabolismo de proteínas.....	10
2.2.1.3.3. Metabolismo de lípidos .....	11
2.2.1.3.4. Otras funciones metabólicas del hígado .....	11
2.2.1.4. Capacidad funcional del hígado .....	11

2.2.1.5. Enfermedades hepáticas.....	12
2.2.2. HEPATOTOXICIDAD .....	18
2.2.2.1. Clasificación de Hepatotoxicidad.....	18
2.2.2.2. Mecanismo hepático .....	21
2.2.2.3. Mecanismos responsables de la hepatotoxicidad .....	22
2.2.2.4. Compuestos Hepatotóxicos.....	24
2.2.3. TETRACLORURO DE CARBONO (TETRACLOROMETANO) .....	25
2.2.3.1. Toxicocinética y Mecanismo de acción del tetracloruro de carbono .....	27
2.2.3.1.1. Metabolismo .....	27
2.2.3.2. Manifestaciones clínicas .....	29
2.2.3.3. Efectos del tetracloruro de carbono en la salud .....	29
2.2.3.4. Trastornos histopatológicos por tetracloruro de carbono .....	31
2.2.4. TRANSAMINASAS HEPÁTICAS .....	32
2.2.4.1. Niveles de transaminasas en la sangre.....	33
2.2.4.2. Transaminasas elevadas .....	33
2.2.4.3. Papel importante de las transaminasas en el metabolismo.....	34
2.2.5. PERFIL HEPÁTICO .....	34
2.2.5.1. Fosfatasa alcalina .....	35
2.2.5.2. Nucleotidasa (5-NT) .....	35
2.2.5.3. Tiempo de protrombina y respuesta a la Vitamina K.....	35
2.2.5.4. Examen de albúmina sérica .....	35
2.2.5.5. Examen de fosfatasa alcalina sérica .....	36
2.2.5.6. Examen de lactato deshidrogenasa (LDH).....	36
2.2.6. Curcuma longa L.....	37
2.2.6.1. Etimología .....	37
2.2.6.2. Origen .....	38
2.2.6.3. Historia .....	38
2.2.6.4. Clasificación Taxonómica de la Curcuma longa L. ....	39
2.2.6.5. Descripción Botánica.....	39

2.2.6.6. Partes utilizadas .....	39
2.2.6.7. Composición química .....	40
2.2.6.8. Valor nutricional.....	42
2.2.6.9. Acciones farmacológicas.....	42
2.2.6.10. Efectos adversos y/o tóxicos.....	45
2.2.6.11. Uso tradicional.....	45
2.2.7. SILIMARINA.....	46
2.2.7.1. Propiedades .....	46
2.2.7.2. Usos.....	46
2.2.8. <i>Rattus norvegicus</i> ALBINUS CEPA HOLZTMAN .....	47
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS .....	48
3.1. MATERIALES.....	48
3.1.1. Material biológico.....	48
3.1.2. Equipos.....	48
3.1.3. Reactivos y colorante.....	49
3.1.4. Materiales de vidrio.....	49
3.1.5. Materiales de limpieza.....	49
3.1.6. Materiales de aclimatación: .....	50
3.1.7. Otros materiales .....	50
3.2. METODOLOGÍA .....	52
3.2.1. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	52
3.2.2. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO.....	52
3.2.2.1. Certificación de la especie vegetal.....	52
3.2.2.2. Secado de las especies vegetales .....	53
3.2.2.3. Verificación del estado de la especie vegetal después de la aclimatación en el secadero del IMET-EsSalud. ....	53
3.2.2.4. Molienda de las hojuelas .....	53

3.2.2.5. Propiedades	del	extracto.	
.....			53
3.2.2.6. LIOFILIZADO	.....		53
3.2.3. CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL FITOQUÍMICO DEL RIZOMA	.....		54
3.2.4. ANÁLISIS DE LA CURCUMINA EN EL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO	.....		57
3.2.5. CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASA DE Curcuma longa.	.....		57
3.2.6. ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE Curcuma longa.	.....		58
3.2.5.1. Animales de experimentación.	.....		58
3.2.5.2. Preparación del extracto acuoso liofilizado de Curcuma longa.	.....		59
3.2.5.3. Preparación de la silimarina al 80%	.....		60
3.2.5.4. Administración de los tratamientos.	.....		61
3.2.5.5. Administración de tetracloruro de carbono (CCl <sub>4</sub> )	.....		62
3.2.7. ENSAYOS BIOQUÍMICOS DE AST, ALT Y ALP.	.....		64
3.2.7.1. Colecta de Sangre.	.....		64
3.2.7.2. DETERMINACIÓN AST, ALT y ALP.	.....		65
3.2.8. EXAMEN HISTOPATOLÓGICO.	.....		65
3.2.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	.....		67
CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES	.....		68
4.1. RESULTADOS	.....		68
4.1.1. DETERMINACIÓN DE LA CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL FITOQUÍMICO DEL RIZOMA	.....		68
4.1.2. ANÁLISIS DE LA CURCUMINA EN EL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO	...		69
4.1.3. DETERMINACIÓN CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASA DE LA CURCUMA LONGA L.	.....		69
4.1.4. ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO DE CURCUMA LONGA EN RATA INDUCIDA POR TETRACLORURO DE CARBONO	.....		71
4.1.4.1. ANÁLISIS DE LOS NIVELES SÉRICOS DE ENZIMAS	.....		71

4.1.4.1.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS NIVELES SÉRICOS DE ENZIMAS ....	¡Error!
<b>Marcador no definido.</b>	
4.1.3.2. ESTUDIOS HISTOPATOLÓGICOS.....	73
4.2. DISCUSIONES .....	75
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	77
5.1. CONCLUSIONES .....	77
5.2. RECOMENDACIONES .....	77
CAPITULO VI: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
ANEXOS.....	86

## INDICE DE TABLAS

TABLA N° 1: Clasificación patogénica de hepatotoxicidad por sustancias naturales....	19
TABLA N° 2: Clasificación de la hepatotoxicidad por fármacos.....	19
TABLA N°3: Tipo químico y circunstancias de la exposición a las sustancias hepatotóxicos. ....	20
TABLA N° 4: Propiedades físicas e identidad química del tetracloruro de carbono.....	26
TABLA N° 5: Resumen sobre la composición nutricional de 100g de cúrcuma, y por 3 g que equivalen a una ración por persona.....	39
TABLA N° 6: Resumen sobre la composición nutricional de 100g de cúrcuma, y por 3 g que equivalen a una ración por persona.....	42
TABLA N° 7: Clasificación taxonómica de <i>Rattus norvegicus</i> . ....	47
TABLA N° 8: Equipos utilizados en la investigación.....	48
TABLA N° 9: Materiales de limpieza .....	49
TABLA N° 10: Materiales de limpieza .....	49
TABLA N° 11: Otros materiales. ....	50
TABLA N° 12: Esquema de actividades .....	54
TABLA N° 13: Peso promedio de cada grupo para la preparación de extracto .....	59
TABLA N° 14: ESQUEMA DE LOS GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN .....	62
TABLA N° 15: Sustancias a utilizar en proceso de desparafinación. ....	66
TABLA N° 16: Procedimiento de tinción Hematoxilina-Eosina en Hígado de ratón.....	66
TABLA N° 17: Deshidratación de las muestras.....	67
TABLA N° 18: Aclaramiento de muestras.....	67
TABLA N° 19: Tamizaje fitoquímico. ....	68
TABLA N° 20: Resumen cromatógrafo.....	70
TABLA N° 21: Valores descriptivos de AST, ALT y ALP en ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ) administradas CCl <sub>4</sub> en la investigación del efecto hepatoprotector de <i>Curcuma longa</i> L. (guisador). Bioterio de la IMET-EsSalud. UNAP,2017. ....	71

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1: Cara diafragmática del hígado. ....	7
FIGURA N° 2: Histología del hígado. ....	9
FIGURA N° 3: Esteatohepatitis alcohólica, vista microscópica.¡Error! Marcador no definido.	
FIGURA N° 4: Cirrosis, vista macroscópica. ....	16
FIGURA N° 5: Estructura química del tetracloruro de carbono.¡Error! Marcador no definido.	
FIGURA N° 6: Metabolismo del tetracloruro de carbono.....¡Error! Marcador no definido.	
FIGURA N° 7: Planta de <i>Curcuma longa</i> y rizomas.....	37
FIGURA N° 8: Curcumina.....	40
FIGURA N° 9: Demethoxycurcumin, Bis-Demethoxycurcumin. ....	41
FIGURA N° 10: Estructura química de Zingibereno (A), ar-turmerona (B), $\alpha$ curcumeno (C), $\alpha$ -bisaboleno (D) y $\beta$ -sesquifelandrenendreno (E).....	41
FIGURA N° 11: Valores descriptivos de AST expresados como media $\pm$ SD (n=4) en ratas ( <i>Rattus novergicus</i> ) administradas CCL <sub>4</sub> en la investigación del efecto hepatoprotector de <i>Curcuma longa</i> L. Bioterio del IMET-EsSalud. UNAP,2017. ....	72
FIGURA N° 12: Valores descriptivos de ALT expresados como media $\pm$ SD (n=4) en ratas ( <i>Rattus novergicus</i> ) administradas CCL <sub>4</sub> en la investigación del efecto hepatoprotector de <i>Curcuma longa</i> L. Bioterio del IMET-EsSalud. UNAP, 2017.....	72
FIGURA N° 13: Valores descriptivos de F. alcalina expresados como media $\pm$ SD (n=4) en ratas ( <i>Rattus novergicus</i> ) administradas CCL <sub>4</sub> en la investigación del efecto hepatoprotector de <i>Curcuma longa</i> L. Bioterio del IMET-EsSalud. UNAP, 2017.....	72
FIGURA N° 14: Microfotografía del tejido hepático normal de rata control negativo.....	73
FIGURA N° 15: Microfotografía del tejido hepático de rata control positivo (CCl <sub>4</sub> ). ....	73
FIGURA N° 16: microfotografía del tejido hepático de rata grupo silimarina.....	74
FIGURA N° 17: Microfotografía del tejido hepático del grupo control curcuma 100 mg.	74
FIGURA N° 18: Microfotografía del tejido hepático del grupo control cúrcuma 200 mg.	74



## LISTAS DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

**CCl<sub>4</sub>**: Tetracloruro de carbono

**AST**: Aspartato aminotransferasa

**ALT**: Alanino sérica aminotransferasa

**ALP**: Fosfatasa alcalina

**p.c**: peso corporal

**i.p**: Vía intraperitoneal

**i.m**: Vía intramuscular

**ml**: mililitros

**mg**: miligramos

**kg**: kilogramos

**IMET**: Instituto de Medicina Tradicional

**ADN**: Ácido desoxirribonucleico

**MDA**: Malondialdehído

**VHC**: Hepatitis C

**DHAP**: Dihidroxiacetona fosfato

**g**: Gramos

**VLDL**: Lipoproteína de muy baja densidad

**RNA**: Ácido ribonucleótidos

**HVB**: Virus de hepatitis B

**IgM**: Inmonoglobulina M

**HBc**: Hepatitis B

**NAD**: Dinucleótido de nicotinamida y adenina.

**NADH**: Dinucleótido de nicotinamida y adenina deshidrogenas

**EHGNA**: Enfermedad de hígado graso alcohólica

**CREST**: Calcinosi depósito de calcio en la piel, fenómeno de Raynaud espasmo vascular, disfunción esofágica reflujo de ácido y disminución de la mortalidad esofágica, esclerodactilia engrosamiento y tensión de los manos y dedos de la mano, y telangiectasias

**IgA**: Inmonogloulina A

**CBP**: Cirrosis biliar primaria

**SNC**: Sistema Nervioso Central

**TP53 ó p53**: gen supresor tumoral

**K-RAS**: El gen KRAS elabora la proteína KRAS que participa en las vías de señalización celular, el crecimiento de las células y la apoptosis (muerte de las células).

**HTX**: Hepatototoxicidad

**IHA:** Insuficiencia hepática aguda  
**Hem:** Hemoglobina  
**RNA<sub>m</sub>:** Ácido ribonucleótidos mensajero  
**PCT:** Porfiria cutánea  
**PVC:** Cloruro de vinilo  
**CYP:** Citocromo p-450  
**VIH:** Virus inmunodeficiencia humana  
**BTX:** Hidrocarburos aromáticos  
**CO<sub>2</sub>:** Dióxido de carbono  
**CHCl<sub>3</sub>:** Cloroformo  
**m<sup>3</sup>:** metros cubico  
**CCl<sub>3</sub>:** Cloroformo  
**DDT:** Dicloro difenil tricloroetano  
**O<sub>2</sub>:** Oxigeno  
**SIDA:** Síndrome de inmunodeficiencia adquirida  
**TP:** Tiempo de protrombina  
**TTPa:** Tiempo de tromboplastina parcial activa  
**LDH:** Lactato deshidrogenasa  
**H:** Subunidad del LDH.  
**M:** Subunidad del LDH.  
**OMT:** O-metiltransferasa  
**ZIS:** Zingibereno sintasa  
**USDA:** Departamento de Agricultura de los Estados Unidos  
**LDL:** Lipoproteína de baja densidad  
**MAO:** Enzima monoaminoxidasa  
**mm:** Milímetros  
**rpm:** Repeticiones por minuto  
**INS:** Instituto Nacional de Salud  
**DMSO:** Sulfoxido de metilo  
**DCM:** Diclorometano  
**ANOVA:** Análisis de varianza  
**ul:** Microlitro  
**EtOH:** Compuesto químico etanol

## RESUMEN

El daño hepático es una inflamación del parénquima, provocado por diferentes factores como agentes xenobióticos y una dieta desequilibrada en nutrientes, causando la apoptosis del tejido hepático. Se evaluó el efecto hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* L. frente al daño hepático agudo producido por tetracloruro de carbono en ratas albinas. Se dividieron en 5 grupos contando con 4 integrantes: control negativo y control positivo (CCl<sub>4</sub>) fueron administrados con agua destilada (0,5 ml/kg, p.o.); grupo experimentales tratados con el extracto acuoso liofilizado de *C. longa* (100 mg y 200 mg/kg, p.o.) y grupo silimarina (100 mg/kg, p.o.), 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 de CCl<sub>4</sub>. La muestra de sangre se recogió 24 horas después de la administración de CCl<sub>4</sub>; bajo anestesia con ketamina/xilacina/atropina, para la estimación de marcadores bioquímicos de ALT, AST y ALP, seguidamente los animales se sacrificaron para el estudio histopatológico. El grupo positivo mostró un aumento de ALT, AST y ALP con respecto al grupo control negativo ( $p < 0,05$ ). Los grupos experimentales de cúrcuma (100 mg y 200 mg) con CCl<sub>4</sub> mostraron una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) en los niveles séricos de AST, ALT y ALP. En la observación histológica el grupo de cúrcuma 200 mg/kg mostró una estructura normal del tejido hepático, con respecto al grupo control positivo. Así, los resultados demuestran que la cúrcuma, sembrada en nuestra Región Amazónica, tiene efecto hepatoprotector frente al CCl<sub>4</sub>.

**Palabras claves:** *Curcuma longa*, hepatoprotector, curcumina.

## **ABSTRACT**

Hepatic damage is an inflammation of the parenchyma, caused by different factors such as xenobiotic agents and a diet unbalanced in nutrients, causing apoptosis of the liver tissue. The hepatoprotective effect of the lyophilized aqueous extract of *Curcuma longa* L. against the acute liver damage produced by carbon tetrachloride in albino rats was evaluated. They were divided into 5 groups with 4 members: negative control and positive control (CCl<sub>4</sub>) were administered with distilled water (0.5 ml/kg, po); (100 mg/kg, po) and silymarin group (100 mg/kg, po), respectively. The duration of the treatment lasted 7 days; on day 6 and 7, after 12 hours of fasting, except for the negative control group, were treated with 2 ml CCl<sub>4</sub>. The blood sample was collected 24 hours after CCl<sub>4</sub> administration; under anesthesia with ketamine/xylazine/atropine, for the estimation of biochemical markers of ALT, AST and ALP, and then the animals were sacrificed for the histopathological study. The positive group showed an increase of ALT, AST and ALP with respect to the negative control group ( $p < 0.05$ ). Experimental groups of turmeric (100 mg and 200 mg) with CCl<sub>4</sub> showed a significant decrease ( $p < 0.05$ ). In the serum levels of AST, ALT and ALP. In histological observation the turmeric group 200 mg/kg showed a normal structure of the liver tissue, with respect to the positive control group. Thus, the results show that turmeric, planted in our Amazon Region, has a hepatoprotective effect against CCl<sub>4</sub>.

**Key words:** *Curcuma longa*, hepatoprotective, curcumin.

## CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

La *Curcuma longa* L, es una especie vegetal milenaria, originaria del continente asiático, traída desde la lejana India Oriental en la época de la conquista<sup>(1)</sup>; es famosa por poseer diversas cualidades como colorante, saborizante y en especial por su aporte a la medicina tradicional la cual ha sido comprobada muchas de sus propiedades antioxidantes<sup>(2)</sup> y hepatoprotectoras<sup>(3)</sup>, mediadas por su fuerte poder antioxidante y su alta capacidad de protección del ADN contra el daño peroxidativo<sup>(4)</sup>; es considerada como tratamiento para la lepra, la ictericia, enfermedades gastrointestinales y hepáticas. Actualmente conocida en nuestra Amazonía como Guisador.

A lo largo de los años se viene realizando muchos estudios de investigación en búsqueda de extractos o sustancias para proteger al hígado de los efectos nocivos hepatotóxicos. La capacidad hepatoprotectora de la especie ha sido ampliamente estudiada frente al daño hepático en distintos países, producidos por diferentes xenobióticos; los estudios en animales demostraron el efecto hepatoprotector de la cúrcuma de una variedad de patógenos, incluyendo tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>), galactosamina, acetaminofén (Paracetamol), y *Aspergillus aflatoxin*<sup>(5)</sup>.

El hígado es la glándula anexa más importante del aparato digestivo, encargado de metabolizar sustancias químicas traídas por nuestros alimentos, bebidas, medicamentos y entre otros. El daño hepático es producido por diferentes mecanismos como por ejemplo una paupérrima alimentación, por sustancias xenobióticas como el exceso de consumo de bebidas alcohólicas; lo que acrecienta la incidencia de enfermedades hepática. En nuestro país se ha convertido en la novena causa de mortalidad y suele manifestarse entre 30 y 59 años, es decir en la etapa productiva del ser humano<sup>(6)</sup>.

En la presente investigación tiene como objetivo evaluar el efecto hepatoprotector de *Curcuma longa* L, cultivado en nuestra amazonia, frente al daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono, a través de marcadores bioquímicos del AST, ALT y ALP y estudios histopatológicos.

## CAPITULO II: REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

**Vinay BS. et al. (2016)** <sup>(7)</sup>, comprobaron la actividad hepatoprotectora usando la combinación de fitoconstituyentes de *Phyllanthus niruri*(PN) y *Curcuma longa*(CL) inducida a hepatotoxicidad por etanol. Se utilizaron ratas albinos adultos de cepa wistar que pesaron 150-200 gr divididas en 4 grupos, cada grupo contenía 6 ratas. El Grupo I(control) recibió DMS 3 ml/día oralmente. Los Grupos II, III y IV recibieron 3.7 gr/kg de etanol vía oral; los grupos III y IV además del etanol recibieron el extracto de PN y CL (400 mg/kg, p.o.) y Liv 52(100 mg/kg, p.o.). Todas las ratas fueron tratadas durante 28 días. Al final del tratamiento el día 29, a las ratas de todos los grupos se les administro tiopentona sódica (40 mg/kg, i.p.); se registró el inicio del sueño y la duración total. Después de que las ratas despertaran del sueño se recogió la sangre por punción retroorbital y se procedió al sacrificio para el retiro del hígado. Los niveles séricos de las enzimas con la administración del etanol causo un aumento significativo( $p < 0.05$ ) en los niveles séricos de las enzimas AST, ALT, ALP y TB, cuando se comparó con el grupo control indicando un daño hepático. La coadministración del PN y CL junto al etanol impidió el aumento significativo( $p < 0.05$ ) de los valores de AST, ALT, ALP y TB fue comparable a Liv.52. Los valores de TB fueron mejores en el grupo de Liv 52 en comparación con el grupo de PN y CL, pero esto no fue estadísticamente significativo. La sección histológica del hígado de ratas tratadas con Etanol (Grupo II) mostró vacuolas (cambios grasos), congestión de vena central y sinusoides con infiltración linfocítica y alteración del parénquima hepático. Los grupos tratados con el extracto de PN y CL extracto (Grupo III) ratas tratadas, mostró parénquima hepático casi normal, con arquitectura lobular normal con mínima infiltración linfocítica.

**Bio Health Protection (2016)** <sup>(8)</sup>, realizó un estudio clínico aleatorizado, demostrando que la cúrcuma reduce de manera eficiente la alta concentración de aminotransferasas, y la regulación de la actividad del hígado. La actividad protectora de curuma es tan fuerte que puede inhibir el progreso de la cirrosis hepática y limitar la propagación de la infección por el virus VHC.

**Abdulrahman A., et al. (2015)** <sup>(9)</sup>, evaluaron el efecto del extracto *Tragia involucrata* en la hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono ( $CCl_4$ ) en ratas albinos wistar que pesaban 150-200 gr, la cual se dividieron en 7 grupos de 6 cada uno. Los animales del grupo III, IV y V recibieron tratamiento previo con el extracto de T. *involucrata* a dosis de 100, 200 y 300 mg/ kg respectivamente y el fármaco estándar (Slilymarin) a dosis de 100 mg/kg a los animales del grupo control durante 7 días consecutivos, seguido de la administración del  $CCl_4$  (1,5 ml / kg p.o.) diluido con parafina líquida (relación 1: 1). Los animales del grupo I (control normal) recibieron agua salinizada y el

grupo II (control tóxico) tratados con CCl<sub>4</sub> (1,5 ml / kg p.o.). El grupo VII se trató con extracto de metanol (MTI) a 300 mg/kg solamente y sirvió como control. Al final del experimento se recogió una muestra de sangre para la estimación de marcadores bioquímicos en suero, luego los animales se sacrificaron bajo anestesia con éter para obtener el hígado para estimar el análisis histopatológico. La inducción con CCl<sub>4</sub> indujo a daño hepático significativa ( $p < 0.01$ ) que se manifestó con un aumento de los niveles séricos de TGO, TGP, ALP, proteína total y albumina en comparación con el normal. Los pretratamientos del extracto del grupo III, IV y V revertieron significativamente estos cambios dependiendo de la dosis. El pretratamiento con silimarina también preserva estos cambios bioquímicos en los marcadores séricos de la función hepática inducidos por la administración de CCl<sub>4</sub> sin embargo el MTI no produjo ninguna alteración significativa en los marcadores bioquímicos hepático. El análisis histopatológico de los tejidos hepáticos tratados con CCl<sub>4</sub> mostro un importante cambio graso centrolobulillar con una vena central prominente y agrandada en comparación con el control donde no se observa tales alteraciones estructurales. El tratamiento con *T. involucreta* de 100 mg, 200 mg y 300 mg/kg y silimarina demostró una marcada mejoría en el micro inducido por CCl<sub>4</sub>.

**Hismiogullari S.E. et al. (2014)** <sup>(10)</sup>, estudiaron el efecto hepatoprotector de la curcumina (CUR) frente a la NASH, inducida por CCl<sub>4</sub>. Se obtuvieron 30 ratas macho wistar- albino de 5 meses de edad, pesando 250-300 gr divididos aleatoriamente en 3 grupos: Grupo control (grupo 1) se le administro aceite de oliva por sonda durante 3 semanas; grupo CCl<sub>4</sub> (grupo 2) sometido a tratamiento subcutáneo (Sc) de CCl<sub>4</sub> (0.5 ml/kg de peso corporal en aceite de oliva cada dos días durante 3 semanas, y Grupo CUR (grupo 3) sometido a inyección Sc de CCl<sub>4</sub> (0,5 ml/kg en aceite de oliva cada dos días durante 3 semanas más 200 mg/kg de peso corporal de curcumina disuelto en aceite de oliva y administrado por sonda al día por 3 semanas. Las ratas de todos los grupos fueron anestesiadas el día 21 de la administración de CCl<sub>4</sub> con pentobarbitona sódica (6 mg / 100 g de peso corporal, Intraperitoneal). Las muestras de sangre, se recogieron de la aorta abdominal aproximadamente 3 ml de cada animal para el análisis bioquímico, y antioxidantes totales; después se procedió a la hepatectomía de los animales para separar el hígado para histopatológico. La administración de CCl<sub>4</sub> aumento las actividades ALT y AST, y los niveles séricos de MDA en comparación con el grupo control. La administración CUR con CCl<sub>4</sub> suprimió el aumento de los niveles séricos de ALT, AST y MDA. La sección hepática del grupo control mostró un aspecto histológico normal, mientras que los hígados de ratas tratadas con CCl<sub>4</sub> demostraron degeneración grasa. La administración de CUR atenuó la degeneración grasa.



**Favari L., et al. (2013)** <sup>(11)</sup>, midieron el efecto hepatoprotector y antioxidante de *Taraxacum officinale* (100, 200 y 400 mg/kg) en la intoxicación hepática aguda con tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>). Se utilizaron ratas Wistar macho adultas. Los animales fueron divididos en 7 grupos de 6 o 8 integrantes. El grupo 1 recibió 0.5 ml/100 g de pc de aceite de maíz por vía oral. Los animales del grupo 2 recibieron 0.5 ml/100 g de pc de agua destilada. Los grupos 3, 4, 5, 6 y 7 recibieron el tratamiento con CCl<sub>4</sub>: una única dosis oral de 0.5 ml/100 g de pc de CCl<sub>4</sub> en aceite de maíz (1:1 v/v), respectivamente. El tratamiento con el extracto acuoso de *T. officinale* o colchicina (testigo positivo) se comenzó 3 horas después de la dosis de CCl<sub>4</sub> y se continuó durante 3 días. Los grupos 2 y 4 (CCl<sub>4</sub>) recibieron una dosis oral de 100 mg/ kg de pc del extracto acuoso de *T. officinale*, respectivamente. Los grupos 5 y 6 (CCl<sub>4</sub>) recibieron una dosis oral de 200 y 400 mg/kg de pc del extracto acuoso de *T. officinale*, respectivamente y el grupo 7 recibió una dosis oral de 10 µ/rata/día de colchicina. Como resultados obtuvieron que la administración del CCl<sub>4</sub> incrementó significativamente ( $p < 0.05$ ) la actividad de ALAT. La actividad hepática de la ALP en el grupo intoxicado con CCl<sub>4</sub> aumentó un 300% comparada con el valor testigo. *Taraxacum officinale*, a la dosis de 100 mg/kg no protegió, Pero el tratamiento con diferentes dosis de *T. officinale* revirtió significativamente los cambios en una forma dependiente de la dosis.

**Ishwin S., et al. (2012)** <sup>(12)</sup>, evaluaron la actividad hepatoprotectora del extracto acuoso de *Curcuma longa* en hepatotoxicidad inducida por etanol en ratas wistar. Para el estudio se utilizaron ratas wistar albinas (180 ± 20 g) de sexo masculino en seis grupos, conteniendo cada grupo seis ratas asignados a diferentes grupos de tratamiento. El grupo 1 (control) se trata con solución salina normal (10 ml / kg pc po) como vehículo solamente. Todos los demás grupos recibieron etanol (10 ml / kg pc po) con el grupo 2 sirviendo como control tratado con etanol. Después de la administración de etanol, los grupos 3, 4 y 5 también recibieron el extracto acoso liofilizado de *Curcuma longa* a dosis diferentes (100 mg / kg, 200 mg / kg, 400 mg / kg pc po), respectivamente. En cuanto al grupo 6, después de la administración de etanol, las ratas reciben silimarina (200 mg / kg de peso corporal po). Este estudio se realizó de forma continua durante 28 días; después los animales se anestesiaron bajo éter y se recogió sangre del plexo orbital retro y el suero se separó y los hígados de animales de diferentes grupos se aislaron y se fijaron en formalina tamponada con fosfato al 10% durante al menos 24 h. El control mostró los niveles de AST, ALT y ALP normal, pero con etanol aumento los niveles séricos de estas enzimas. Considerando que después de la administración de *C. longa* a dosis de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg de peso corporal en ratas intoxicadas con etanol, el nivel de AST, ALT y ALP se redujo respectivamente. El perfil histopatológico de las secciones hepáticas del grupo control mostró una arquitectura celular normal. Los animales del Grupo II mostraron desorganización de las células hepáticas normales con necrosis centrilobular intensa. Las

secciones hepáticas de las ratas tratadas con extracto acuoso de *C. longa* seguido de intoxicación con etanol mostraron un signo de protección, como era evidente por la ausencia de necrosis y vacuolas.

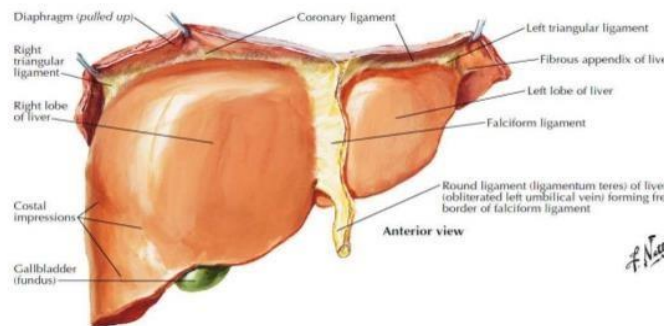
**Devarai S., et al. (2010)** <sup>(13)</sup>, investigaron la actividad hepatoprotectora de *Curcuma xanthorrhizan* (CX) frente a trastornos hepáticos. En el estudio se tomaron ratas machos Sprague Dawley (150-200 g), se dividieron en seis grupos, conteniendo cada grupo seis ratas. El Grupo 1 sirvió como control normal y recibió sólo el vehículo (1% de carboximetilcelulosa de sodio solución madre (CMC)) (1 ml/kg/día) por vía oral durante siete días consecutivos. El grupo 2 recibió una dosis única de CCl<sub>4</sub> (1 ml/kg) en el día 7. Grupo 3 se trató previamente con fármaco hepatoprotector estándar, la silimarina 100 mg/kg, por vía oral durante siete días consecutivos, seguido de dosis oral única de CCl<sub>4</sub> (1 ml/kg) por vía oral en el día 7. Grupos 4, 5 y 6 se administraron con la fracción normalizada CX hexano (125, 250, y 500 mg/kg de peso corporal) por vía oral, respectivamente, durante siete días consecutivos, seguido de una dosis única de CCl<sub>4</sub> (1 ml/kg) por vía oral en el día 7. Los animales se sacrificaron 24 h después del último tratamiento para el análisis bioquímicos y histopatológicos. El efecto de la fracción de hexano CX estandarizada sobre el análisis bioquímico y enzimas de ALT, AST, fosfatasa alcalina y triglicéridos, TP con CCl<sub>4</sub> se incrementó significativamente por en comparación con el grupo normal. Sin embargo, el tratamiento con la fracción normalizada CX hexano a 500 mg/kg durante 7 días, disminuyó de forma consecutiva la ALT, AST, fosfatasa alcalina, triglicéridos, y TP por 40-80%, respectivamente. En el grupo control las células hepáticas se mostraron normales, por el contrario, se observaron fibras reticulares en el CCl<sub>4</sub> sección hígado intoxicado. Los cambios histopatológicos tales como necrosis fueron moderadas en grupos de hexano tratada a dosis de 250 mg. Sin embargo, la arquitectura histológica de secciones de hígado de las ratas tratadas con la fracción normalizada hexano CX a 500 mg/kg mostró patrón casi normal lobular con un grado leve de necrosis.

**Elaziz CEA., et al (2010)** <sup>(14)</sup>, analizaron el investigaron el efecto protector de la Cúrcuma contra el CCl<sub>4</sub>, inducida por el estrés oxidativo y la degeneración celular en ratas. Comprobando que la inyección intraperitoneal del inductor, elevó drásticamente los valores séricos de AST y ALT, pero la administración diaria en polvo de Cúrcuma longa en dosis de 80 mg/kg durante dos semanas antes de la inyección del inductor, suprimió los efectos del CCl<sub>4</sub>, convirtiendo los valores del AST y ALT en casi normales. Por la parte histológicas, la en el grupo tratado con Curcuma longa en polvo antes y después de la inyección de CCl<sub>4</sub> mostró cambios degenerativos leves de los hepatocitos y las células hepáticas de regeneración, respectivamente, sin embargo, no se observó necrosis multifocal.

**Hyeong-Seon L., et al (2010)** <sup>(15)</sup>, investigaron los efectos potencialmente protectores de *Curcuma longa* Linn. (CLE) sobre hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) en ratas. Las ratas machos Sprague-Dawley se pretrataron con 50 o 100 mg / kg de CLE y 100 mg / kg de hidroxitolueno butilado (BHT) durante 14 días antes de la administración de CCl<sub>4</sub>. Las ratas del Grupo I (Control) y del Grupo II (CCl<sub>4</sub>) recibieron aceite de maíz intraglutalmente (i.g.). Las ratas del Grupo III recibieron BHT (100 mg / kg, i.g.), y las Ratas de los Grupos IV y V recibieron CLE (50, 100 mg / kg, i.g.). Las ratas del Grupo VI recibieron CLE solamente (100 mg / kg i.g.) todos los días durante 2 semanas. Tres horas después del tratamiento final, se administró intraperitonealmente (i.p.) a CCl<sub>4</sub> disuelto en aceite de maíz (20 mg / kg) a cada grupo excepto los Grupos I y VI. Se observó que las actividades de aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa del suero, y los niveles de malondialdehído hepático disminuyeron significativamente en el grupo CLE en comparación con el grupo tratado con CCl<sub>4</sub>.

## 2.2. Marco Teórico

### 2.2.1. HÍGADO



Fuente: Netter F. H, 2011 <sup>(16)</sup>.

FIGURA N° 1: Cara diafragmática del hígado.

El hígado, es la glándula más voluminosa del organismo humano que excreta la bilis y desempeña numerosas funciones metabólicas en la secreción y almacenamiento de glucosa, proteínas y factores de coagulación <sup>(17)</sup>.

#### 2.2.1.1. Anatomía Hepática

##### 2.2.1.1.1. Situación

Se encuentra situado en el hipocondrio derecho, aunque también se extiende hacia el hipocondrio izquierdo y está protegido por la parrilla costal. Tiene un peso aproximadamente de 2 kg/ kg de peso, está dividido anatómicamente por dos lóbulos (derecho e izquierdo) <sup>(18)</sup>.

