



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA**

**EFFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO DE
LOS BULBOS DE *Allium sativum* (AJO) EN *Rattus rattus*
*var. albinus***

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

AUTORA

HUAMAN DAGA, INGRIT SANDRA

ASESOR:

Mgtr. LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

TRUJILLO –PERU

2018

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Asesor

DEDICATORIA

- ✓ *A mis padres Carmen y Marcial, los cuales atravesaron junto conmigo los 5 años de la carrera universitaria cuyos consejos y lecciones lograron que culminara una etapa más en mi formación académica.*

- ✓ *A mis entrañables "papitos" Santiago y Celia, los cuales siempre confiaron en mí y hoy por hoy sus nombres estarán en este trabajo para reafirmar lo cuán importante fueron ustedes en mi vida.*

- ✓ *A mi hermano Alexander, el cual con sus preguntas diarias, me incentivo a seguir esforzándome cada día más.*

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, fue de tipo experimental, de enfoque cuantitativo corte longitudinal, cuyo objetivo fue determinar el efecto hepatoprotector del extracto de los bulbos de *Allium sativum* en *Rattus rattus* var. *albinus*, en el cual se emplearon 18 ratas macho con un peso aproximado de 200 a 250 mg; divididos aleatoriamente en 3 grupos (n = 6): el grupo control negativo solo recibió alimento y agua ad libitum, el grupo control positivo recibió CCl₄ a dosis de 2 ml/kg para generar daño hepático y el grupo experimental recibió el extracto de *Allium sativum* 200 mg/ kg antes de iniciar el daño hepático con CCl₄ . El extracto se obtuvo mediante un extractor casero y fue administrado por sonda orogástrica. El daño hepático fue realizado con CCl₄ en una dosis de 2ml /kg disuelta en aceite de oliva (1:1v/v) mediante vía oral; empleando como medida principal para el estudio el test de Fosfatasa Alcalina (ALP). Los resultados fueron sometidos a la prueba de T -STUDENT y prueba ANOVA, obteniéndose un valor de $p < 0.001$ indicando una diferencia estadísticamente significativa, concluyendo que el extracto de los bulbos de *Allium sativum* presentó un efecto hepatoprotector.

Palabras clave: Plantas medicinales, *Allium sativum*, Ajo, hepatoprotector, tetracloruro de carbono

ABSTRACT

The present research work was of an experimental type, with a longitudinal cut quantitative approach, whose objective was to determine the hepatoprotective effect of the extract of the *Allium sativum* bulbs in *Rattus rattus* var. *albinus*, in which 18 male rats weighing approximately 200 to 250 mg were used; divided randomly into 3 groups (n = 6): the negative control group received only food and water ad libitum, the positive control group received CCl₄ at a dose of 2 ml / kg to generate liver damage and the experimental group received the extract of *Allium sativum* 200 mg / kg before starting liver damage with CCl₄. The extract was obtained by means of a homemade extractor and was administered by an orogastric tube. The liver damage was done with CCl₄ in a dose of 2ml / kg dissolved in olive oil (1: 1v / v) orally; using the Alkaline Phosphatase (ALP) test as the main measure for the study. The results were subjected to the T-STUDENT test and ANOVA test, obtaining a value of p <0.001 indicating a statistically significant difference, concluding that the extract of the *Allium sativum* bulbs had a hepatoprotective effect.

Key words: Medicinal plants, *Allium sativum*, Garlic, hepatoprotective, carbon tetrachloride

| CONTENIDO | Página |
|---|---------------|
| AGRADECIMIENTO | iii |
| DEDICATORIA... .. | iv |
| RESUMEN | v |
| ABSTRACT..... | vi |
| I. INTRODUCCIÒN | 1 |
| II. REVISIÒN DE LA LITERATURA... .. | 6 |
| 2.1. Antecedentes... .. | 6 |
| 2.2. Bases Teóricas de la Investigaciòn... .. | 9 |
| III. HIPÒTESIS..... | 15 |
| IV. METODOLOGÍA... .. | 16 |
| 4.1. Diseño de la investigaciòn... .. | 16 |
| 4.2. Poblaciòn y muestra | 17 |
| 4.3. Definiçiòn y operacionalizaciòn de variables e indicadores | 18 |
| 4.4. Técnicas e instrumentos de recolecciòn de datos..... | 20 |
| 4.5. Plan de análisis..... | 22 |
| 4.6. Matriz De Consistencia..... | 23 |
| 4.7. Principios éticos... .. | 24 |
| V. RESULTADOS..... | 25 |
| 5.1. Resultados... .. | 25 |
| 5.2. Análisis de resultados..... | 29 |
| VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 32 |
| 6.1. Conclusiones... .. | 32 |
| 6.2. Recomendaciones..... | 33 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 34 |
| ANEXOS... .. | 41 |

ÍNDICE DE TABLAS

| CONTENIDO | Página |
|---|--------|
| TABLA 01. Evaluar la función hepática a través de la concentración de Fosfatasa Alcalina en el grupo control negativo de los especímenes de <i>Rattus rattus</i> var. <i>albinus</i> | pág 25 |
| TABLA 02. Evaluar el efecto del tetracloruro de carbono sobre la función hepática en <i>Rattus rattus</i> var. <i>albinus</i> a través de la concentración de Fosfatasa Alcalina en el grupo tratado con CCl ₄ | pág 26 |
| TABLA 03. Evaluar el efecto del tetracloruro de carbono sobre la función hepática en <i>Rattus rattus</i> var. <i>albinus</i> a través de la concentración de Fosfatasa Alcalina en el grupo tratado con CCl ₄ | pág 27 |
| TABLA 04. Comparación de la concentración de (ALP) entre los grupos control negativo, control experimental y control positivo | pág 28 |

I. INTRODUCCIÓN

El uso de las plantas medicinales es tan antiguo como la aparición del hombre; entre las diferentes prácticas complementarias empleadas y difundidas a través de la cultura popular, las plantas medicinales siempre han ocupado un lugar destacado e importante; incluso durante años fue el principal recurso terapéutico empleado para tratar los problemas de salud de las personas; pero con el paso de los años su uso se ha venido devaluando; la medicina moderna implementó los medicamentos industrializados siendo estos más los más empleados en la sociedad , sin embargo hoy en día las políticas de ciencia y salud están tratando de reestablecer el uso de plantas medicinales en la salud , es por ello que es necesario que las personas que indiquen su uso sean personas profesionales de la salud ⁽¹⁾.

En el 2007 la cumbre Internacional organizada por el colegio Médico del Perú, conocida como La Declaración de Lima, reconoce la importancia de la Medicina Tradicional e incluso recomienda el empleo de su uso en los sistemas oficiales de Salud de cada país. En el Perú dicho tema se ha venido implementando con diversos estudios de etnobotánica en diversas poblaciones; las explicaciones para el uso extendido de ellas en el país se deben a la diversidad de especies vegetales y el tradicional uso que se conoce sobre su empleo. Actualmente su uso coexiste con la medicina occidental siendo orientado en la prevención y el alivio de los diversos problemas de salud y según el estudio realizado las pacientes exige que los profesionales prescriban plantas medicinales en su acto médico ⁽²⁾.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la medicina tradicional abarca diferentes enfoques, conocimientos y diversas creencias sanitarias las cuales están basadas en las plantas, animales e incluso en terapias espirituales los cuales se aplican en forma individual o conjunta cuyo propósito es mantener el bienestar de la persona; además de brindar un diagnóstico correcto y prevenir complicaciones posteriores .En países subdesarrollados se ha evidenciado que casi el 90% de la población opta por un tratamiento alternativo (Medicina Tradicional). Según estudios las plantas medicinales tienen una gran contribución en comunidades locales, debido a que su uso se centra mayormente en poblaciones rurales debido a su reducida capacidad económica y al difícil acceso que tienen hacia los medicamentos modernos ^(2,3).

