



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS  
DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTICOAGULANTE *in vitro*  
DEL EXTRACTO DE RUDA (*Ruta graveolens L.*) Y SU  
UTILIDAD SOBRE HEMOGRAMAS EN LABORATORIOS  
DE LA UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS - AREQUIPA,  
2015.**

**PRESENTADO POR LA BACHILLER:  
CALCINA ESCARCINA, JENNY JUDITH**

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

**AREQUIPA – PERÚ**

**2016**

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida, fortaleza y permitirme haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mi adorada familia por su amor, apoyo y consejos que me han hecho crecer como persona.

De igual manera, dedico esta tesis a mi madre por ser la persona que me ha acompañado durante todo mi trayecto estudiantil y de vida. A mi padre quien con sus sabios consejos ha sabido guiarme para culminar mi carrera profesional, y hoy son el gran motivo para que siga adelante cumpliendo mis propósitos de superación día tras día.

A mis hermanas por el gran amor que me brindan, por momentos de alegría, armonía y recuerdos inolvidables que viví junto a ellas.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Universidad Alas Peruanas por haberme acogido en tan valiosas aulas, donde fui adquiriendo conocimientos científicos en el transcurso de mi formación profesional.

A la Magister Q.F. Alexandra Fernández Gambarini por sus invaluable consejos, apoyo incondicional y colaboración desinteresada para poder realizar este trabajo en el que me he desenvuelto académicamente.

Un especial agradecimiento a mi asesora la Bióloga Lourdes Villamarín Poblete por su valiosa guía y asesoramiento en la realización de la presente tesis.

Gracias a mis docentes que supieron guiarme y apoyarme académicamente en la realización de esta investigación.

## RESUMEN

La presente investigación es de tipo explicativa, de corte transversal, de laboratorio, de nivel básico y de diseño experimental, se realizó en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas de Arequipa, entre los meses de Abril a Agosto del año 2015, para probar el efecto anticoagulante de la ruda (*Ruta graveolens L.*) y su utilidad sobre hemogramas. Se utilizó como muestra la sangre de treinta y cuatro alumnos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, aparentemente sanos, sin antecedentes de coagulopatías, cada muestra de sangre se dividió en tres grupos, el grupo blanco, control y experimental.

Las muestras sanguíneas obtenidas se colocaron en tres grupos diferentes, el primer grupo frascos preparados con EDTA (Sal disódica o dipotásica del ácido etilendiaminotetraacético) considerado como grupo control, segundo grupo frascos preparados con extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) considerado como grupo experimental y el tercer grupo frascos sin anticoagulante considerado como grupo blanco, observando la anticoagulación solo en los grupos control y experimental por un tiempo controlado de 24 horas.

Se realizaron los frotis de sangre periférica con posterior tinción con colorante Wright y valoración de leucocitos, además se observó la morfología de leucocitos, hematíes y plaquetas a los cero minutos, quince minutos y cuarenta y cinco minutos de los grupos control y experimental.

Al cuantificar los elementos formes se concluyó que el recuento leucocitario obtenido del grupo control y el recuento leucocitario del grupo experimental, no mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) en cuanto al número de neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos según el análisis de varianza (ANOVA) y el Test de Tukey, por lo que podemos considerar ambos grupos como iguales.

En cuanto a la morfología de hematíes y plaquetas de los frotis sanguíneos a partir del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*), se observó una ligera alteración morfológica, con significancia estadística según el Test de Chi cuadrado ( $p < 0.01$ ).

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que el extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) es adecuado para la realización de hemogramas por su efecto anticoagulante.

## ABSTRACT

The present investigation is of explanatory, type of cross-section, of laboratory, of basic level and of experimental, design, it was carried out in the laboratories at Alas Peruanas University of Arequipa, between the months of April to August 2015, the anticoagulation effect of the rue (*Ruta graveolens L.*) and use in hemogram. The blood sample with thirty four students the Professional School of Pharmacy and Biochemistry, apparently healthy, with no history of coagulopathy, the blood sample was divided in three groups, the white group, experimental group and control group.

The blood sample obtained were placed in three different groups, the first group test tube prepared with EDTA (disodium or dipotassium salt of ethylenediaminetetraacetic acid) considered as control group, second group test tube prepared with extract the rue (*Ruta graveolens L.*) considered as an experimental group and the third group test tube without anticoagulant considered as a white group, observing the anticoagulation only in the control and experimental groups for a controlled time of 24 hours.