#### 2.2.1.2. Histología Hepática

El hígado presenta en su estructura al parénquima hepático, estroma, lobulillo hepático (lobulillo clásico, lobulillo portal y acino hepático). Los lobulillos son los que participan en el intercambio de la sangre arterial y venosa traídos por la vena porta (desde el estómago, intestino delgado y baso) y la arteria hepática. De los cuales los lobulillos cumplen funciones tanto endocrinas como exocrinas como la secreción de bilis, almacenamiento del retinol (vitamina A), el metabolismo de la vitamina D, metabolismo de los carbohidratos transformando a la glucosa en glucógeno, eliminando sustancias exógenas del organismo como alcohol, los medicamentos entre otros <sup>(18)</sup>.

##### 2.2.1.2.1. Estroma

El estroma está compuesto de tejido conectivo y continua con la capsula fibrosa de Glisson, en el que se encuentran vasos sanguíneos arteriales, nervios, fibras musculares lisas, conductos biliares, venosos y linfáticos. Periféricamente la cápsula esta revestida por un mesotelio. Este tejido conectivo de la capsula atraviesa los espacios interlobulillares sirviendo de sostén al sistema vascular

y a los conductos biliares. Las bandas de tejido conectivo interlobulillar son delgadas; se encuentra rodeando las células del parénquima y los sinusoides aparece en una fina red de fibras de retícula (18, 19).

#### **2.2.1.2.2. Parénquima**

Está compuesto de lóbulos unidos por un tejido areolar extremadamente fino en el cual se ramifican la vena porta, la arteria hepática, las venas hepáticas, linfáticos y nervios, estando todo el conjunto revestido por una túnica fibrosa y una serosa (20).

##### **2.2.1.2.2.1. Hepatocitos**

Los hepatocitos son células poliédricas grandes que miden entre 20 y 30  $\mu\text{m}$  en cada dimensión.; constituyen alrededor del 80% de la población celular del hígado, estos tienen todos los organelos de una célula normal (18). Están constituidos por tres tipos de bordes:

- a) Sinusoidal que delinear los bordes del sinusoide y forman con las células endoteliales el espacio de DISSE.
- b) Hepatocitario (se adosan con otros hepatocitos para formar las láminas hepatocitarias).
- c) Biliar (entre estas caras se forman los canalículos biliares) (18).

##### **2.2.1.2.2.2. Lobulillos hepáticos**

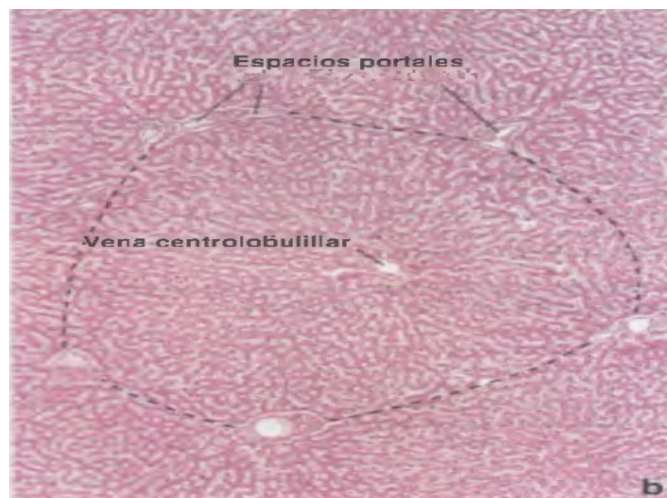
Hay tres maneras de describir la estructura del hígado en términos de una unidad funcional: el lobulillo clásico, el lobulillo portal y el ácino hepático.

- El lobulillo clásico: se observa en los cortes como una masa de tejido más o menos hexagonal y es el modo tradicional de considerar la organización del parénquima hepático y puede verse con relativa facilidad (18).
- El lobulillo portal: área triangular que está entre tres venas centrales y la bilis fluye de la periferia hacia el centro del espacio porta hacia el conductillo biliar.
- El ácino hepático: Área romboidal de hepatocitos cuyo centro es una arteria hepático y vena porta y los extremos son dos venas centrales, la sangre circula centrífugamente (del centro a la periferia) (21).

##### **2.2.1.2.3. Espacio portal o de Kiernan**

El espacio portal o de Kiernan se encuentran en los ángulos del hexágono, que son canales portales compuestas por estroma de tejido conectivo laxo, se caracteriza por la presencia de tríadas portales. Este está limitado por los hepatocitos más externos del lobulillo. En los bordes del espacio portal, entre el estroma de tejido conectivo y los hepatocitos, se encuentra un pequeño espacio, llamado espacio de Mall. Se cree que es uno de los sitios donde se origina la linfa dentro del hígado. En el

ser humano existe escaso tejido conectivo interlobulillar y es necesario trazar las líneas imaginarias entre los espacios portales que rodean una vena central <sup>(18,22)</sup>.



Fuente: Ross M Pawlina W (2012) <sup>(18)</sup>.

**FIGURA N° 2: Histología del hígado.**

### **2.2.1.3. Fisiología del hígado**

El hígado juega un papel muy importante en el aparato gastrointestinal, cumpliendo diversas funciones, gracias al gran número de células que posee, con capacidad de reacción química que realizan un metabolismo intenso; además es un órgano que procesa y sintetiza numerosas sustancias transportadas a otras regiones del organismo. A continuación, se resumirán las funciones metabólicas de mayor interés, entre ellas <sup>(23)</sup>:

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

Los carbohidratos son una fuente importante de energía, del cual el hígado cumple determinadas funciones en su metabolismo:

- 1. Depósito de grandes cantidades de glucógeno.** Después de su absorción celular, la glucosa es utilizada de inmediato para proveer energía a la célula o ser almacenada en forma de glucógeno; el cual es transformado desde la glucosa-6-fosfato, pasando a glucosa-1-fosofato, siguiendo uridina difosfato glucosa obteniendo finalmente glucógeno. Para que el cuerpo pueda utilizar al glucógeno como energía necesita escindir a la molécula de glucosa sucesiva de cada rama del polímero de glucógeno mediante una fosforilación, catalizada por la enzima fosforilasa <sup>(23)</sup>.
- 2. Conversión de la galactosa y la fructuosa en glucosa.** Las cuales son transformadas por el hígado en el inicio de su absorción. La fructocinasa de las células hepáticas convierte la fructosa en fructosa 1-fosfato que luego se divide en DHAP y

gliceraldehído. En los músculos y en el tejido adiposo la fructosa es fosforilada por la hexocinasa para formar el intermediario glucolítico fructosa-6-fosfato. La galactosa se convierte en galactosa-1-fosfato, que luego reacciona con UDP-glucosa para formar UDP-galactosa. Esta última es convertida en su epímero, UDP-glucosa, el sustrato para la síntesis de glucógeno. La manosa es fosforilada por la hexocinasa para formar manosa-6-fosfato, que luego se isomeriza a fructosa-6-fosfato <sup>(24)</sup>.

- 3. Gluconeogenia.** Da como resultado la transformación de los carbohidratos a partir de aminoácidos y glicerol, con la finalidad de evitar el descenso exagerado de la concentración sanguínea de la glucosa durante el ayuno. Cada aminoácido se convierte en glucosa por un proceso químico algo diferente. Por ejemplo, la alanina se puede convertir directamente en ácido pirúvico simplemente por desaminación; el ácido pirúvico se transforma entonces en glucosa o se almacena como glucógeno. De este modo, por medio de la desaminación más algunas interconversiones simples, muchos de los aminoácidos se convierten en glucosa. Conversiones similares cambian el glicerol en glucosa o glucógeno <sup>(23)</sup>.
- 4. Formación de muchos compuestos químicos a partir de los productos intermedios del metabolismo de hidratos de carbono** <sup>(23)</sup>.

#### 2.2.1.3.2. Metabolismo de proteínas

Las proteínas son conocidos como alimentos plásticos, por lo tanto, el metabolismo en el hígado tiene un periodo corto por ser dañino si es prolongado. Las principales funciones del hígado frente a las proteínas son:

- 1. Desaminación de los aminoácidos.** Necesario para la utilización energética de los carbohidratos y lípidos <sup>(23)</sup>.
- 2. Formación de la urea para la eliminación de los líquidos corporales.** La síntesis hepática de urea elimina el amoníaco de los líquidos corporales. Mediante la desaminación se producen grandes cantidades de amoníaco y las bacterias del intestino fabrican de forma continua alguna cantidad supletoria que se absorbe por la sangre <sup>(23)</sup>.
- 3. Formación de proteínas en el plasma.** Casi todas las proteínas del plasma, con excepción de algunas gammaglobulinas, se fabrican en las células del hígado, es decir, alrededor del 90%. Las demás gammaglobulinas son los anticuerpos sintetizados, en principio, por las células plasmáticas de los tejidos linfáticos. El hígado puede formar las proteínas del plasma con un ritmo máximo de 15 a 50g/día. Por eso, aun si se eliminaran hasta la mitad de las proteínas plasmáticas del organismo, se podrían reponer antes de 1 a 2 semanas <sup>(23)</sup>.



- 4. Interconversión de los distintos aminoácidos y síntesis de otros compuestos a partir de los aminoácidos.** Consiste en sintetizar algunos aminoácidos y otros compuestos químicos importantes a partir de estos <sup>(23)</sup>.

#### **2.2.1.3.3. Metabolismo de lípidos**

Diversos compuestos químicos presentes en los alimentos y en el organismo se clasifican como lípidos (grasas). Estos son: la grasa neutra, conocida también como triglicéridos; los fosfolípidos; el colesterol, y otros de menor importancia. Los cuales son metabolizado en el hígado:

- 1. Oxidación de los ácidos grasos para proveer energía destinada a otras funciones corporales.**
- 2. Síntesis de triglicéridos a partir de los hidratos de carbono.** Cuando en el organismo ingresa una cantidad de hidratos de carbono mayor de la que se puede consumir de inmediato para obtener energía o para almacenarla como glucógeno, el exceso se transforma enseguida en triglicéridos y se deposita así en el tejido adiposo. Casi toda la síntesis de los triglicéridos humanos ocurre en el hígado, pero también el tejido adiposo los sintetiza en cantidades mínimas. Los triglicéridos formados en el hígado se transportan principalmente en las VLDL hasta el tejido adiposo donde se almacenan.
- 3. Síntesis de grandes cantidades de colesterol, fosfolípidos y casi todas las lipoproteínas** <sup>(23)</sup>.

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

- Almacenamiento de determinadas vitaminas como el retinol y la menaquinina; son captados para ser metabolizadas en el hígado.
- El hígado metaboliza y transportar casi todas las proteínas que cumplen función con el hierro. Entre las proteínas tenemos:
  - i. La transferrina es la transportadora del hierro en la sangre.
  - ii. La heptaglobina se une a la hemoglobina libre del plasma donde es captado para su posterior almacenamiento en el hígado.
  - iii. La hemopexina es el encargado de transportar el grupo hemo libre de la sangre <sup>(18)</sup>.

#### **2.2.1.4. Capacidad funcional del hígado**

El hígado es un órgano que posee una gran “reserva funcional”, por la cual no existe un método o prueba que tenga la capacidad de detectar su estado funcional total. Esto significa

que se puede perder hasta el 80% o más de las células hepáticas, antes que se hagan evidentes enfermedades hepáticas crónicas. Para ello se utiliza un conjunto de varias pruebas, denominadas pruebas de función hepática <sup>(25,26)</sup>.

Por lo tanto, conocer la capacidad funcional del hígado es de suma importancia para orientarnos a conocer el pronóstico del proceso mórbido de las diferentes patologías implicadas en este órgano. Las enfermedades hepáticas son muy comunes, muchas veces aparecen de manera silenciosa sin la presencia de síntomas y son una causa importante de muerte en el mundo; estas enfermedades hepáticas suelen presentarse en dos diferentes formas: agudas y crónicas <sup>(25,26,27)</sup>.

La determinación de la volumetría determinada por tomografía computarizada se considera como el Gold standard para la evaluación del volumen del hígado residual; la cual ha determinado que en un hígado sano es posible dejar un volumen de 20-25% del parénquima, lo que equivale a 2 segmentos. Además de la cantidad que permanece de parénquima determina la calidad funcional de éste para el pronóstico, lo cual está relacionado con la patología presente. En presencia de condiciones que deterioran la funcionalidad, como la esteatosis o el antecedente de quimioterapia previa, la resección debiera limitarse a dejar un volumen del 30-60% y de un 40-70% en presencia de cirrosis establecida <sup>(28)</sup>.

#### **2.2.1.5. Enfermedades hepáticas**

Las alteraciones hepáticas pueden responder, a un fallo de las funciones realizadas por el hepatocito, o por consecuencia de una alteración del flujo sanguíneo <sup>(29)</sup>.

##### **Hepatitis aguda complicada**

Es una inflamación difusa del hígado, causado por necrosis de las células hepáticas. La principal causa de este es viral, seguida de los fármacos y otros agentes tóxicos, con menor frecuencia por el consumo excesivo de alcohol, enfermedades inmunológicas y trastornos metabólicos o isquémicos <sup>(29)</sup>.

##### **Hepatitis A**

La hepatitis A es causada por un enterovirus RNA del grupo *picornaviridae*. Es transmitida por la vía ano-mano-boca <sup>(30)</sup>.

## Hepatitis B

El virus de la hepatitis B es un virus DNA del grupo hepadna viridae. El virus infectado se transmite a su huésped a través de la sangre, semen y saliva, por medio de contactos físicos cercanos, y la inoculación se produce a través de soluciones de continuidad en la piel o membranas mucosas <sup>(30)</sup>.

La infección produce cuadros clínicos de infección:

- a) La hepatitis aguda autolimitada es un resultado común, la cual todos los pacientes se recuperan y presentan inmunidad durante toda su vida.
- b) Hepatitis fulminante: Se debe a una necrosis masiva del parénquima hepático, es un síndrome que se manifiesta por la claudicación brusca de las funciones hepáticas acompañado de encefalopatía hepática. La etiología son la hepatitis viral, hepatitis tóxica, hepatitis medicamentosa, enfermedad de Wilson, etc <sup>(30)</sup>.  
Se manifiestan con alteraciones ictericia, encefalopatía hepática, insuficiencia renal, diátesis hemorrágicas, edema cerebral, hipotensión arterial <sup>(29)</sup>.
- c) La hepatitis crónica: Son las que se producen por sustancias tóxicas y toxinas, la cual dependerá de la dosis ingerida o administrada y de la idiosincrasia del sujeto. La hepatitis tóxica más conocida, es la hepatitis alcohólica que se produce por el consumo excesivo de etanol; también existen tóxicos industriales (por ejemplo, el CCl<sub>4</sub>, tricloroetileno y fosforo amarillo) y productos farmacológicos utilizados como tratamiento de ciertas enfermedades. Se presenta de forma asintomática y sintomática y signos como: hepatomegalia, vómitos, fiebre, náuseas, molestias abdominales, diarrea, anorexia, ictericia, etc., afectando del 5 al 10% de los casos, puede progresar a cirrosis, o el paciente se puede recuperar <sup>(30,31,32)</sup>.
- d) Infección crónica asintomática: puede desarrollarse después de la hepatitis crónica <sup>(30)</sup>.

## Hepatitis C

El virus de hepatitis C es caudado por un flavivirus RNA; de las cuales presenta seis subtipos de acuerdo a la incidencia geográfica. El periodo de incubación es de dos meses seguido en ciertos casos, con manifestaciones clínicas de ictericia, fiebre, malestar general y anorexia <sup>(30)</sup>.

## Hepatitis D

Es virus del RNA hepatotrófico, que requiere la presencia de la infección por HVB para ensamblarse por eso se dice que 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 <sup>(30)</sup>.

## Hepatitis E

El virus de hepatitis E, es causado por un calicivirus RNA que se transmite por la vía anorino-boca, su hábitad es el abastecimiento de aguas contaminadas. Tiene un periodo de incubación cerca de un mes, por lo general causa ictericia <sup>(30)</sup>.

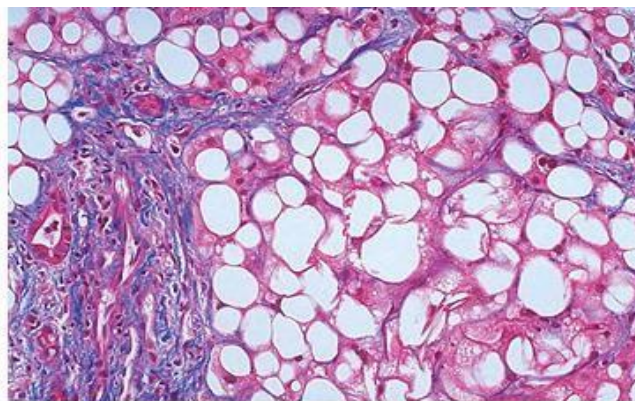
## Hepatitis crónica

La hepatitis crónica es una categoría de trastornos que 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, toxinas, factores genéticos, metabólicos o autoinmunitarios <sup>(32,33)</sup>. Esta puede ser asintomática, hasta una enfermedad grave, gradualmente progresiva, que culmina en cirrosis, insuficiencia hepática y muerte. Las manifestaciones clínicas que presentan son: fatiga, malestar general, anorexia, pérdida de peso, ictericia, y hepatomegalia leve <sup>(32)</sup>.

Se evidencian inflamación portal y está compuesta en su mayor parte por los linfocitos, necrosis peritoneal se refiere a la extensión del infiltrado portal hacia los hepatocitos, inflamación lobulillar y fibrosis <sup>(33)</sup>.

## Enfermedad hepática alcohólica

Se caracteriza por el consumo excesivo de alcohol y se clasifica en tres categorías de acuerdo con los criterios morfológicos. Hígado graso existe un cambio de NAD a NADH durante el metabolismo del etanol y del acetaldehído estimulando la síntesis de ácidos grasos, producción de triglicéridos, hepatitis alcohólica (necrosis de células hepática e inflamación), y cirrosis en la cual la estructura celular lobular normal del hígado es sustituida por nódulos irregulares rodeados por tabiques gruesos <sup>(33,34)</sup>.



Fuente: Robbins y Cotran, 2007 <sup>(35)</sup>.

**FIGURA N° 3: Esteatohepatitis alcohólica, vista microscópica.**

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

Es una anomalía con aumento de la acumulación de grasa macrovesicular en el hígado dentro de los hepatocitos (balonamiento), con o sin fibrosis. Es considerada una manifestación del síndrome metabólico <sup>(32,33,36)</sup>.

La EHGNA es la causa más común de hepatopatía alrededor del mundo, teniendo un incremento en los individuos que presentan sobrepeso u obesidad, hipertriglicemia, diabetes mellitus y resistencia a la insulina <sup>(32,36)</sup>.

## **Cirrosis biliar primaria**

La cirrosis biliar primaria se debe a una lesión u obstrucción del sistema biliar intra o extrahepático; acompañado de trastornos de la excreción biliar, destrucción del parénquima hepático y fibrosis progresiva. Se caracteriza por inflamación crónica y obstrucción fibrosa de los conductos biliares extrahepático <sup>(31)</sup>.

La etiología de la cirrosis biliar primaria es desconocida, aparece como consecuencia de diferentes trastornos de presunta naturaleza autoinmunitaria, como síndrome de CREST (calcinosis depósito de calcio en la piel, fenómeno de *Raynaud* espasmo vascular, disfunción esofágica reflujo de ácido y disminución de la mortalidad esofágica, esclerodactilia engrosamiento y tensión de los manos y dedos de la mano, y telangiectasias), el síndrome seco, tiroides autoinmunitaria, diabetes mellitus tipo 1, y déficit de IgA <sup>(31)</sup>.

Los hallazgos morfológicos de la CBP clasificaron en cuatro estadios:

- ✓ Estadio I: Lesión inicial
- ✓ Estadio II: Colangitis destructiva no supurativa crónica.
- ✓ Estadio III: Se origina una disminución de los conductos interlobulillares, con pérdida de los hepatocitos y expansión de la fibrosis periportal para formar una red cicatrizal de tejido conjuntivo.
- ✓ Estadio IV: Se establece una Cirrosis que puede ser micro o macronodula <sup>(31)</sup>.

Los síntomas iniciales comienzan con prurito que puede ser generaliza o estar limitados a las palmas de la mano y plantas de los pies; al cabo de los años aparece la ictericia y melanosis, trastornos de la excreción biliar, esteatorrea y de la malabsorción de las vitaminas liposolubles <sup>(31)</sup>.

## **Enfermedad de Wilson**

La enfermedad de Wilson es un trastorno hereditario autosómico recesivo del metabolismo hepático de cobre integrándose a su proteína portadora, ceruloplasmina, aumentados la excreción de cobre en la bilis a niveles anormales. Esta enfermedad se caracteriza por portar el gen,

presentando acumulación de cobre en el hígado; conduciendo sobre todo a daño del SNC, lesión sistemática del hígado, y dañando otros órganos como el encéfalo, y los anillos de Kayser-flescher situada en la periferia de la córnea <sup>(34)</sup>.

### **Hemocromatosis**

La hemocromatosis es un trastorno que se caracteriza por la acumulación excesiva de hierro, causando una lesión crónica de las células hepáticas y de otros órganos <sup>(30,33)</sup>. Se distinguen dos tipos de enfermedades:

- Hemocromatosis primaria: es de carácter hereditario conduce a la absorción excesiva del hierro en el intestino. El hierro se acumula en muchos tejidos y órganos incluyendo al hígado produciendo muerte de los hepatocitos.
- Hemocromatosis secundaria: es la acumulación excesiva de hierro como causa de enfermedades primarias <sup>(30)</sup>.

### **Cirrosis**

La cirrosis es una enfermedad crónica y difusa del hígado que conlleva a un daño irreversible de este órgano con consecuencias de daño hepatocitario, necrosis difusa, regeneración nodular y fibrosis; alterando así la arquitectura tisular del hígado y su función <sup>(29)</sup>.



Fuente: Robbins y Cotran, 2007 <sup>(35)</sup>.

**FIGURA N° 4: Cirrosis, vista macroscópica**

Las manifestaciones clínicas son:

- Ictericia
- Atrofia tisular
- Anemia
- Eritema palmar
- Hipertrofia parotídea

- Uñas frágiles
- Ascitis
- Hipertensión portal
- Encefalopatía hepática
- Varices sangrantes
- Orina color café, etc <sup>(29)</sup>.

### **Síndrome de Gilbert**

El síndrome de Gilbert se caracteriza por una hiperbilirrubinemia no conjugada leve con un ligero incremento del pigmento lipofuscina en algunos pacientes <sup>(31)</sup>.

### **Carcinoma hepatocelular**

Los carcinomas hepatocelular o también conocidos como carcinomas primario derivados de los hepatocitos o hepatomas, es el cuarto tumor maligno a nivel mundial que es causado por la hepatitis B y C; se caracteriza por la pérdida de la función de genes supresores tumorales, como TP53, el producto del gen X del virus de la hepatitis B altera la función de p53 e inhibe la reparación por escisión de nucleótidos <sup>(30, 33)</sup>.

### **Colangiocarcinoma intrahepático**

La Colangiocarcinoma intrahepático son adenocarcinomas que se originan en los conductos biliares intrahepático; puede deberse por varias enfermedades inflamatorias crónicas del árbol biliar intrahepático, como la colangitis esclerosante y la enfermedad por trematodos del hígado <sup>(30)</sup>.

### **Colecistitis**

En la colecistitis crónica existe un engrosamiento e inflamación de la pared de la vesícula biliar, histológicamente esto se debe a hipertrofia muscular, fibrosis en la submucosa, e inflamación crónica, cálculos biliares <sup>(30, 33)</sup>.

### **Colangitis esclerosante primaria**

Colangitis esclerosante primaria o idiopática es un trastorno que se caracteriza por un proceso progresivo de tipo inflamatorio, esclerosante y obliterante afección a los conductos biliares extrahepático o intrahepático. Las alteraciones que se pueden observan son: afectación difusa y exclusiva de los conductos biliares intrahepático, afectación de los conductos biliares intrahepático y extrahepático, estenosis de la ampolla de Vater, estenosis de la porción intrapancreática del colédoco, y afectación de los conductos pancreáticos <sup>(31)</sup>.

### **Carcinoma de conducto biliar extrahepático**

El carcinoma de conducto biliar extrahepático es un tumor epitelial maligno que surgen en los conductos biliares extrahepático, se describen mutaciones de KRAS y TP53; presentan ictericia obstructiva y las colangitis superpuestas pueden causar fiebre <sup>(33)</sup>.

### **2.2.2. HEPATOTOXICIDAD**

La hepatotoxicidad (HTX) es una lesión del hígado que se asocia con el deterioro de la función hepática causada por la exposición de fármacos, otras sustancias químicas o cualquier agente no infeccioso. Ciertos agentes medicinales, cuando tienen efectos de sobredosis y algunas veces incluso cuando se introducen dentro de rangos terapéuticos, puede dañar al órgano. Otros agentes químicos, tales como los utilizados en laboratorios e industrias, productos químicos naturales (por ejemplo, microcistinas) y remedios herbales también pueden inducir hepatotoxicidad <sup>(37, 38, 39)</sup>. En una lesión hepática se observa un aumento superior al doble del valor del límite superior normal de alanino sérica aminotransferasa (ALT) o bilirrubina conjugada, o un aumento combinado de los niveles de aspartato aminotransferasa, fosfatasa alcalina (ALP) y bilirrubina total. Existen evidencias que indican que las enfermedades hepáticas cuya gravedad puede oscilar desde elevaciones asintomáticas de las enzimas hepáticas, hasta insuficiencia hepática fulminante <sup>(37, 38, 40)</sup>.

La hepatotoxicidad se manifiesta clínica-patológicamente siendo extraordinariamente variada, que son prácticamente una reminiscencia de todas las afecciones hepáticas conocidas. La forma de presentación más común es un cuadro clínico que imita la hepatitis viral aguda, pudiéndose avanzar a hepatitis crónica, cirrosis hepática, enfermedad de la cirrosis biliar primaria, enfermedad veno oclusiva e incluso neoplasias. Comprendiendo desde incrementos asintomáticos y reversibles de las enzimas hepáticas, hasta necrosis hepática masiva con insuficiencia hepática aguda (IHA), cirrosis o carcinoma hepatocelular <sup>(37, 38, 40)</sup>.

#### **2.2.2.1. Clasificación de Hepatotoxicidad**

Se puede apreciar en la literatura distintos tipos de clasificación acerca de la hepatotoxicidad, estos se basan en varios criterios sobre todo de acuerdo al tipo de investigación del que realizan <sup>(37)</sup>.

1. Álvarez S. *et al.* (2016), clasifica a la hepatotoxicidad de acuerdo a las formas de lesión hepática por productos de origen botánico:
  - a) La forma idiosincrática es el patrón más común en la lesión hepática provocada por sustancias naturales, la cual se caracteriza por ser impredecible e independiente de la dosis, el periodo de latencia es variable y tiene dos subtipos: la metabólica y la inmunológica.



- b) La forma intrínseca es una lesión predecible, dosis dependiente, tiene un periodo corto de latencia y es reproducible <sup>(41)</sup>.

**TABLA N° 1: Clasificación patogénica de hepatotoxicidad por sustancias naturales.**

Término	Criterios
1. Idiosincrática	Impredecible Dosis independiente Periodo de latencia variable Baja incidencia Falta de reproducibilidad experimental
1.1 Tipo metabólica	Duración de exposición: 1 semana a 12 meses Respuesta tardía con reexposición
1.2 Tipo inmunológica	Duración de exposición: 1 a 5 semanas Respuesta inmediata con la primeras dosis de reexposición
2. Intrínseca	Predecible Dosis dependiente Periodo de latencia corto y consistente Alta incidencia Reproducible

Fuente: Álvarez S, 2016 <sup>(41)</sup>.

2. Según Tagle M. *at al.* (2015) clasifica a la hepatotoxicidad de acuerdo a los siguientes aspectos:
- El mecanismo de acción.
  - El tipo de daño histológico.
  - La presentación clínica <sup>(36)</sup>.

**TABLA N° 2: Clasificación de la hepatotoxicidad por fármacos.**

Categoría / Mecanismo	Incidencia / Latencia	Lesión histológica	Mecanismo	Ejemplo
<b>Hepatotoxinas intrínsecas</b> (dosis dependiente / predecibles)	Alta / Corta (menor a una semana) Reproducible en animales	Frecuente necrosis celular y formas fulminantes. Esteatosis	Peroxidación lipídica Interferencia en la excreción biliar	Paracetamol Tetracloruro de carbono Paraquat metilendianilina
<b>Hepatotoxinas idiosincrásicas</b> (dosis independiente / impredecibles)	Variable / Desde pocos días a un año	Variable Depende del mecanismo de lesión	Dependiendo si se trata de mecanismo metabólico o inmunológico	
<b>Hipersensibilidad</b>	1-6 semanas	Necrosis y/o colestasis Daño ductal Granulomas	Inmunoalérgico	Fenitoínas Carbamacepina Amoxiclav
<b>Alteración metabólica</b> (inmune o no inmune)	Una semana a un año	Necrosis, esteatosis, fibrosis, colestasis, daño vascular, tumores, etc.	Depósito de metabolito tóxico	Ciproterona Isoniazida

Fuente: Tagle M., 2015 <sup>(36)</sup>.

3. Francisco Tejada menciona que existen dos tipos de hepatotoxicidad: intrínseca e idiosincrásica:
- a) **Hepatotoxicidad intrínseca:** Es llamada también dosis dependiente, es predecible y reproducible y ocurre con una minoría de fármacos. Mientras algunas de estas hepatotoxinas actúan directamente sobre el hepatocito, otras lo hacen a través de un compuesto tóxico generado durante su metabolismo como el paracetamol. Otros ejemplos de hepatotoxicidad intrínseca son los producidos por el ácido acetilsalicílico, la intoxicación por setas (*amanita phalloides*) y las alteraciones hepáticas producidas por productos industriales CCL<sub>4</sub>.
  - b) **Hepatotoxicidad idiosincrásica:** Ocurre de modo impredecible, no se relaciona con la dosis y no es reproducible en animales de experimentación. Esta última a su vez se divide en idiosincrasia metabólica e inmunoalérgica <sup>(42)</sup>.
4. Según Bosia J D., clasifica a la hepatotoxicidad basándose en los siguientes criterios clínicos, bioquímicos y epidemiológicos:
- 1- Fuente y tipo químico de la sustancia tóxica.
  - 2- Circunstancias de la exposición.
  - 3- Tipo de lesión producida.
  - 4- Estructura celular que queda principalmente dañada.
  - 5- Mecanismos moleculares o celulares que intervienen en la lesión <sup>(37)</sup>.

**TABLA N° 3: Tipo químico y circunstancias de la exposición a las sustancias hepatotóxicas.**

TIPO QUÍMICO	CIRCUNSTANCIAS DE LA EXPOSICIÓN
FÁRMACOS	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Tratamiento.</li> <li>➤ Abuso.</li> <li>➤ Autointoxicación.</li> </ul>
SUSTANCIAS TÓXICAS NATURALES	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Alimentos.</li> <li>➤ Contaminantes de los alimentos.</li> <li>➤ Infecciones bacterianas.</li> <li>➤ Medicina popular.</li> <li>➤ Hierbas medicinales.</li> <li>➤ Toxinas de insectos y escorpiones.</li> </ul>
SUSTANCIAS QUÍMICAS INDUSTRIALES	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Accidentes industriales</li> <li>➤ Accidentes domésticos con productos químicos.</li> <li>➤ Autointoxicación con productos químicos.</li> <li>➤ Exposición crónica en el lugar de trabajo.</li> <li>➤ Contaminación ambiental.</li> </ul>

Fuente: Bosia J D <sup>(37)</sup>.

Las lesiones hepatotóxicas, según los resultados de las pruebas bioquímicas hepáticas, se clasifican en: hepatocelulares, colestásicas y mixtas. Si bien es cierto que otros tipos de reacciones hepatotóxicas (granulomas, fibrosis, neoplasias) no son contempladas en esta clasificación <sup>(37)</sup>.

### 2.2.2.2. Mecanismo hepático

Para que un xenobiótico se pueda eliminarse de nuestro organismo y no llegue a alcanzar los niveles tóxicos; necesita pasar por varios procesos la cual constituye un mecanismo complejo que consta de varios pasos: absorción, distribución, metabolismo (biotransformación) y excreción <sup>(31,37)</sup>. La biotransformación es de vital importancia ya que comienza desde el momento que ingresa la sustancia toxica, la cual es rol principal del hígado constituyendo uno de los factores determinantes del mecanismo hepatotoxicidad y hepatocarcinogenicidad <sup>(37,43)</sup>.

El metabolismo de los xenobióticos consiste en un conjunto de reacciones con la intervención de algunas enzimas que tienen la capacidad principal introducir una serie de modificaciones químicas en la molécula que la transforme de liposoluble en hidrosoluble o aumentar su polaridad <sup>(37,43,44)</sup>. Si se transforman en sustancias más dañinas el proceso se denomina bioactivación, en donde el propio metabolismo del tóxico constituye la principal causa del daño hepático, generando agentes agresores de los ácidos nucleicos <sup>(37)</sup>.

La biotransformación ocurre en tres fases: Fase I de funcionalización; fase II de conjugación, y fase III de transporte y excreción <sup>(35)</sup>: La fase I abarca la oxidación, reducción, e hidrólisis de los xenobióticos. Los productos de estas reacciones pueden ser catalizada por diversas enzimas con diferente especificidad de sustrato de fase II o ligandos de proteínas de transporte en fase III <sup>(37,43,44)</sup>. El sistema del citocromo P-450 ocupa el primer puesto entre las enzimas de la fase I en cuanto a versatilidad catalítica y número de xenobióticos que activa e inactiva. Los términos oxidasa de función mixta, sistema citocromo P-450 y monooxigenasas son empleados como términos equivalentes <sup>(38)</sup>. Es durante esta fase en que se pueden producir bioactivaciones <sup>(37)</sup>.

La fase II se localizan principalmente en el citosol encargada de la conjugación de enlaces covalentes con las sustancias absorbidas, catalizadas por un conjunto de enzimas, y comprenden la glucuronidación, la sulfatación, la acetilación, la metilación, la conjugación con glutatión y la conjugación con aminoácidos tales como glicina, taurina <sup>(37,43,44)</sup>. Estas reacciones aumentan la hidrófila del xenobiótico a excepción de la metilación y la acetilación que aumentan la liposolubilidad y disminuyen la actividad farmacológica y tóxica de los xenobióticos, pero a veces es más fácil de excretar y eliminar, la sulfatación activa aminas aromáticas e hidrocarburos aromáticos policíclicos produciendo metabolitos carcinógenos <sup>(43,44)</sup>.