La OMS define a las plantas medicinales como materiales vegetales brutos, los cuales están compuestos por: hojas, flores, frutos, semillas, tallos, madera, corteza, raíces, rizomas y otras partes de las plantas, enteros, fragmentados o pulverizados, que se utilizan en la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades físicas o mentales. La mayoría de las personas creen que las plantas medicinales son más inocuas que los productos farmacéuticos y el riesgo que representan es mínimo; si bien es cierto algunas plantas medicinales son potentes y su inocuidad no es tan evidente como se cree, incluso pueden llegar a ocasionar interacciones con medicamentos de uso habitual o prolongado, generando alteraciones farmacológicas las cuales llegan a ser perjudiciales para la salud de las personas con enfermedades crónicas, motivo por el cual es importante registrarse a un control adecuado y establecer concentraciones beneficiosas evitando intoxicaciones debido a la ausencia de una dosis correcta⁽⁴⁾.

Las enfermedades hepáticas crónicas, constituyen una de las primeras causas de mortalidad a nivel mundial en Perú llega a ocupar el 1 lugar entre las enfermedades digestivas hepatobiliares; costear el tratamiento conlleva toda una odisea debido a que los gastos van en incremento debido a como la hepatopatía va avanzado; a causa ello se presenta la necesidad de invertir en recursos de acciones preventivas para así asegurar a la población una mejor calidad de vida. La Hepatitis viral es la de más alta endemecidad en nuestro país y la cirrosis hepática la causa más frecuente de presentación crónica asociada a la mortalidad. En los países de América Latina, Chile y Perú, las enfermedades hepáticas presentan tasas de mortalidad en 18,2/100 000 y 15/100 000 habitantes haciéndola, la segunda causa de muerte más registrada para el grupo etario de 20 a 65 años vida ⁽⁵⁾.

Las alternativas naturales están orientadas en dichos casos pues mediante estos productos se pueden proteger al hígado de los efectos nocivos de hepatotoxinas que el hombre ingiere a lo largo de su vida , así mismo ayuda a contrarrestar las alteraciones en los mecanismos de defensa antirradicalarios, siendo en este sentido la fitoterapia una alternativa farmacológica en cuanto a los tratamientos convencionales .Según la OMS y el Parlamento Europeo han implementado resoluciones que ponen de manifiesto la necesidad de racionalizar el empleo de los productos derivados de plantas medicinales, teniendo como objetivo limitar la prescripción de productos de fitoterapia que carezcan de estudios previos siendo su uso correspondiente a la ciencia moderna conduciendo el estudio de la medicina tradicional por métodos científicos que comprueben la eficacia farmacológica en cada caso⁽⁷⁾.

En búsqueda de dichas plantas medicinales, se seleccionó al *Allium sativum* (Ajo), como un potente antioxidante, debido a su composición, estructura química y al mecanismo patogénico que posee ya interviene en la producción de radicales libres alterando el sistema antioxidante a nivel hepático. Sin duda son muchos casos donde se reporta que no hay un tratamiento efectivo para la toxicidad hepática producida por fármacos , salvo la intoxicación inducida por paracetamol y valproato donde hay evidencia que apoya la utilización de N-acetilcisteína y carnitina, respectivamente; debido a ello diversos autores han propuesto a diversos productos naturales (perejil, tuna, etc.) como posible hepatoprotector; siendo su acción antioxidante y estabilizadora de membrana, el principal mecanismo empleado ^(8,9).

Las enfermedades hepáticas, cada vez son más numerosas, pero sin duda la gravedad depende del estatus económico que presente el paciente, puesto que si cuenta con los recursos necesarios la atención y el tratamiento será mucho más oportuno y se podrá llevar un control adecuado de su enfermedad. El panorama es distinto cuando una persona de escasos recursos económicos padece la misma enfermedad, inicialmente opta por adquirir estos medicamentos, pero debido al costo que ellas implican abandonan el tratamiento. Debido a ello el presente proyecto pretende encontrar un tratamiento alternativo de bajo costo y accesible para las enfermedades hepáticas; incentivando consumo extracto de *Allium sativum*, que beneficie a la población de escasos recursos económicos.

Por lo antes expuesto se plantea la siguiente interrogante:

¿Presentará efecto hepatoprotector el extracto de los bulbos de *Allium sativum* (Ajo) en *Rattus rattus* var *albinus*?

Objetivo general:

- ✓ Evaluar el efecto Hepatoprotector del extracto de los bulbos de *Allium sativum* en *Rattus rattus* var. *albinus*.

Objetivos específicos

- ✓ Evaluar la función hepática a través de la concentración de Fosfatasa Alcalina en el grupo control negativo de los especímenes de *Rattus rattus* var. *albinus*.
- ✓ Evaluar el efecto del tetracloruro de carbono sobre la función hepática en *Rattus rattus* var. *albinus* a través de la concentración de Fosfatasa Alcalina en el grupo tratado con CCl₄.
- ✓ Evaluar el efecto del extracto de *Allium sativum* sobre la función hepática en *Rattus rattus* var. *albinus* previo a la administración de CCl₄ sobre la concentración de Fosfatasa alcalina.
- ✓ Comparar la concentración de Fosfatasa Alcalina en los grupos control Negativo, grupo tratado con CCl₄ y el grupo tratado con los bulbos de *Allium sativum* previo a la administración de CCl₄.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.

2.1. Antecedentes

Bermúdez et al, tiene como objetivo evaluar preclínicamente la actividad hepatoprotectora de las especies *Ocimum basilicum L.* y *Allium sativum L.* en un modelo animal de toxicidad inducida por paracetamol. El estudio fue farmacológico preclínico, de carácter experimental , in vivo en el centro de Toxicología de Villa Clara, en Cuba en el 2014 ; se emplearon ratones adultos machos NMRI a los que se administró extractos blandos por vía oral a dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg , 3 días consecutivos previos a la inducción de la hepatotoxicidad, el grupo I y II fueron tratados con dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg de *Ocimum basilicum L.* , los grupos III y IV recibieron una dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg de *Allium sativum L.* , el grupo V fue empelado como control de daño hepático , recibió 600 mg/kg de paracetamol y el grupo VI no recibió tratamiento alguno⁽¹⁰⁾.

Los resultados evidenciaron que los parámetros bioquímicos mostraron diferencias significativas y solo tres grupos obtuvieron resultados similares al grupo control no tratado , a nivel macroscópico no se vieron cambios en el hígado y microscópicamente se observó ausencia de cambios histopatológicos en el grupo tratado con *Ocimum basilicum L.* en ambas dosis y *Allium sativum L.* a dosis de 200 mg/kg ; a una dosis de 400 mg/kg de *Allium sativum L.* se evidencio un leve daño con diferencias respectivas al grupo control no tratado. La elección del fármaco se dio debido a que provoca necrosis aguda centrilobulillar, la dosis empleada (600mg/kg) produjo el incremento de los niveles plasmáticos de los parámetros bioquímicos (ALT, AST, FAL y Bbt) ⁽¹⁰⁾.

Sánchez et al, en Cuba en el 2015 su trabajo tiene como objetivo describir las modificaciones morfométricos del hígado tras la administración de los extractos de *Allium sativum* L., *Ocimum basilicum* L. y *Mentha x piperita* L ante la toxicidad inducida por paracetamol .El estudio es analítico con enfoque cuantitativo, se evaluaron tres grupos y los análisis se realizaron en las muestras de hígado fijados en formol neutro al 10%, donde se evidencia que los hepatocitos de las tres zonas del lobulillo hepático de Rappaport no se encontraron alteraciones morfométricos significativas entre los grupos a pesar de existir variaciones entre algunas variables analizadas. La relación AN /AC mantuvo sus límites normales. Los grupos con dosis de 400mg/kg de *O. basiculum* y 200 mg/kg *Allium sativum* L , presentaron los valores morfométricos con mayor similitud al grupo control sin tratamiento, lo que correspondió con aquellos de mayor efecto hepatoprotector atribuido⁽¹¹⁾.