Peripheral blood smears were performed with subsequent dye staining Wright and leukocytes, evaluation also showed the morphology of leukocytes, red blood cells and platelets to zero minutes, fifteen minutes and forty five minutes from the control and experimental groups.

By quantifying the formed elements it was concluded that the leucocyte count was obtained from the control group and the experimental group, did not show statistically significant differences ( $p > 0.05$ ) as for the number of neutrophils, eosinophils, basophils, monocytes and lymphocytes according to the analysis of variance (ANOVA) and Tukey test, so we can therefore consider both treatments as equals.

As for the morphology of red blood cells and platelets from the extract the rue (*Ruta graveolens L.*), a slight morphological alteration, was observed with statistical significance according to the Chi-square test ( $p < 0.01$ ).

According to the results obtained it is concluded of extract the rue (*Ruta graveolens L.*) is suitable for the accomplishment of hemograms by its anticoagulant effect.

## TABLA DE CONTENIDOS

	Pág.
Resumen .....	iii
Abstract .....	v
Tabla de contenidos .....	vii
Índice de tablas .....	xii
Índice de cuadros.....	xv
Índice de figuras.....	xvi
Índice de gráficos.....	xviii
Introducción .....	xx

### CAPÍTULO I

Planteamiento metodológico.....	01
1.1.Descripción de la realidad problemática.....	01
1.2.Delimitaciones y definición del problema .....	02
1.2.1.Delimitaciones .....	02
A.Delimitación espacial.....	02
B.Delimitación temporal .....	02
C.Delimitación social.....	02
D.Delimitación conceptual .....	02
1.Área.....	02
2.Campo .....	02
3.Línea .....	02
4.Tema general.....	02
5.Tema específico .....	02
1.2.2.Definición de problema .....	02

1.3. Formulación del problema a investigar.....	03
1.3.1. Subproblemas.....	03
1.4. Objetivos de la investigación.....	04
1.4.1. Objetivo general.....	04
1.4.2. Objetivos específicos.....	04
1.5. Hipótesis de la investigación.....	04
1.6. Variables e indicadores.....	05
1.6.1. Definición conceptual de las variables.....	05
1.6.2. Definición operacional de las variables.....	06
1.7. Justificación e importancia de la investigación.....	07
1.8. Limitaciones de la investigación.....	08
1.9. Tipo y nivel de investigación.....	08
1.9.1. Tipo de investigación.....	08
1.9.2. Nivel de investigación.....	08
1.10. Método y diseño de la investigación.....	09
1.10.1. Método de la investigación.....	09
1.10.2. Diseño de la investigación.....	09
1.11. Técnicas e instrumentos de recolección de información.....	10
1.11.1. Técnicas.....	10
A. Recolección, selección y acondicionamiento del material vegetal.....	10
1. Recolección de ruda ( <i>Ruta graveolens</i> L.).....	10
2. Desección de ruda ( <i>Ruta graveolens</i> L.).....	11
3. Elaboración del extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens</i> L.).....	12
B. Ensayos de identificación de ruda ( <i>Ruta graveolens</i> L.).....	13
1. Ensayos organolépticos.....	14
2. Ensayos botánicos.....	15
a) Análisis macroscópico y/o morfológico.....	16
b) Análisis microscópico.....	17
3. Ensayos fisicoquímicos cualitativos.....	19
a) Identificación de metabolitos secundarios.....	19
b) Cromatografía de capa fina para identificación de cumarinas.....	21
C. Selección y acondicionamiento de muestras de sangre.....	23
1. Selección.....	23
D. Preparación de los frascos blanco, control y experimental.....	24
1. Anticoagulantes.....	24
E. Obtención de las muestras de sangre.....	25
F. Control del tiempo de coagulación.....	27
G. Extensión, coloración e interpretación de hemogramas manuales.....	28