Fase III:

Esta fase se introdujo hace poco tiempo, 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;

encontrándose dentro de este grupo la glucoproteína P, las proteínas asociadas a la resistencia a fármacos y el polipéptido transportador de aniones orgánicos, actuando estos como escudo protector contra la entrada de xenobióticos. La importancia fisiológica de esta fase radica en que las reacciones de conjugación con glutatión pueden dar origen a la bioactivación de las sustancias tóxicas en lugar de facilitar su excreción de la célula; en estos casos el sistema actúa protegiendo mediante la disminución de la concentración extracelular de xenobiótico <sup>(43)</sup>.

### **2.2.2.3. Mecanismos responsables de la hepatotoxicidad**

Los principales mecanismos responsables de la hepatotoxicidad son la lipoperoxidación, el estrés oxidativo, el agotamiento del glutatión y la unión covalente con las proteínas, la inhibición de la síntesis proteica, los trastornos de la síntesis del Hem y la unión covalente con el DNA (mutación somática) <sup>(37)</sup>.

#### Lipoperoxidación

Es una reacción que conduce a la degradación oxidativa de los lípidos de la membrana celular, que se da en presencia de oxígeno y lípidos insaturados, alterando las propiedades fisicoquímicas de la membrana y la funcionalidad de las enzimas allí localizadas conduciendo a la muerte celular. El prototipo de sustancia química que da lugar a lipoperoxidación es el tetracloruro de carbono <sup>(37)</sup>.

La reacción directa que existe en los radicales libres da origen a la lipoperoxidación en el retículo endoplásmico con la captación de átomos de hidrógeno de los ácidos grasos insaturados y la síntesis final de peroxidación lipídica (esta acumulación de lípidos intracelulares es conocida como esteatosis hepática); causando una lesión de las membranas celulares y alteración de la bomba de calcio microsómico produciendo un aumento de la concentración de calcio libre intracelular. Las consecuencias de este proceso son:

- 1- Acumulación de triglicéridos.
- 2- Lesión mitocondrial y de la membrana plasmática con salida de enzimas y potasio.
- 3- Muerte celular <sup>(37)</sup>.

#### Estrés oxidativo y depleción de glutatión.

Estrés oxidativo es el desequilibrio bioquímico entre los radicales libres y los antioxidantes propicia un daño celular y tisular al organismo; incrementando los radicales libres que provocan lipoperoxidación y alteración funcional de las proteínas celulares <sup>(37)</sup>.

El glutatión junto al estrés oxidativo, y a otros antioxidantes es responsable de la destoxificación del agua oxigenada del citoplasma y de las mitocondrias. Por lo tanto, su depleción favorece a la hepatotoxicidad <sup>(37)</sup>.

#### Inhibición de la síntesis proteica.

Constituye otro mecanismo hepatotóxico cuyo prototipo es la necrosis hepatocelular producida por la ingestión de amanita phalloides. Sus toxinas inhiben la RNA polimerasa, necesaria para la síntesis de RNA mensajero (RNAm). A consecuencia de ello, se inhibe la producción de enzimas, proteínas estructurales y apoproteínas para la síntesis de lipoproteínas, favoreciendo la acumulación de grasa y promoviendo a la necrosis celular <sup>(37)</sup>.

#### Alteración de la síntesis del hem.

Algunos agentes químicos como el hexaclorobenceno y sus derivados interfieren en la síntesis de las porfirinas inhibiendo la coproporfirinógeno oxidasa y la uroporfirinógenodescarboxilasa, provocando porfiria cutánea tarda (PCT) <sup>(37)</sup>.

#### Mutación y carcinogénesis.

Las aflatoxinas se unen al ADN en forma covalente produciendo una mutación que favorece el desarrollo de carcinoma hepatocelular. El Cloruro de vinilo (PVC) es una sustancia carcinogénica similar a las aflatoxinas; esta sustancia produce angiosarcoma en trabajadores expuestos <sup>(37)</sup>.

### **2.2.2.3. Factores que predisponen al hígado a sufrir toxicidad**

La susceptibilidad individual puede incrementar o disminuir por la exposición simultánea o consecutiva de un compuesto a otro, incrementando a tener daño hepático los factores que influyen son genéticos, la edad, el sexo, los factores metabólicos y hormonales, el consumo de alcohol, el uso concomitante de otros medicamentos y la presencia de determinadas enfermedades subyacentes <sup>(37,42)</sup>.

**Factores genéticos.** La variabilidad genética es posiblemente el factor de riesgo más importante en hepatotoxicidad, ya que el polimorfismo genético tiene una fuerte influencia en el metabolismo de los medicamentos y sustancias ajenas al organismo, biotransformandolos en un compuesto exógeno modificando su toxicidad afectando la capacidad de un organismo <sup>(37,42)</sup>.

Los factores genéticos determinan no sólo la actividad de las vías de metabolización de fármacos y otras sustancias xenobióticas, sino también la efectividad de los factores protectores del huésped como los antioxidantes y la regulación de la respuesta inmunológica. La existencia de polimorfismos genéticos del complejo enzimático citocromo P-450 y de otras enzimas hepáticas provoca una variabilidad individual en el metabolismo de los medicamentos que puede favorecer o producir reacciones de hepatotoxicidad <sup>(42)</sup>.

Se ha relacionado la reducción de la capacidad de glucuronización en pacientes con síndrome de Gilbert y la toxicidad por irinotecan. Finalmente, parece existir una mayor predisposición de reacciones adversa hepática en los individuos con antecedentes familiares de hepatotoxicidad

inmunoalérgica y en pacientes con antecedentes personales de atopia, aunque dichas afirmaciones están pendientes de comprobación <sup>(42)</sup>.

**Edad.** La afirmación de que sea un factor de riesgo y la incidencia de la HTX con la edad está siendo cuestionada en los últimos años. Esta predisposición es más evidente en caso de ciertos fármacos como la isoniazida, el halotano o la nitrofurantoína y parece ser debido a un conjunto de eventos como una capacidad metabólica reducida, cambios en el flujo sanguíneo hepático y en la respuesta inmune tisular, la disminución del aclaramiento renal y la polimedicación a la que están expuestos <sup>(40)</sup>.

**Sexo.** Se le atribuye alto riesgo de hepatotoxicidad anteriormente al sexo femenino; sin embargo, un estudio reveló recientemente no demuestra diferencias significativas en la incidencia de HTX entre ambos sexos, exceptuando un predominio del sexo masculino en edades avanzadas y una mayor frecuencia del sexo femenino en pacientes con fallo hepático fulminante <sup>(42)</sup>.

**Factores metabólicos y hormonales.** Algunos factores metabólicos y hormonales como la obesidad, la desnutrición, la gestación y el hipertiroidismo incrementan el riesgo de toxicidad hepática por algunos fármacos <sup>(42)</sup>.

**Alcohol.** El consumo de alcohol incrementa el potencial hepatotóxico de ciertos medicamentos como el metrotexato, la isoniazida, el halotano, la cocaína y el paracetamol <sup>(42)</sup>.

**Fármacos.** Las interacciones fármaco-fármaco pueden predisponer a la hepatotoxicidad, tanto por inducción de determinados isoenzimas del CYP, aumentando así la tasa de producción de metabolitos reactivos, como por inhibición del mismo <sup>(42)</sup>.

**Enfermedades asociadas.** La presencia de determinadas enfermedades puede aumentar el riesgo de tener hepatotoxicidad por algunos medicamentos. Por ejemplo, los pacientes con VIH, artritis reumatoide, hepatitis alcohólica, entre otros <sup>(42)</sup>.

**Dosis.** Algunas sustancias producen hepatotoxicidad todo depende de la dosis administrada <sup>(42)</sup>.

#### 2.2.2.4. Compuestos Hepatotóxicos

Existen varios compuestos que pueden inducir a hepatotoxicidad, la cual mencionaremos a los más importantes distribuyéndolos en los siguientes grupos:

- a) **Sustancias químicas industriales.** Dentro de este grupo se encuentran compuestos hepatotóxicos como: hidrocarburos, hidrocarburos aromáticos (BTX), hidrocarburos alifáticos clorados (tetracloruro de carbono), hidrocarburos alifáticos bromado, hidrocarburos alifáticos fluorados, hidrocarburos alifáticos nitrogenados,

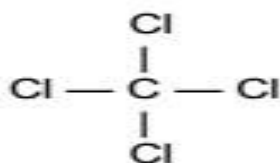
hidrocarburos cíclicos halogenados, amidas y aminas, mezclas de disolventes, cloruro de vinilo, metales, difenilos (bifenilos; fenilbencenos), tóxicos agrícolas (paraquat, dicloropropeno, hexaclorociclohexano (lindano)), tóxicos en el ámbito hospitalario (halotano) <sup>(36,37)</sup>.

- b) **Compuestos botánicos:** Los agentes naturales que son causantes de hepatotoxicidad son hierba china o asiática (Ma Huang, Jim Bu Huan), té verde, aceite margosa, *Symplytium officinale*, *Tencrium chamaedry*, Cascara sagrada, etc <sup>(41,45)</sup>.
- c) **Compuestos farmacéuticos:** algunos medicamentos producen alteraciones o daño hepático dentro de este grupo está la abacavir, aspirina, amoxicilina/ácido clavulanico, azitromicina, paracetamol, carbamazepina, clindamicina, clorpromazina, cotrimoxazol, dapsona, dihidroartemisinina/piperaquina, efavirenz, etc <sup>(46,47)</sup>.

### 2.2.3. Tetracloruro de carbono (TETRACLOROMETANO)

El tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) es un líquido incoloro, compuesto orgánico volátil, con un olor dulce que huele a cloroformo. Sus sinónimos son tetraclorometano y perclorometano <sup>(48, 49,50)</sup>.

El CCl<sub>4</sub> se puede biodegradarse en el suelo o agua bajo condiciones anaerobias; sin embargo, su biodegradación en condiciones aerobias no se produce fácilmente <sup>(49)</sup>.



Fuente: Manibusan M., 2010 <sup>(49)</sup>.

**FIGURA N° 5: Estructura química del tetracloruro de carbono.**

**TABLA N° 4: Propiedades físicas e identidad química del tetracloruro de carbono.**

Parameter	Value	Reference
Chemical Abstract Service Registry Number (CASRN)	56-23-5	
Molecular weight	153.82	O'Neil and Smith, 2001
Chemical formula	CCl <sub>4</sub>	O'Neil and Smith, 2001
Boiling point	76.8°C	NLM, 2003; Lide, 2000
Melting point	-23°C	NLM, 2003; Lide, 2000
Vapor pressure at 25°C	1.15 × 10 <sup>-7</sup> mm Hg	NLM, 2003
Density at 20°C	1.5940 g/mL	NLM, 2003; Lide, 2000
Vapor density (air = 1)	5.32	NLM, 2003; U.S. Coast Guard, 1999
	5.41	O'Neil and Smith, 2001
Water solubility at 25°C	7.93 × 10 <sup>-7</sup> mg/L	NLM, 2003; Horvath, 1982
Other solubility	Miscible with alcohol, benzene, chloroform, ether, carbon disulfide, petroleum ether, oils	NLM, 2003; O'Neil and Smith, 2001
Partition coefficients	log K <sub>ow</sub> = 2.83	NLM, 2003; Hansch et al., 1995
	log K <sub>oc</sub> = 2.04	ATSDR, 2005
Flash point	Not flammable	NLM, 2003; U.S. Coast Guard, 1999
Autoignition temperature	>1,000°C	Holbrook, 1993
Latent heat of vaporization	1.959 × 10 <sup>5</sup> J/kg	U.S. Coast Guard, 1999
Heat of fusion	5.09 cal/g	NLM, 2003; U.S. Coast Guard, 1999
Critical temperature	556.35°C	Daubert and Danner, 1995
Critical pressure	4.56 × 10 <sup>6</sup> Pa	Daubert and Danner, 1995
Viscosity at 24°C	0.922 cp	U.S. Coast Guard, 1999
Surface tension at 20°C	0.027 N/m	U.S. Coast Guard, 1999
Henry's law constant at 25°C	2.76 × 10 <sup>-2</sup> atm m <sup>3</sup> /mol	NLM, 2003; Leighton and Calo, 1981
OH reaction rate constant at 25°C	1.20 × 10 <sup>-16</sup> cm <sup>3</sup> /molecule sec	NLM, 2003; Atkinson, 1989
K <sub>oc</sub>	71	NLM, 2003
Bioconcentration factor	3.2–7.4	NLM, 2003; CITI, 1992
Conversion factors at 25°C	1 mg/m <sup>3</sup> = 0.16 ppm; 1 ppm = 6.29 mg/m <sup>3</sup>	NLM, 2003

Fuente: Manibusan M., 2010 <sup>(49)</sup>.

Se utilizó al CCl<sub>4</sub> como intermediario de síntesis en la producción de otros compuestos químicos como los hidrocarburos fluorados; también sirve para fabricar refrigerantes, como propulsor para aerosoles, desengrasante, pesticida, fumigante, agente de limpieza en seco, agente antifuego (extintores), reactivo en la síntesis química, disolvente, pero su uso principal fue la producción de clorofluorocarbonos <sup>(49,50)</sup>.

Las fábricas liberan tetracloruro de carbono como un gas en el aire y, como forma líquida también puede ser liberada en el suelo o el agua de la eliminación de desechos descuidados. La mayoría de los usos históricos del tetracloruro de carbono se han terminado debido a los efectos nocivos de este agente. Dado que este compuesto se vaporiza fácilmente, la mayor parte de este producto químico existe en el aire como un gas, donde puede permanecer durante varios años antes de que se rompa. Este producto químico no se adhiere a las partículas del suelo o del agua y en lugar de otro se vaporiza o filtra en el agua subterránea. Esta sustancia no se acumula en los peces <sup>(50)</sup>.

Se puede estar expuesto al tetracloruro de carbono a través de:

- Respirar vapores si trabaja donde se usa o se hace tetracloruro de carbono.
- También puede estar expuesto respirando aire exterior que contiene CCl<sub>4</sub>.



- Agua potable que lo contiene.
- Tocar el suelo que está contaminado con él, y nadar o bañarse en agua contaminada <sup>(50)</sup>.

### 2.2.3.1. Toxicocinética y Mecanismo de acción del tetracloruro de carbono

El tetracloruro de carbono se absorbe rápidamente por cualquier vía de exposición en seres humanos y animales. Una vez absorbido, está ampliamente distribuido entre los tejidos, especialmente aquellos con alto contenido de lípidos, alcanzando las concentraciones máximas en <1-6 horas, dependiendo de la concentración o dosis de exposición. Es metabolizado por el hígado, el pulmón y otros tejidos. El tetracloruro de carbono se excreta rápidamente, principalmente en el aliento exhalado <sup>(49)</sup>.

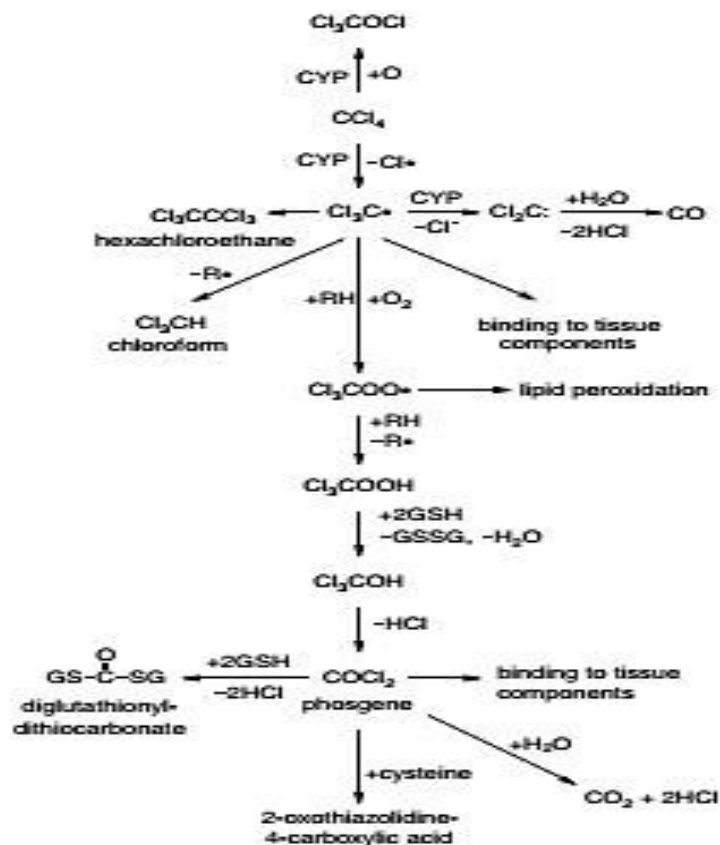
#### 2.2.3.1.1. Metabolismo

Se han encontrado CO<sub>2</sub>, cloroformo y trazas de hexacloroetano como metabolitos de tetracloruro de carbono. La cantidad de CO<sub>2</sub> en el aire exhalado es aproximadamente el 10% del tetracloruro de carbono metabolizado total. Se dedujo a partir de datos cinéticos que incluso menos tetracloruro de carbono se metaboliza directamente en CO<sub>2</sub>, y que el CO<sub>2</sub> también se forma indirectamente, a partir de CHCl<sub>3</sub>. Se calculó que en la rata expuesta a concentraciones de tetracloruro de carbono de 100 ml/ m<sup>3</sup>, aproximadamente el 60% del tetracloruro de carbono es metabolizado. Con la exposición repetida a esta concentración, no se observó acumulación de la sustancia en el tejido adiposo. Por otra parte, se calculó que el tetracloruro de carbono se acumula en el tejido adiposo en personas expuestas a 5 ml/m<sup>3</sup> (8 horas diariamente). En perros, de 12 a 48 horas después de la administración intraperitoneal inyecciones de tetracloruro de carbono, se encontraron las siguientes sustancias en la orina: formaldehído, acetaldehído, acetona, alcohol propílico, alcohol butílico, pentanal, hexanal y malondialdehído. Los autores afirman que todas estas sustancias proporcionan evidencia de peroxidación de lípidos *in vivo* <sup>(51)</sup>.

Se sabe de estudios *in vitro* que el tetracloruro de carbono se une al citocromo P450-2E1 del retículo endoplasmático de la célula hepática en el sitio de unión al oxígeno. La transferencia de electrones produce una escisión reductora del tetracloruro de carbono, inicialmente para formar el CCl<sub>3</sub> radical. El hexacloroetano se forma como el producto de condensación de dos radicales CCl<sub>3</sub>. El cloroformo, formado por la adición de un átomo de hidrógeno, también se ha detectado. El radical CCl<sub>3</sub> se mantiene responsable de la unión covalente observada de tetracloruro de carbono a proteínas y lípidos y reacciona también con oxígeno para formar el radical triclorometilperoxi. Trazas de fosgeno, formadas por la oxidación del cloroformo o por la triclorometilperoxi, también se detectaron. El CO<sub>2</sub> también puede formarse a partir de fosgeno. También se forma monóxido de carbono a partir de tetracloruro de carbono. Probablemente se forma a partir de

triclorometilcarbeno, que se forma por la transferencia de dos electrones en el citocromo P450. El metabolismo reductivo del tetracloruro de carbono para formar el radical  $\text{CCl}_3$  tiene lugar más rápidamente bajo condiciones hipóxicas, como se encuentran, por ejemplo, en la región centrilobulillar del hígado. En condiciones hipóxicas también la unión covalente de tetracloruro de carbono a proteínas, lípidos y hem se incrementa considerablemente <sup>(51)</sup>.

La activación metabólica del tetracloruro de carbono, que tiene lugar principalmente por el citocromo P-450 en el retículo endoplasmático de las células hepáticas y mitocondrias, se ha observado también en los riñones, la glándula suprarrenal y el pulmón. El metabolismo del tetracloruro de carbono puede ser inducido, por ejemplo, por fenobarbital o DDT. Es más pronunciada en ratas macho que en las ratas hembra, y prenatal y postnatalmente es apenas detectable <sup>(38,51)</sup>. El metabolismo del  $\text{CCl}_4$  en el hígado también depende notablemente de la especie (muy pronunciada en los roedores y apenas detectable en las aves) <sup>(51)</sup>.



Fuente: MAk, 2000 <sup>(51)</sup>.

FIGURA N° 6: Metabolismo del tetracloruro de carbono.

### **2.2.3.2. Manifestaciones clínicas**

La exposición a altos niveles de tetracloruro de carbono en el agua potable daña el hígado y riñones otros síntomas incluyen dolor de cabeza, mareos, cansancio, debilidad y visión borrosa. En alta dosis también pueden causar vómitos, dolor de estómago o la muerte <sup>(50)</sup>.

Al respirar tetracloruro de carbono puede dañar seriamente el hígado y los riñones. Otros posibles síntomas son dolor de cabeza o mareos, cansancio o aturdimiento, también puede causar vómito y dolor de estómago. Respirar altas dosis causa daño pulmonar y muerte <sup>(50)</sup>.

### **2.2.3.3. Efectos del tetracloruro de carbono en la salud**

La mayor parte de la información sobre los efectos del tetracloruro de carbono en el hombre proviene de casos en los que las personas han estado expuestas a niveles relativamente altos de tetracloruro de carbono, una vez o por un período corto, por ejemplo, por envenenamiento accidental o trabajando con el producto químico en un espacio confinado sin ventilación <sup>(52)</sup>.

El hígado es especialmente sensible al tetracloruro de carbono, ya que contiene una gran cantidad de enzimas que cambian la forma del producto químico. Algunos de los productos de descomposición pueden atacar las proteínas celulares, interfiriendo con las funciones de las células del hígado. Los productos que atacan las membranas celulares pueden resultar en la muerte de las células. En los casos leves, el hígado se hincha y la grasa se acumula dentro del órgano. En casos severos, las células del hígado pueden ser dañadas o destruidas, disminuyendo la función hepática. Estos efectos suelen ser reversibles si la exposición no es demasiado alta <sup>(52)</sup>.

### **Dosis expuesta solo una vez**

Independientemente de la vía de absorción, el cuadro clínico de la intoxicación con tetracloruro de carbono está dominado en las primeras 24 horas por síntomas gastrointestinales y neurológicos. El daño hepático ocurre lo más pronto después de 24 horas. En casos severos se desarrollan ascitis y coma hepático, ya menudo se acompañan de hemorragia. El daño renal es primero se manifiesta después de 2-3 días, a menudo no hasta 2-3 semanas después de la intoxicación <sup>(51)</sup>.

Una persona que tomó 120 a 355 ml de tetracloruro de carbono en un intento de suicidio sobrevivió, pero sufrió trastornos graves de la función hepática. Sin embargo, una mujer murió después de beber 500 ml de tetracloruro de carbono. Durante dos días sufrió vómitos, diarrea, oliguria, taquicardia y fiebre. El examen histopatológico reveló necrosis centrilobulillar del hígado y degeneración grasa del hígado, y se detectó peroxidación lipídica por análisis bioquímico <sup>(51)</sup>.

Dos trabajadores expuestos durante el trabajo de limpieza sufrieron mareos, vómitos, dolor de estómago y fiebre después de un período de latencia de 10 horas. Después del tratamiento en el

hospital, a partir del tercer día de la enfermedad el aumento de las actividades de transaminasa y aldolasa, y los niveles de bilirrubina en suero y de albúmina en la orina disminuyeron. La biopsia hepática en el día 8 de intoxicación reveló necrosis centrilobulillar. La biopsia hepática se repitió un mes después y mostró que el hígado estaba completamente curado. Se informaron valores anormales de la función hepática en 10 de 25 trabajadores accidentalmente envenenados con tetracloruro de carbono después de la exposición a concentraciones de 300 a 500 ml/ m<sup>3</sup> <sup>(51)</sup>.

### **Exposiciones repetidas**

Un grupo de trabajadores fueron expuestos a diferentes concentraciones de tetracloruro de carbono, subdividiéndolos en tres grupos dependiendo de la duración de la actividad: <1 año, 1 a 5 años,> 5 años consumiendo el mismo nivel de consumo de alcohol fue para todos los trabajadores expuestos. Los trabajadores fueron interrogados sobre su edad, altura, peso, situación laboral, empresa, pasatiempos, estado de salud y consumo de alcohol. Los parámetros hematológicos como el nivel de hemoglobina, el número de glóbulos rojos y el hematocrito cambiaron significativamente en el grupo de exposición medio, al igual que las actividades de  $\gamma$ -glutamyltransferasa y fosfatasa alcalina en suero. En el grupo de baja exposición sólo el hematocrito se redujo significativamente. En el grupo de alta exposición, sin embargo, no se observaron cambios. 17 trabajadores fueron expuestos durante aproximadamente 2 años a concentraciones de tetracloruro de carbono y 15 trabajadores se quejaron de náuseas, 12 de pérdida de apetito, 7 de vómitos y flatulencia, 10 de malestar y mareos. El examen clínico no hallazgos anormales <sup>(51)</sup>.

### **Efectos locales sobre la piel y las membranas mucosas**

Tres voluntarios sumergieron un pulgar en tetracloruro de carbono durante 30 minutos; esto condujo a un ligero eritema, que retrocedió 1 ó 2 horas después de la exposición. Los voluntarios informaron sensación de ardor en el pulgar dentro de los primeros 10 minutos de exposición <sup>(51)</sup>.

### **Efectos alérgicos**

Después de que una mujer usó una loción anti-grasa para el cuero cabelludo que contenía 100 g de tetracloruro de carbono, se desarrolló una dermatitis del cuero cabelludo. La mujer fue tratada con una sustancia de ensayo que contenía 10% de tetracloruro de carbono, 10% de disulfuro de carbono y 10% de acetona, que correspondía a las cantidades en la loción y produjo una reacción marcada después de 48 horas <sup>(51)</sup>.

### **Toxicidad para la reproducción y el desarrollo**

Los datos para el hombre se han encontrado en una sola publicación; la cual los autores analizaron 11 muestras de sangre tomadas de las madres y sus hijos después de los nacimientos normales. El

tetracloruro de carbono se encontró tanto en las madres como en la descendencia; las concentraciones determinadas en la descendencia eran del mismo nivel que las encontradas en las madres, o en algunos casos aún mayores. Por lo tanto, debe suponerse que el tetracloruro de carbono puede pasar la barrera placentaria en el hombre <sup>(51)</sup>.

### **Efectos carcinógenos**

Existen varios estudios epidemiológicos sobre la carcinogenicidad del tetracloruro de carbono, esto se observó en un estudio epidemiológico realizado en la industria del caucho (alrededor de 7000 trabajadores expuestos estudiados durante 10 años) se sospechó que el tetracloruro de carbono en el lugar de trabajo puede ser responsable de una mayor incidencia de cáncer. Se demostró que la incidencia de leucemia linfática y linfosarcomas en los trabajadores de estas empresas se correlaciona con la exposición al tetracloruro de carbono <sup>(51)</sup>.

#### **2.2.3.4. Trastornos histopatológicos por tetracloruro de carbono**

Existe un 90% de lesiones celulares, dentro de éstas se encuentra la intoxicación por el tetracloruro de carbono que es una sustancia lipoquímica la cual tiene afinidad por las grasas, a las mismas que hidroliza, por ejemplo, se libera y forma el tricloruro de mercurio produciéndose una permeabilidad de la membrana con signo radical. Cuando se intoxican por aspiración del tetracloruro de carbono, los hepatocitos empiezan a alterarse y la membrana celular como es lipofílica se va diluyendo, es así que se hace permeable y la célula se va hinchando <sup>(53)</sup>.

**Lesiones Reversibles o degeneraciones:** Es la lesión subletal o submortal con las siguientes alteraciones estructurales y bioquímicas, la célula puede volver a la normalidad si se le da O<sub>2</sub> y se le quita el tetracloruro de carbono, pero si se lesiona el lisosoma ya no se llamará degeneración sino necrosis. Clases de degeneración celular:

- Tumefacción celular, es cuando las células se cargan de agua produciendo una acidofilia citoplásmica, por lo que la célula se va hinchando por la permeabilidad; los órganos afectados son corazón, riñón, hígado, músculo esquelético, piel y mucosas.
- Degeneración vacuolar o hidrópica, es el proceso que sigue a la tumefacción celular, donde la célula empieza a tener en su citoplasma vacuolas, espacios o huecos por aumento de agua, esas vacuolas son organitos membranosos intracitoplasmáticos que se han dilatado por el agua, las causas son las mismas hipoxia, anoxia, intoxicación por tetracloruro de carbono, la fiebre prolongada, infección, el herpes de la hepatitis, la hipotaxemias cuando hay pérdidas de potasio, sudoraciones, diarreas, vómitos, en órganos afectados como el riñón, corazón, músculo esquelético, piel, mucosas. En ambas degeneraciones el órgano afectado aumenta de

volumen y por ende de peso, por ejemplo, el hígado se agrandará aumentando de peso por el agua. Un caso particular de este tipo de degeneración es el Herpes con antiviral, también la fiebre con antitérmico, donde la degeneración es reversible, la célula vuelve a la normalidad y no se destruye.

- Degeneración grasa, llamado también infiltración grasa, metamorfosis grasa o esteatosis grasa, porque la degeneración grasa, es la alteración del metabolismo de los lípidos en una célula lesionada. La infiltración grasa, es también la alteración del metabolismo de los lípidos, pero en una célula normal se va a llamar metamorfosis o esteatosis, donde afecta al hígado, corazón y riñón <sup>(53)</sup>.

#### **2.2.4. Transaminasas hepáticas**

Las transaminasas son enzimas que cumplen una función metabólica en el interior de determinadas células. Estas enzimas lo podemos encontrar en el tejido de muchos órganos (hígado, corazón, riñones, músculos, etc.). La cantidad de concentración de las transaminasas en la sangre refleja la actividad del hígado y del corazón <sup>(21)</sup>.

Las principales transaminasas son las hepáticas como:

- ✓ La Glutamato-Piruvato Transaminasa (GPT) o Alanina Aminotransferasa (ALT): Se encuentra principalmente en el citosol del hepatocito y en los riñones y, en una pequeña cantidad, en los glóbulos rojos y en los músculos estriados.
- ✓ La Glutamato-Oxalacetato Transaminasa (GOT) o Aspartato Aminotransferasa (AST): Está presente, además del hígado, en otros órganos como: miocardio, músculo esquelético, los riñones, cerebro, páncreas, pulmón, los leucocitos y los eritrocitos. La fosfatasa alcalina (ALP): está presente en el hígado, huesos, intestinos, la placenta y en los tejidos relacionados con tumores <sup>(54)</sup>.

#### **Intervalo normal**

ALT:

- Hasta 1 año de edad, incluyen: 30 - 80 U/l
- Mayor de 1 año: 10 - 40 U/l AST:
- Hasta 1 año de edad, incluyen: 5 - 50 U/l
- Mayor de 1 año: 10 - 40 U/l<sup>(55)</sup>.

#### **Fosfatasa alcalina**

- Hasta 1 año de edad: 150 - 350 U/l

- De 1 año a 16 años: 30 – 300 U/l
- Mayores de 16 años: 30 – 115 U/l<sup>(54)</sup>.

#### **2.2.4.1. Niveles de transaminasas en la sangre**

Las transaminasas cumplen un papel importante en los diagnósticos de determinadas enfermedades hepáticas. Los niveles de AST, ALT y Fosfatasa alcalina tienen valores predeterminados como normales, pero si estos están disminuidos o alterados, son ocasionados por la falta de permeabilidad de la membrana celular, el cual deja libre a estas enzimas en la sangre. Dando a conocer el posible daño en los hepatocitos, que siempre es certero. Por lo tanto, hay escasa correlación entre el daño celular hepático y el grado de elevación de las transaminasas, cualquier enfermedad hepática que comporte un daño necroinflamatorio puede ser la causa <sup>(54)</sup>.

#### **2.2.4.2. Transaminasas elevadas**

El aumento de las transaminasas en la sangre se da especialmente por varios motivos:

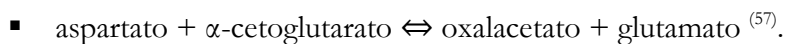
- Sexo y edad
- Profesión u ocupación - Alergias.
- Fármacos o productos de herboristería.
- Ingesta de alcohol
- Hábitos sexuales - Drogadicción.
- Antecedentes médico-quirúrgicos con riesgo de transmisión nosomial.
- Antecedentes familiares de hepatopatías o enfermedades autoinmunes.
- Enfermedades sistémicas conocidas como:
  - o Endocrinometabólicas: diabetes, obesidad, enfermedad tiroidea, insuficiencia suprarrenal.
  - o Hematológicas: policitemia vera, anemia hemolítica, leucemia, linfoma, estados de hipercoagulabilidad.
  - o Conectivopatías: poliarteritis nodosa, etcétera o Infecciosas: tuberculosis, brucelosis, fiebre Q, SIDA. o Enfermedad autoinmune.
  - o Cardiovasculares: insuficiencia cardiaca.
- Síntomas asociados: ictericia, coluria, acolia, prurito, fiebre, rash, artromialgias, anorexia, pérdida de peso <sup>(56)</sup>.

### 2.2.4.3. Papel importante de las transaminasas en el metabolismo

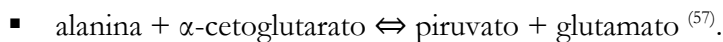
El nitrógeno es ingerido por el ser humano a partir de aminoácidos de la dieta, proteínas y amoníaco fijado por las nitrogenasas de las bacterias del intestino, el glutamato deshidrogenasa. La glutamina sintasa convierten el amoníaco a glutamato y glutamina respectivamente, de los cuales las transaminasas transfieren sus grupos amino y amido a otros esqueletos de carbono por reacciones de transaminación y transamidación <sup>(57)</sup>.

La reacción de transaminación tienen lugar en el citosol y en las mitocondrias. Al ser reversibles, se pueden utilizar los  $\alpha$ -cetoácidos para la síntesis de aminoácidos; por ejemplo, si los alimentos contienen los  $\alpha$ -cetoácidos que corresponden a los esqueletos de carbono de los aminoácidos esenciales podrán sintetizarse estos aminoácidos con una simple transaminación, catalizada por la aminotransferasa correspondiente. El sentido de la reacción lo determinan las concentraciones de productos y reactivos en el hígado porque en éste los metabolitos están próximos al equilibrio <sup>(51)</sup>.