Khalid M et al , en Arabia en el 2017, en su trabajo de investigación titulado Efectos hepatoprotectores y antioxidantes del ajo y clavo individual contra el daño hepático inducido por CCl4 en conejos tiene como objetivo evaluar las actividades antioxidantes, la eficiencia de eliminación de oxidantes y los efectos preventivos de SCG (clavo de olor único) y MCG (solo diente de ajo) sobre la hepatotoxicidad aguda inducida por CCl4 en conejos machos , en la metodología se empleó 3ml CCl4 /Kg , seguidos de 0,8 g de MCG o SCG / kg dos veces por semana durante tres semanas sucesivas, obteniéndose como resultados que los extractos de SCG presentaron una mayor capacidad antioxidante que el extracto de MCG . La capacidad de eliminación de SCG mostró elevación significativa ($p < 0,05$) frente

a 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y radicales superóxido en comparación con MCG⁽¹²⁾.

El contenido fenólico total de SCG fue significativamente elevado ($p < 0,001$), lo que sugiere que la composición de los componentes de almacenamiento de ajo varía con el número de clavos presentes. La hepatotoxicidad inducida por CCl₄ demostró cambios histológicos donde se evidencia un daño severo en la estructura de los tejidos del hígado que se correlaciona bien con los niveles de estrés oxidativo. Simultáneamente, la administración de SCG dio como resultado una reducción significativa en los niveles de Fosfatasa Alcalina (ALP), aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y bilirrubina total (TB) sérica además de la mejora en algunos parámetros histológicos. Los bajos niveles de peroxidación lipídica (malondialdehído, MDA) ($p < 0,001$), junto con una gran reducción en la peroxidasa (POx) ($p < 0,001$) revelaron protección contra la toxicidad oxidativa en el homogeneado hepático ⁽¹²⁾.

Lee H et al, en Korea en el 2016 desarrolló un trabajo con el objetivo de investigar el efecto hepatoprotector del extracto de ajo fermentado por bacterias del ácido láctico (LAFGE) contra la lesión hepática aguda inducida por paracetamol (AAP) en ratas. Donde se observa que las ratas tratadas con LAFGE muestran resistencia a la lesión hepática inducida por AAP acompañado por una reducción de los niveles plasmáticos de alanina amino transferasa y disminución de la proinflamatoria respuestas. Esta función de LAFGE está relacionada con su capacidad de suprimir la apoptosis inducida por AAP en el hígado, en parte a través de la inhibición de la fosforilación de MAPK así como de la disminución de p53. Según resultados se observa que LAFGE modula las vías de señalización

implicadas en la apoptosis hepática a través de celulares control redox, como lo indica la inhibición de la PL, el glutatión y el agotamiento de ATP, y la elevación de las actividades de enzimas antioxidantes.

Tomados en conjunto, estos hallazgos indican que LAFGE mejora la lesión hepática inducida por AAP mediante la prevención de la apoptosis mediada por estrés oxidativo, por lo tanto establecer LAFGE como un suplemento potencial en el tratamiento de la lesión hepática inducida por AAP⁽¹³⁾.

2.2. Bases teóricas de la investigación

Fitoterapia

Según la OMS fitoterapia está definida como la "Ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal, con fines terapéuticos, ya sea para prevenir, atenuar u curar un estado patológico". Sin embargo el uso de los productos vegetales está limitado a una administración oral, tópica y bajo ningún motivo se autoriza una administración por vía parenteral, su uso debe estar limitado en caso de afecciones leves a moderadas y solamente en algunos casos de enfermedades crónicas. Según la literatura para que haya optimo desenvolvimiento del producto vegetal depende de la forma de recolección de la conservación de la planta medicinal, debido a que un incorrecto procedimiento provocara el proceso de degradación en menor tiempo ⁽¹⁴⁾.

El desarrollo químico ha conllevado a estudios en los cuales se considera que si se obtiene los principios activos aislados de dichas plantas medicinales, se lograría un incremento de su eficacia terapéutica, sin embargo se ha evidenciado registros de intoxicaciones debido a la acumulación del producto en el organismo e incluso

se presenta una menor actividad farmacológica y una acción más lenta, debido a que el principio activo contenido en el vegetal mantiene un equilibrio dado por sustancias complementarias que impiden su acumulación y por ende la generación de efectos adversos y que al contrario favorezcan su eficacia y seguridad de acción. Una característica esencial para que los medicamentos a base de plantas medicinales sean considerados como tal; es que deben presentar una acción terapéutica definida y una documentación que certifique su uso prolongado ⁽¹⁴⁾.

Allium sativum

Originario del centro y sur de Asia , fue introducido al continente Americano por los españoles a términos del siglo XV ; es una hierba perenne cuya característica principal es su raíz bulbosa , la cual tiene de 6 a 12 bulbillos reunidos en su base por medio de una película delgada formando lo que se conoce como “cabeza de ajos”, cada bulbillo está recubierto por una túnica blanca, de una coloración algo rojiza , membranosa, transparente y muy fina semejante a las que cubren todo el bulbo⁽¹⁵⁾.

El género ***Allium sativum*** contiene más de 300 especies de plantas; entre ellas encontramos al ***Allium sativum L.*** Este vegetal contiene alicina, aliina y ajoence, aceites volátiles, enzimas (aliinasa, peroxidasa y miracinasa), hidratos de carbono (sacarosa y glucosa), minerales (selenio), aminoácidos (cisteína, glutamina, isoleucina y metionina) , compuestos que le confieren una acción antioxidante, bioflavonoides (quercetina y cianidina, alistatina I y II) y vitaminas C, E y A que ayudarían a proteger a las personas de la oxidación y de los radicales libres, así

como otras vitaminas como niacina, vitaminas B1 y B2, además de betacarotenos⁽¹⁵⁾. (Ver anexo 01)

Clasificación Científica

- ✓ Reino : Plantae
- ✓ División : Magnoliophyta
- ✓ Clase : Liliopsida
- ✓ Orden : Asparagales
- ✓ Familia : Liliaceae
- ✓ Sub familia : Allioideae
- ✓ Género : Allium
- ✓ Tribu : Allieae
- ✓ Nombre Científico: Allium sativum⁽¹⁶⁾.

Composición nutricional

Los bulbos de ajo son ricos en proteínas, hidratos de carbono, aminoácidos esenciales, y especialmente rico en minerales y vitaminas ⁽¹⁷⁾.

Composición Química

Aliína (S-Alilcisteína Sulfóxido)

Es el compuesto de azufre más abundante en el ajo fresco, está compuesta por un grupo alil, un grupo sulfóxido y cisteína .Es inolora y estable, se cristaliza en disoluciones de etanol y acetona pero es estable en soluciones acuosas y a altas temperaturas ⁽¹⁷⁾.

Enzima Aliinasa (Alliin Liasa)

Está ubicado en las vacuolas de la célula, las cuales están separadas del sustrato natural, la aliina que se encuentra en el citoplasma de las células del ajo ⁽¹⁷⁾.

La Alicina (Dialil Tiosulfinato)

Es el compuesto más activo del ajo y representa el 70% de los tiosulfinatos además es el componente más importante de los compuestos biológicamente activos de los bulbos de ajo triturado ; una característica curiosa es que la alicina no existe en un inicio sino que se produce cuando se tritura el ajo se añade agua al ajo en polvo a temperaturas mayores de 70°C produciendo la pérdida de este compuesto, debido a que su precursor la aliína, es convertida rápidamente por la acción de la enzima en alicina y otros tiosulfinatos (Krest y Keusgen, 1999; Bhagyalakshmi y Col, 2005) ⁽¹⁷⁾.

Propiedades del *Allium sativum*

En el año 2016 se desarrolló un proyecto bibliográfico en el cual se destacan las infinitas propiedades medicinales que posee el *Allium sativum* tales como: antimicrobiano, antimicótico, antioxidante, antihipertensivo, actividad humoral, etc. A la vez se atribuye las propiedades medicinales a los compuestos sulfurados en ellos principalmente a la Alicina y el ajoene , la revisión bibliográfica empleo los recursos disponibles en la red Informed específicamente Ebsco , Pubmed , Hinari y Scielo para poder revisar el estado actual en cuanto investigaciones acerca del uso del *Allium sativum* en medicina .Las evidencias científicas avalan su uso y comprueban los efectos antes referidos en diferentes extractos tales como :

extracto añejo , extracto acuoso , aceite , ajo crudo .Además se señala que su uso se debe dar como tratamiento complementario⁽¹⁸⁾.

Generalidades de las enfermedades hepatobiliares

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, en condiciones normales presenta una coloración marrón y una superficie lisa y un peso aproximado de 2 kg/ kg .Está formado por lóbulos, los cuales están constituidos por unidades más pequeñas llamadas lobulillos hepáticos (unidad fisiológica del hígado), los cuales tienen una forma hexagonal, se encuentran alrededor de las venas hepáticas centrilobulillares con cordones de hepatocitos y sinusoides que se irradian hacia afuera. ⁽¹⁹⁾

La unidad funcional del hígado por su organización es el acino hepático, cuya estructura es como una pequeña masa parenquimatosa de tamaño y forma irregular y se encuentra ubicada alrededor de dos venas centrilobulillares, siendo su eje de consistencia el eje de una arteriola hepática, vénula portal, vasos linfáticos y nervios. Metabolizar los xenobióticos (fármacos), es la función principal del hígado originando que este expuesto a constantes lesiones , debido a ello ha desarrollado diferentes mecanismos de defensa los cuales le permiten protegerse y recuperarse de ellos ^(5,19).

Las lesiones en el hígado se clasifican en dos tipos: cuando el daño es limitado (hepatitis aguda) se produce una respuesta regenerativa de los hepatocitos el cual reemplaza a los tejidos afectados, restableciéndose así la arquitectura hepática

normal, sin embargo, cuando la lesión sobrepasa la capacidad defensiva y reparadora hepática, se produce una respuesta caracterizada por una regeneración celular desordenada, inflamación y fibrosis. La presencia del daño hepatocelular genera la disminución de la capacidad del hígado con la bilirrubina, alterando la excreción y provocando el incremento de los niveles de bilirrubina generando que el hígado pierda al menos el 50% de su capacidad de excreción; por lo tanto, la presencia de hiperbilirrubinemia conjugada (bilirrubina directa), que habitualmente es un signo de enfermedad hepática ^(20,21).

El tetracloruro de carbono (CCl₄) es un compuesto químico sintético, organoclorado, pertenece al grupo de los hidrocarburos halogenados, se emplea como disolvente y es poco soluble en agua. La absorción en el tracto gastrointestinal es más factible si cuenta con la presencia de aceites y grasas (animal o vegetal) debido a que las sustancias no polares que se disuelven en lípidos se difunden con mayor rapidez debido a que la membrana es permeable^(22,23).

III. HIPÒTESIS

- ✓ H1: El extracto de los bulbos de *Allium sativum* presenta efecto hepatoprotector.
- ✓ H0: El extracto de los bulbos de *Allium sativum* no presenta efecto hepatoprotector.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación

El trabajo de investigación fue de tipo experimental, de enfoque cuantitativo y corte longitudinal.

Los grupos están conformados por:

Grupo control negativo: Este grupo estuvo conformado por 6 animales de experimentación (*Rattus rattus* var. *albinus*), recibió alimentación balanceada y agua ad libitum ⁽¹⁹⁾.

Grupo control Positivo: Este grupo estuvo conformado por 6 animales de experimentación (*Rattus rattus* var. *albinus*), al cual se administró CCl₄. Su alimentación fue balanceada y recibió agua ad libitum ⁽¹⁹⁾.

Grupo Experimental

Este grupo estuvo conformado por 6 animales de experimentación (*Rattus rattus* var. *albinus*), se administró el extracto de *Allium sativum* a una dosis de 200mg kg por peso vivo por sonda orogástrica, en el 6to y 7mo día recibió CCl₄ (2ml /kg) hasta inducir hepatotoxicidad ⁽¹⁹⁾.

4.2. Población y muestra

4.2.1. Población Vegetal

El *Allium sativum* tiene el segundo nivel en importancia agroeconómica del género Allium, el término Allium procede de la palabra All, que significa “ardiente o caliente” mientras que el nombre “sativum” procede del latín que significa “cultivado” ; dicha planta pertenece a la familia de las amarilidáceas (Amarillidaceae), subfamilia alioideas (Allioideae) ^(24,25).

4.2.2. Muestra vegetal

Los bulbos fueron la parte seleccionada de la planta, los cuales fueron almacenados en cajas de madera y envueltas en tela de yute para el envío a Trujillo. Se recolectaron en el Departamento de Huamachuco en el mes de diciembre del 2016, en un estado de madures biológica (ver anexo 02).

Criterios de Inclusión

- ✓ Bulbos de mayor tamaño.
- ✓ Bulbos con cascara integra
- ✓ Libre de laceraciones y mohos.

Criterios de Exclusión

- ✓ Bulbos de pequeños.
- ✓ Bulbos sin cascara integra con de laceraciones y mohos.
- ✓ Bulbos con germinaciones.

4.2.3. Población biológica: especímenes de *Rattus rattus* var. *albinus* machos de 3-4 meses de edad cuyos pesos promedios estaban comprendido entre 200 a 250 g, procedentes del bioterio de la Universidad Cayetano Heredia.

4.2.4. Muestra Biológica: 18 especímenes de *Rattus rattus* var *Albinus* distribuidos de manera aleatoria en tres grupos (control positivo, control negativo y control experimental), colocándolos en jaulas individuales en un ambiente de temperatura constante de 20°C, con ciclos alternados de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, los animales fueron acondicionados en cajas de polipropileno, empleando viruta de madera como encamado (cambiada cada 3 días) con tapa de rejilla de acero inoxidable. Los animales de experimentación tuvieron 7 días de aclimatación antes de iniciar propiamente el experimento, recibiendo una alimentación balanceada (ver anexo 03)

4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variable Independiente

Extracto de los bulbos de *Allium sativum* (Ajo), se entiende al extracto sin fermentar, carnoso destinado al consumo directo, el cual se obtiene por un proceso mecánico a partir de los bulbos frescos previamente seleccionado (CODEX 2005)⁽²⁶⁾.