La AST cataliza la reacción hacia la formación de oxaloacetato:



La ALT cataliza otra reacción, hacia la formación de piruvato:



La ALT tiene una gran importancia en la catálisis de reacciones que transfieren carbono y nitrógeno del músculo esquelético al hígado en forma de alanina. Primero, en el músculo esquelético, el piruvato actúa como receptor de un grupo amino y se transforma en alanina, que se transporta a través del torrente sanguíneo hasta el hígado, donde la alanina aminotransferasa (ALT) transfiere el grupo amino al  $\alpha$ -cetoglutarato, regenerando así el piruvato que puede incorporarse al gluconeogénesis como fuente de carbono; la glucosa resultante podrá pasar de nuevo al músculo. Este proceso se conoce como el ciclo de la glucosa-alanina y permite la eliminación del nitrógeno del músculo esquelético en forma de urea, transformación que se dará gracias al ciclo de la urea <sup>(57)</sup>.

### 2.2.5. Perfil hepático

Los valores arrojados en el análisis clínico van a ayudar a dar una visión del estado funcional del hígado:

Utilidad de las pruebas de función hepática:

- Detección de lesión hepática.



- Diferenciación entre citólisis y colestasis, si es posible establecer un diagnóstico específico.
- Determinación de la gravedad y pronóstico.
- Seguimiento de la enfermedad y evaluación del tratamiento <sup>(57)</sup>.

#### **2.2.5.1. Fosfatasa alcalina**

Se puede observar el aumento de la fosfatasa por la separación electroforética de sus isoenzimas, en el embarazo, sobre todo en el tercer trimestre por la presencia del aumento de la enzima placentaria. En el crecimiento (niños y adolescentes) <sup>(58)</sup>.

En las patologías:

- De origen óseo: se produce como consecuencia de la actividad osteoblástica aumentada.
- De origen hepático: se produce como consecuencia del proceso de colestasis <sup>(58)</sup>.

#### **2.2.5.2. Nucleotidasa (5'-NT)**

5'- nucleotidasa (5'-NT) es una proteína producida por el hígado. Se puede hacer un examen para medir la cantidad de esta proteína en la sangre y se produce un aumento importante en casos como colestasis intra o extrahepática, enfermedades hepatobiliares, cáncer hepático <sup>(59, 60)</sup>.

#### **2.2.5.3. Tiempo de protrombina y respuesta a la Vitamina K**

El tiempo de protrombina (TP), es el tiempo que tarda en coagular un plasma al añadir trombina. Está prolongado en las alteraciones del fibrinógeno, presencia de heparina, presencia de inhibidores de formación de fibrina (antitrombinas) y aumento de inhibidores de la polimerización de la fibrina (productos de degradación del fibrinógeno) <sup>(61)</sup>.

El TP está alargado en el déficit de los factores de coagulación II, V, VII y X. El factor VII es el que tiene una vida media más corta y por ello inicialmente se observa un alargamiento del TP, pero con déficits más importantes se deprime la producción del factor II y X por lo que también se prolongará el tiempo de tromboplastina parcial activa (TTPa) <sup>(61)</sup>. Como la mayoría de estos factores son vitamina K dependientes y de síntesis hepática, su estudio es útil para valorar función hepática, para controlar el tratamiento con anticoagulantes orales de tipo cumarínico; sin embargo, el TP no es sensible para déficit de factores VIII, IX, XI y XII <sup>(62)</sup>.

#### **2.2.5.4. Examen de albúmina sérica**

La albúmina es una proteína sin carbohidratos que constituye un 55-65% de la totalidad de las proteínas plasmáticas. Sirve para mantener la presión coloidosmótica en el plasma, transportar y almacena numerosos ligandos, así como de fuente endógena de aminoácidos <sup>(63)</sup>.

La albúmina fija y desdobra varios compuestos, como p.ej. la bilirrubina, calcio y ácidos grasos de cadena larga. Además, fija iones de metales pesados tóxicos, así como numerosos fármacos, por lo cual una concentración disminuida de albúmina en sangre tiene graves efectos farmacocinéticos. Excepto en caso de deshidratación, la hiperalbuminemia no reviste gran importancia diagnóstica <sup>(63)</sup>.

La determinación de albúmina permite el seguimiento de pacientes bajo dieta controlada y constituye un excelente test de funcionamiento hepático <sup>(63)</sup>.

#### **2.2.5.5. Examen de fosfatasa alcalina sérica**

La ALP sérica tiene orígenes (hígado, riñón, placenta, intestino, hueso, leucocitos), aunque las fuentes más importantes son el hígado, los huesos y el intestino. Se encuentra aumentada en las enfermedades hepáticas, en los niños en crecimiento y las mujeres embarazadas en el tercer trimestre. Es importante su determinación para reconocer enfermedades óseas, sobre todo osteítis deformante, hipoparatiroides y neoplasias óseas. La elevación sérica de la fosfatasa alcalina en algunas enfermedades hepáticas puede ser distinguida mediante otras pruebas de laboratorio y por sus rasgos clínicos. Su síntesis está regulada por la presencia de sales biliares; un aumento de la concentración intracelular de sales biliares estimula la síntesis de ALP y por esta razón se elevan en la colestasia intra o extracelular <sup>(59)</sup>.

#### **2.2.5.6. Examen de lactato deshidrogenasa (LDH)**

La LDH es una enzima tetramérica formada por la combinación de dos tipos de cadenas diferentes: H y M. Estas cadenas pueden combinarse de maneras diferentes dando lugar a 5 isoenzimas. Los niveles séricos del LDH se observan en mucha circunstancia como son las anemias megaloblásticas, infarto de miocardio y pulmonar, enfermedad o congestión hepática, hemolisis etc. El gran número de situaciones en donde aumenta la actividad del LDH hace relativa su utilidad diagnóstica. Sin embargo, es muy útil en el seguimiento de la quimioterapia del cáncer puesto que la respuesta terapéutica se acompaña por una disminución del nivel sérico de esta enzima. La determinación de la actividad de LDH es útil en el diagnóstico del infarto de miocardio y pulmonar <sup>(59)</sup>.

Por si sola, la determinación de LDH no es determinante de lesión de ningún órgano en particular. Hay que tener en cuenta que es necesario evitar la hemolisis de la muestra de sangre, para una correcta determinación <sup>(59)</sup>.

## 2.2.6. *Curcuma longa* L.



Fuente: Aranda J A, 2016 <sup>(64)</sup>.

**FIGURA N° 7: Planta de *Curcuma longa* y rizomas.**

Es un miembro perenne de la familia Zingiberáceas, se cultiva en la India y otras partes del sudeste Asia <sup>(65,66)</sup>. Se le conoce también como yuquilla (Cuba), turmérico, jengibrillo (Puerto Rico), palillo cholón, palillo chuncho o guisador (Perú). Otros sinónimos vulgares utilizados son: palillo, azafrán, cúrcuma, guisador, azafrán cimarrón, azafrán de la India <sup>(67)</sup>. Es ampliamente utilizado en la medicina ayurvédica tradicional de la India para el tratamiento de trastornos hepáticos, anorexia, tos, úlceras diabéticas, artritis reumatoide y la sinusitis <sup>(66)</sup>.

### 2.2.6.1. Etimología

En la antigua India, la cúrcuma se conocía bajo varios nombres, cada uno describiendo sus virtudes, características o efectos:

- Ranjani, que significa =aquello que da color.
- Mangal prada y bhadra que significa propicio, afortunado, que trae suerte.
- Krimighni que significa matar gusanos y se refiere a su acción antimicrobiana.
- Mahagni que se refiere a su acción antidiabética.
- Shobhna que describe su color brillante.
- Henaragi, significa tener el color del oro.
- Varna-datri que significa aquello que da color y describe el uso de la cúrcuma para mejorar la complejión.
- Pavitra que significa santa.
- Anasha que significa que no se ofrece en sacrificio.

- Hridayavilasani que significa deleitar el corazón <sup>(68)</sup>.

### 2.2.6.2. Origen

La *Curcuma longa* L. es una planta originaria en Sur de Asia y de las Indias Orientales, la cual es usada comúnmente como una especia en dicha cultura, donde está considerada como una planta mágica dadas sus características organolépticas y sus indudables propiedades terapéuticas y protectoras, sobre todo a nivel hepático y cutáneo <sup>(65,67,69)</sup>. Se cultiva principalmente en China, India, Indonesia, Jamaica y Perú <sup>(70)</sup>.

### 2.2.6.3. Historia

Incluso antes de que Marco Polo describiera la cúrcuma en China en 1280, esta especie se cultivaba en la antigua India. Una de las primeras referencias, es que era como remedio para la ictericia y como tratamiento para la lepra (enfermedad infecciosa que se caracteriza por alteraciones dermatológicas, daño nervioso y debilidad progresiva). En India, los indígenas la utilizaban en los ritos de fertilidad y se incorporó en las ceremonias hindúes. La cúrcuma se asoció con la fertilidad de la tierra y la fertilidad de la gente que la habita, asumiendo rápidamente un papel importante en las tradiciones hindúes ya que se le atribuyeron cualidades mágicas <sup>(68)</sup>.

Hay incluso ceremonias post-nupciales en las que se utiliza la cúrcuma. Los hombres también utilizan la cúrcuma, los novios la aplican sobre sus cuerpos para asegurar buena fortuna, prosperidad y fertilidad. El ritual del uso cosmético de la cúrcuma persistió en la India hasta la mitad del siglo XX donde se utilizó ampliamente como colorante amarillo para la ropa, se trataba de una práctica popular porque el color amarillo era el favorito utilizado por Lord Krishna y el santo, sabio y reformador social Narayana Guru<sup>(68)</sup>.

Fue tan clave en la cultura india que la gente adoró un icono denominado Turmeric Ganesha, que en ocasiones tomaba la forma de un rizoma de cúrcuma. Una mezcla de cúrcuma y agua de lima todavía se utiliza en los ritos de adoración en numerosos templos. Los historiadores creen que, por su color amarillo brillante, la cúrcuma se asocia con el sol y con la adoración al sol <sup>(68)</sup>.

Los primeros informes sobre el cultivo de cúrcuma proceden de la civilización Harappan (Pakistán, en la actualidad) 3000 a.C. Las técnicas para cultivar, recolectar y procesar la cúrcuma son similares de una región a otra y no han cambiado en demasía con el tiempo <sup>(68)</sup>.

#### 2.2.6.4. Clasificación Taxonómica de la *Curcuma longa* L.

**TABLA N° 5: Resumen sobre la composición nutricional de 100g de cúrcuma, y por 3 g que equivalen a una ración por persona.**

CLASIFICACIÓN TAXONOMÍA DE LA CURCUMA LONGA L.	
Reino	PLANTAE
División	MAGNOLIOPHYTA
Clase	LILIOPSIDA
Subclase	ZINGIBERIDAE
Orden	ZINGIBERALES
Familia	ZINGIBERACEAE
Género	Cúrcuma
Especie	<i>Curcuma longa</i> L.
Origen	ASIA TROPICAL.

Fuente: Velasco JR, 2013 <sup>(71)</sup>.

#### 2.2.6.5. Descripción Botánica.

Planta herbácea, perene, rizomatosa de aproximadamente 1m de alto; rizoma con un cuerpo principal glubuloso u ovoide, denominado “bulbo o cúrcuma redonda”, de la cual salen uno o varios rizomas secundarios en forma de dedos largos (5-8) cm) denominados “dedos” o “cúrcuma larga”. La raíz, tiene cada 3 ó 4 cm bandas circular. Hojas largamente precioladas, ovales, lanceoladas y elípticas, agudas, con la base estrecha y termina en punta, glabras en ambas superficies, en número de 5-10 por tallo. El vástago floral es una espiga densa, de 10-15 cm de largo y unos 5cm. diámetro. Flores blancas o amarillo-pálidas. Corola infundibuliforme con 3 lóbulos, con sus estambres; estaminoides laterales más o menos connandos; anteras sésiles, conectivo largo. Ovario trilocular, multiovular, estilo filiforme. Fruto capsular (la planta rara vez fructifica) <sup>(67)</sup>.

#### 2.2.6.6. Partes utilizadas

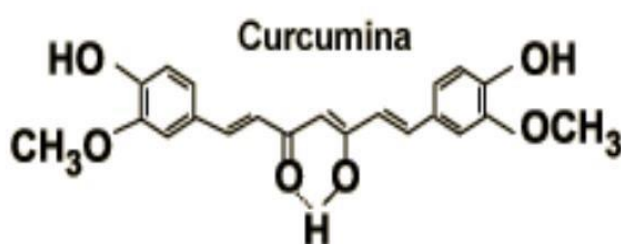
Es el rizoma de color anaranjado el que tiene el total protagonismo de la planta en cuanto a sus usos en el mercado o la industria. La cúrcuma es y ha sido utilizada en gastronomía e industria alimentaria, en medicina, cosmética natural y ritos espirituales. El uso de la cúrcuma en gastronomía se expondrá más adelante, y nos centraremos aquí en las demás potencialidades de mercado de este rizoma aromático <sup>(72)</sup>.

Igualmente se utiliza la oleoresina, un colorante que se obtiene por extracción alcohólica (acetona, diclorometano, 1,2-dicloroetano, metanol, etanol, isopropanol y hexanos) de lípidos y aceite de los rizomas secos y molidos de la cúrcuma <sup>(72)</sup>.

### 2.2.6.7. Composición química

Las propiedades medicinales de la cúrcuma son ricas en almidón (40–55%), se le atribuyen a la bioactividad de los componentes producidos en las rutas del metabolismo secundario: compuestos fenólicos y aceites volátiles <sup>(72)</sup>.

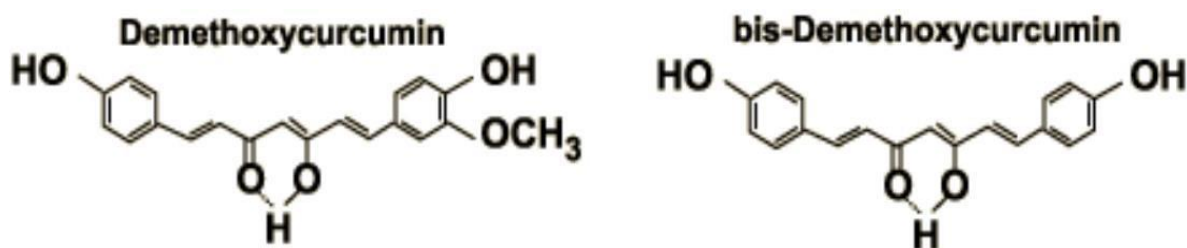
Los compuestos fenólicos que presenta, en concreto polifenoles, son del grupo de los curcuminoides, derivados diarilmetálicos responsables del color amarilloanaranjado de la cúrcuma. Los curcuminoides comprenden el 2-9% de la planta, siendo los mayoritarios y más usados comercialmente el diferuloilmetano (curcumina I) con una proporción en la planta del 77%, demetoxicurcumina (curcumina II) en proporción de 17%, bisdemetoxicurcumina (curcumina III) en un 3%, y la recientemente descubierta ciclocurcumina. El curcuminóide más importante es la curcumina, que se obtuvo por primera vez por síntesis en el laboratorio de S. Kostanecki en Berna en 1913<sup>(72)</sup>. La curcumina, de composición química  $C_{21}H_{20}O_6$ , es un estilbenoide, un diarilheptanoide derivado de la ruta de Shikimato /Acetato-malonato. Se trata de un polvo cristalino insoluble en agua, pero soluble en etanol y ácido acético <sup>(72)</sup>. La curcumina (diferuloilmetano) es la sustancia causante del color amarillo característico de los rizomas de esta planta, y es uno de los ingredientes activos responsable de su actividad biológica. La síntesis de este compuesto es conocida y su estructura fue determinada en 1910 <sup>(65)</sup>.



Fuente: Aybar D <sup>(73)</sup>.

**FIGURA N° 8: Curcumina**

La curcumina deriva de la demetoxicurcumina a través de una reacción enzimática mediada por la enzima O-metiltransferasa (OMT), que deriva a su vez de la bisdemetoxicurcumina a partir de una hidrolasa <sup>(72)</sup>.

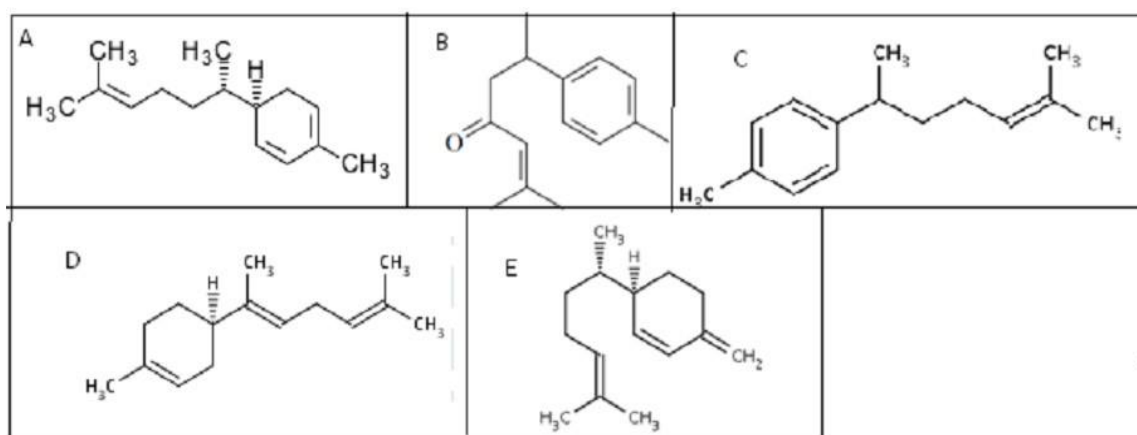


Fuente: Aybar D <sup>(73)</sup>.

**FIGURA N° 9: Demethoxycurcumin, Bis-Demethoxycurcumin.**

El rizoma de la cúrcuma presenta también aceites volátiles en un máximo de 5%. Son estos compuestos terpenoides los que le dan el aroma característico a este rizoma. Presenta una amplia variedad de sesquiterpenos cetónicos característicos de la especie, como son la artumerona (máximo de 25%), 1,8- cineol,  $\alpha$ - pineno,  $\alpha$ -terpineol, los isómeros  $\alpha$ -turmerona (atlantona) y  $\beta$ -turmerona (curlona) (máximo de 30%),  $\beta$  -pineno y zingibereno (máximo de 25%). También contiene cariofileno, curcumerol,  $\alpha$ -curcumeno, borneol, bisaboleno y  $\beta$ sesquifelandrenendreno. Estos sesquiterpenoides son unas potentes moléculas antioxidantes, detrás de los curcuminoides <sup>(72)</sup>.

La ar-turmerona es la sustancia responsable de la actividad alelopática de la cúrcuma. El zingibereno es un sesquiterpenoide bisabolano, un lípido formado a partir del trans-farnesil difosfato por la zingibereno sintasa (ZIS) <sup>(72)</sup>.



Fuente: Saiz de Cos, 2014 <sup>(72)</sup>.

**FIGURA N° 10: Estructura química de Zingibereno (A), ar-turmerona (B),  $\alpha$ curcumeno (C),  $\alpha$ -bisaboleno (D) y  $\beta$ -sesquifelandrenendreno (E).**

### 2.2.6.8. Valor nutricional

Según la “National Nutrient Database for Standard Reference” del Centro de información de alimentos y nutrición de la USDA, la cúrcuma es una planta poco calórica, baja en grasas y fundamentalmente compuesta por carbohidratos. Presenta una alta proporción de minerales como el potasio, el fósforo y el magnesio, y es una buena fuente de vitaminas C y E. En la Tabla N°. 6 se desglosa la composición nutricional por 100g de cúrcuma y por 3 g que equivalen a una ración por persona <sup>(72)</sup>.

**TABLA N° 6: Resumen sobre la composición nutricional de 100g de cúrcuma, y por 3 g que equivalen a una ración por persona.**

NUTRIENTES	UNIDAD	VALOR POR 100g	VALOR POR 3g
Agua	g	12.85	0.39
Energía	kcal	312	9
Proteínas	g	9.68	0.29
Lípidos totales (grasas)	g	3.25	0.10
Carbohidratos	g	67.14	2.01
Fibra dietética total	g	22.7	0.7
Azúcares totales	g	3.21	0.10
<b>MINERALES</b>			
Calcio, Ca	mg	168	5
Hierro, Fe	mg	55.00	1.65
Magnesio, Mg	mg	208	6
Fósforo, P	mg	299	9
Potasio, K	mg	2080	62
Sodio, Na	mg	27	1
Zinc, Zn	mg	4.50	0.14
<b>VITAMINAS</b>			
Vitamina C total (ácido ascórbico)	mg	0.7	0.0
Tiamina	mg	0.058	0.002
Riboflavina	mg	0.150	0.004
Niacina	mg	1.350	0.041
Vitamina B-6	mg	0.107	0.003
Folato, DFE	µg	20	1
Vitamina B-12	µg	0.00	0.00
Vitamina A, RAE	µg	0	0
Vitamina A, IU	IU	0	0
Vitamina E (alfa-tocoferol)	mg	4.43	0.13
Vitamina D (D2 + D3)	µg	0.0	0.0
Vitamina D	IU	0	0
Vitamina K (filoquinona)	µg	13.4	0.4
<b>LÍPIDOS</b>			
Ácidos grasos saturados, total	g	1.838	0.055
Ácidos grasos monoinsaturados, total	g	0.449	0.013
Ácidos grasos poliinsaturados, total	g	0.756	0.023
Ácidos grasos trans, total	g	0.056	0.002

Fuente: Cúrcuma I (Curcuma longa L) <sup>(72)</sup>.

### 2.2.6.9. Acciones farmacológicas.

**Actividad antimicrobiana:** Desde 1974 se conoce la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de cúrcuma, de la curcumina y de sus aceites esenciales contra las bacterias Gram-positivas. Asimismo, en 1987, se comprobó que la curcumina era bastante tóxica para Salmonella, aunque no para E. colifiltradas, y que tenía capacidad para alterar el DNA en presencia de luz visible. Se observaron las propiedades antifúngicas del uso tópico del aceite de cúrcuma, en un experimento realizado en cobayas, y en condiciones in vitro sobre varios aislados patológicos <sup>(65)</sup>.



**Piel:** En la medicina china los extractos de cúrcuma se aplican a nivel tópico directamente sobre la piel para la cicatrización de las heridas. La reparación de los tejidos y la curación de las heridas son procesos complejos en los que están implicados fenómenos de inflamación, granulación y remodelación de tejidos; las propiedades benéficas de la cúrcuma frente a estos procesos la han convertido en un efectivo tratamiento para la cicatrización, para el tratamiento de la fistula anal y en líneas generales para cualquier proceso de reparación tisular <sup>(65)</sup>.

**Tracto gastrointestinal:** La aplicación de la cúrcuma en el tracto gastrointestinal consigue un efecto beneficioso tanto a nivel físico como funcional. La secreción gástrica disminuye después de 3 h tras la administración de extractos acuosos y metanólicos; el extracto acuoso reduce la secreción de ácido, mientras que, el extracto metanólico, principalmente, disminuye la liberación de pepsina. Se comprobó que la curcumina inhibe la producción de IL-8 inducida por el *Helicobacter pylori* la cual juega un importante papel en el desarrollo de gastritis, úlcera y adenocarcinoma gástrico <sup>(65)</sup>.

**Hígado:** Una de las principales propiedades de los extractos de cúrcuma y de la curcumina es su actividad hepatoprotectora, que ha sido revisada por varios autores; se ha demostrado este efecto frente a varios tóxicos hepáticos *in vitro e in vivo* en distintos modelos animales. Varios estudios muestran que la cúrcuma y curcumina aumentan el flujo de bilis, al igual que los aceites esenciales de este extracto encontraron que el curcuminato de sodio, a bajas dosis, disminuye las cantidades de sólidos en la bilis, mientras que, a altas dosis, incrementa la excreción de sales biliares, bilirrubina y colesterol. Estudiaron el efecto de un pretratamiento corto con un extracto de cúrcuma, seguido de la administración de tetracloruro de carbono, y de la administración conjunta del extracto con el tóxico, y observaron que la cúrcuma disminuye algunos marcadores séricos de daño hepático como la fosfatasa alcalina, la bilirrubina y la aspartato aminotransferasa <sup>(65)</sup>.

**Sistema respiratorio:** Se encontraron efectos alentadores de un aceite volátil de cúrcuma sobre el sistema respiratorio en pacientes con bronquitis asmática y sobre la citotoxicidad inducida por la ciclofosfamida, la bleomicina y el paraquat en pulmón de rata. También, se ha observado que la curcumina es un potente agente antiproliferativo en el cáncer de pulmón <sup>(65)</sup>.

**Actividad antiinflamatoria:** Se ha demostrado que la cúrcuma es un compuesto antiinflamatorio en modelos de inflamación aguda, subaguda y crónica en ratones y ratas, aunque no tiene fuertes efectos analgésicos ni antipiréticos, tampoco produce una significativa irritación gástrica, ni tiene efectos en el sistema nervioso central. Además, el curcuminato sódico y el aceite volátil de cúrcuma también poseen propiedades antiinflamatorias. Además, han observado que la inducción de las

actividades de las enzimas responsables de la detoxificación de productos electrófilos de la peroxidación lipídica (glutatión transferasa y glutatión peroxidasa) puede contribuir a la acción antiinflamatoria de la curcumina <sup>(65)</sup>.

### **Actividad inmunomoduladora**

Otra propiedad atribuida a la cúrcuma es su capacidad inmunomoduladora. Se ha demostrado que la cúrcuma incrementa las respuestas de los linfocitos esplénicos frente a mitógenos en ratas, y altera la población de linfocitos en ratones. Se han aislado unos polisacáridos llamados ukonan A-D de un extracto del rizoma con agua caliente, y se ha comprobado su capacidad para estimular el sistema retículo endotelial <sup>(65)</sup>.

**Actividad hipolipidémica:** Algunos autores han estudiado el efecto de la suplementación diaria de 0.5% de curcumina en ratas con diabetes inducida por estreptozotocina, en las que detectaron una mejora significativa del estado metabólico a la vez que una reducción del colesterol sanguíneo (debido a la fracción LDL), de los triglicéridos y de los fosfolípidos. También se ha observado una reducción similar en el colesterol en el hígado y en el riñón, con un marcado incremento de la actividad de la enzima colesterol-7 $\alpha$ -hidroxilasa del hígado, lo que indica una mayor velocidad en el catabolismo del colesterol bajo los efectos de la curcumina <sup>(65)</sup>.

**Actividad antioxidante:** Los ácidos grasos poliinsaturados son moléculas muy susceptibles al ataque peroxidativo, lo que conlleva la alteración de las membranas de los tejidos. Químicamente, el extracto de cúrcuma es rico en una sustancia de naturaleza fenólica, la curcumina, que tiene una potente acción antioxidante sobre los ácidos grasos poliinsaturados y en homogenados de órganos animales in vitro <sup>(65)</sup>.

**Actividad anticarcinogénica:** La principal línea de investigación de la cúrcuma en los últimos años, ha sido conocer su actividad antiproliferativa, antitumoral y anticancerosa. Se ha comprobado el efecto preventivo y curativo de la cúrcuma, la curcumina y sus extractos acuosos frente al cáncer y la formación de tumores <sup>(65)</sup>.

**Depresión:** En la medicina china la cúrcuma es uno de los ingredientes principales de una fórmula de hierbas contra la depresión. La curcumina es liposoluble y cruza la barrera hematoencefálica sin dificultades. En modelos animales de depresión se ha observado que la curcumina a una dosis oral de 5 y 10 mg/kg/día reduce significativamente el comportamiento depresivo. La curcumina inhibe la enzima monoaminoxidasa (MAO) e incrementa la actividad de la serotonina, la noradrenalina y

la dopamina en el cerebro. La dosis de 10 mg/kg/día condujo a un incremento notable de los niveles de serotonina y noradrenalina en el córtex frontal y el hipocampo, así como el nivel de dopamina en el córtex frontal y el estriado. Estas áreas cerebrales son importantes para las emociones, la motivación, el aprendizaje y la memoria <sup>(74)</sup>.

#### **2.2.6.10. Efectos adversos y/o tóxicos.**

La curcumina puede influir en el metabolismo de los medicamentos; y también puede reforzar el efecto de los anticoagulantes (en altas dosis) y efecto antiplaquetario, está contraindicada en caso de cálculos biliares grandes o bloqueo de las vías biliares por cálculos, ictericia obstructiva, cólicos biliares agudos y afecciones de toxicidad hepática grave. Se desaconseja el consumo del extracto durante el embarazo y la lactancia <sup>(74)</sup>. Debe ser consumido con cuidado en pacientes que estén tomando medicaciones anticoagulantes o antiplaquetarias, ya que podría incrementar el riesgo de sangrado. Aunque esta potencial interacción no ha sido documentada, el palillo podría potenciar los efectos de la warfarina, enoxaparina, heparina, clopidogrel, aspirina, y otros medicamentos anticoagulantes o antiplaquetarios <sup>(75)</sup>.

Dosis demasiado elevadas pueden dar lugar a irritación de la mucosa estomacal y deben evitarse en pacientes con úlcera gástrica o intestinal. A veces el consumo de extractos de cúrcuma puede aumentar la frecuencia de las deposiciones <sup>(74)</sup>.

#### **2.2.6.11. Uso tradicional**

El rizoma contiene aceite esencial (utilizado en la fabricación de perfumes) en el que se encuentran la turmerona cetónica de sabor ardiente, pigmento de cúrcuma color amarillo (curcumina) que es soluble en agua, principios amargos, grasa, ácidos, resina, almidón y oxalato de calcio. Estimula la secreción de jugos gástricos, pero es irritante de las mucosas, promueve la secreción biliar en enfermedades biliares o hepáticas. También es digestiva, emoliente y diurético. Esta especie es uno de los principales ingredientes de la salsa china conocida como “curry”, compuesta de varias especies (“pimenta”, culantro”, “canela”, “kión”, “clavo de olor”, “ají”, “comino” y “nuez moscada”). Por otro lado, es utilizada en la fabricación del papel de “cúrcuma”, usado como reactivo <sup>(69,76)</sup>.

Además, se usa en la industria alimentaria para dar color y sabor a los huevos, quesos, mantequilla, margarina, bebidas de frutas, licores y ensaladas. En China e India el colorante se emplea para teñir seda, algodón, además de mezclarse con alumbre para obtener una pintura indestructible. Tiene propiedades medicinales frente a determinadas afecciones de las vías urinarias, ictericias y determinadas enfermedades del hígado; también es empleado para detener hemorragias. Con la leche y azúcar se usa para curar resfriado, flatulencias, y afecciones hepáticas. El rizoma es usado en la hepatitis, dispepsia y como vulnerario. Se debe tomar con moderación porque consumida en

cantidades importantes provoca acidez de estómago e incluso úlceras. En fitoterapia se prepara una infusión de rizoma contra las afecciones hepáticas y vesiculares <sup>(69,76)</sup>.

Los rizomas machacados, mezclados con las hojas de *Sparuna guianensis* Aubl y de *Justicia pectoralis* Jacq., sal y ron, son usados como cataplasma en contusiones en la espalda. La raíz contiene al menos tres compuestos antiinflamatorios curcumina, feruloil, 4-hidroxicinnamoil metano y bis-14-hidroxicinnamoil metano <sup>(69,76)</sup>.

El rizoma se emplea como sazonador, como colorante en la preparación de alimentos y productos lácteos. También es utilizada como alimento para aves y para teñir lana, papel, seda, algodón y madera. La curcuma es el principal ingrediente del polvo curry. Industrialmente, se le emplea en la elaboración de cosméticos, textilera, barnices, pinturas en la fabricación del óleo resina Turmeric y como indicador en análisis químicos <sup>(77)</sup>.

### **2.2.7. Silimarina**

Dentro de la botánica, el cardo mariano es más conocido como *Silybum mariano* o Silimarina, un miembro de la familia *asteraceae*. La parte más utilizada son las pequeñas frutas duras conocidas como aquenios, de los cuales se extraer un vilano <sup>(78)</sup>.

Desde tiempos remotos, fue utilizado para el tratamiento de distintas enfermedades. Gracias a sus componentes ricos en flavonoides, flavonolignanos <sup>(78)</sup>.

#### **2.2.7.1. Propiedades**

La silibina, sileristina y silidianina son componentes que se encuentran en el vilano de la planta que formando un complejo hepatoprotector llamado Silimarina, la cual actúa directamente sobre los hepatocitos, regenerándolos y combatiendo los efectos de los xenobióticos (alcohol, medicamentos o provenientes de los alimentos); favorece en la secreción de la bilis, por la vesícula biliar. <sup>(72)</sup>

#### **2.2.7.2. Usos**

##### **Basados en antecedentes clínicos**

- Para el apoyo del tratamiento frente a enfermedades como hepatitis (aguda y crónica), cirrosis <sup>(79)</sup>.

##### **Basados en medicina tradicional**

- Para el tratamiento de molestias despépticas o cálculos biliares, ictericia <sup>(79)</sup>.

##### **Basados en medicina popular**

- Para el tratamiento de amenorrea, constipación crónica, diabetes, desordenes hepáticos, hipotensión arterial y cardiotónico, hemorragia uterina y venas varicosa, entre otros <sup>(79)</sup>.

### 2.2.8. *Rattus novergicus* ALBINUS CEPA HOLZTMAN

*Rattus novergicus*, son mamíferos destinados a la investigación, por la particularidad que le favorecen como modelo animal de laboratorio debido a sus características desde el punto de vista anatómico, fisiológico y genético. En promedio, estas ratas llegan a casi 400 mm de la nariz a la cola, y el peso 140 a 500 g. Los machos son generalmente más grandes que las hembras <sup>(80)</sup>. En la reproducción, cada hembra puede dar a luz aproximadamente 60 crías al año, por su periodo de gestación que generalmente son de 2 meses pudiendo parir entre 5 y 12 cachorros. Su alimentación es a base frutas, vegetales <sup>(80)</sup>.

**TABLA N° 7: Clasificación taxonómica de *Rattus novergicus*.**

<u><b>Taxonomía</b></u>	
<u>Reino:</u>	<u>Animalia</u>
<u>Filo:</u>	<u>Chordata</u>
<u>Clase:</u>	<u>Mammalia</u>
<u>Orden:</u>	<u>Rodentia</u>
Suborden:	<u>Myomorpha</u>
<u>Familia:</u>	<u>Muridae</u>
Subfamilia:	<u>Murinae</u>
<u>Género:</u>	<b>Rattus</b>

Fuente: Armitage, 2004 <sup>(80)</sup>.

## CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1. MATERIALES

#### 3.1.1. Material biológico

**Animal de experimentación:**

- o Se utilizaron ratas albinas: cepa Holtzman obtenidos del INS con certificación de control sanitario.

**Material vegetal:**

- o Extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* obtenidos del laboratorio del Instituto de Medicina Tradicional- IMET, lote: 24-082016.
- o Aceite de oliva extra virgen

#### 3.1.2. Equipos

**TABLA N° 8: Equipos utilizados en la investigación**

EQUIPOS		
N°	Materiales	Marca
01	Centrifuga	Thermo scientific
02	Refrigeradora	Electroluz
03	Pulverizadora	-----
04	Micrótopo	-----
05	Liofilizadora	-----
06	Estufa eléctrica	MEMMERT
07	Balanza analítica	Sartorius
08	Balanza triple brazo, para pesar los animales	
09	Vortex	-----
10	Microscopio	-----
11	Termohigrómetro	Termohigrometro Boeco germany
12	Cromatógrafo	-----

### 3.1.3. Reactivos y colorante

- ❖ Tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>)
- ❖ Formol al 10%
- ❖ Agua destilada
- ❖ Azul de metileno
- ❖ Silimarina al 80%
- ❖ Ketamina
- ❖ DMSO
- ❖ Cloroformo

### 3.1.4. Materiales de vidrio

**TABLA N° 9: Materiales de limpieza**

N°	MATERIALES
01	Vaso precipitado de 10 ml, 50 ml, 100 ml y 200 ml
02	Tubo de ensayo
03	Probeta de 20 y 1000 ml
04	Pipeta volumétricas de 10 ml

### 3.1.5. Materiales de limpieza

**TABLA N° 10: Materiales de limpieza**

N°	MATERIALES
01	Mascarillas descartables
02	Respirador N95 8233
03	Guantes estériles
04	Mandil descartable
05	Gorros descartables
06	Cubrecazado
07	Papel toalla
08	Jabón líquido
09	Alcohol 96°
10	Alcohol en gel

### 3.1.6. Materiales de aclimatación:

- ❖ Jaulas con reja de acero
- ❖ Alimento balanceado-Universidad Nacional Agraria- La Molina
- ❖ Bebederos
- ❖ Agua tratada: Tropical ®
- ❖ Viruta estéril
- ❖ Taper de plástico

### 3.1.7. Otros materiales

**TABLA N° 11: Otros materiales.**

<b>N°</b>	<b>MATERIALES</b>
01	Agujas de 21 ½ G estériles
02	Jeringa tuberculina de 1 ml
03	Cánula con punta redonda
04	Esparadrapo
05	Estuches de disección
06	Bisturí de 21
07	Tubos cónico 50ml
08	Tubos sin heparina
10	Tubos de tapa morada
11	Tubos de tapa celeste
12	Tubos crioviales de 2 ml y 10 ml
13	Ice pack
14	Algodón estéril
15	Gradillas
16	Marcadores
17	Cámara digital
18	Lapicero indeleble
19	Tijeras



20	Estiques de colores(para rotular)
21	Termopar
22	Micropipeta de 200 ul y de 1000 ul
23	Tips para micropipetas
24	Frascos de plástico para muestras de hígado
25	Papel aluminio
26	Papel crepe
27	Parafin

## 3.2. METODOLOGÍA

### 3.2.1. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El presente estudio es de tipo cuantitativo (experimental), prospectivo y longitudinal. Es experimental ya que se realiza: la evaluación, manipulación, control y aleatorización de las variables de acuerdo con los objetivos de la investigación, con el fin de investigar las posibles relaciones causa-efecto. Prospectivo porque es un estudio longitudinal en el tiempo que se diseña y comienza a realizarse en el presente, pero los datos se analizan transcurrido un determinado tiempo, en el futuro.

EL esquema de la investigación:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + u_{ij} \quad , \quad i = 1, \dots, I; \quad j = 1, \dots, n_i$$

Leyenda:

- $y_{ij}$  : Variable aleatoria que representa la observación  $j$ -ésima del  $i$ -ésimo tratamiento (nivel  $i$ -ésimo del factor).
- $\mu$  : Efecto constante, común a todos los niveles. Media global.
- $\tau_i$  : Efecto del tratamiento  $i$ -ésimo. Es la parte de  $y_{ij}$  debida a la acción del nivel  $i$ -ésimo, que será común a todos los elementos sometidos a ese nivel del factor.
- $u_{ij}$  : Variables aleatorias que engloban un conjunto de factores, cada uno de los cuales influye en la respuesta sólo en pequeña magnitud pero que de forma conjunta debe tenerse en cuenta. Deben verificar las siguientes condiciones:
  - ★ La media sea cero:  $E[u_{ij}] = 0 \quad \forall i, j$  .
  - ★ La varianza sea constante:  $\text{Var}[u_{ij}] = \sigma^2 \quad \forall i, j$
  - ★ Independientes entre sí:  $E[u_{ij}u_{rk}] = 0 \quad i \neq r \quad \text{ó} \quad j \neq k$ .
  - ★ Distribución sea normal.

✚ Modelo equilibrado o balanceado: Todas las muestras del mismo tamaño ( $n_i = n$ ).

### 3.2.2. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO

#### 3.2.2.1. Certificación de la especie vegetal

La certificación de la especie botánica fue emitida por Herbarium amazonense-AMAZ Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Universidad Nacional de Amazonía Peruana-UNAP

(81,82,83).

### **3.2.2.2. Secado de las especies vegetales**

Para realizar el secado de las muestras vegetales estas fueron picadas a manera de hojuelas y luego colocadas en una secadora a una temperatura entre 40 – 50 ° C. el tiempo de este proceso puede demorar entre 4 a 6 días, lo cual depende del tamaño del corte de los rizomas <sup>(81,82,83)</sup>.

### **3.2.2.3. Verificación del estado de la especie vegetal después de la aclimatación en el secadero del IMET-EsSalud.**

La especie luego del secado, fue mantenido a una humedad constante, con verificación del color (más cercano a lo natural) y textura (ruptura rápida de las hojuelas); esto nos permitió certificar el buen estado de la especie <sup>(81,82,83)</sup>.

### **3.2.2.4. Molienda de las hojuelas**

Las hojuelas fueron molidas y posteriormente tamizadas para separar las partículas gruesas, hasta obtener un polvo fino, que fueron guardados en frascos de vidrio protegidos de la luz <sup>(81,82,83)</sup>.

### **3.2.2.5. Propiedades del extracto.**

A partir del material vegetal en polvo se procedió a la preparación del extracto acuoso, siguiendo el siguiente procedimiento:

- Pesado de 4 gramos de polvo.
- Colocar 1 litro de agua y someterlo a calentamiento.
- Cuando inicie la ebullición agregar el polvo y dejar hervir por 10 minutos.
- Dejar enfriar.
- Tamizar en un cernidor fino <sup>(81,82,83)</sup>.

Luego del filtrado, el extracto fue concentrado en el equipo rotavapor a 40rpm en 50° C, obteniendo finalmente un aproximado de 200 ml, para su posterior congelación a –10 ° C <sup>(81,82,83)</sup>.

### **3.2.2.6. LIOFILIZADO**

El extracto concentrado, fue vertido en la bandeja del equipo liofilizado en una cantidad de 200 ml/bandeja, para ser colocadas bajo refrigeración a -10 ° C por 24 horas y posteriormente puesto en el equipo filizador bajo las siguientes condiciones: a una temperatura -40 °C con una presión de 13 pascales por 48 horas <sup>(81,82,83)</sup>.

**TABLA N° 12: Esquema de actividades**

<b>Actividad</b>	<b>Indicador</b>
Recolección de muestra vegetal: <i>Cúrcuma longa</i> .	Lugar de colecta: Fundo Zungarococha-UNAP. Dist. San Bautista – Prov. Maynas-Loreto.
Preparación de muestras para secado.	Peso seco: 4 gr/especie.
Preparación de extracto acuoso.	4 gr / 1000 ml agua.
Concentración de extracto acuosos	200 ml.
Liofilizado.	(15%)

Fuente: Aranda VJ, 2014 <sup>(83)</sup>.

### 3.2.3. CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL FITOQUÍMICO DEL RIZOMA

La caracterización del perfil fitoquímico del rizoma, se realizó en el laboratorio de Fitoquímico del Instituto de Medicina Tradicional-IMET-EsSalud, siguiendo los siguientes esquemas de identificación de los metabolitos secundarios:

#### ❖ **Identificación de Alcaloides**

##### **Ensayo de Dragendorff**

La fracción disuelta en 1 ml de solución de ácido clorhídrico al 1%, con ausencia de solvente orgánico se mezcla con una gota del reactivo; si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++) de color rojo ladrillo. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado y se procede de la misma forma <sup>(84)</sup>.

#### ❖ **Identificación de Triterpenos y Esteroides**

##### **Ensayo de Liberman – Burchard**

La presencia de triterpenos y/o esteroides, se puede realizar a través del ensayo de Liebermann - Burchard, debido a que ambos tipos de productos poseen un núcleo de androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6 <sup>(84,85)</sup>. En un tubo de ensayo se colocó 1 ml de fracción disuelta en cloroformo con 1 ml de anhídrido acético y se mezcla bien. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

- ✓ Rosado – Azul, muy rápido.
- ✓ Verde intenso – Visible, aunque rápido.
- ✓ Verde oscuro – negro, final de la reacción <sup>(84)</sup>.

## ❖ **Identificación de Quinonas**

### **Ensayo de Borntrager**

Para la identificación de quinonas se emplea el ensayo de Borntrager. La fracción disuelta en 1 ml de cloroformo se agita con 1 ml de solución de hidróxido de sodio, de potasio o de amonio al 5 % en agua. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado a rojo, el ensayo se considera positivo (naftaquinona y antraquinona) <sup>(84, 85)</sup>.

El ensayo no excluye presencia de quinonas, ya que pueden encontrarse en forma de Glicósidos, siendo necesaria la hidrólisis previa de los mismos para su posterior detección <sup>(85)</sup>.

## ❖ **Identificación de Cumarinas**

### **Ensayo de Baljet**

El ensayo de Baljet, permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamientos lactónicos en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo, como: las lactosas sesquiterpénicas, cardiotónicos, etc <sup>(85)</sup>.

Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño maría y disolverse en la menor cantidad de alcohol (1 ml). En estas condiciones se adiciona 1 ml del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de precipitado rojo o coloración roja <sup>(84,85)</sup>.

## ❖ **Identificación de Carotenos**

### **Ensayo de Carr–Price**

A una alícuota del extracto etéreo (éter de petróleo) se le adiciona 1 ml del reactivo, la aparición de una coloración verde azulada indica la presencia de carotenos <sup>(84)</sup>.

## ❖ **Identificación de Aceites esenciales y Sustancias Grasas.**

### **Ensayo de Sudán**

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos, respectivamente. A una alícuota de la fracción en el solvente de extracción se le añade 1 ml de una solución diluida en agua del colorante Sudán III. Se calienta en baño de agua hasta la evaporación del solvente. La aparición de gotas oleosas de color rojo oscuro indica la presencia de lípidos y/o aceites esenciales <sup>(84,85)</sup>.

Para el ensayo del papel blanco con aceites esenciales sin reactivos, se coloca la gota y se deja secar al aire. En caso positivo, la mancha muestra transparencia vista a trasluz. Se calienta el papel a 110 °C. Si al calentar la mancha se hace más transparente, es signo de positividad para aceites y grasas <sup>(84)</sup>.

## ❖ **Identificación de Azúcares Reductores**

### **Ensayo de Fehling**

Para reconocer la presencia de azúcares reductores se emplea el ensayo de Fehling. El residuo se divide en 1 a 2 ml de agua en caso que la fracción no sea acuosa, se adicionan 2 ml de reactivo, se calienta la mezcla en baño de agua durante 10 a 30 minutos. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo <sup>(84,85)</sup>.

## ❖ **Identificación de Saponinas**

### **Ensayo de la Espuma**

Permite reconocer la presencia de saponinas tanto del tipo esferoidal como triterpénica. De modo que, si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la muestra fuertemente durante 2 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma de 2 mm de altura en la superficie del líquido y persiste por más de 2 minutos <sup>(84,85)</sup>.

## ❖ **Identificación de Fenoles y Taninos**

### **Ensayo de Cloruro Férrico**

A la fracción disuelta en 1 ml de etanol, se añade 0.5 ml de una solución de cloruro férrico al 5% en solución salina. La aparición de un color o precipitado verde oscuro indica la presencia de fenoles y/o taninos. En el extracto acuoso se adiciona acetato de sodio previo al ensayo <sup>(84)</sup>.

## ❖ **Identificación de Aminoácidos y Aminas**

### **Ensayo de Ninhidrina**

Se toma una alícuota de extracto en alcohol, si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, evaporar a sequedad; en ambos casos se mezclan con 2 ml de solución al 0,2% de ninhidrina en alcohol. La mezcla se calienta de 5 a 10 minutos en baño de agua. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color azul violáceo <sup>(84)</sup>.

## ❖ **Identificación de Glicósidos Cardiotónicos**

### **Ensayo de Kedde**

La fracción se disuelve en 1 ml de alcohol etílico, se mezcla con 1 ml del reactivo y se deja reposar durante 5 – 10 minutos. Un ensayo positivo es cuando se desarrolla una coloración violácea persistente durante 1 a 2 horas <sup>(84)</sup>.

## ❖ **Identificación de Flavonoides**

### **Ensayo de Shinoda**

A 2 ml de fracción acuosa o el residuo disuelto en 2 ml de agua, se le adiciona 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de magnesio metálico o zinc metálico. Cuando la reacción

termina, se añade 1 ml de alcohol amílico y se agita. El ensayo se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, anaranjado o rojo, intenso en todos los casos <sup>(84)</sup>.

❖ **Identificación de Mucílagos**

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de estructuras tipo polisacáridos, que forman un coloide hidrófilo que aumenta la densidad del agua cuando se extrae.

❖ **Identificación de Principios Amargos - astringentes**

El ensayo se realizó tomándole el sabor a 1 gota del extracto acuoso del vegetal <sup>(84)</sup>.

❖ **Identificación de Glicósidos**

**Ensayo de Molish**

En un tubo de ensayo se colocaron 2 ml del extracto acuoso y se añadió unas gotas de solución alfa-naftol al 5 % en etanol. Se mezcla y por la pared del tubo se adiciona 1 ml de ácido sulfúrico concentrado. La aparición de un anillo violáceo en la interfase indica una reacción positiva <sup>(84)</sup>.

**3.2.4. ANÁLISIS DE LA CURCUMINA EN EL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO**

Se realizó el análisis del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* L. de la localidad de Zungarococha-UNAP distrito San Bautista – Prov. Maynas-Loreto; para la determinación de la cantidad de curcumina presente de acuerdo al Método establecido por NPT 209.199:1982 emitido por el Informe de Ensayos N° 001230-2016, realizados en el laboratorio de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

**3.2.5. CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASA DE *Curcuma longa*.**

Se pesó 1gr de polvo del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* L. en papel aluminio, colocándolo en dos viales de 1.5 ml para su análisis por Cromatografía de gases (GC) acoplada a Espectrometría en el laboratorio de la Universidad Nacional Agraria La Molina <sup>(86)</sup>.

Esta técnica puede aplicarse tanto al análisis cualitativo como cuantitativo, siendo especialmente potente cuando se acopla a una técnica de separación previa como es la cromatografía <sup>(86)</sup>. La versatilidad de la instrumentación disponible permite su utilización en muchas y diversas aplicaciones, desde seguridad alimentaria, pasando por estudios farmacéuticos, identificación y determinación de metabolitos, hasta análisis medio ambientales <sup>(86)</sup>.

Su capacidad para detectar un amplio rango de compuestos, con óptima sensibilidad y especificidad, han convertido la técnica en poco menos que imprescindible en una gran variedad de campo <sup>(86)</sup>.

### **3.2.6. ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE *Curcuma longa***

#### **3.2.5.1. Animales de experimentación**

Todos los animales fueron acondicionados en el Bioterio del IMET-EsSalud, se emplearon 20 ratas de la especie *Rattus norvegicus* cepa Holtzman machos del lote N°R10-2016, agrupados en 5 grupos aleatoriamente (4 para control negativo, 4 para control positivo, 4 para control droga (silimarina 80%), 4 para tratamiento experimental 01 y 4 para tratamiento experimental 02). Los animales de 2 meses de edad fueron acondicionados en cajas plásticas de polipropileno tipo R20 (ancaren), utilizando viruta de madera como encamado (cambiadas cada dos días) con tapa de rejilla de acero inoxidable y recambiables; en condiciones ambientales controladas (con una temperatura a  $25 \pm 1^\circ$  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. Se alimentaron con la formula proveído por la Universidad Agraria La Molina y agua tratada Tropical® dándoles en biberones de vidrio de 500 ml con pipeta de acero inoxidable (ancaren). Este estudio fue basado en la **Ley N° 27265** establecido en el Título IV: DE LA EXPERIMENTACIÓN E INVESTIGACION Y LA DOCENCIA en el **Artículo 10°** de la Ley Peruana.

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

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

#### **Agua**

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

#### **Alimentación**

Se les administro 8 gr de comida por rata a las 12 pm, dejando por grupo 32 gr de comida diariamente.

#### **Limpieza**

Se realizaba la limpieza cada dos días: cambio de viruta, lavado de las jaulas plásticas y lavado de los biberones.



### 3.2.5.2. Preparación del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa*:

Se procedió a realizar los cálculos para la preparación del extracto acuoso liofilizado a administrar por dosis de acuerdo al peso promedio de las ratas por grupo.

**TABLA N° 13: Peso promedio de cada grupo para la preparación de extracto**

Grupo	Peso promedio de las ratas
Control negativo ( n°1)	215.50 gr
Control positivo ( n°2)	212.60 gr
Silimarina 100 mg ( n°3)	227.16 gr
Cúrcuma 100 mg( n°4)	221.00 gr
Cúrcuma 200 mg( n°5)	222.60 gr

#### Grupo experimental 01:

Para preparar 100 mg/kg/día extracto acuoso liofilizado de *C. longa* se realizaron los siguientes cálculos:

Datos

- 100 mg del extracto de acuoso liofilizado de *C. longa*.
- 221 gr de peso promedio de las ratas.

$\begin{aligned} 100 \text{ mg} &\rightarrow 1000 \text{ gr} \\ X &\rightarrow 221 \text{ gr} \\ X &= 22.1 \text{ mg} \end{aligned}$
--

X= 22.1mg del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* por rata.

Cálculo de la cantidad preparada por grupo:

►  $22.1 \text{ mg} \times 8 \text{ ratas} \times 8 \text{ días} = 1414.4 \text{ mg}$

Cálculo de la cantidad de agua para diluir el extracto acuoso liofilizado:

►  $0.5 \text{ ml} \times 8 \text{ ratas} \times 8 \text{ días} = 32 \text{ ml}$

#### Grupo experimental 02:

Para prepara 200 mg/kg/día extracto acuoso liofilizado de *C. longa* se realizaron los siguientes cálculos:

Datos

- ❖ 200 mg del extracto de acuoso liofilizado de *Curcuma longa*
- ❖ 222.6 gr de peso promedio de las ratas

$200 \text{ mg} \rightarrow 1000 \text{ gr}$ $X \rightarrow 222.6 \text{ gr}$ $X = 44.52 \text{ mg}$
--

X= 44.52 mg del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* por rata.

Cálculo de la cantidad preparada por grupo

▶ 44.52 mg x 8 ratas x 8 días= 2849 mg

Cálculo de la cantidad de agua para diluir el extracto acuoso liofilizado:

▶ 0.5 ml x 8 ratas x 8 días= 32 ml

Se pesaron las muestras del extracto acuoso liofiliza de *C. longa* en polvo para cada grupo en la balanza analítica del laboratorio de farmacología del IMET-EsSalud en papel aluminio, vaciándolos en tubos cónicos, diluyéndolo con agua destilada; para luego llevarlo vortex a 500 rpm.

**3.2.5.3. Preparación de la silimarina al 80%**

**Cálculo de la cantidad de silimarina en una cápsula de 300 mg**

Datos:

- ✓ Cápsula de Silimarina en una presentación de 300 mg.
- ✓ La capsula contiene 80% de silimarina.

$300 \text{ mg} \rightarrow 100\%$ $X \rightarrow 80\%$ $X = 240 \text{ mg}$
--

▶ X= 240 mg de silimarina en una cápsula de 300 mg.

**Cálculo de silimarina a dosis de 100 mg en la cápsula**

Datos:

- ✓ Dosis de silimarina por rata: 100 mg.
- ✓ Cantidad de silimarina en una cápsula de 300 mg: 240 mg.

$240 \text{ mg} \rightarrow 300 \text{ mg}$ $100 \text{ mg} \rightarrow X$ $X = 125 \text{ mg}$
---

X= 125 mg de silimarina hay en una dosis de 100 mg,

### **Cálculo de la dosis de silimarina por rata**

Datos:

- ✓ Para 100 mg de silimarina, en la cápsula hay 125 mg.
- ✓ Peso promedio del grupo de la rata: 227.16

$\begin{aligned} 125 \text{ mg} &\rightarrow 1000 \text{ gr} \\ 227.16 \text{ gr} &\rightarrow X \\ X &= 28.4 \text{ mg} \end{aligned}$
---

- ▶ 28.9 mg de silimarina por rata en la cápsula.

### **Cálculo de la dosis de silimarina por grupo:**

Datos:

- ✓ En una capsula de 300 mg se administrará por rata 28.4 mg de la cápsula a una dosis de 100 mg.
- ✓ Cantidad de ratas en el grupo: 8 ratas.
- ✓ Días de administración: 8 días.

$28.4 \text{ mg de la cápsula} \times 8 \text{ ratas} \times 8 \text{ días} = 1817. \text{ mg de la cápsula}$
---

- ▶ 1817 mg de silimarina para todo el grupo.

### **Cálculo de la cantidad de DMSO para diluir el extracto acuoso liofilizado:**

- ▶  $0.5 \text{ ml} \times 8 \text{ ratas} \times 8 \text{ días} = 32 \text{ ml}$

Se pesó la muestra de silimarina en la balanza analítica del Laboratorio de Farmacología del IMET-EsSalud en papel aluminio y se colocaron en tubo cónico, diluyéndolo con DMSO; para luego llevarlo al vortex a 500 rpm.

#### **3.2.5.4. Administración de los tratamientos**

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

- Al grupo silimarina 100 mg se le administró 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 0.5ml del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* en concentraciones de 100 mg/kg y 200 mg/kg a los dos grupos de tratamiento cúrcuma 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 0,5ml de 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 0,5ml de agua destilada durante 7 días, sin ningún tratamiento y se los mantuvo en condiciones normales de agua y comida.

Se conservaron las muestras hepatoprotectoras en la refrigeración a 4 °C.

### 3.2.5.5. Administración de tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>)

La inducción del daño hepático se realizó al 6to y 7mo día por vía intraperitoneal (i.p) 2ml/kg de peso de tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) disuelta en aceite de oliva a los grupos: control positivo, control droga y a los dos grupos de experimentación, siendo este un compuesto que produce daño hepático.

- El 1er día se administró 2,0 ml/kg p.c de CCl<sub>4</sub>, al 80% (v/v) de aceite de oliva (ver anexo: 6 y 10).
- El 2do día se administró 2,0 ml/kg p.c de CCl<sub>4</sub>, al 50% (v/v) de aceite de oliva (ver anexo: 6 y 11)<sup>(87)</sup>.

### Esquema experimental

Para el dosaje se considerarán 5 grupos experimentales de 4 ratas por grupo:

**TABLA N° 14: ESQUEMA DE LOS GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN**

N° GRUPO	GRUPO EXPERIMENTALES	SUSTANCIAS	CANTIDAD
GRUPO 1	Control Negativo	Agua destilada + Alimentación	04
GRUPO 2	Control Positivo	Agua destilada + CCl <sub>4</sub>	04
GRUPO 3	Silimarina 100 mg	Silimarina 100mg/kg/día + CCl <sub>4</sub>	04
GRUPO 4	Cúrcuma 100 mg	Extracto acuoso liofilizado <i>Curcuma longa</i> 100mg/kg/día + CCl <sub>4</sub>	04
GRUPO 5	Cúrcuma 200 mg	Extracto acuoso liofilizado <i>Curcuma longa</i> 200mg/kg/día + CCl <sub>4</sub>	04

## Los cinco primeros días del estudio

- Se pesó a los animales de todos los grupos.
- Por cada grupo, se controló la comida y se midió el volumen de agua.
- La administración fue de la siguiente manera:
  - Grupo control positivo y negativo 0.5ml de agua destilada vía oral con una cánula de punta redonda.
  - Grupo silimarina 100 mg, se le administraron 0.5ml de silimarina a una concentración de 100mg/kg vía oral con una cánula punta redonda.
  - Grupo Cúrcuma 100 mg, se le administraron 0.5ml de cúrcuma a una concentración de 100mg/kg vía oral con una cánula de punta redonda.
  - Grupo Cúrcuma 200 mg, se le administraron 0.5ml de cúrcuma a una concentración de 200mg/kg vía oral con una cánula de punta redonda.

## Sexto día:

- Se pesó a los animales de todos los grupos.
- Por cada grupo, se controló la comida y se midió el volumen de agua.
- La administración fue de la siguiente manera:
  - Grupo control positivo y negativo 0.5ml de agua destilada vía oral con una cánula de punta redonda.
  - Grupo silimarina 100 mg, se le administraron 0.5 ml de silimarina una concentración de 100mg/kg vía oral con una cánula punta redonda.
  - Grupo Cúrcuma 100 mg, se le administraron 0.5 ml de cúrcuma a una concentración de 100mg/kg vía oral con una cánula de punta redonda.
  - Grupo Cúrcuma 200 mg, se le administraron 0.5 ml de cúrcuma a una concentración de 200mg/kg vía oral con una cánula de punta redonda.
- Posteriormente se realizó los cálculos del CCl<sub>4</sub> para los dos días (02) de administración, calculado con el peso actual de los animales. La dosis para el primer día fue a una concentración de 2ml/kg (al 80% v/v de aceite de oliva extra virgen) (ver anexo N°9).
- El CCl<sub>4</sub> se administró de acuerdo a la dosis calculada, vía intraperitoneal a los grupos control positivo, tratamiento silimarina, tratamiento Cúrcuma 100 mg y tratamiento Cúrcuma 200 mg.

### **Séptimo día:**

- Se pesó a los animales de todos los grupos.
- Por cada grupo, se controló la comida y se midió el volumen de agua.
- La administración fue de la siguiente manera:
  - Grupo control positivo y negativo 0.5ml de agua destilada vía oral con una cánula de punta redonda.
  - Grupo silimarina, se le administraron 0.5 ml de silimarina una concentración de 100mg/kg vía oral con una cánula punta redonda.
  - Grupo Cúrcuma 100 mg, se le administraron 0.5ml de cúrcuma a una concentración de 100mg/kg vía oral con una cánula de punta redonda.
  - Grupo Tratamiento Curcuma 200 mg, se le administraron 0.5ml de cúrcuma a una concentración de 200mg/kg vía oral con una cánula de punta redonda.
- La dosis para el segundo día fue a una concentración de 2ml/kg (al 50% v/v de aceite de oliva extra virgen).
- El CCl<sub>4</sub> se administró de acuerdo a la dosis calculada, vía intraperitoneal a los grupos control positivo, tratamiento silimarina, Tratamiento Curcuma 100 mg y Tratamiento Curcuma 200 mg (ver anexo N° 10).

Al 8vo día se colectarán las muestras de sangre por punción cardíaca y se sacrificara a los animales por dislocación cervical, posteriormente se extrajo los hígados y se conservaron en formalina (10%) hasta su procesamiento estudio histológico.

### **3.2.7. ENSAYOS BIOQUÍMICOS DE AST, ALT Y ALP.**

#### **3.2.7.1. Colecta de Sangre.**

A las 24 horas después de la última dosis, en ayunas, se anestesió a los animales con 0.1ml de ketamina/xilazina/atropina, i.m., y se colectó 1 ml de sangre por punción cardíaca con una jeringa tuberculina, colocándolos en microtubos de 1 ml con activador de coagulante y gel separador previamente rotulado.

### **3.2.7.2. Determinación del Aspartato aminotransferasa (AST), Alanino sérica aminotransferasa (ALT) y Fosfatasa alcalina (ALP)**

Se centrifugó la muestra a 3500 rpm; posteriormente se pipeteó y colocó en viales de 1.8 ml. Los parámetros bioquímicos (AST, ALT y ALP), se evaluaron con un analizador automático de sustancias químicas del sistema AU680 de Beckman Coulter.

### **3.2.8. Examen histopatológico.**

Después de la extracción de sangre mediante punción cardíaca, se pasó al sacrificio del animal mediante el método de dislocación cervical y se extrajo el hígado. Se llevaron los frascos al Laboratorio de Patología del Hospital III-EsSalud, donde se realizaron los siguientes pasos:

1. Se procedió a pesarlos en la balanza analítica.
2. Los medirlos con una cinta.
3. Identificamos los lóbulos.
4. Se extrajo una pequeña parte del hígado para su previo estudio.
5. Preparación de los tejidos del hígado para la inclusión de parafina.
  - a) Deshidratación. Consistió en deshidratar la muestra del hígado en las diferentes concentraciones de alcohol (30%, 75%, 96%, 100%).
  - b) Diafanización. El objetivo de este método fue eliminar el alcohol de las células, para ello se utilizó sustancias como el toluol.
  - c) Impregnación de la parafina. Consistió en sustituir el toluol por la parafina. La cual fue calentada a una temperatura entre 58 a 60°C en la estufa. Una vez fundida, se colocó la muestra en sus respectivos casets.
  - d) Inclusión, montaje y formación del molde. Después de la impregnación debe ser incluida en un bloque de parafina solidificada. Para posteriormente pasar por el micrótopo.
  - e) Ejecución de los cortes. Es realizado mediante el micrótopo, realizando un corte de 3 milímetros.
  - f) Extendimiento y colocación en la cuba. Después de extraer la muestra extendida del micrótopo se pasó a una cuba eléctrica con agua destilada para fijar la parafina en las láminas y fueron rotuladas<sup>(88)</sup>.
  - g) Seguidamente se desparafino la muestra, mediante los siguientes pasos:

**TABLA N° 15: Sustancias a utilizar en proceso de desparafinación.**

<b>Agente</b>	<b>Tiempo</b>
Xilol I	5 minutos
Xilol II	5 minutos
Xilol III	5 minutos
Alcohol 100% I	3 minutos
Alcohol 100% II	3 minutos
Alcohol 95% I	3 minutos
Alcohol 95% II	3 minutos
Alcohol 70%	3 minutos
Agua destilada	5 minutos

Fuente: Colegió de tecnólogos de chile <sup>(89)</sup>.

h) Seguidamente se pasó a la coloración de las láminas mediante hematoxilinaoezina.

- Una vez que los cortes estaban hidratados se colocaron las láminas en la solución de hematoxilina.
- Se lavaron los cortes en abundante agua corriente durante 5 minutos.
- Se pasaron los cortes por agua destilada.
- Se diferenciaron las muestras con Alcohol Clorhídrico mediante inmersión controlando la intensidad de la tinción al microscopio.
- Se lavaron en agua corriente durante 10 minutos, después lavaron en agua destilada con solo una pasada.

**TABLA N° 16: Procedimiento de tinción Hematoxilina-Eosina en Hígado de ratón.**

<b>MUESTRA</b>	<b>FIJADOR</b>	<b>HEMATOXILINA DE HARRIS</b>	<b>DIFERENCIACIÓN</b>	<b>EOSINA-FLOXINA</b>
N°1	Formalina 10%	1 min.	No	No
N°2	Formalina 10%	5 min.	No	No
N°3	Formalina 10%	5 min.	Si	No



N°4	Formalina 10% y Líquido de Bouin	3 min.	Si	30 seg.
-----	-------------------------------------	--------	----	---------

Fuente: Colegio de tecnólogos de Chile <sup>(89)</sup>.

- Se pasaron las muestras por alcoholes ascendentes para deshidratar los cortes.

**TABLA N° 17: Deshidratación de las muestras**

AGENTE DESHIDRATANTE	TIEMPO
Alcohol de 70 %	10 segundos
Alcohol de 95 % I	2 minutos
Alcohol de 95 % II	2 minutos
Alcohol de 100 % I	2 minutos
Alcohol de 100 % II	2 minutos

Fuente: Colegio de tecnólogos de Chile <sup>(89)</sup>.

- Luego se puso las muestras en xiloles para aclarar los cortes.

**TABLA N° 18: Aclaramiento de muestras**

AGENTE ACLARANTE	TIEMPO
Xilol I	3 minutos
Xilol II	3 minutos
Xilol III	3 minutos

Fuente: Colegio de tecnólogos de Chile <sup>(89)</sup>.

- Las muestras fueron montadas en resina sintética
  - i) Finalmente se pasó al microscopio para su posterior lectura <sup>(88)</sup>.

### 3.2.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de un análisis post hoc utilizando el método de Tukey con un  $p \leq 0,05$  se consideró como una estadística significativamente. El análisis se realizó con SPSS versión 23.

## CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. RESULTADOS

#### 4.1.1. DETERMINACIÓN DE LA CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL FITOQUÍMICO DEL RIZOMA

La caracterización fitoquímica del rizoma de *Curcuma longa*, se encontró abundante cantidad en el EtOH, seguido de DCM y en menor cantidad en el agua.