Variable dependiente:

Efecto Hepatoprotector en ratas

| Variables | Definición Conceptual | Definición Operacional | Indicadores | Escala De Medición |
|--|---|--|--|---------------------------------------|
| <p>Variable Independiente</p> <p>Extracto del <i>Allium sativum</i></p> | <p>Concentrado de principios activos distribuidos en un volumen determinado</p> | <p>Es el producto obtenido a través del extracto de los bulbos de <i>Allium sativum</i> , empleando una sola concentración</p> | <p>Extracto a dosis de 200 mg/kg el grupo experimental 0.0 mg/ kg el grupo control positivo.</p> | <p>Variable cualitativa nominal</p> |
| <p>Variable Dependiente</p> <p>Efecto Hepatoprotector</p> | <p>Capacidad de un compuesto para disminuir la hepatotoxicidad</p> | <p>Se determinó la disminución de los niveles de Fosfatasa Alcalina</p> | <p>UI/L</p> | <p>Variable Cuantitativa de razón</p> |

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnica: obtención del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum*

Para la preparación del extracto de *Allium sativum*, se retiró la cubierta y se eliminó, luego se procedió a pesar 140 g de los bulbos de *Allium sativum*, los cuales previamente fueron lavados y picados para ser homogenizados en 300 ml de agua destilada, empleando un equipo de alta potencia, homogeneizador (BLSTMG-K15), en un tiempo aproximado de 3 minutos, posteriormente se procedió al filtrado y se llevó la fase sólida a la centrífuga a 3000 rpm en un tiempo de 5 minutos. El extracto fue almacenado en un frasco ámbar y se guardó en refrigeración ^(27, 28).

Concentración del Extracto

La concentración inicial del extracto *Allium sativum* se obtuvo por la técnica de peso seco, donde se tomó una alícuota de 1ml en una luna de reloj, pesándose y colocándose a baño maría para eliminar la fase líquida y así poder obtener el peso del extracto seco. Mediante esta técnica se obtuvo 50 mg/ml de *Allium sativum* a partir de la concentración inicial obtenida se trabajó a una dosis de 200mg/kg⁽²⁹⁾.

Administración de los tratamientos

Para evaluar el efecto preventivo, se administró a los especímenes *Rattus rattus* var. *albinus* el tratamiento del extracto de los bulbos de *Allium sativum* por sonda orogastrica, posteriormente se realizó la inducción de daño hepático:

- ✓ Al grupo control negativo no se le administro ningún tratamiento y se mantuvo en condiciones normales de agua y comida, durante 7 días^(19,30).

- ✓ Al grupo control positivo se le administró comida y agua en condiciones normales y se realizó la inducción del daño hepático en el 6to y 7mo día por vía oral 2 ml/kg de peso de tetracloruro, disuelta en aceite de oliva (1:1v/v)^(19,30).
- ✓ Al grupo experimental se administró el extracto de *Allium sativum* en dosis diaria de 200 mg/kg, por sondo orogástrica durante 7 días, por las mañanas y antes de la comida, durante 7 días. Luego de ello se le administró CCl₄ en una dosis de 2ml/kg, disuelta en aceite de oliva (1:1 v/v) durante el 6to y 7mo día ^(19,30).
- ✓ Al octavo día del tratamiento con CCl₄ se anestesió a los especímenes de *Rattus rattus* var. *albinus* con 0.1ml de ketamina/xilazina (anexo 6) por vía intramuscular, esperándose 5 minutos para lograr efecto. Luego se procedió a extraer 1 ml sangre por punción cardíaca empleando una jeringa tuberculina (ver anexo 7) para los respectivos análisis correspondientes de ALP (ver anexo8) ⁽¹⁹⁾.

Para el sacrificio de los animales de empleo una dosis de 50 mg/kg de halatal⁽¹⁵⁾.

Técnica Fosfatasa Alcalina.

El reactivo se llevó a una temperatura de 37°C, las pipetas que se emplean deben estar limpias y libres de residuos para no contaminar el reactivo.

El reactivo de trabajo empleado fue de 1ml y el volumen de la muestra (suero) empleada es de 0.02 ml, después de emplear las cantidades necesarias se procede a mezclar y se transfiere a la cubeta del espectrofotómetro (ÚNICO UV-2100). El

4.6. Matriz de consistencia

| Título de investigación | Formulación del problema | Objetivos | Hipótesis | Tipo y diseño de investigación | Variables | Definición | Indicadores y escala de medición | Plan de análisis |
|--|---|---|--|--|--|--|---|--|
| Efecto Hepatoprotector del extracto de los bulbos de <i>Allium sativum</i> (Ajo) en <i>Rattus rattus</i> var. <i>albinus</i> | ¿Presentará efecto hepatoprotector el extracto de los bulbos de <i>Allium sativum</i> en <i>Rattus rattus</i> var. <i>albinus</i> ? | <p>Objetivo General</p> <p>Evaluar el efecto Hepatoprotector del extracto de los bulbos de <i>Allium sativum</i> en <i>Rattus rattus</i> var. <i>albinus</i>.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>Evaluar la concentración de Fosfatasa Alcalina en el grupo control negativo.</p> <p>Evaluar el efecto del tetracloruro de carbono sobre la concentración de Fosfatasa Alcalina en el grupo tratado con CCl4.</p> <p>Evaluar el efecto del extracto de <i>Allium sativum</i> sobre los niveles de Fosfatasa alcalina después de la administración de CCl4.</p> <p>Comparar la concentración de Fosfatasa Alcalina en los grupos control Negativo, grupo tratado con CCl4 y el grupo tratado con los bulbos de <i>Allium sativum</i> después a la administración de CCl4.</p> | <p>H1: El extracto de los bulbos de <i>Allium sativum</i> presenta efecto hepatoprotector.</p> <p>H0: El extracto de los bulbos de <i>Allium sativum</i> no presenta efecto hepatoprotector.</p> | El trabajo de investigación fue de tipo experimental, de enfoque cuantitativo y corte longitudinal | <p>Variable Independiente : Extracto de los bulbos de <i>Allium sativum</i></p> <p>Variable dependiente : Efecto Hepatoprotector</p> | <p>Concentrado de principios activos distribuidos en un volumen determinado</p> <p>Capacidad de un compuesto para disminuir la hepatotoxicidad</p> | <p>Variable cualitativa nominal</p> <p>Variable cuantitativa de razón</p> | Para los análisis del trabajo de investigación los resultados se sometieron a la prueba de T DE STUDENT Y ANOVA para las variables cuantitativas a un 95% de confianza, 0.5y un error del 5% |

4.6. Principio éticos

Los animales empleados durante una investigación científica , están sujetos a múltiples reglamentaciones, , siendo el más reconocido la declaración de los Derechos de los Animales (1978) , en el cual se evidencia la preocupación de muchos sectores ya que deben cumplir las condiciones necesarias para su uso , donde se prime el respeto por la vida y la integridad de los mismos, evitando sufrimientos innecesarios, debido a esto se crearon los Comités de cuidado y uso de animales de experimentación quienes se adhieren a los principios que rigen el manejo adecuado de animales de laboratorio y velan por la aplicación de dichos principios en las investigaciones⁽³²⁾.

V. RESULTADOS

5.1.Resultados

Tabla 1. Evaluar la función hepática a través de la concentración de Fosfatasa Alcalina en el grupo control negativo de los especímenes de *Rattus rattus* var. *albinus*.

| GRUPO CONTROL NEGATIVO | CONCENTRACIÓN DE FOSFATASA ALCALINA (UI/L) | |
|---------------------------|---|-----------------|
| | ANTES | DESPUÉS |
| 01 | 158.554±14.81 | 161.064±11.095 |
| 02 | 156.807±14.81 | 162.06± 11.095 |
| 03 | 159.379±14.81 | 162.309± 11.095 |
| 04 | 153.795 ±14.81 | 157.130± 11.095 |
| 05 | 155.807±14.81 | 156.807± 11.095 |
| 06 | 158.811±14.81 | 159.803± 11.095 |
| PROMEDIO ±DS | 157.195 ±14.81 | 159.226 ±11.095 |

DS: DESVIACIÓN ESTANDAR

FUENTE: SPSS 22.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDOS EN LA INVESTIGACIÓN

Tabla 2. Evaluar el efecto del tetracloruro de carbono sobre la función hepática en *Rattus rattus* var. *albinus* a través de la concentración de Fosfatasa Alcalina en el grupo tratado con CCl₄.

| GRUPO CONTROL POSITIVO (Tratado con CCL4) | CONCENTRACIÓN DE FOSFATASA ALCALINA (UI/L) | |
|--|---|----------------|
| | ANTES | DESPUÉS |
| 01 | 167.811±10.784 | 258.594±6.450 |
| 02 | 170.562±10.784 | 246.765±6.450 |
| 03 | 184.317±10.784 | 244.289±6.450 |
| 04 | 162.309±10.784 | 244.839±6.450 |
| 05 | 167.811±10.784 | 239.337±6.450 |
| 06 | 159.305±10.784 | 244.839±6.450 |
| PROMEDIO ± DS | 167.352 ±10.784 | 246.443±6.450 |

DS: DESVIACIÓN ESTANDAR

FUENTE: SPSS 22.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDOS EN LA INVESTIGACIÓN

Tabla 3. Evaluar el efecto del tetracloruro de carbono sobre la función hepática en *Rattus rattus* var. *albinus* a través de la concentración de Fosfatasa Alcalina en el grupo tratado con CCl₄.

| GRUPO EXPERIMENTAL (TRATADO CON CCL ₄ + <i>Allium</i> <i>sativum</i>) | CONCENTRACIÓN DE FOSFATASA ALCALINA (UI/L) | |
|---|---|--------------|
| | ANTES | DESPUÉS |
| 01 | 197.101±1.15 | 219.841±3.49 |
| 02 | 195.20±1.15 | 220.207±3.49 |
| 03 | 194.400±1.15 | 219.312±3.49 |
| 04 | 195.401±1.15 | 214.341±3.49 |
| 05 | 194.432±1.15 | 211.521±3.49 |
| 06 | 196.824±1.15 | 216.804±3.49 |
| PROMEDIO ±DS | 195.393±1.15 | 217.004±3.49 |

DS: DESVIACIÓN ESTANDAR

FUENTE: SPSS 22.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDOS EN LA INVESTIGACIÓN

Tabla 4. Comparación de la concentración de Fosfatasa Alcalina entre los grupos control negativo, control experimental y control positivo.

| GRUPOS | PRUEBA T IGUALDAD DE MEDIAS SIG (BILATERAL) INFERIOR | | ANOVA |
|-----------|--|---------|-------|
| | ANTES | DESPUES | |
| CP VS CE | 0.92 | 0.00** | |
| CN VS C.E | 0.001 | 0.00** | 0.000 |
| CP VS CN | 0.001 | 0.00** | |

****P<0.01, prueba T Student**

P<0.01, prueba Anova

- ✓ Control Negativo (CN)
- ✓ Control Positivo (CP)
- ✓ Control Experimental (CE)

FUENTE: SPSS 22.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDOS EN LA INVESTIGACIÓN

5.2. Análisis de Resultados

Las propiedades medicinales del *Allium sativum* son muy conocidas en el ámbito de la medicina tradicional, debido a ello el presente estudio analizó el efecto hepatoprotector del extracto de los bulbos de *Allium sativum*, empleando el modelo de inducción a daño hepático agudo por CCl₄.

En la tabla 1, en relación a los niveles de Fosfatasa Alcalina en el grupo control negativo alcanzan un valor de 159.226 ± 11.095 UI/L el cual concuerda con otros trabajos de investigación (Bermúdez et al) donde los niveles de Fosfatasa Alcalina son normales en *Rattus rattus var. albinus* ⁽¹⁰⁾.

En la tabla 2, se observa que la concentración de ALP en el grupo control positivo al que se administró CCl₄ alcanzó un valor un promedio de 246.443 ± 6.450 UI/L el cual concuerda con otros trabajos de investigación (Bermúdez D et al, Khalid et al). La elevación significativa de los valores de Fosfatasa Alcalina que se evidencia el control positivo se debe al CCl₄ el cual es un potente agente hepatotóxico cuyo mecanismo altera la capacidad de los hepatocitos para ligar los triglicéridos a las lipoproteínas transportadoras, originando acumulación intracelular de lípidos y degeneración grasa, formando metabolitos extremadamente tóxicos triclorometilo (Cl₃) y el triclorometil peroxil (CCl₃COO[•]), los mismos que originan muerte celular y necrosis hepática centro lobulillar, mediado por el sistema enzimático microsomal citocromo P450^(18,32,34).

Hoy en día diversas drogas se retiran de la industria debida a un descubrimiento tardío de hepatotoxicidad, debido a que muchos de estos compuestos dañan la mitocondria a el cual es el encargado de la producción de la energía, una alteración en dicho órgano genera una liberación de oxidantes los cuales causan daño en la

célula hepática, la activación de algunas enzimas en el sistema citocromo P450, tales como el CYP2E1 también conllevan a estrés oxidativo; las lesiones a los hepatocitos y a las células del conducto biliar producen acumulación de bilis dentro del hígado ello promueve la aparición de daño adicional hepático; incluso el consumo de plantas medicinales sin una dosis establecida, la ingesta de xenobióticos en dosis terapéuticas conllevan al desarrollo de la hepatotoxicidad de forma mucho más rápida ⁽²²⁾.

La Fosfatasa Alcalina generalmente se excreta de manera normal vía biliar por el hígado y su incremento está relacionado con la obstrucción del tracto biliar debido a su presencia en la membrana del hepatocito y en la superficie exterior de la membrana de la canalicular biliar, de manera similar los niveles de bilirrubina se elevan cuando el hígado pierde el 50 % de su capacidad de excreción , es por ello que el incremento de los niveles plasmáticos de la Fosfatasa Alcalina son inducidos por la acción toxica del CCL4 .

En la tabla 3, se observa que el grupo tratado con el extracto de *Allium sativum* a dosis de 200 mg/Kg antes de la exposición con CCl4 alcanza un valor 217.004 ±3.44 UI/L mostrando una reducción significativa en los valores de Fosfatasa Alcalina antes obtenidos, esto supone la capacidad de los captar los radicales libre y evitar el proceso de peroxidación, resultados que coinciden con Bermúdez et al Kalid M et al , Arnao et al entre otros ^(10, 12,34).

Finalmente en la tabla 4, se observa la comparación del efecto entre el Control negativo, grupo tratado con CCl4 y el grupo con el extracto de *Allium sativum*, existiendo una diferencia significativa $P < 0.01$ entre el valor encontrado entre el

grupo control positivo y el grupo tratado demostrándose que el Extracto de los bulbos de *Allium sativum* puede proteger al tejido hepático, hecho demostrado en la disminución de la concentración de la Fosfatasa Alcalina.

La actividad hepatoprotectora demostrada por los estudios puede deberse a la presencia de determinados metabolitos, como los compuestos fenólicos (flavonoides), compuestos sulfurados y la alicina los cuales explican en gran parte el efecto hepatoprotector mostrado, además de los antioxidantes presentes quienes tienen la capacidad de secuestrar a los radicales libres y estabilizar la membrana, contribuyendo a la protección del hígado de los cambios degenerativos con fines preventivos a las reacciones de químicas de toxicidad , estrés oxidativo , peroxidación lipídica o cambios moleculares en el tejido hepático y necrosis , el cual resulta por la depleción del Glutati6n reducido , lo cual pudiera explicar el efecto hepatoprotector demostrado por el *Allium sativum*, los flavonoides inhiben la cadena de peroxidaci6n lipídica, no por ello se le atribuye el efecto farmacol6gico estudiado, la clínica y la experimentaci6n farmacol6gica nos indica que la acci6n de la planta se debe a los Fito complejos y no solo a uno de los principios activos⁽¹⁰⁾.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

- ✓ El extracto de los bulbos *Allium sativum* presento la actividad hepatoprotectora.
- ✓ La función hepática en los especímenes *Rattus rattus* var. *albinus* en el grupo control negativo es el adecuado con una concentración 159.226 ± 11.095 UI/L
- ✓ El CCl₄ alteró sobre la función hepática en *Rattus rattus* var. *albinus* la al presentar un valor de 246.443 ± 6.450 UI/L en cuanto al grupo control tratado.
- ✓ La administración de *Allium sativum* antes de la administración de CCl₄ redujo significativamente ($p < 0.001$) la concentración de los niveles de Fosfatasa alcalina hasta 217.004 ± 3.49 UI/L.
- ✓ Se comparó los valores de la concentración de Fosfatasa Alcalina en los grupos control Negativo, grupo tratado con CCl₄ y el grupo tratado con los bulbos de *Allium sativum* previo a la administración de CCl₄ y se demostró una disminución en la concentración en los grupos tratados con el extracto de los bulbos de *Allium sativum*.