**TABLA N° 19: Tamizaje fitoquímico.**

Curcuma longa L.				
METABOLITO	ENSAYOS	RIZOMAS		
		DCM	EtOH	AGUA
ALCALOIDES	Drangerdorff	0	0	0
	Mayer	0	0	0
	Wagner	0	0	0
TRITERPENOS Y ESTEROIDES	Liebermann-Buch	T (+++)	-	-
QUINONAS	Borntrager	+++	+++	-
CUMARINAS	Baljet	+++	+++	-
CAROTENOS	Carr-Prince	-	-	-
ACEITES ES. – GRASAS	Sudan III	+++	-	-
AZUCARES REDUCTORES	Fehling	-	+	+
COMP. FENOLICOS	Cloruro Férrico	-	+++	++
FLAVONOIDES	Shinoda	-	+++	++
GLICOSIDOS CARDIOT	Kedde	-	+++	-
SAPONINAS	Espuma	-	0	0
AMINOACIDOS – AMINAS	Ninhidrina	-	++	-

GLICOSIDOS	Molish	-	-	++
MUCILAGOS	Prueba del Tacto	-	-	0
PRINC. AMARGOS ASTRING	Prueba del Gusto	-	-	0

**LEYENDA:** (+++) Abundante  
 (++) Moderado  
 (+) Leve  
 (0) Ausente  
 (-) No se realizó

#### 4.1.2. ANÁLISIS DE LA CURCUMINA EN EL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO

En el análisis que se realizó de curcumina presente en el extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* se obtuvo la siguiente cantidad:

- **Muestra:** 100 gr del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* (0.6 gr de curcumina).

La cantidad de curcumina presente en 100 gr del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* es de 0.6 gr.

#### 4.1.3. DETERMINACIÓN CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASA DE LA CURCUMA LONGA L.

En el análisis de la espectrometría de masas (Tabla N° 20), se encontró compuestos químicos como terpenoides, con una alta probabilidad, de las cuales las moléculas más abundantes fueron: ar-tumerona al 97.5%, tumerona 96.6%, curlone 94%; y también se encontró compuestos fenólico como 3-buten-2 ona, 4-(-hidroxi-3-metoxifenil)- al 93% (ver Anexo N° 4 y 5).

**TABLA N° 20: Resumen cromatógrafo**

<b>Curcuma longa</b>				
<b>PICO</b>	<b>PROB.</b>	<b>%AREA</b>	<b>MOLECULA</b>	<b>FAM. QUIMICA</b>
1	51.2	5.2	2-Methoxy-4-vinylphenol	Fenólico
2	10.4	2.4	pentadeceno, 2-metil-2-fenil	Aromatico
3	26.7	3.1	cedren-13-ol,8-	Sesquiterpeno
4	7	3	1-H-cicloprop (e) azulen-7-ol, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metil	Sesquiterpeno
5	97.5	31.6	Ar-tumerona	Sesquiterpeno
6	96.6	11.5	Tumerona	Sesquiterpeno
7	94	16.5	Curlone	Sesquiterpeno
8	52.4	2.6	1-(4-hydroxybenzylidene)acetone	Monoterpeno
9	49.7	2.2	7-oxabicyclo[4.1.0]heptane,1-(1,3-dimethyl-1,3-butadienyl	hidrocarburo cíclico
10	15	1.7	Ciclohexano,(2nitro-2-propenil)-	hidrocarburo cíclico
11	6.5	3.2	ciclohexanol,5-metil-2-(1-metil-1 feniletil)-	hidrocarburo cíclico
12	28	1.4	6-isopropenil-4,8 <sup>a</sup> -dimetil-4 <sup>a</sup> ,5,6,7,8 <sup>a</sup> hexahidro-1H-na	Sesquitereno
13	15.9	20	pentaden-2,3,6,9,12,13-hexen-8 ona,2,5,5,11,11,14-hexano	Diterpeno
14	15.9	5.2	pentaden-2,3,6,9,12,13-hexen-8 ona,2,5,5,11,11,14-hexano	Diterpeno
15	93	1.6	3-buten-2 ona, 4-(-hidroxi-3-metoxifenil)-	Fenólico
16	19.1	2.1	1-adamantanecarboxylic acid, 3-phenylpropyl ester	ester
17	10.7	1.3	10-tetrametil-indeco-2,6,9-trien-8-ona	Sesquiterpeno
18	26.9	1.4	3-(3-hidroxi-4-metil-fenil-3,4,4-trimetil ciclopentano	sesquiterpeno fenólico
19	8	1.8	2 -butenoico ac., 2-metil-2-(acetoloxi )-1,1 <sup>a</sup> ,2,3,4,6,7,10,11	Sesteterpeno

#### 4.1.4. ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO DE CURCUMA LONGA EN RATA INDUCIDA POR TETRACLORURO DE CARBONO

##### 4.1.4.1. ANÁLISIS DE LOS NIVELES SÉRICOS DE ENZIMAS

La administración del CCl<sub>4</sub> durante los 2 últimos días del ensayo causó un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) en los niveles séricos de AST, ALT y ALP, cuando se comparó con el grupo control negativo. La coadministración del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* a dosis de 100 mg y 200 mg/kg junto con el CCl<sub>4</sub> impidió el aumento significativamente ( $p < 0,05$ ) de los valores de AST, ALT y ALP (ver Tabla n° 21).

**TABLA N° 21: Valores descriptivos de AST, ALT y ALP en ratas (*Rattus norvegicus*) administradas CCl<sub>4</sub> en la investigación del efecto hepatoprotector de *Curcuma longa* L. (guisador). Bioterio de la IMET-EsSalud. UNAP, 2017.**

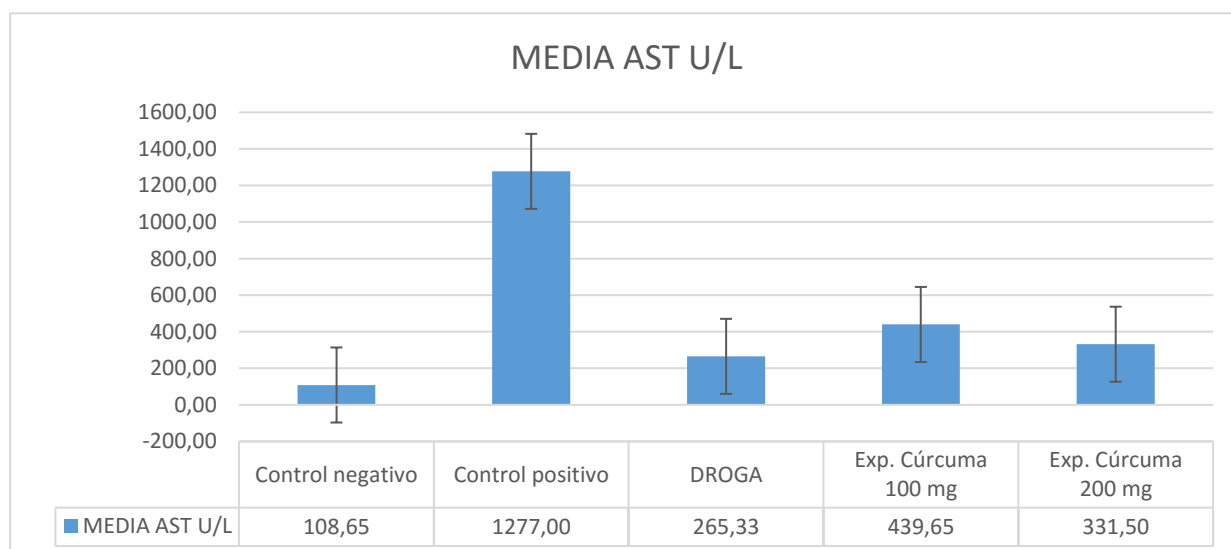
GRUPO	AST U/L	ALT U/L	ALP U/L
	MEDIA±SD	MEDIA±SD	MEDIA±SD
Control Negativo	108.65±1.88 <sup>ab</sup>	36.33±4.64 <sup>b</sup>	205.33±2.87 <sup>ab</sup>
Control Positivo (CCl <sub>4</sub> )	1277.00±209.83 <sup>ab</sup>	429.00±67.77 <sup>ab</sup>	291.7±11.9 <sup>ab</sup>
Silimarina 100 mg	265.33±40.27 <sup>b</sup>	102.17±21.38 <sup>b</sup>	125.00±3.74 <sup>b</sup>
Cúrcuma 100 mg	439.65±12.28 <sup>b</sup>	66.00±16.39 <sup>b</sup>	173.68±10.5 <sup>b</sup>
Cúrcuma 200 mg	331.50±19.18 <sup>b</sup>	65.32±16.74 <sup>b</sup>	152.65±31.20 <sup>b</sup>
P. Valor	0,000	0,000	0,000

Los datos se presentan como media ± SD (n = 4).

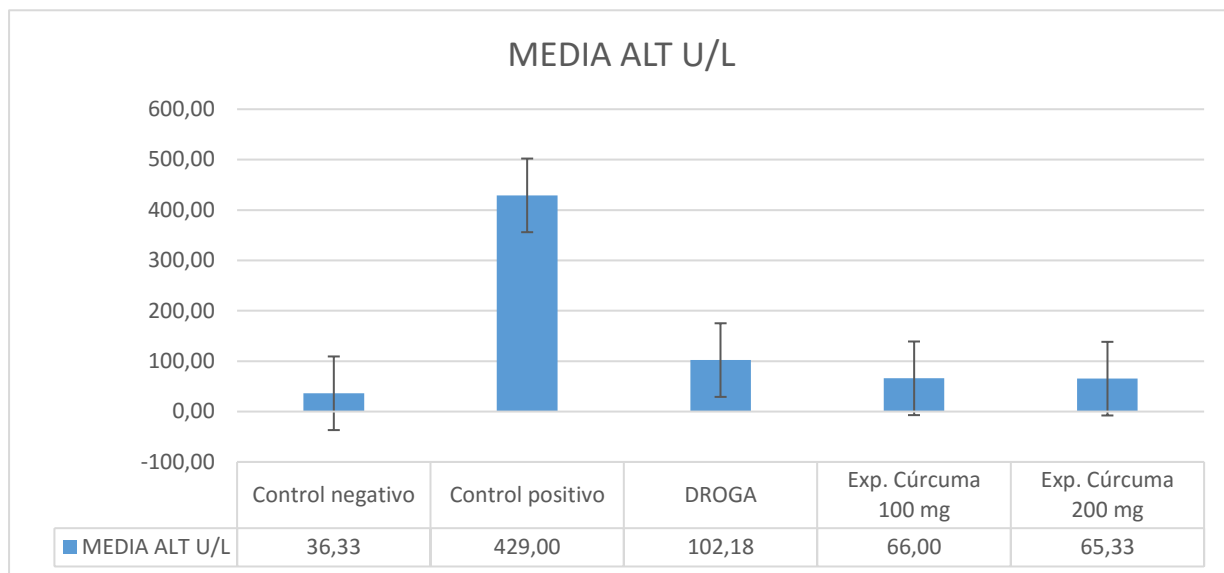
<sup>a</sup> Significativamente diferente del control cúrcuma 200 mg,  $P < 0,05$ .

<sup>b</sup> Significativamente diferente de control positivo (CCl<sub>4</sub>) a  $P < 0,05$ .

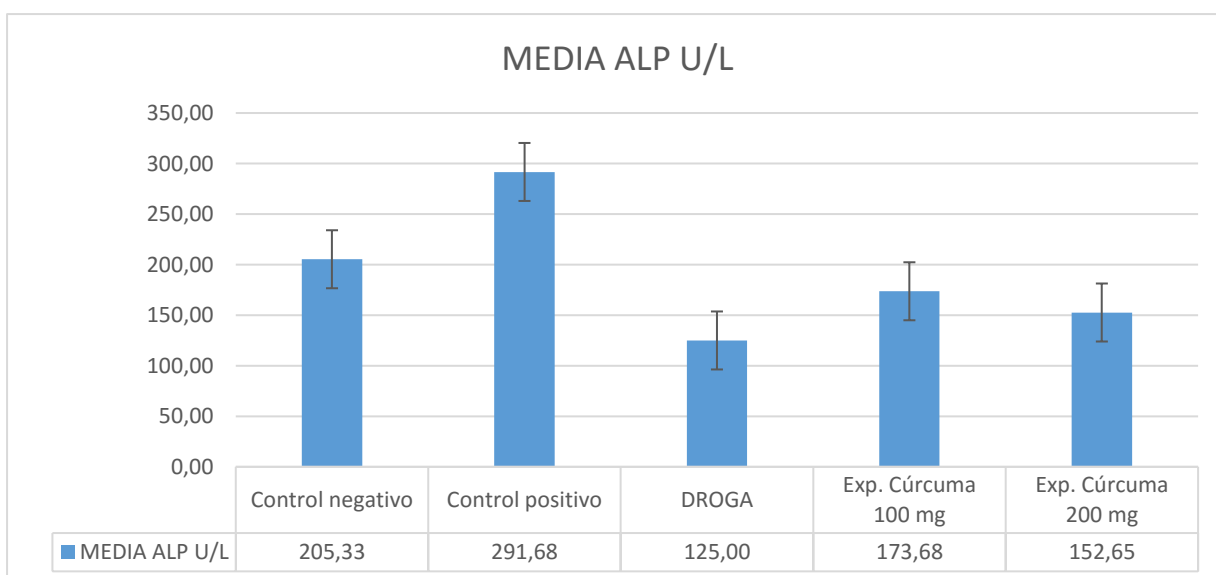
Como  $p$ -valor  $< 0.05$ , aceptamos la  $H_1$ , esto nos indica que existe diferencias de medias. Para saber cuál de los tratamientos es más significativo emplearemos la prueba de Tuckey. El tratamiento más significativo es el de tratamiento de cúrcuma 200 mg por tener la media más significativa.



**FIGURA N° 11: Valores descriptivos de AST expresados como media  $\pm$  SD (n=4) en ratas (*Rattus norvegicus*) administradas CCL<sub>4</sub> en la investigación del efecto hepatoprotector de Curcuma longa L. Bioterio del IMET-EsSalud. UNAP, 2017.**



**FIGURA N° 12: Valores descriptivos de ALT expresados como media  $\pm$  SD (n=4) en ratas (*Rattus norvegicus*) administradas CCL<sub>4</sub> en la investigación del efecto hepatoprotector de Curcuma longa L. Bioterio del IMET-EsSalud. UNAP, 2017.**



**FIGURA N° 13: Valores descriptivos de F. alcalina expresados como media  $\pm$  SD (n=4) en ratas (*Rattus norvegicus*) administradas CCL<sub>4</sub> en la investigación del efecto hepatoprotector de Curcuma longa L. Bioterio del IMET-EsSalud. UNAP, 2017.**

#### 4.1.3.2. ESTUDIOS HISTOPATOLÓGICOS

**Grupo control negativo**, se observa una estructura común del tejido, sin evidencias de daño, con una conformación lobulillar normal: triada portal, constituida por vena porta, conducto biliar y arteria hepática, de fácil identificación, cordones de hepatocitos separados, con núcleos regulares de hepatocitos en tamaño y citoplasmas granulados homogéneos.

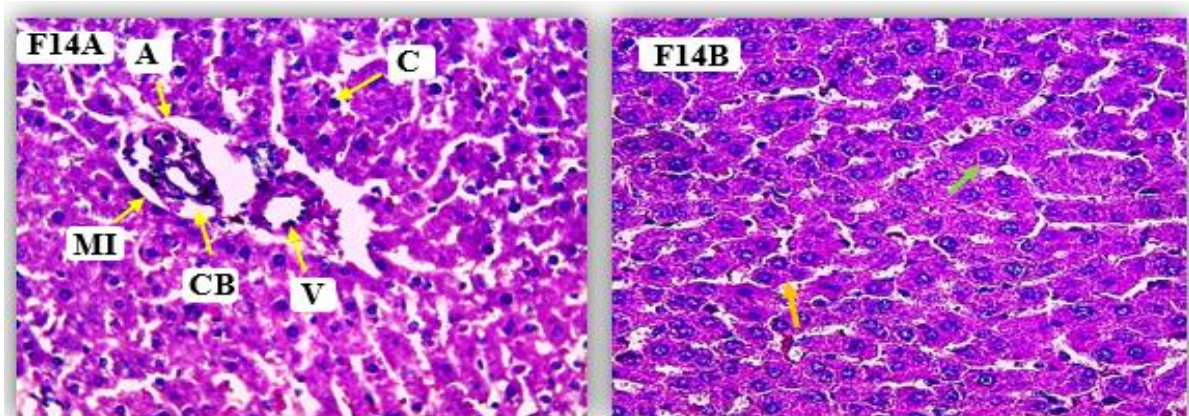


FIGURA N° 14: Microfotografía del tejido hepático normal de rata control negativo. F14 A. Se destaca membrana limitante normal (MI), cordones hepáticos normales (CH), arteria hepática (AH), vénula hepática (V), conducto biliar (CB). F14B. Cordones hepáticos normales ( ), hepatocitos normales ( ).

**Grupo control positivo** se observa un parénquima hepático con una ligera retracción celular; con una conformación lobulillar normal: triada portal, constituida por vena porta, conducto biliar y arteria hepática, con una continuidad de la membrana limitante e incremento del flujo sanguíneo parenquimal.

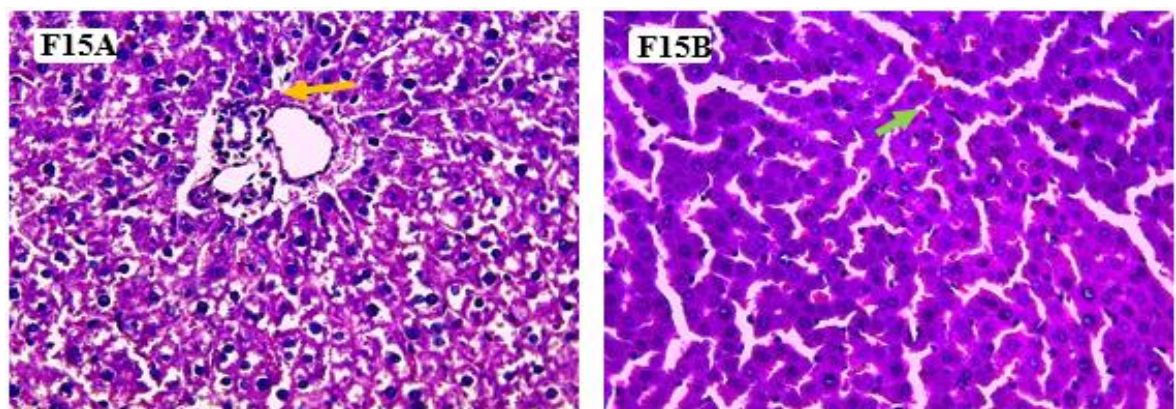
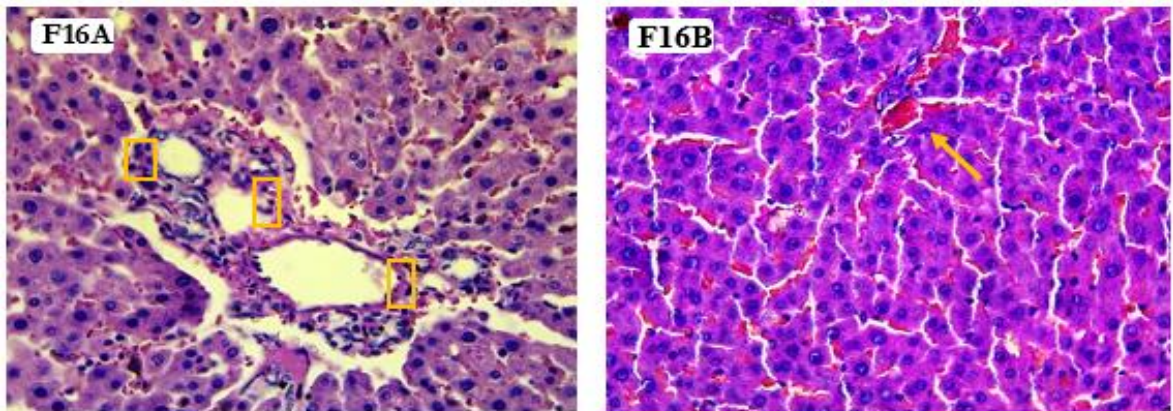


FIGURA N° 15: Microfotografía del tejido hepático de rata control positivo (CCl<sub>4</sub>). F15A. Continuidad de la membrana limitante ( ), F15B. Incremento del flujo sanguíneo en el parénquima ( ).



**Grupo silimarina 100 mg** se pudo observar un parénquima hepático con una conformación lobulillar (vena porta, conducto biliar y arteria hepática) que presenta una leve infiltración inflamatoria (linfocitos), con cordones hepáticos normales y una leve presencia de eritrocitos en el parénquima.

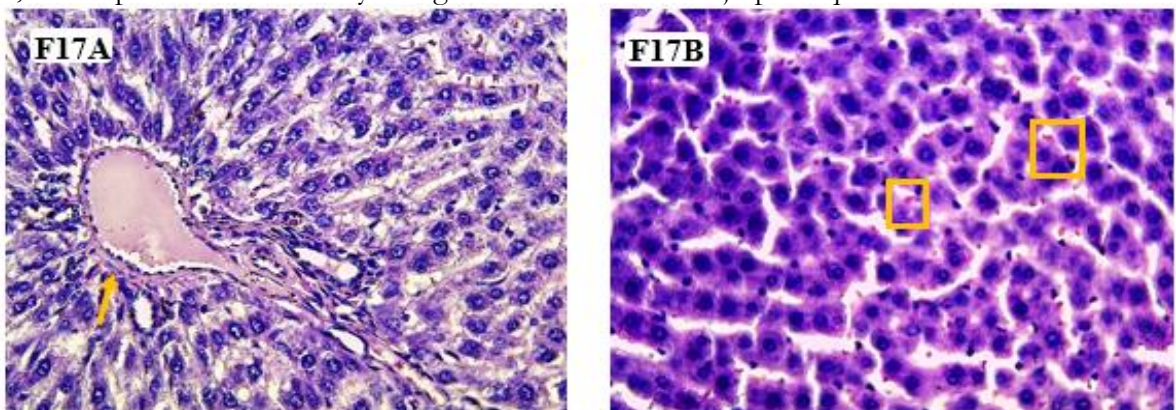


**FIGURA N° 16.** Microfotografía del tejido hepático de rata control droga (silimarina). F16A. Presencia infiltrado inflamatorio linfocitado (□). F16B. Incremento del flujo sanguíneo en el parénquima (→).

**FIGURA N° 16:** microfotografía del tejido hepático de rata grupo silimarina

F16A. Presencia de

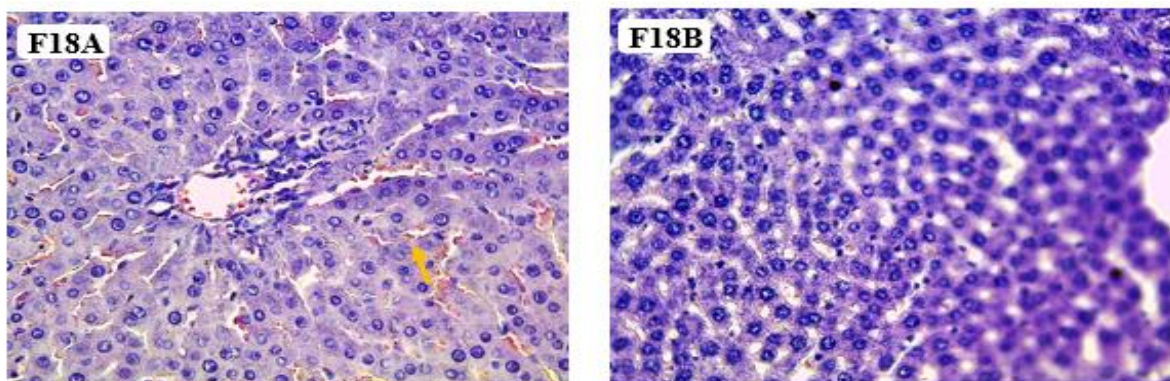
**Grupo cúrcuma 100 mg**, se observó al parénquima hepática con presencia de líquido (suero) en la vénula, con hepatocitos normales y un ligero incremento del flujo parenquimal.



**FIGURA N° 17.** Microfotografía del tejido hepático de rata tratamiento de cúrcuma longa 100mg. Presencia de suero en la vénula (→). F17B. Incremento del flujo sanguíneo en el parénquima (□).

**FIGURA N° 17:** Microfotografía del tejido hepático del grupo control cúrcuma 100 mg. F17A.

**Grupo cúrcuma longa 200 mg**, se observó un perfil hepático con espacio lobulillar: triada hepática con una vénula, arteriola y conducto biliar normal. Hay presencia de una ligera incrementación de fluido sanguíneo parenquimal. Con un parénquima hepático sin alteración.



**FIGURA N° 18:** Microfotografía del tejido hepático del grupo control cúrcuma 200 mg. F18A. Presencia de flujo sanguíneo en el parénquima (→).

F18A.



## 4.2. DISCUSIONES

Las propiedades antioxidantes y anti-inflamatorias de la especie de *Curcuma longa* son conocida en el ámbito de la medicina como el tratamiento de varias enfermedades entre ellas las que afectan directamente al hígado. En el presente estudio se analizó el efecto hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* frente al daño hepático agudo producido por CCl<sub>4</sub>. Se utilizó el modelo de inducción a daño hepático agudo por CCl<sub>4</sub>, éste se administró los dos últimos días del experimento (2 ml/kg, p.c) con lo que se coincide con diferentes autores como **Tillán et al. (2009)**<sup>(90)</sup>, y desde entonces utilizado por muchos otros **Devaraj et al. (2010)**<sup>(13)</sup>, **Torres (2014)**<sup>(91)</sup>, **Abdulrahman et al. (2015)**<sup>(9)</sup>, **Ghosh et al. (2015)**<sup>(87)</sup> con modificaciones menores. Pero no coincidimos con los estudios realizados por **Olivera G. (2008)** (0.5 ml/200 gr)<sup>(92)</sup>, **Asqui-Lalón (2012)** (0,1 ml/2 días)<sup>(93)</sup>, **Faravi et al. (2013)** (0.5 mg/ 100 gr p.c. por 7 días)<sup>(11)</sup>, **Hismiogullari et al. (2014)** (CCl<sub>4</sub> a 0,5 mg/Kg en aceite de oliva s.c.)<sup>(10)</sup>, **Geum-Hwa et al. (2017)** (CCl<sub>4</sub> a 0,1 ml / kg, ip.)<sup>(94)</sup>, **Yumei et al. (2008)** (CCl<sub>4</sub> a 0,1 ml / 100 g de peso corporal) y aceite de oliva [1: 1 (v / v)]<sup>(95)</sup>. Nuestro estudio reveló que el CCl<sub>4</sub> aumento significativamente los niveles de AST, ALT y ALP con respecto al grupo control negativo. La función hepática puede evaluarse estimando la actividad de enzimas séricas tales como AST, ALT y ALP. Estas enzimas citosólicas están específicamente presentes en la concentración hepática alta y sirven como marcador de hepatotoxicidad<sup>(9)</sup>. De acuerdo con otras investigaciones **Tossige-Gomes et al. (2014)** y **Andrés-Hernando et al (2014)** determina que el nivel de suero de AST en lugar de ALT se ha utilizado como un marcador bioquímico para la hepatotoxicidad aguda temprana<sup>(96,97)</sup>. Otros estudios mencionan que, si el daño es grave, en presencia de oxígeno el mismo CCl<sub>4</sub> es capaz de producir alteración en la función de transporte de los hepatocitos lo que conduce a fugas de enzimas (AST y ALT) a partir de células, así como aumento en el nivel de ALP en suero<sup>(87, 98)</sup>. Con respecto a los grupos experimentales cúrcuma, que se les administro el extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* a dosis de 100 mg y 200 mg/kg/día, este inhibió este aumento significativo (p<0.05) de la actividad enzimática de AST, ALT y ALP; contra la hepatotoxicidad por CCl<sub>4</sub> (TABLA N° 21); estos hallazgos fueron comprobados por otros investigadores como **Baxla et al (2013)**<sup>(99)</sup>, **Ishwin et al (2012)**<sup>(12)</sup> y **Hyeong-Seon et al (2010)**<sup>(15)</sup>, donde comprobaron que la *Curcuma longa* disminuye el aumento significativo de las enzimas de AST, ALT y APL cuando existe hepatotoxicidad. Otros estudios autores como **Adiga et al. (2012)** difieren en cuanto a la administración de la sustancia hepatoprotectora ya que realizo una combinación de extractos de *Phyllanthus niruri* (PN) y *Curcuma longa* (CL), demostrando que disminuyen el aumento de los niveles de ALT, AST, ALP y TB con CCl<sub>4</sub><sup>(100)</sup>. Se realizó estudios con el extracto de *Curcuma longa* y su principio activo la curcumina, reduciendo significativamente la actividad de la AST de la inducción a hepatotoxicidad. Aunque el nivel de ALT disminuyo no hubo diferencias significativas entre el grupo CCl<sub>4</sub><sup>(94)</sup>. **Rabbani et al**

(2013) estudio la actividad hepatoprotectora de la curcumina demostrando que el AST, ALT y ALP disminuyeron significativamente en el grupo curcumina <sup>(101)</sup>. La medicina herbaria ofrece una opción terapéutica segura y de apoyo para mejorar la función hepática, sin embargo, la materia orgánica y la actividad biológica que se genera tiene una gran influencia sobre las propiedades físicas y químicas de los suelos; esto a su vez mejora la dinámica y la biodisponibilidad de los nutrientes para las plantas <sup>(102, 103)</sup>.

En nuestro estudio histopatológico, se observó en el grupo control positivo (CCl<sub>4</sub>) el incremento del flujo sanguíneo y la continuidad de la membrana limitante en comparación con el grupo control negativo. Este efecto es producido por el metabolismo del CCl<sub>4</sub> mediante la estimulación de la peroxidación lipídica y la producción de los radicales libres, esta sustancia toxica se dirige a los hepatocitos metabólicamente activos <sup>(104)</sup>, conduciendo a la disfunción de los mismo, la liberación de ROS, y mediadores fibrogénicos e inflamatorios. Tras la lesión en el hígado, las células estrelladas hepáticas adquieren un índice de producción de colágeno fibrilar de proliferación dentro del hígado herido <sup>(105)</sup>. induciendo a la inflamación, promoviendo la progresión de la fibrogénesis hepática y causando la necrosis de los hepatocitos <sup>(95)</sup>. El extracto acuoso liofilizado de cúrcuma longa (200 mg/kg de p.c), mejoró los cambios patológicos producidos por CCl<sub>4</sub>, mostrando un parénquima hepático normal en comparación con el grupo control positivo. (figura 14 y 18). En estudios anteriores, coincidimos con **Kim et al (2013)** <sup>(106)</sup> utilizaron una dosis de 100 y 300 mg/kg observándose un efecto hepatoprotector de manera significativa frente al daño hepático producido por CCl<sub>4</sub>; **Ishwin et al. (2012)** quien demostró que el extracto acuoso de Cúrcuma longa, a dosis de 400 mg / kg presentó hepatoprotección prominente en comparación con el grupo de control de etanol y las ratas de grupo pretratadas con silimarina <sup>(12)</sup>. Así mismo, **Devaraj et al. (2010)**, demostraron la arquitectura histológica de secciones de hígado de las ratas tratadas con la fracción normalizada hexano CX a 500 mg / kg mostró patrón casi normal lobular con un grado leve de necrosis, en globo, focos de células claras, y fibras reticulares visibles alrededor vena central casi comparable a el control negativo <sup>(13)</sup>. **Hismiogullari et al. (2014)** también informó resultados similares que la administración diaria de 100 mg / kg de curcumina normalizó el nivel de MDA en la lesión hepática aguda y subaguda de la rata inducida por CCl<sub>4</sub> <sup>(10)</sup>. En el actual estudio, se observó en la histopatología, que el Grupo 3 y 4 (silimarina 100 mg y Cúrcuma longa 100), mostró una ligera inflamación parenquimal, presencia de leucocitos y continuidad de la membrana limitante, pero se observó un mejor efecto atenuante a los efectos de CCl<sub>4</sub> en el grupo cúrcuma 200 mg, mostrándose un parénquima hepático normal. En el presente estudio, se demostró que la aplicación del extracto acuoso liofilizado de *Cúrcuma longa* en dosis dependientes de 100 mg/kg y 200 mg/kg, tener un efecto hepatoprotector hepático agudo producido por CCl<sub>4</sub>.

## CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. CONCLUSIONES

- El extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* L, mostró una hepatoprotección significativa contra la lesión hepática inducida por tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>); esto se evidencio en las pruebas bioquímicas de AST, ALT, ALP y en el estudio histopatológico.

### 5.2. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios más exhaustivos teniendo en cuenta el estrés oxidativo que se produce durante el *pre-mórtem* y *post-mórtem*, en la investigación del efecto hepatoprotector con el extracto acuoso de liofilizado de *Curcuma longa*, para detectar y corregir en forma temprana los posibles daños que se puedan presentar en la investigación.
- Aislar la curcumina presente en el rizoma de *Curcuma longa* sembrado en la Amazonia Peruana y reevaluar su efecto hepatoprotector en un nuevo ensayo.
- Se debe respetar los protocolos ya descritos anteriormente para el uso correcto de como anestésico a los animales y homogenizarla en todos los grupos de la investigación.
- Combinar los conocimientos de científicos altamente capacitados en la materia, biólogos, agricultores, veterinarios, médicos, químicos farmacéuticos, nutricionistas y empresas alimentarias, para impulsar el consumo e innovar productos derivados de la *Curcuma longa* L. en nuestra Región Amazónica.
- Debe utilizarse el proyecto como base para otras investigaciones futuras con otras especies de plantas y/o frutas oriundas de nuestra Región Amazónica con alto valor nutritivo, que también tienen algún efecto benéfico para la salud, no solo para las Enfermedades Hepáticas, Diabetes, Obesidad, Hipertensión Arterial; enfatizando el cáncer como un nuevo campo de investigación en la Región ya que se posee una majestuosa biodiversidad en flora pudiendo utilizarla contra la lucha de las principales enfermedades en el mundo.