6.2. Recomendaciones

- ✓ Se recomienda realizar pruebas de capacidad antioxidante en in vitro extracto de *Allium sativum*.
- ✓ Se recomienda realizar pruebas bioquímicas de transaminasas, bilirrubina total, directa e indirecta.
- ✓ Se recomienda realizar un análisis fitoquímico para identificar los metabolitos presentes en la planta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Heisler E, Budó D, Schimith, M, Badke, M , Ceolin, S , Heck, R. Uso de plantas medicinales en el cuidado de la salud: la producción científica de tesis y disertaciones de enfermería brasileña .Brasil Revista Electrónica trimestral de Enfermería 2015. [Tesis]. [Citado 11 julio 2018].Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/eg/v14n39/revision5.pdf>
2. Oblitas G, Hernández G, Chiclla A, Antich-Barrientos M, Ccorihuamán- L, Romaní F. Empleo de plantas medicinales en usuarios de dos hospitales referenciales del Cusco, Perú. Rev. Perú Med Exp Salud Pública. 2013; 30(1):64-8.
3. Zambrano L, Buenaño M, Mancera N, Jiménez N. Estudio etnobotánica de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador 2015 .[Tesis] [citado 07 julio de 2018].Disponible en : https://www.researchgate.net/profile/Nestor_ManceraRodriguez/publication/281558905_Ethnobotanical_study_of_medicinal_plants_used_by_rural_inhabitants_of_the_parish_San_Carlos_Quevedo_in_Ecuador/links/55edf57408aef559dc438846.pdf
4. Veliz L, Mendoza S, Barriga A. Autoconsumo de hierbas medicinales en usuarios con enfermedades cardio-vasculares en una comuna de Chile. Index Enfermería [Internet]. 2015 Sep. [Citado 2018 Jul 07]; 24(3): 123-128. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113212962015000200002&lng=es.
5. Sánchez C, Sotomayor G. Efecto Hepatoprotector del Zumo de Fruta de la Opuntia Ficus Indica (Tuna), variedad morada, en Ratas con Intoxicación Hepática

Inducida por Paracetamol 2015. [Tesis] [Citado 07 julio de /2018].Disponible en:
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/4192/3/S%C3%a1nchez_tc.pdf

6. García M, Sandoval J. Efecto de los Flavonoides totales de la Cordia lutea Lam sobre hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de Carbono en Rattus novergicus var. Albinus Trujillo. 2016. [Tesis] [citado 07 julio 2018].Disponible desde: <http://www.Dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1442/Garc%C3%ADa%20M%C3%A9ndez%20Maritza%20Elizabeth%20II.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

7. Efecto hepatoprotector del zumo de cogollo de Cynara scolymus (corazón de alcachofa) en ratones sometidos a intoxicación por paracetamol” Lima 2016 [Tesis]. [Citado 07 julio de 2018]. Disponible en: http://repositorio.ucss.edu.pe/bitstream/handle/UCSS/184/Hilario_Mejia_tesis_bachiller_2016.pdf?sequence=6&isAllowed=y

8. Ramírez H, Castro L, Santiago E. Efectos Terapéuticos del Ajo (*Allium Sativum*) 2016 [tesis] [citado 07 julio del 2018] disponible en: http://www.unsis.edu.mx/revista/doc/vol3num8/A4_Efectos_Terapeuticos_Ajo.pdf.

9. Olivares J. Efecto Protector Del Extracto Acuoso de las hojas de Peumus boldus “Boldo” En La Toxicidad Hepática Inducida por rifampicina en ratas Holtzman Hembra 2015. [Tesis] [Citado 26 mayo del 2017].Disponible en: http://cybertesis.Unsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/4026/Olivares_hj.pdf?sequence=1&isAllowed=y

10. Bermúdez D, Boffill M, Betancourt E, Escobar R, Igualada I, Cárdenas A. Preclinical Evaluation of Hepatoprotective Activity of Ocimum basilicum L. and Allium sativum L. Medisur [Internet]. 2014 Feb [citado 2018 Jul 07]; 12(1): 51-62.

Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2014000100007&lng=es

11. Sánchez P, García M, Rodríguez M & Menéndez E. Estudio morfométrico en un modelo de hepatoprotección con tres plantas medicinales cuba 2015 [Tesis] [citado 07 mayo del 2017] disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologist/v13_n2/pdf/a20v13n2.pdf

12. Khalid M., Elham S., Fatima A., Safa'a A., Myrene R Hepatoprotective and antioxidant effects of single clove garlic against CCl4-induced hepatic damage in rabbits 2017 [Tesis] [citado 07 mayo del 2017] disponible en :[https:// www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5561638/#ui-ncbiinpagenav-heading-5](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5561638/#ui-ncbiinpagenav-heading-5)

13. Lee H., Lim W., Lee S., Lee S., Yu H., Lee J Hepatoprotective effects of lactic acid-fermented garlic extract against acetaminophen-induced acute liver injury in rats Korea 2016 [citado 08 mayo del 2018] disponible en <https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-016-0143-2>

14. Torres V, Castro A, Fitoterapia. Rev. Act. Clin. Med [revista en la Internet]. [Citado 07 julio 2018]. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682014000300001&lng=es.

15. Ramírez H, Liliana Narcedalia Castro-Velasco, Erika Martínez-Santiago Efectos Terapéuticos del Ajo (*Allium Sativum*) 2016 [tesis] [citado 07 julio del 2018]disponible en: http://www.unsis.edu.mx/revista/doc/vol3num8/A4_Efectos_Terapeuticos_Ajo.pdf.

16. Hernández D, Rubio A, Efecto antimicótico del percolado de *Allium sativum* “ajo” in vitro, en cepas del género *Aspergillus fumigatus*. Perú 2017 [citado 06 agosto 2017]. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/472/FYB-016-2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
17. Guapulema E, Proceso y Elaboración de Cápsulas de Ajo Ecuador [Internet]. 2013 [citado 06 junio 2017]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/3641/1/1107.pdf>
18. Sánchez E, Rojas S, Agüero N. Investigaciones actuales del empleo de *Allium sativum* en medicina.[Revista Electrónica] Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta [revista en Internet]. 2016 [citado 2018 Jun 26];41(3):[aprox. 0 p.]. Disponible en:<http://revzoilomarinello.sld.cu/index.php/zmv/article/view/631>
19. Canelo P, Mendoza P , Kateri Y. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de *Cúrcuma longa* L. en daño hepático agudo inducido por Tetracloruro de carbono en ratas albinas Perú 2017 .[Tesis] [citado 30 abril 2018].Disponible en:file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Piero_Tesis_Titulo_2017.pdf
20. Caballero J. Efecto Hepatoprotector De La Almendra De Semillas De Cucurbita Maxima (Zapallo Macre) en Ratas. Perú, 2014. [Tesis] [Citado 07 junio 2018].Disponible en: http://Cybertesis.Unmsm.Edu.Pe/Bitstream/Handle/Cybertesis/3946/Caballero_Cj.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y
21. Moreira E. Pruebas de función hepática: B, AST, ALT, FA y GGT 2015 [página web] consultado el 25 mayo 2016 disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/diges/v107n10/infopaciente.pdf>

22. García M , Sandoval J .Efecto de los Flavonoides totales de la Cordia lutea Lam sobre hepatotoxicidad inducidas por tetracloruro de Carbono en Rattus novergicus var. albinus Trujillo [Tesis]. 2016[citado 07 julio 2018]. Disponible en: <http://www.dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1442/Garc%C3%ADa%20M%C3%A9ndez%20Maritza%20Elizabeth%20II.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
23. Asqui M. Actividad Hepatoprotectora Del Extracto de Diente De León (Taraxacum Officinale) En Ratas (Rattus Novergicus) con Hepatotoxicidad Inducida por Tetracloruro de Carbono.” Ecuador. 2012. [Tesis]. [Consultado 19 mayo 2016]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2590/1/56T00367.pdf>
24. Jiménez P, Rangel J, Mendoza E, Cervantes F, Rivera J. Efecto de tamaño del bulbo/bulbillo y densidad de plantación en la emergencia, rendimiento y calidad de ajo (Allium sativum L.). Phytón (B. Aires) [Internet]. 2014 Jun [citado 11 Jul del 2018]; 83(1): 83-91. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572014000100011&lng=es.
25. Astorga K , Zúñiga C, Rivera W. Aislamiento e identificación de patógenos de la estirpe silvestre del ajo (Allium sativum L.) 2014 .[Tesis] [citado 11 mayo del 2018].Disponible en : <http://www.scielo.sa.cr/pdf/tem/v27n1/a08v27n1.pdf>
26. Norma general del COREX para zumo (jugos) y néctares de frutas. Lima-Perú 2005.
27. Suarez S. Actividad captadora de radicales libres y efecto antioxidante de metabolitos secundarios del extracto acuoso del Allium sativum var. hualalino (ajo) en modelos in vitro. Lima 2014 [Tesis] [citado 26 octu del 2016] Disponible en:

http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3963/Suarez_cs%282%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y

28. Becerra L, Fernández J, Efecto in-vitro del Extracto acuoso de *Allium sativum* – “ajo” sobre cultivos de bacterias patógenas productores de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) Chiclayo 2018 [Tesis] [citado 26 octu del 2016] Disponible en http://www.repositorioacademico.usmp.edu.pe/bitstream/usmp/3200/3/torres_gro.pdf

29. Díaz L, Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto de *Allium sativum* (ajo) y su efecto sobre algunas propiedades de fotografía en blanco y negro Colombia 2010 [Tesis] [citado 26 octu del 2016] <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8640/tesis598.pdf;jsessionid=D1826742213885530C38C0A494EA81FA3?sequence=1>

30. Favari L, Carlos Arce C, Ortiz J, Pablo S, Soto C, Meléndez M, Efectos hepatoprotector y antioxidante de *Taraxacum officinale* en el daño hepático agudo inducido por el tetracloruro de carbono en la rata. México. [Consultado 17 mayo 2017] disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/579/57930578007.pdf>

31. VALTEK Diagnostic FOSFATASA ALCALINA – LS (DGKC) Reactivo líquido para la determinación de la enzima Fosfatasa Alcalina en suero o plasma optimizado según DGKC. [Consultado 17 mayo 2017] disponible en <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/VTK-fosfatasa-alkalina-ls.pdf>

32. ARDOZO C, MRAD A. Ética en investigación con animales: Una actitud responsable y respetuosa del investigador con rigor y calidad científica. Revista Latinoamericana de Bioética, [S.l.], v. 8, n. 15, p. 46-71, sep. 2015. ISSN 2462-859X.

[Citado 11 junio del 018]. Disponible en: <[https://revistas.unimilitar.edu.co/index .php /r lbi/article/view/1107](https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/r_lbi/article/view/1107)>.

33. Bermúdez D, Escobar R, Boffill M, Betancourt E, Igualada I, Alonso B. Evaluación del potencial hepatoprotector de la *Mentha piperita* L previo a la inducción de hepatotoxicidad con acetaminofen Cuba 2014 [Tesis] [citado 08 agos del 2018] Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/856/85632545005.pdf>

34. Arnao A, Suarez S, Trabucco J, Cisneros R, Rodrigo E. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en un modelo de intoxicación con acetaminofén [Tesis] [citado 08 agos del 2018] Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v73n3/a12v73n3.pdf>

ANEXOS

ANEXO 01: *Allium sativum* (Ajo)



ANEXO 02 : HUAMACHUCO



ANEXO 03: PERIODO DEL CICLADO



ANEXO 04: PESO DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS



ANEXO 05 : ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO



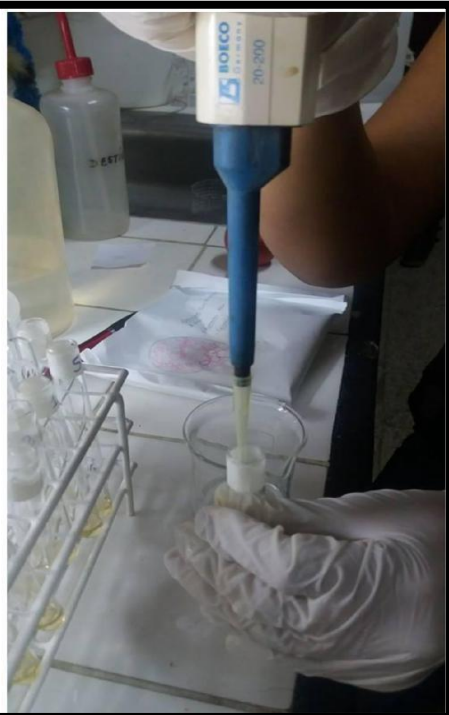
ANEXO 06 : SEDACIÓN DE LAS MUESTRA BIOLÒGICAS



ANEXO 07 : PUNCIÓN CARDIACA



**ANEXO 8 : ADMINISTRACIÓN DE DEL TEST DE FOSFATASA
ALCALINA**



ANEXO 09

PRUEBA DE SHAPIRO – WILKS PARA DETERMINAR LA NORMALIDAD DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

| | | Kolmogorow- Smirnow (a) | | | Shapiro –Wilk | | |
|-------------|------------------|----------------------------|----|---------|---------------|----|------|
| TRATAMIENTO | | Estadístico | Gl | Sig. | Estadístico | Gl | Sig. |
| | CONTROL NEGATIVO | .264 | 6 | .200(*) | 9.38 | 6 | .634 |
| ANTES | CCL4 | .175 | 6 | .200(*) | .968 | 6 | .879 |
| | CCL4 + EXTRACTO | .230 | 6 | .200(*) | .873 | 6 | .240 |
| DESPUES | CONTROL NEGATIVO | .116 | 6 | .200(*) | .997 | 6 | .999 |
| | CCL4 | .211 | 6 | .200(*) | .898 | 6 | .362 |
| | CCL4 + EXTRACTO | .224 | 6 | .200(*) | .954 | 6 | .773 |

Este es un límite inferior de la significación verdadera. a Corrección de la significación de Lilliefors

FUENTE: PAQUETE ESTADÍSTICO IBM - SPSS 22.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDOS EN LA INVESTIGACIÓN

INTERPRETACIÓN: En la Tabla teniendo en cuenta el número de muestra utilizado en la investigación la prueba que aplica para determinar la normalidad fue la de SHAPIRO – WILKS ($n < 30$). En el gráfico observamos que la significancia el valor $P > 0.05$ ES DECIR SE ACEPTA LA HIPÓTESIS NULA por lo que se concluye que los datos provienen de una.