## CAPITULO VI: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hossain, M., Ishimine, Y. 2005. Growth, yield and quality of turmeric (*Curcuma longa* L.) cultivated in dark-red soil, gray soil and red soil in Okinawa Japan Versión electrónica. *Plant Production Science*, 8(4): 482-486.
2. Cousins, M., Adelberg, J., Chen, F., Rieck, J. 2007. Antioxidant capacity of fresh and dried rhizomes from four clones of turmeric (*Curcuma longa* L.) grown in vitro. [Versión electrónica]. *Industrial Crops & Products*, 25(2): 129-135.
3. Medina, A., García, R., Ramos, L. 2006. Efecto antihepatotóxico de la *Curcuma longa*. Extraído el 23 de febrero del 2007 de [www.ilustrados.com/publicaciones/EEFplZuyykgxgraCybn.php](http://www.ilustrados.com/publicaciones/EEFplZuyykgxgraCybn.php)
4. Bingwen, J., Ping, C. 2007. Curcumin prevents lipopolysaccharide-induced atrogen1/MAFbx up regulation and muscle mass loss [Abstract]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 100 (4): 960.
5. Paz Quiroz F. Andina, del Perú para el mundo. [Online].; 2016 [citado 2017 Marzo 27]. Investigar en: <http://www.andina.com.pe/agencia/seccion-economia2.aspx/img/noticia-enfermedades-cronicas-del-higado-afectan-cada-vez-mas-a-losperuanos-602334.aspx>.
6. M. Akram, et al. *Curcuma longa* and curcumin: A review article. *Revista:ROM. J. BIOL. – PLANT BIOL.* 2010; 2(55): 66-70.
7. Vinay BS, Shalini A, Shobha K, Mohandas R. et al. Actividad hepatoprotectiva de combinación de extractos de *phyllanthus niruri* y *curcuma longa* contra toxicidad inducida por etanol en ratas wistar. *revista Int. Pharm Bio Sci*, 2016 Jan.
8. Bio Health protection. Turmeric - effective protection of the liver parenchyma[serial on the Internet]. [cited 2016 November 28] Available from: <http://biohealthprotection.pl/en/dbamozdrowie/8.html>.
9. Abdulrahman A, Jamir A, Afroz A. Actividad hepatoprotectora y antioxidante de extractos de raíz de *tragia involucrata* contra la hepatotoxicidad inducida por  $CC_4$  en ratas. *Revista Scholars Research Library*, 2015.
10. Hismiogullari S.E., Hismiogullari A.A., Sunay F.B., Paksoy S. et al. The protective effect of curcumin on carbon tetrachloride induced liver damage. *Revue Méd. Vét.*, 2014, 165, 7-8, 194-200.
11. Favari L. Arce-Díaz C, Ortiz-Martínez J, Pablo S. et al. Efectos hepatoprotector y antioxidante de *Taraxacum officinale* en el daño hepático agudo inducido por el tetracloruro de carbono en la rata. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 44 (4) 2013.
12. Ishwin S, Vetriselvan S, Shankar J, Gayathiri S. et al. Actividad hepatoprotectiva del extracto acuoso de *curcuma longa* en hepatotoxicidad inducida por etanol en ratas albino wistar. *International Journal of Phytopharmacology*. 3(3), 2012, 226-233.

13. Devaraj S, Ismail S, Ramanathan S, Marimuthu S. et al. Evaluación de la actividad hepatoprotectora de Extracto etanólico estandarizado de *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Diario de la investigación de las plantas medicinales Vol. 4(23), pp. 2512-2517, 4 December, 2010.
14. Elaziz, CEA; Ibrahim, ZS; Elkattawy, AM. Efecto protector de *Curcuma longa* contra CCL 4 inducida por el estrés oxidativo y la degeneración celular en ratas. Revista: Global Veterinaria 2010 Vol.5 No.5 pp.272-281 ref.45.
15. Hyeong-Seon L, Hyun-Kyung Kim, Dinesh B, Li W, et al. Los efectos protectores de *Curcuma longa* Linn. Extraer el tetracloruro de carbono-hepatotoxicidad inducida en ratas mediante regulación al alza de Nrf2. Revista J. Microbiol. Biotechnol. (2010), 20(9), 1331–1338.
16. Netter F. H, Md. Atlas de anatomía humana. 5ª ed. España: Elsevier MASSON; 2011. p. 277.
17. Rouvière M, Delmas A. Anatomía humana descriptiva, topografía y funcional. 2 vols. 11º ed. Masson: España; 2005. P. 450.
18. Ross M y Pawlina W. Histopatología.: Texto y atlas color con biología celular y molecular. 6ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2012. p. 628-646.
19. Bernabé A, Navarro JA, Pallarés FJ. Hígado. Organización del hígado. Zonación en el lobulillo hepático. Hepatocito: estructura y ultraestructura. Sinusoides hepáticos. En: Universidad de Murcia, editores. Citología e histología veterinaria. Circulación biliar. Particularidades del hígado de cerdo y aves. Vesícula biliar: morfología. p. 01-05.
20. Gómez V. A NATOMIA Y FISILOGIA HEPATICA. Pp. 14.
21. Fortuol T. Histología y biología celular. 2da edición. Editorial McGrawHill. 2013. Pág. 243.
22. Ross M, Romrell, Kaye. Histopatología.: Texto y atlas color con biología celular y molecular. 3ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1997. p. 496.
23. Guyton A. Tratado de fisiología médica. 12va edición. Editorial Elsevier. 2006. Páginas: 819, 839.
24. Metabolismo de los carbohidratos. [visitado el 27 de marzo del 2017] puede consultarlo en: <http://biblio3.url.edu.gt/Publi/Libros/2013/Bioquimica/11-O.pdf>
25. Lee J. Cómo funciona el hígado. Revista Creces [Revista on-line]. 2001 Ene [Citado: 05 Febrero de 2017]; Disponible en: <http://www.creces.cl/new/index.asp?tc=1&nc=5&tit=&art=1000&U>.
26. Fernández E, Fernández JE, Moreno I, Moreno M. Química clínica. Aproximaciones al diagnóstico de enfermedades hepáticas por el laboratorio. Editora Medicina & Laboratorio. Ago 2008, 29 (14): 533-546.
27. Meneghello J, Rossel L. Estudio de la función antitóxica del hígado por medio del Rosa de Bengala en las enfermedades infecciosas de la infancia. Revista chilena de pediatría; 507-508.

28. Concha M, Jarufe N. Cirugía hepática: algunas consideraciones más allá de la técnica quirúrgica. *Revista Chilena de Cirugía [serie en internet]*. 2017 Ene-Feb [Citado: 05 Febrero de 2017];(69):89–93 Disponible: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379389316300849>.
29. Mataix J. Nutrición y alimentación. España: ©MMIX Editorial Océano. p. 1356, 1362, 1362.
30. Stevens A. MB BS., et al., tr. Mérito JA. *Patología clínica*. 3ª ed. México: Manual Moderno®; 2011. p. 282-300.
31. Branunwald, Fauci, Kasper, Hauser, Longo, Jameson. *Harrison Principios de Medicina Interna*. 15ª ed. McGRAW W-HILL INTERAMERICANA EDITORES EDITORES, S.A. DE C.V., 2001. Pp. 2007-2056.
32. Stephen J, McPHEE, Hammer G D. *Fisiopatología de la enfermedad. Una introducción a la medicina*. 6ª ed. McGraw-Hill. p.373-412.
33. Carton J. *Manual de patología clínica*. México: McGraw-Hill Interamericana Editores, S. A. de C. V; 2012. p. 116-130.
34. Kalant H, Roschlau W. *Principios de farmacología médica*. 6ª ed. México: Oxford University Press; 2002. p. 577, 580.
35. Robbins y Cotran. *Atlas de anatomía patológica*. España: Elsevier Saunders; 2007. p. 200, 207.
36. Tagle M., Bussalleu A, editores. *Escenarios clínicos y controversiales. HEPATOLOGÍA 2015*. Lima; 2015. p.141, 142, 148-150.
37. Bosia J D. *Afectación hepática en trabajadores de una industria petroquímica [tesis doctoral]*. Ensenada: Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Médicas.
38. Swaroop T. VSS., Gowda S. KP. *Hepatotoxicity Mechanisms and its Biomarkers*. *Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*. Apr – Jun 2012; 1 (2): 675-682.
39. Pandit A, Sachdeva T, Bafna P. *Drug-Induced Hepatotoxicity: A Review*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2012; 02 (05): 233-243.
40. Lozano-Lanagrán M, Robles M, Lucena MI, Andrade R. *Hepatotoxicity in 2011 - advancing resolutely*. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. Sep. 2011 [Citado: 06 Febrero de 2017]; (103).Disponible:[http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S113001082011000900006](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113001082011000900006).
41. Álvarez S, Soto J, Quirós V, Gonzales M. *Hepatotoxicidad por sustancias de origen botánico*. *Medicina legal de Costa Rica*. Mar 2016; 27 (33).
42. Tejada F. *Hepatotoxicidad por fármacos*. *REV CLÍN MED FAM*. 2010; 3 (3): 177191.
43. Calvo M, Mendoza E. *Toxicología de los alimentos*. México: Mc Graw Hill; 2012. p. 47-64.

44. Risso M.V. "Hepatotoxicidad". Enfoque clínico toxicológico. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Medicina. 2008.
45. Mengual-Moreno E, Lizarzabal-García M, Hernández-Rincón I, Barboza-Nobrega M. Hepatotoxicidad asociada a hierbas y productos nutricionales de origen botánico. *Investigación Clínica*. 2015; 56(3): 320 – 335.
46. Pilon S. Medicamentos esenciales-guía práctica de utilización destinado a médicos, farmacéuticos, enfermeros y auxiliares. *Médicins San fronterières*; 2016. pp. 14, 16, 23, 30, 42, 48, 51, 52, 57 y 115.
47. Fernández C. Hepatotoxicidad por medicamentos. *Revista Clínica– Hospital San Juan de Dios/ Escuela de Medicina UCR*. Ago 2015; 8 (5): 1-7.
48. Fuertes J, Martí G, Sanz P. Ministerio de Trabajo e Inmigración. Hepatopatías tóxicas laborales. Barcelona: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo. Sep 2011. p. 18-19.
49. Manibusan M, Jinot J, Kopylev L, White P, Schlosser P. TOXICOLOGICAL REVIEW OF CARBON TETRACHLORIDE. Washington: U.S. Environmental Protection Agency. Mar 2010. pp. 3-23.
50. Delaware Health and Social Services. Carbón tetrachloride. Division of Public Health. Mar 2015. pp. 1-2.
51. MAK. Carbon tetrachloride. Feb 2000; (18): 82- 106.
52. Faroon O, Taylor J, Roney N, Fransen M, Bogaczyk S, Diamond G. TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CARBON TETRACHLORIDE. U.S. Department of Health and Human Services. Ago 2005.
53. Osorio DC. "EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO DE LAS HOJAS DE ALCACHOFA (*Cynara scolymus*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA POR TETRACLORURO DE CARBONO" [tesis]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias; 2012.
54. MOORE, K., Anatomía con Orientación Clínica., 3ª. ed., Madrid, España., Médica Panamericana., 1993., Pp., 200-203.
55. WILLIAMSON, M., Interpretación clínica de pruebas diagnósticas., 9ª. ed., Wolters Kluwer., 2012., pág. 37.
56. Cortés L, Montoro M. Datos de laboratorio: pruebas hepáticas alteradas. Unidad de Gastroenterología y Hepatología. Hospital de San Jorge. Pág. 703. Disponible en: [www.aegastro.es/sites/.../48 Datos laboratorio Pruebas hepaticas alteradas.pdf](http://www.aegastro.es/sites/.../48_Datos_laboratorio_Pruebas_hepaticas_alteradas.pdf).
57. Comercio electrónico. 2005 [visitado el 13 de marzo del 2017]. [http://alimentacionynutricion.org/es/index.php?mod=content\\_detail&id=78](http://alimentacionynutricion.org/es/index.php?mod=content_detail&id=78)

58. Prieto J. La clínica y el laboratorio. 20va Ed. Editorial Masson Barcelona, España. 2006. Pàg. 100.
59. Varas SM, Ferramola MI, Lacoste MG. Enzima. Enzimología clínica. Bioquímica. 2013. pp. 10-14, 16.
60. Tango. 5'-nucleotidasa. ADAM Health Solutions. [Citado: 16 Febrero de 2017] Disponible: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003575.htm>.
61. Dalmau A. FISILOGIA DE LA HEMOSTASIA. Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge. p. 1-17.
62. Laboratorio de Análisis Clínicos INS. Bibliotecas de pruebas. AGC – Laboratorio de Medicina; Feb 2013. p. 08.
63. Álvares F. Bibliotecas de pruebas bioquímica clínica. 02ª ed. AGC – Laboratorio de Medicina. Jun 2013. p. 33.
64. Aranda J A, Villacrés J Y. Catálogo de Plantas Medicinales del Jardín Botánico. Iquitos: IMET; 2016.
65. Mesa, Ramirez-Tortosa, Aguilera, Ramirez-Boscá, Gil. Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los cucuminoides. *Ars Pharmaceutica*, 2000; (41): 307-321.
66. Ortega JL. CURCUMA LONGA Y SU PONTENCIAL MOLECULAR BENEFICIOSO SOBRE LOS PROCESOS INFLAMATORIOS, CÁNCER Y ENFERMEDADES CRÓNICO DEGENERATIVAS. *Revista IN CRESCENDO. Ciencias de la Salud*. 2014; (01): 115-124.
67. Mejia K, Rengifo E. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonia Peruana. 2ª ed. Lima: Agencia Española de Cooperación Internacional; 2000. Pp. 96.
68. Wexler B. Cúrcuma. Woodland Publishing Inc. Pp. 4-6.
69. Mostacero J, Mejía F, Gamarra O. Taxonomía de las Fenerogamas Útiles del Perú. Trujillo: Editoras Normas Legales S.A.C; 2002. Pp. 10.
70. Alvis A, Arrazola A, Martínez W. Evaluación de la Actividad y el Potencial Antioxidante de Extractos Hidro-Alcohólicos de Cúrcuma (*Cúrcuma longa*). Córdoba: Universidad de Córdoba. Facultad de Ingeniería, 2012; 23 (2):11-18.
71. Velasco JR, Navarro PA. “ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA in vitro DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Curcuma longa* (Guisador), MEDIANTE EL MÉTODO DE MACRODILUCIÓN FRENTE A *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*” [Tesis]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2013.



72. Saiz de Cos P. Cúrcuma I (*Curcuma longa* L.). *Reduca* (Biología). Serie Botánica. 2014; 7 (2): 84-99.
73. Aybar D, Aybar C, Segura C, Gómez E, Tejada V. Resultados y Conclusiones del Estudio de Extracción Biotecnológica de Colorante de Bija y Curcuma. Instituto de Innovación en Biotecnología e Industria.
74. Natura Foundation. *Curcuma longa*. Fisioterapia. [Citado: 18 Febrero de 2017]. Disponible: [www.naturafoundation.es](http://www.naturafoundation.es).
75. Humbser A. Curcuma. Una versátil medicina para el cerebro, la mucosa intestinal, el hígado, los vasos sanguíneos y articulaciones.
76. Mostacero J, Castillo F, Mejía FR, Gamarra OA, Charcape JM, Ramírez RA. Plantas medicinales del Perú. Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica. 1ª ed. Trujillo: Asamblea Nacional de Rectores; 2011. p. 220-221.
77. Brack A. Diccionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú. Cusco, 1999. Pp. 169.
78. Castro, X. Silimarina: regenerador hepático en la por excelencia en la avicultura comercial. MV. Rev. de Cien. Vet. N° 3, 2009.
79. Instituto de salud Chile. *Silybum marianum* L. *Cardo mariano*. Monografía oficial del Instituto de salud Chile. Disponible en: [http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fce.77s/doc/monografia/Silybum\\_mari\\_anum.pdf](http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fce.77s/doc/monografia/Silybum_mari_anum.pdf)
80. Armitage, D. “*Rattus norvegicus*”, *Diversidad de los Animales Web*. 2004. Accedido el 28 de febrero de, 2017. Disponible en: [http://animaldiversity.org/accounts/Rattus\\_norvegicus/](http://animaldiversity.org/accounts/Rattus_norvegicus/)
81. Aranda VJ, Villacrés VJ, Mego BR y Delgado H, 2014. Efecto de los extractos de *Geranium ayavacense* W. (Pasuchaca) sobre la glicemia en ratas con diabetes medillus experimental. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Públicas*; 31 (2): 261-266.
82. Labotec. Scientz-50N Fereeze Dryer. User manual. Pp. 10.
83. Seguro Social de Salud – ESSALUD. Instituto de Medicina Tradicional- Área de farmacológica. Protocolo de Preparación de extracto Acuoso de diversas especies vegetales para su posterior liofilizado. Pp. 6.
84. Corral A, De la Paz J, Concepción E, Hernández R, López D. Tamizaje, Tecnología, control de calidad y farmacología del extracto fluido de *Bougainvillea spectabilis* Willd. *Rev Cubana Plant Med*. 1997; 2 (2): 19-25.
85. Pereira S, Vega D, Almeida M, Morales G. Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas de la *Trichilia hirta* L. Cuba: *Revista QuimicaViva*. Dic 2009; 8 (3):192-199. Disponible en: [quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar).
86. Fernández MPC. Universidad de Burgos. [Online].; 2016 [citado 2017 marzo 27]. Available from: <http://www.ubu.es/parque-cientifico-tecnologico/servicioscientifico->

[tecnicos/espectrometria/cromatografia-de-gasesliquidos-acopladoespectrometria-de-masas-de-alta-resolucion-ms-ar.](#)

87. Ghosh Arka, Kundu Anindita, Seth Ankit, Singh Anil Kumar y Maurya Santosh Kumar. Preliminary evaluation of hepatoprotective potential of the polyherbal formulation. Revista: J Intercult Ethnopharmacol. 2015 Apr-Jun; 4(2): 118–124. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4566783/>
88. Michalany, J. Técnica histológicas en Anatomía patológica. Sao Paulo, Brasil: editora Michalany; 1959.
89. Colégio de tecnólogos de Chile. [actualizado 04 de mayo del 2014. Revisado el 14 de marzo del 2017]. Publicado en: <http://morfoudec.blogspot.pe/2008/08/coloracinncleo-citoplasmtica-he.html>
90. Tillán J., Bueno V., Carrillo C., Agüero S., Valdés O. Actividad hepatoprotectora del extracto acuoso seco de *Boerhavia erecta* L. (tostón) en ratas. Revista Cubana de Plantas Medicinales. v.14 n.3 Ciudad de la Habana jul.-sep. 2009. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962009000300005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962009000300005)
91. Torres P. et al. Protective effect of *Spirulina platensis* on fatty liver induced by a single sublethal dose of carbon tetrachloride in wistar rats. Revista: Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, vol. 13, núm. 2, 2014, pp.178-188.
92. 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. Facultad de Ciencias. Escuela de Química y Farmacia, 2008
93. Asqui-Lalón M. "ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA POR TETRACLORURO DE CARBONO" [tesis]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias; 2012.
94. Geum-Hwa Lee, Hwa-Young Lee, Min-Kyung Choi, Han-Wool Chung, SeungWook Kim and Han Jung Chae. Protective effect of *Curcuma longa* L. extract on CCl<sub>4</sub>-induced acute hepatic stress. Revista: Feb 2017; 1 (10): doi: 10.1186/s13104-017-2409-z. [PMC libres artículo] [PubMed] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5286822/>
95. Yumei Fu, Shizhong Zheng, Jianguo Lin, Jan Ryerse, and Anping Chen. Curcumin Protects the Rat Liver from CCl<sub>4</sub>-Caused Injury and Fibrogenesis by Attenuating Oxidative Stress and Suppressing Inflammation. Revista: Molecular Pharmacology. Nov 2008; 2 (73): 399-409.
96. Tossige-Gomes R, Ottone VO, Oliveira PN, Viana DJ, Araujo TL, Gripp FJ, Rocha Vieira E. leucocitosis, daño muscular y aumento de la respuesta proliferativa de linfocitos después de una

- carrera de velocidad aventura. *Braz J Med Biol Res.* 2014; 47 (6): 492-498. doi: 10.1590 / 1414-431X20143187. [ PMC libres artículo] [ PubMed ] [ Cruz Ref].
97. Andrés-Hernando A, Altmann C, Bhargava R, Okamura K, Bacalja J, Hunter B, Ahuja N, Soranno D, Faubel S. lesión renal aguda prolongada exacerba la inflamación pulmonar a los 7 días lesión renal post-aguda. *Physiol Rep.* 2014; 2 (7): e12084. doi: 10.14814 / phy2.12084. [PMC libres artículo] [PubMed] [Cruz Ref].
98. Bhaargavi V, Jyotsna GSL and Tripurana R. A review on hepatoprotective activity. *Revista International Jjournal of Pharmaceutical Sciences and Research.* Mar 2015. Disponible en: <http://ijpsr.com/bft-article/a-review-on-hepatoprotectiveactivity/?view=fulltext>
99. S. L. Baxla, R. H. Gora, P. Kerketta, N. Kumar, B. K. Roy and P. H. Patra. Hepatoprotective effect of *Curcuma longa* against lead induced toxicity in Wistar rats. *Revista: Veterinary Worl.* Sept 2013; 16 (6):664-667. Disponible en: [www.veterinaryworld.org](http://www.veterinaryworld.org). Pdf.
100. Adiga S. et al. Evaluation of Hepatoprotective Activity of Combination of *Phyllanthus Niruri* and *Curcuma Longa* Extracts in Wistar Rats. *Revista: Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* Jul-Set 2012; (3): 12601268.
101. Rabbani N, Nooshin N and Mehrabani D. The Protective Effect of *Curcuma longa* in Thioacetamide-Induced Hepatic Injury in Rat. *Revista: Global Journal of Pharmacology.* 2013; 7(2):203-207.
102. Stansbury J, Saunders P, Zampieron, E, Winston D. The Treatment of Liver Disease with Botanical Agents. *Revista de Medicina Restaurativa.* Oct 2013; 1(2): 84-93. Disponible en: <https://restorativemedicine.org/journal/treatment-liver-diseasebotanical-agents/>
103. Martínez Y, Deroncelé R, Peña E, Fajardo O. Respuesta de la *Curcuma longa* L. a la fertilización orgánica y mineral en un suelo ferralítico rojo. Cuba: Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitrova, 2009-2010. Pp. 115-121.
104. Mehendale HM: Reparación de tejidos: un determinante importante del resultado final de la lesión inducida por tóxicos. *Toxicol Pathol.* 2005, 33 (1): 41-51. 10.1080.
105. Gaedeke J, Noble NA, Border WA: La curcumina bloquea múltiples sitios de la cascada de señalización de TGF- $\beta$  en células renales. *Kidney Int.* 2004, 66 (1): 112 – 120.
106. Kim Y, You Y, Yoon HG, Lee YH, Kim K, Lee J, et al. Hepatoprotective effects of fermented *Curcuma longa* L. on carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *elsevier.* 2013 Junio. pág 105

**CAPITULO**

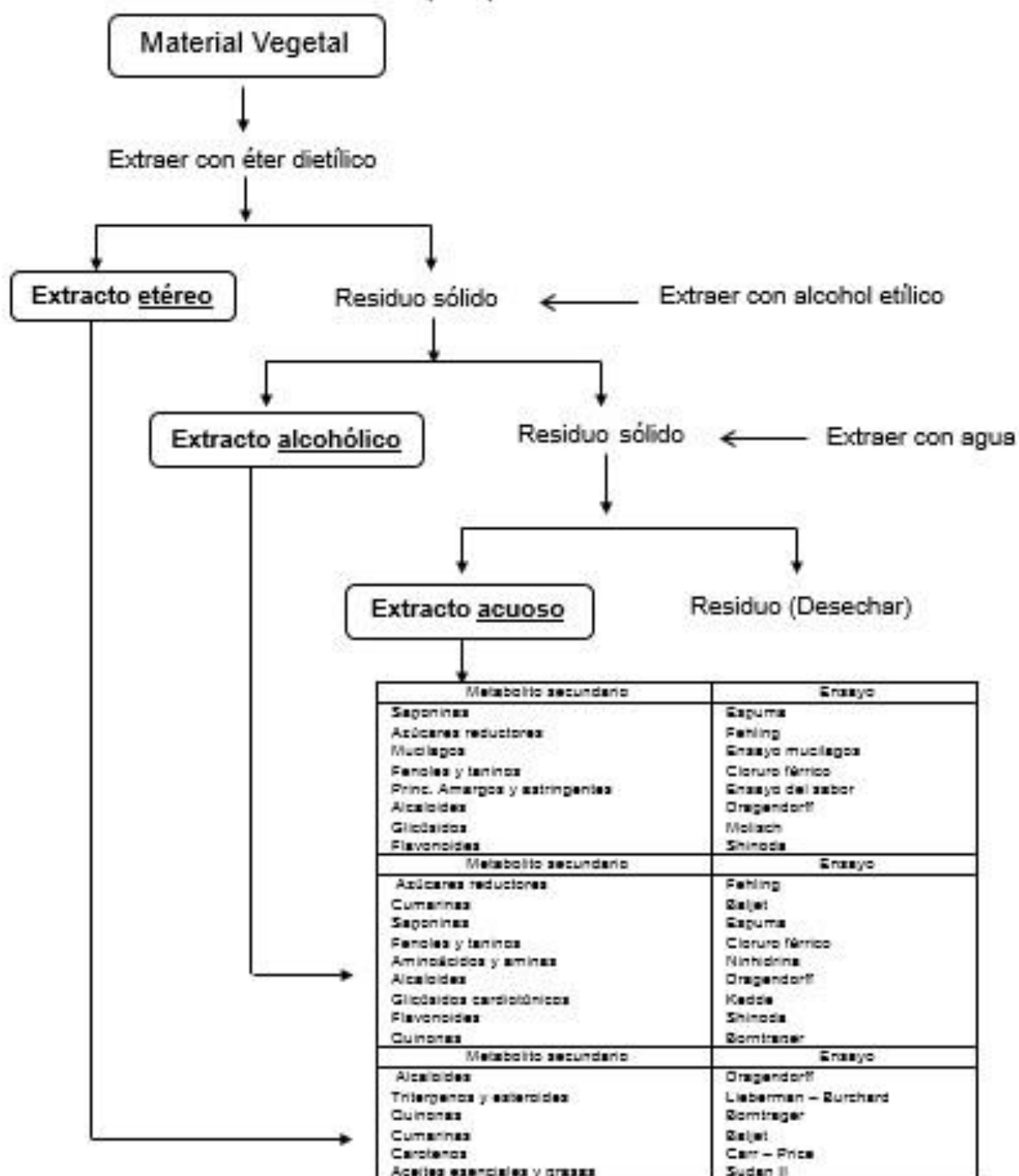
**VII:**

**ANEXOS**

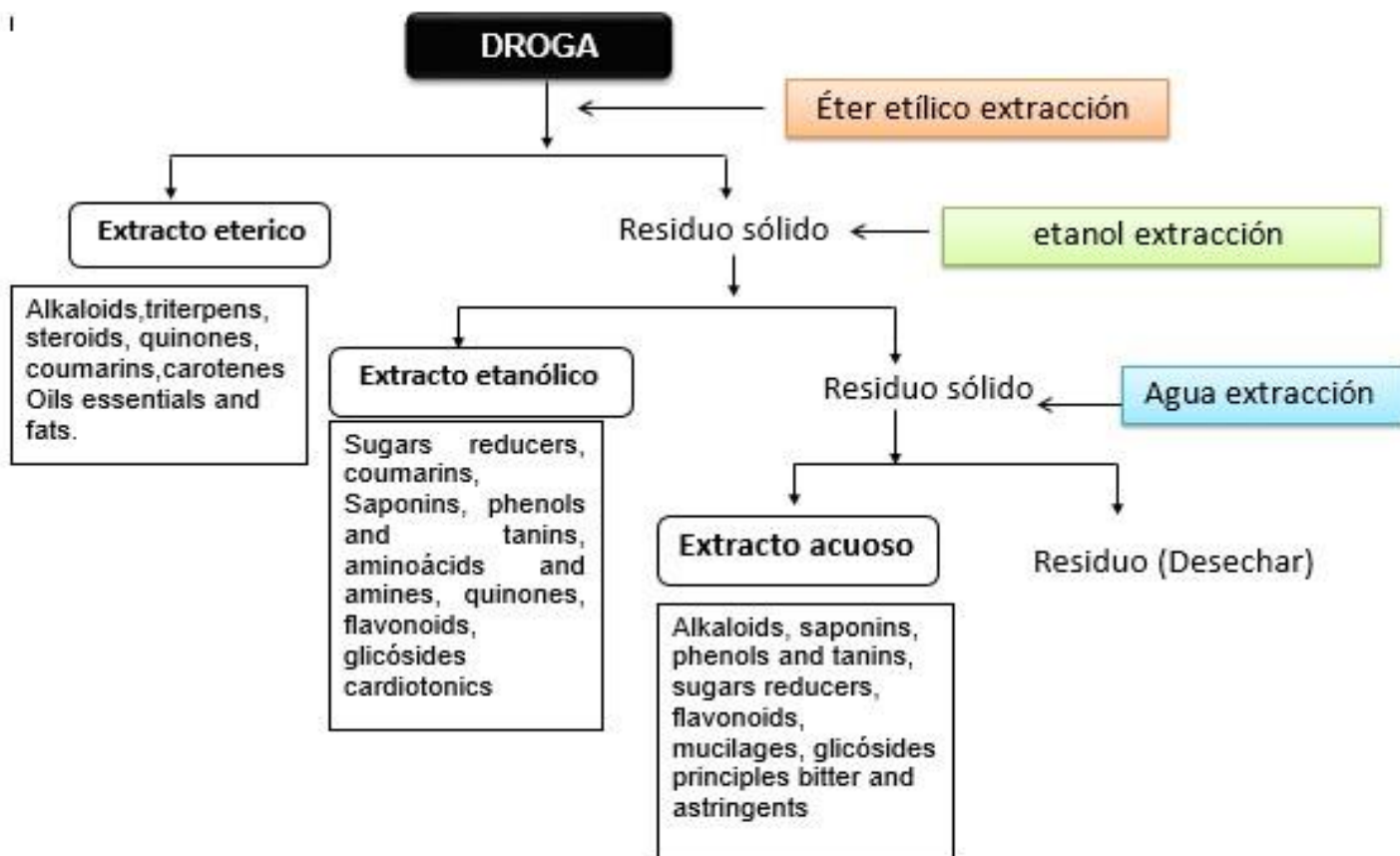
Anexo N° 1: Flujograma del proceso de preparación de extractos acuosos y liofilizado.



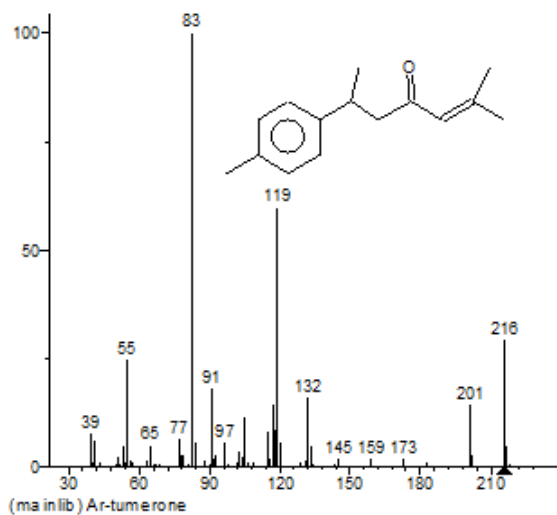
Anexo N° 2: Análisis Fitoquímico: Determinación de grupos de compuestos y principios activos



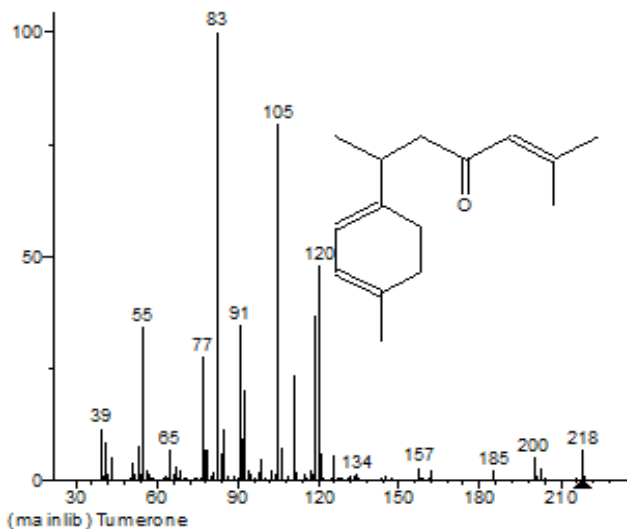
## FLUXOGRAMA GENERAL DE TAMIZAJE FITOQUÍMICO



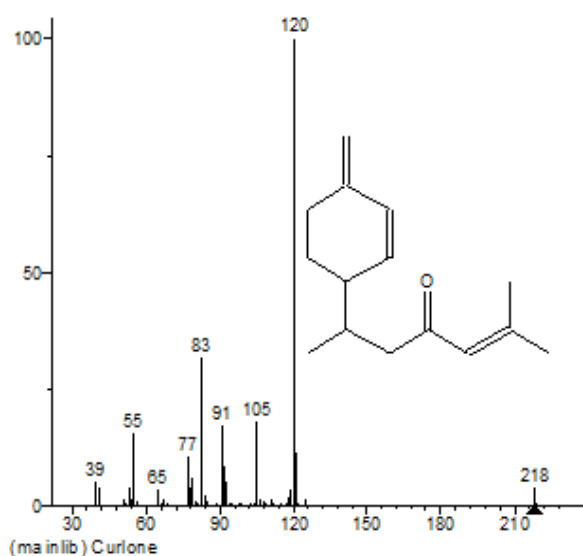
Anexo N° 4: Moléculas química encontrados con una alta probabilidad en la cromatografía gases acoplados a espectrometría de masa.



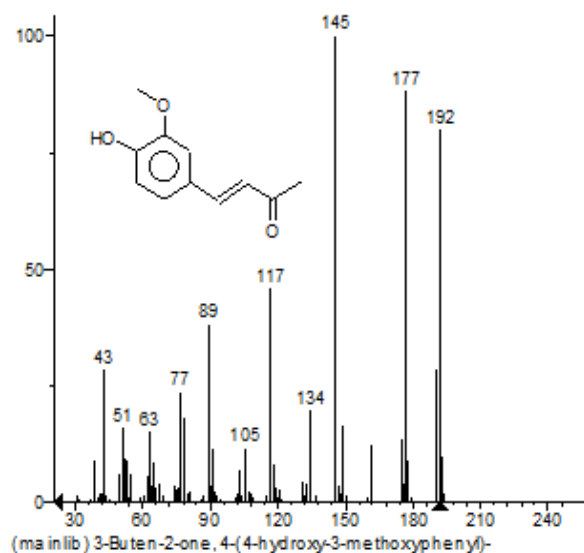
Pico 5: Ar-tumerone con 97.5 %



Tumerone: 96.6%

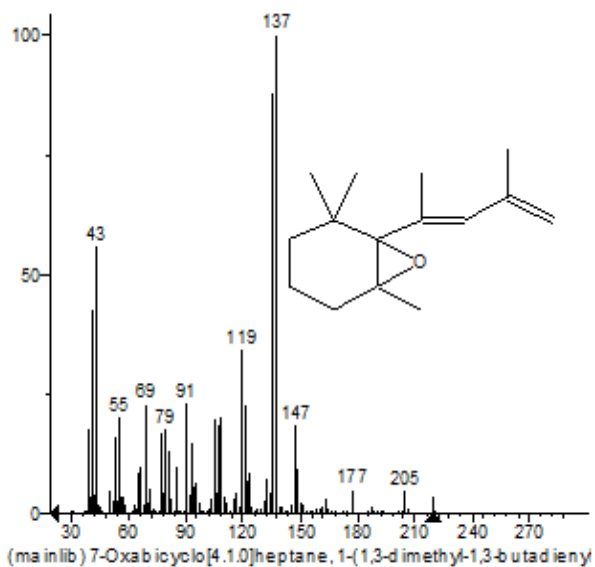


Pico 7: Curlone con 94%

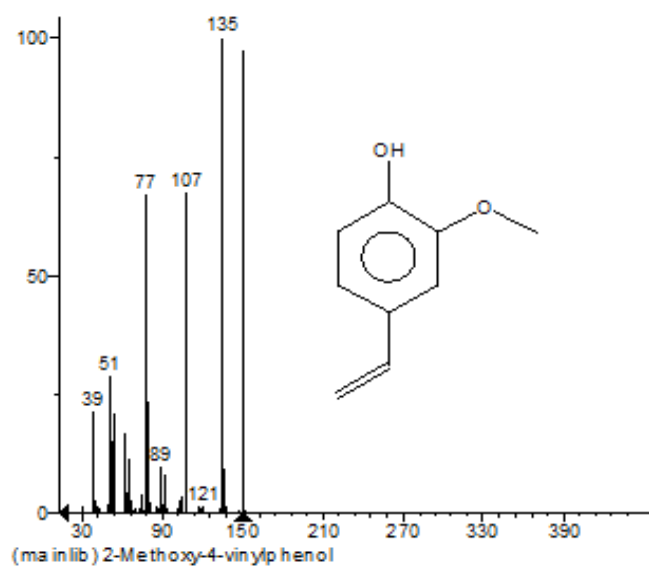


3-buten-2-one,4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-  
con 93 %

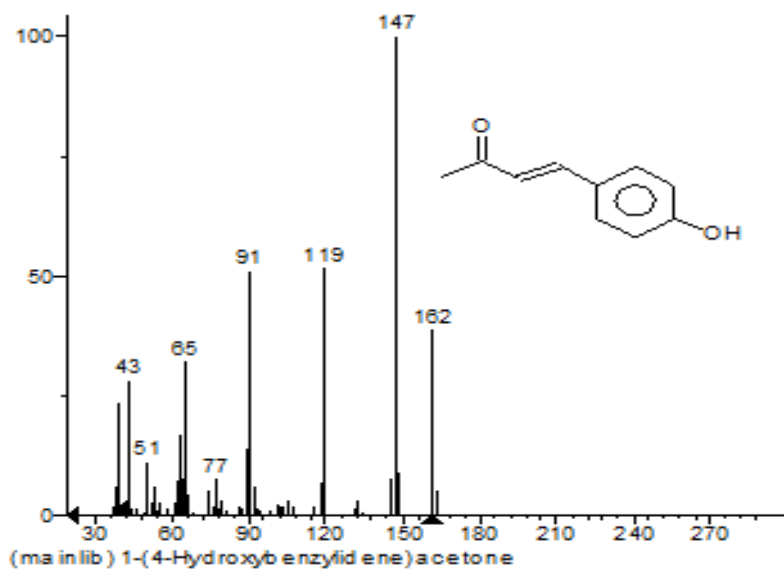




7-oxabicyclo [4.1.0]heptane 1-(1.3)- dimethyl-  
1.3-butadlenyl con 49.7%



2-Methoxy-4-v inylphenol con 51 %



1-(4+hydroxybenzylidene)acetone  
con 52.4%

Anexo N° 5: Tabla de control de pesos y alimentos.

Pesos de los Animales (diario)													
Grupo	Marca	Pesos											
Grupo 1													
Grupo 2													
Grupo 3													
Grupo 4													
Grupo 5													

Consumo de Agua (diario)												
Grupo	Días											
Grupo 1												
Grupo 2												
Grupo 3												
Grupo 4												
Grupo 5												

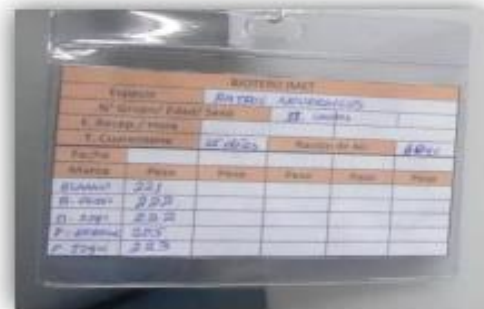
**Anexo N° 6: Tabla de cálculo para la administración de CCl<sub>4</sub>.**

GRUPO	N° RATA	PESO (gr)	Agente inductor			1ra administración: 25/12/2016				2da administración: 26/12/2016			
			INDUCTOR	DOSIS (ml)	via	CCl <sub>4</sub> (%)	Dosis x rata (ml)	CCl <sub>4</sub> (ml)	Aceite (ml)	Mortalidad	CCl <sub>4</sub> (%)	aceite (%)	CCl <sub>4</sub> (ml)
II	BLANCO	229	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.458	0.0916	0.3664	50%	50%	0.229	0.229
	BRAZ. DER.	224	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.448	0.0896	0.3584	50%	50%	0.224	0.224
	BRAZ. IZ.	234	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.468	0.0936	0.3744	50%	50%	0.234	0.234
	PATA DER.	212	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.424	0.0848	0.3392	50%	50%	0.212	0.212
	PATA IZ.	231	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.462	0.0924	0.3696	50%	50%	0.231	0.231
	COLA	224	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.448	0.0896	0.3584	50%	50%	0.224	0.224
III	BLANCO	242	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.484	0.0968	0.3872	50%	50%	0.242	0.242
	BRAZ. DER.	237	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.474	0.0948	0.3792	50%	50%	0.237	0.237
	BRAZ. IZ.	249	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.498	0.0996	0.3984	50%	50%	0.249	0.249
	PATA DER.	243	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.486	0.0972	0.3888	50%	50%	0.243	0.243
	PATA IZ.	232	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.464	0.0928	0.3712	50%	50%	0.232	0.232
	COLA	238	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.476	0.0952	0.3808	50%	50%	0.238	0.238
IV	BLANCO	220	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.44	0.088	0.352	50%	50%	0.22	0.22
	BRAZ. DER.	243	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.486	0.0972	0.3888	50%	50%	0.243	0.243
	BRAZ. IZ.	226	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.452	0.0904	0.3616	50%	50%	0.226	0.226
	PATA DER.	236	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.472	0.0944	0.3776	50%	50%	0.236	0.236
	PATA IZ.	234	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.468	0.0936	0.3744	50%	50%	0.234	0.234
	COLA	244	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.488	0.0976	0.3904	50%	50%	0.244	0.244
V	BLANCO	238	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.476	0.0952	0.3808	50%	50%	0.238	0.238
	BRAZ. DER.	230	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.46	0.092	0.368	50%	50%	0.23	0.23
	BRAZ. IZ.	247	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.494	0.0988	0.3952	50%	50%	0.247	0.247
	PATA DER.	242	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.484	0.0968	0.3872	50%	50%	0.242	0.242
	PATA IZ.	226	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.452	0.0904	0.3616	50%	50%	0.226	0.226
	COLA	238	CCl <sub>4</sub> (oil)	2ml/kg	VIP	20%	0.476	0.0952	0.3808	50%	50%	0.238	0.238

Anexo N° 7: Procedimiento aplicado en del presente estudio.



Preparación del nicho. Bandejas para animales, viruta, tapa metálica y agua tratada en sus respectivos biberones.



Se elaboraron etiquetadas, para la adecuada identificación de los grupos.



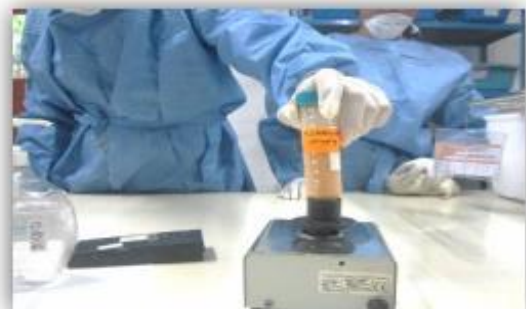
Elaborando los cálculos para la administración de los extractos y de la inducción.



Se distribuyeron los animales al azar y se colocaron en sus respectivos grupos.



Preparación para administración de los extractos: alcohol 90%, tubos cónicos con los extractos de *cúrcuma longa* y silimarian, agua tratada, jeringas tuberculina y cánula.



Las muestras de silimarina y de los extractos pasaron, antes de la administración, por la homogenización en el bordex.



Proceso de la administración oral de agua tratada a los 2 primeros grupos, la silimarina al tercer grupo y a los grupos 4 y 5 se la administro el extracto a diferentes dosis.

Anexo N° 8: Preparación de los materiales para la inducción a daño hepático leve con tetracloruro de carbono ( $\text{CCl}_4$ )



**Anexo N° 9: Calculo de la dosis preparada y administrar de acuerdo al peso promedio por grupo para la primera administración.**

PREPARACION POR GRUPO DE LA 1era ADMINISTRACION			
GRUPO	Dosis x rata(ml)	CCL4 (ml)	Aceite (ml)
GRUPO II	5.416	<b>1.08</b>	<b>4.33</b>
GRUPO III	5.764	<b>1.15</b>	<b>4.61</b>
GRUPO IV	5.612	<b>1.12</b>	<b>4.49</b>
GRUPO V	5.684	<b>1.14</b>	<b>4.55</b>

**Anexo N° 10: Calculo de dosis preparada y administrar de acuerdo al peso promedio por grupo para la segunda administración**

PREPARACION POR GRUPO DE LA 2da ADMINISTRACION			
GRUPO	Dosis x rata(ml)	CCL4 (ml)	Aceite (ml)
GRUPO II	5.416	2.708	2.708
GRUPO III	5.764	2.882	2.882
GRUPO IV	5.612	2.806	2.806
GRUPO V	5.684	2.842	2.842



Anexo N° 11: Materiales para la inducción a daño hepático leve con CCl<sub>4</sub>.



Preparación del inductor con CCl<sub>4</sub>.



Inducción por la vía

Anexo N° 12: Extracción de sangre, mediante la técnica de punción cardiaca



Anestésico.  
Ketamina, xilazina y  
atropina



Rata sedada después  
de 15 minutos.



Reposo para la  
extracción de sangre.





Extracción de sangre

Anexo N° 13: Proceso de extracción del hígado.



Sacrificio



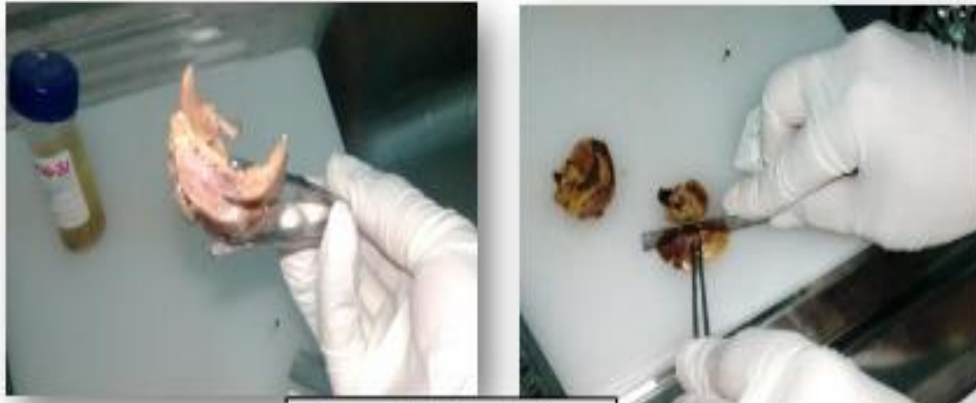
#### Anexo N° 14: Peso de los hígados pos-mortem

Pesos de los hígados				
n°	Tratamiento	Pesos	Promedio	D.Estandar
1	control negativo	7,58	7,96	0,7877
2	control negative	8,44		
3	control negative	8,84		
4	control negative	6,87		
5	control negative	7,41		
6	control negative	8,64		
7	control positive	9,31	8,75	1,9128
8	control positive	10,71		
9	control positive	10,12		
10	control positive	5,29		
11	control positive	8,22		
12	control positive	8,85		
13	control Droga	9,35	8,95	0,7492
14	control Droga	10,04		
15	control Droga	8,88		
16	control Droga	9,07		
17	control Droga	7,83		
18	control Droga	8,52		
19	Tratamiento Cúrcuma 100 mg	9,65	9,47	0,8824
20	Tratamiento Cúrcuma 100 mg	10,14		
21	Tratamiento Cúrcuma 100 mg	7,99		
22	Tratamiento Cúrcuma 100 mg	10,15		
23	Tratamiento Cúrcuma 100 mg	10,05		
24	Tratamiento Cúrcuma 100 mg	8,82		
25	Tratamiento Cúrcuma 200 mg	7,3	8,915	1,1581

Anexo N° 15: Muestras sanguíneas procesadas para la separación del suero sanguíneo



Anexo N° 16: Preparación para los cortes histológicos



Macroscópica histopatológica



Parafinación





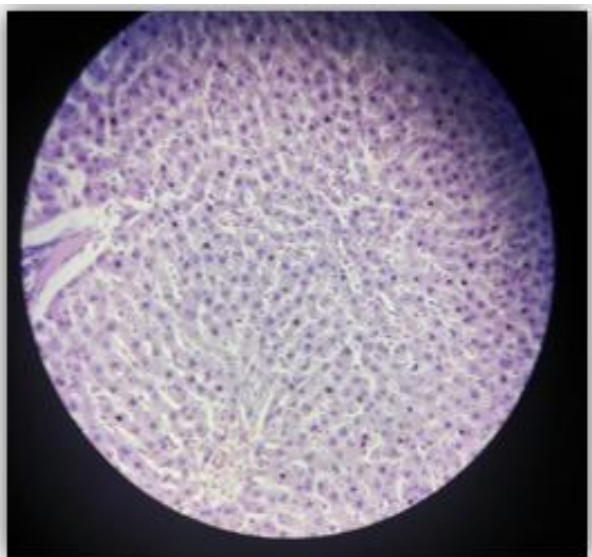
Corte histopatológico  
en el micrótomo



Tinciones utilizadas en la  
histopatología



Lectura histopatológica



Anexo N° 17: Registro y control de peso de ratas en stock.

IMET-ESSALUD BIOTERIO

REGISTRO Y CONTROL DE PESO DE RATAS EN STOCK  
BIOTERIO - IMET

ESPECIE: Ratas albinas norvegicus, var. Holtzman

LOTE: RII-1077616

SEXO: Machos

Fecha recibido: 29/10/16

Cantidad recibida: 176

Procedencia: Instituto Nacional de Salud - INS

USO DE LOS ANIMALES:

FECHA	CANT	USO
176	6	
110	40	8 v grupo

Anexo N° 18: Formato de animales experimentales-IMET-EsSalud

**IMET-ESSALUD**  
AREA DE FARMACOLOGIA Y TOXICOLOGIA  
**RECEPCION DE ANIMALES DE EXPERIMENTACION**  
WV-29/10/16

FECHA DE RECEPCION : Sab 29/10/16      LOTE ASIGNADO: RJ-1011616

PROCEDENCIA : INSTITUTO NACIONAL DE SALUD INS

CERTIFICADO SANITARIO : 285-2016

DESCRIPCION DEL ANIMAL

ANIMAL:	<u>Ratas albinas</u>
ESPECIE:	<u>Ratus norvegicus</u>
CEPA:	<u>Holtzman</u>
CANTIDAD:	<u>R20 - 4 = 196</u>
PESO:	<u>100-190g</u>
EDAD:	<u>2 meses</u>
SEXO:	<u>MACHOS</u>

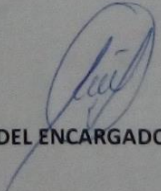
PERSONA QUE RECIBIO LOS ANIMALES : Jorge 12 au

CONDICION DE LOS ANIMALES : Aparentemente deshidratados

TIEMPO QUE DEMORO EL TRASLADO :


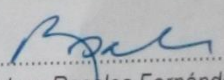
OBSERVACIONES : 04 ratas faltaron.

FIRMA DEL JEFE DE AREA  
N.

FIRMA DEL ENCARGADO DEL BIOTERIO  
N. 



Anexo N° 19: Certificado Sanitario de las ratas albinas.

	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO
<b>CERTIFICADO SANITARIO N°</b> <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">285-2016</span>	
Producto : Rata albina	Lote N° : R - 10 - 2016
Especie : <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad : 120
Cepa : Holtzman	Edad : 2 meses
Peso : 100 a 190 gr.	Sexo : Machos
R.U.C. : 20131257750 GR. 004-033495	Destino : SEGURO SOCIAL DE SALUD ESSALUD - IQUITOS
Fecha : 25. 10. 2016	
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, <b>ARTURO ROSALES FERNÁNDEZ</b>. Coordinador de Bioterio, Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, cuarentena y control sanitario para animales de experimentación.</p>	
Chorrillos, 27 de Octubre del 2016	
(Fecha de emisión del certificado)	 M.V. Arturo Rosales Fernández. C.M.V.P. 1586
<p><b>NOTA</b> : El bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>	

Anexo N° 20: Registro de ratas en stock del Bioterio-IMET-EsSalud

IMET-ESSALUD BIOTERIO

REGISTRO Y PESO DE RATAS EN STOCK DEL BIOTERIO

LOTE: RII-1019616

SEXO: MACROS

Fecha recibido: 29/10/16

PESOS DE RATAS - FECHA: 31/10/16

Edad: 9 semanas

RATAS

Bandejas Blancas (12) Max 5 ratas

Band	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
N°Rat	Peso (g)	P (g)	P (g)	P (g)	P (g)	P (g)	P (g)	P (g)	P (g)	P (g)
1	189	193	129	152	162	157	159	166	174	194
2	134	233	170	153	190	208	143	158	167	129
3	154	154	152	196	160	155	144	136	196	155
4	151	138	201	166	164	151	153	199	148	170
5	148	182	179	164	215	165	152	165	143	156
1	181	175								
2	166	186								
3	174	176								
4	177	190								
5	183	182								

Bandejas de color (19) Max 3 ratas

1	151	145	131	135	154	133	131	187	145	139
2	168	140	146	129	162	125	192	135	140	136
3	144	139	192	142	136	133	146	133	153	130
4										
5										
1	141	149	158	198	129	149	144	147	133	
2	139	184	134	186	144	136	125	131	135	
3	128	133	142	125	128	129	125	125		
4										
5										

Rango de pesos:

100 - 150g = 55 -  $\bar{x}$  = 122

150 - 200g = 57 -  $\bar{x}$  =

200 - 250g = 4 -  $\bar{x}$  =



Anexo N° 21: Formato de control de condiciones ambientales: Temperatura y humedad

EsSalud		F-IMET-023				Edición N° 01			
		CONTROL DE CONDICIONES AMBIENTALES: TEMPERATURA Y HUMEDAD				Inicio de Vigencia: 2016-07-18			
						R.D. N°			
						Página 1 de 1			
		MES: ENERO		AÑO: 2017					
NOMBRE DEL EQUIPO: TERMOHIGROMETRO		LABORATORIO/ÁREA: BIOTERIO		MARCA: BOECO					
CÓDIGO IMET:									
INSTRUCCIONES: a) Registrar la Temperatura y la Humedad Relativa en la mañana (M) entre las 07 a 08 horas y la Temperatura y la Humedad Relativa de la tarde (T) de 14 a 16 horas		Temperatura (°C) Humedad Relativa (% HR)		LÍMITE INFERIOR 21.0 66%		LÍMITE SUPERIOR 27.0 95%			
Dia	LECTURAS								Registrador N°
	TEMPERATURA				HUMEDAD RELATIVA				
	MAÑANA		TARDE		MAÑANA		TARDE		
	Lectura observada	Lectura corregida	Lectura observada	Lectura corregida	Lectura observada	Lectura corregida	Lectura observada	Lectura corregida	
1									
2	23.8		24.0		80%		85%		
3	23.1		23.2		78%		80%		
4	24.1		24.0		86%		88%		
5	23.1		23.2		79%		81%		
6	24.9		24.7		89%		82%		
7	24.7		24.6		90%		89%		
8									
9	24.4		24.8		88%		82%		
10	25.1		25.3		75%		75%		
11	24.5		25.0		88%		80%		
12	25.0		24.1		90%		89%		
13	24.7		24.5		91%		90%		
14	24.6		26.2		89%		71%		
15									
16	24.6		25.0		88%		76%		
17	24.8		25.7		91%		67%		
18	24.9		26.3		86%		58%		
19	25.1		26.6		79%		59%		
20	25.3		25.5		82%		72%		
21	24.9		24.8		85%		81%		
22									
23	24.8		26.1		86%		71%		
24	25.1		25.3		83%		82%		
25	24.9		26.5		80%		58%		
26	24.9		25.6		85%		79%		
27	25.1		26.2		91%		70%		
28	25.2		25.1		86%		89%		
29									
30	25.1		25.1		87%		81%		
31	24.9		25.9		82%		73%		
Registrador N° 1	Laura Nuñez	Firma	Registrador N° 2	Laura Nuñez	Firma	Registrador N° 3			
Nombre y Apellido		Firma	Nombre y Apellido		Firma	Nombre y Apellido		Firma	
OBSERVACIONES:									
Responsable del Registro			Responsable del Área			Jefe de Laboratorio			
Nombre y Apellidos:		Firma:	Nombre y Apellidos:		Firma:	Nombre y Apellidos:		Firma:	
Laura Nuñez Tuesten			German Gonzales						

Anexo N° 22: Certificación de la especie vegetal

 **UNAP**

**Herbarium Amazonense – AMAZ**  
**Centro de Investigación**  
**de Recursos Naturales**

**CONSTANCIA N° 014-2017-AMAZ-UNAP**

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de La Universidad Nacional De La Amazonia Peruana

**HACE CONSTAR:**

Que, las muestra botánicas presentadas por el Instituto de Medicina Tradicional IMET-ESSALUD, fueron verificadas y determinadas en este Herbarium Amazonense-AMAZ, CIRNA-UNAP, que a continuación se indica:

N° de Herbarium	Nombre común	Nombre Científico	Familia
42787	"guisador"	<i>Curcuma longa</i> L.	ZINGIBERACEAE
42788	"choclo"	<i>Lupinus mutabilis</i> Sweet	FABACEAE

Se expide la presente constancia al interesado para los fines que se estime conveniente.

Iquitos 03 de mayo del 2017

Atentamente,

  
**Bigo. RICHARD HUARANCA ACOSTURA M.Sc.**  
**Coordinador del Herbarium AMAZ**  
**CIRNA-UNAP**



Anexo N° 23: Informe de ensayo de curcumina



**LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS**  
**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
*Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos*



**INFORME DE ENSAYOS**  
N° 001229 - 2017

**SOLICITANTE** : ARANDA VENTURA JOSE ALBERTO  
**DIRECCIÓN LEGAL** : AV. JOSE ABELARDO QUIÑONES NRO. 2265 A.H. SEÑOR DE LOS MILAGROS (A UNA CUADRA DEL HOTEL SOL DEL ORIENTE) LORETO - MAYNAS - SAN JUAN BAUTISTA  
**PRODUCTO** : EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE LOS RIZOMAS DE CURCUMA LONGA  
**NÚMERO DE MUESTRAS** : Uno  
**IDENTIFICACIÓN/MTRA.** : IMET 2  
**CANTIDAD RECIBIDA** : 823,8 g (+envase) de muestra proporcionada por el solicitante.  
**MARCA(S)** : S.M  
**FORMA DE PRESENTACIÓN** : Envasado, la muestra ingresa en frasco de vidrio sellado a 6,5°C de temperatura  
**SOLICITUD DE SERVICIO** : S/S N°EN-000606 -2017  
**REFERENCIA** : PERSONAL  
**FECHA DE RECEPCIÓN** : 03/02/2017  
**ENSAYOS SOLICITADOS** : FÍSICO/QUÍMICO  
**PERÍODO DE CUSTODIA** : No aplica  
**RESULTADOS :**

**ENSAYOS FÍSICOS/QUÍMICOS :**  
ALCANCE : N.A.

ENSAYOS	RESULTADO
1.- Curcumina (g / 100 g de muestra original)	0,6

**MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO :**  
1.- NTP 209.199-1982

FECHA DE EJECUCION DE ENSAYOS: Del 06/02/2017 A 16/02/2017.

---

**ADVERTENCIA :**  
1.- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento y transporte de la muestra hasta su ingreso a La Molina Calidad Total - Laboratorios son de responsabilidad del Solicitante.  
2.- Se prohíbe la reproducción parcial o total del presente informe sin la autorización de La Molina Calidad Total - Laboratorios.  
3.- Valido sólo para la cantidad recibida. No es un Certificado de Conformidad ni Certificado del Sistema de Calidad de quien lo produce  
4.- Este documento no será emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA

La Molina, 16 de Febrero de 2017



LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS-UNALM

Pág 1/1

Ing. Mg. Sc. Cecilia Alegria Arredondo  
DIRECTORA TÉCNICA  
CP. N° 145515

Av. La Molina S/N (frente a la puerta principal de la Universidad Agraria) - La Molina - Lima - Perú  
Telf : (511) 3495640 - 3492507 Fax: (511) 3495754  
E-mail: mktg@lamolina.edu.pe - Página Web: www.lamolina.edu.pe/calidadtotal - la molina calidad total

## Anexo N° 24: Análisis Descriptivo

### Descriptivos

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior			
					AST	Control Negativo			4
	Control CCl4	4	1277,000	209,8396	104,9198	943,098	1610,902	1020,0	1534,0
	Silimarina 100 mg	4	265,325	40,2768	20,1384	201,236	329,414	232,0	322,0
	Cúrcuma 100 mg	4	439,650	12,2837	6,1419	420,104	459,196	430,0	457,0
	Cúrcuma 200 mg	4	331,500	19,1877	9,5938	300,968	362,032	308,0	355,0
	Total	20	484,425	429,7884	96,1036	283,278	685,572	106,0	1534,0
ALT	Control Negativo	4	36,325	4,6428	2,3214	28,937	43,713	30,0	41,0
	Control CCl4	4	429,000	67,7692	33,8846	321,164	536,836	346,0	512,0
	Silimarina 100 mg	4	102,175	21,3820	10,6910	68,151	136,199	75,0	127,0
	Cúrcuma 100 mg	4	66,000	16,3911	8,1955	39,918	92,082	47,0	87,0
	Cúrcuma 200 mg	4	65,325	16,7398	8,3699	38,688	91,962	53,0	89,0
	Total	20	139,765	152,8450	34,1772	68,231	211,299	30,0	512,0
ALP	Control Negativo	4	205,325	2,8675	1,4337	200,762	209,888	202,0	209,0
	Control CCl4	4	291,675	11,8977	5,9489	272,743	310,607	280,0	308,0
	Silimarina 100 mg	4	125,000	3,7417	1,8708	119,046	130,954	121,0	130,0
	Cúrcuma 100 mg	4	173,675	10,4987	5,2493	156,969	190,381	159,0	183,0
	Cúrcuma 200 mg	4	152,650	31,2019	15,6009	103,001	202,299	117,0	193,0
	Total	20	189,665	60,5141	13,5314	161,344	217,986	117,0	308,0

## Anexo N° 25: Prueba de normalidad

Pruebas de normalidad							
	TRATAMIENTO	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
AST	Control Negativo	,263	4	.	,833	4	,177
	Control CCl4	,250	4	.	,945	4	,683
	Silimarina 100 mg	,250	4	.	,888	4	,373
	Cúrcuma 100 mg	,252	4	.	,868	4	,289
	Cúrcuma 200 mg	,250	4	.	,945	4	,683
ALT	Control Negativo	,248	4	.	,951	4	,723
	Control CCl4	,250	4	.	,945	4	,683
	Silimarina 100 mg	,223	4	.	,978	4	,888
	Cúrcuma 100 mg	,250	4	.	,960	4	,782
	Cúrcuma 200 mg	,251	4	.	,843	4	,204
ALP	Control Negativo	,253	4	.	,958	4	,765
	Control CCl4	,249	4	.	,944	4	,681
	Silimarina 100 mg	,250	4	.	,961	4	,783
	Cúrcuma 100 mg	,251	4	.	,913	4	,499
	Cúrcuma 200 mg	,251	4	.	,962	4	,789

a. Corrección de significación de Lilliefors

## Anexo N° 26: Análisis Inferencial

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
AST	Entre grupos	3371110,590	4	842777,648	91,254	,000
	Dentro de grupos	138532,508	15	9235,501		
	Total	3509643,098	19			
ALT	Entre grupos	427009,263	4	106752,316	94,970	,000
	Dentro de grupos	16860,903	15	1124,060		
	Total	443870,166	19			
ALP	Entre grupos	65834,513	4	16458,628	65,963	,000
	Dentro de grupos	3742,673	15	249,512		
	Total	69577,186	19			



Como  $p$ -valor  $< 0.05$ , aceptamos la  $H_1$ , esto significa, que existe diferencias de medias. Para saber cuál de los tratamientos es más significativo emplearemos la prueba de Tuckey esto es:

### AST

HSD Tukey<sup>a</sup>

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Control Negativo	4	108,650		
Silimarina 100 mg	4	265,325	265,325	
Cúrcuma 200 mg	4		331,500	
Cúrcuma 100 mg	4		439,650	
Control CCl4	4			1277,000
Sig.		,197	,128	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

### ALT

HSD Tukey<sup>a</sup>

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Control Negativo	4	36,325	
Cúrcuma 200 mg	4	65,325	
Cúrcuma 100 mg	4	66,000	
Silimarina 100 mg	4	102,175	
Control CCl4	4		429,000
Sig.		,088	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

### ALP

HSD Tukey<sup>a</sup>

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Silimarina 100 mg	4	125,000			
Cúrcuma 200 mg	4	152,650	152,650		
Cúrcuma 100 mg	4		173,675	173,675	
Control Negativo	4			205,325	
Control CCl4	4				291,675
Sig.		,149	,367	,080	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.



Anexo N° 27: Ficha para la evaluación histopatológica

PROTOCOLO DE EVALUACIÓN HEPÁTICA (GRADO Y ESTADIO DE SCHEUER)  
 PROYECTO "EFECTO PROTECTOR DE UNA PLANTA MEDICINAL EN UN MODELO DE DAÑO  
 HEPÁTICO INDUCIDO CON TETRACLORURO DE CARBONO"

CÓDIGO: 16-011

ACTIVIDAD - Grado PORTAL7PERIPORTAL	ACTIVIDAD - Grado LOBULILLAR	ARQUITECTURA - Estado FIBROSIS
<input checked="" type="checkbox"/> No inflamación portal	<input checked="" type="checkbox"/> No inflamación lobulillar	<input checked="" type="checkbox"/> No fibrosis
<input type="checkbox"/> Inflamación portal	<input type="checkbox"/> Inflamación sin necrosis	<input type="checkbox"/> Ampliación portal
<input type="checkbox"/> Necrosis erosiva leve	<input type="checkbox"/> Necrosis focal/cuerpos acidófilos	<input type="checkbox"/> Septos (arquitectura intacta)
<input type="checkbox"/> Necrosis erosiva moderada	<input type="checkbox"/> Necrosis focal moderada o grave	<input type="checkbox"/> Septos (distorsión de arquitectura)
<input type="checkbox"/> Necrosis erosiva intensa	<input type="checkbox"/> Necrosis en puentes	<input type="checkbox"/> Fibrosis perinodular

OTROS HALLAZGOS

COLESTASIS	% Y LOCALIZACIÓN: _____
SIDEROSIS	GRADO: _____
ESTEATOSIS	MACROGUTULAR % Y LOCALIZACIÓN: _____
	MICROGUTULAR % Y LOCALIZACIÓN: _____
DISPLASIA	GRADO: _____

DIAGNOSTICO HISTOPATOLÓGICO

Hallazgos histopatológicos de Hígado normal

Francisco J. Echeverri  
 MEDICO CIRUJANO  
 ANATOMO PATOLOGO  
 CMP 35172 RNE 1835

---

PROTOCOLO DE EVALUACIÓN HEPÁTICA (GRADO Y ESTADIO DE SCHEUER)  
 PROYECTO "EFECTO PROTECTOR DE UNA PLANTA MEDICINAL EN UN MODELO DE DAÑO  
 HEPÁTICO INDUCIDO CON TETRACLORURO DE CARBONO"

CÓDIGO: 16-012

ACTIVIDAD - Grado PORTAL7PERIPORTAL	ACTIVIDAD - Grado LOBULILLAR	ARQUITECTURA - Estado FIBROSIS
<input checked="" type="checkbox"/> No inflamación portal	<input checked="" type="checkbox"/> No inflamación lobulillar	<input checked="" type="checkbox"/> No fibrosis
<input checked="" type="checkbox"/> Inflamación portal	<input checked="" type="checkbox"/> Inflamación sin necrosis	<input type="checkbox"/> Ampliación portal
<input type="checkbox"/> Necrosis erosiva leve	<input type="checkbox"/> Necrosis focal/cuerpos acidófilos	<input type="checkbox"/> Septos (arquitectura intacta)
<input type="checkbox"/> Necrosis erosiva moderada	<input type="checkbox"/> Necrosis focal moderada o grave	<input type="checkbox"/> Septos (distorsión de arquitectura)
<input type="checkbox"/> Necrosis erosiva intensa	<input type="checkbox"/> Necrosis en puentes	<input type="checkbox"/> Fibrosis perinodular

OTROS HALLAZGOS

COLESTASIS	% Y LOCALIZACIÓN: _____
SIDEROSIS	GRADO: _____
ESTEATOSIS	MACROGUTULAR % Y LOCALIZACIÓN: _____
	MICROGUTULAR % Y LOCALIZACIÓN: _____
DISPLASIA	GRADO: _____

DIAGNOSTICO HISTOPATOLÓGICO

Hallazgos histopatológicos de Hígado normal

Francisco J. Echeverri  
 MEDICO CIRUJANO  
 ANATOMO PATOLOGO  
 CMP 35172 RNE 1835