1.Extensión de la muestra .....	28
2.Coloración de la muestra según el método de coloración Wright.....	30
3.Interpretación de hemogramas manuales .....	31
H.Análisis de la información recolectada.....	33
1.11.2.Instrumentos .....	34
A.Listado de materiales de laboratorio.....	34
B.Listado de equipos de laboratorio.....	35
C.Listado de material biológico .....	35
D.Listado de reactivos .....	36
E.Listado de insumos.....	36
1.12.Cobertura del estudio.....	37
1.12.1.Universo.....	37
1.12.2.Muestra.....	38
 CAPÍTULO II	
Marco teórico.....	39
2.1.Antecedentes investigativos.....	39
2.2.Marco conceptual .....	42
2.2.1.Ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) .....	42
A.Clasificación taxonómica .....	42
B.Nombres vulgares .....	42
C.Descripción botánica .....	42
D.Hábitat.....	43
E.Composición química .....	43
F.Toxicología .....	43
G.Antecedentes terapéuticos.....	44
2.2.2.Cumarinas .....	45
A.Origen biosintético.....	45
B.Definición .....	45
C.Distribución .....	46
D.Biosíntesis.....	46
E.Propiedades .....	46
F.Extracción y separación.....	47
G.Acciones farmacológicas.....	48
2.2.3.Comités institucionales de bioética .....	48
A.Fundamento .....	48
B.Funciones.....	49

2.2.4. Definición de la sangre.....	49
A. Funciones de la sangre .....	50
B. Propiedades físicas de la sangre.....	51
C. Hemostasia .....	53
D. Mecanismos hemostáticos .....	55
2.2.5. Sistema de coagulación en condiciones normales .....	56
A. Coagulación sanguínea .....	56
B. Mecanismos de regulación del sistema de coagulación .....	59
2.2.6. Estudio citomorfológico de extendidos coloreados .....	62
A. Eritrocitos o glóbulos rojos.....	62
B. Leucocitos o glóbulos blancos.....	62
1. Serie granulocítica .....	62
2. Serie linfocítica .....	64
3. Serie monocítica .....	64
C. Trombocitos o plaquetas .....	64
2.2.7. El frotis de la sangre periférica en las enfermedades más frecuentes.....	65
A. Eritrocito normal .....	65
B. Neutrófilo.....	65
C. Linfocito.....	66
D. Eosinófilo .....	66
E. Basófilo .....	67
F. Monocito.....	67
G. Plaquetas.....	67
2.2.8. Anticoagulantes usados en laboratorio .....	68
A. Secuestrene .....	68
B. Oxalato de potasio.....	69
C. Oxalato de amonio y potasio.....	69
D. Citrato trisódico .....	69
E. Fluoruro de sodio .....	70
F. Heparina.....	70

### CAPÍTULO III

Análisis e interpretación de los resultados .....	71
3.1. Población y muestra .....	71
3.1.1. Población.....	71
3.1.2. Muestra.....	71
3.2. Nivel de confianza y grado de significancia.....	72

3.3.Tamaño de la muestra representativa.....	72
3.4.Análisis e interpretación de resultados.....	74
3.4.1.Recolección, selección y acondicionamiento del material vegetal.....	74
A.Recolección de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ).....	74
B.Desecación de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ).....	75
C.Elaboración del extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ).....	76
3.4.2.Ensayos de identificación de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ).....	76
A.Ensayos organolépticos .....	76
B.Ensayos botánicos .....	77
1.Análisis macroscópico y/o morfológico.....	77
2.Análisis microscópico.....	78
3.Ensayos fisicoquímicos cualitativos .....	81
3.4.3.Selección y acondicionamiento de muestras de sangre .....	87
3.4.4.Preparación de los frascos blanco, control y experimental.....	89
3.4.5.Obtención de las muestras de sangre.....	91
3.4.6.Control del tiempo de coagulación del grupo blanco .....	92
3.4.7.Extensión, coloración e interpretación de hemogramas manuales.....	92
A.Extensión de la muestra .....	92
B.Coloración de la muestra.....	93
C.Interpretación de hemogramas manuales .....	94
3.4.8.Lectura de hemogramas .....	98

## CAPÍTULO IV

Conclusiones y recomendaciones.....	115
4.1.Conclusiones .....	115
4.2.Recomendaciones .....	116
Referencias bibliográficas.....	117
Bibliografía.....	125
Anexos.....	127
Anexo N° 1: Ficha de recolección de datos.....	127
Anexo N° 2: Coagulación.....	128
Anexo N° 3: Resultados emitidos a partir de hemogramas realizados del grupo control y grupo experimental.....	129

Anexo N° 4: Ficha de registro de datos .....	146
Anexo N° 5: Promedio del tiempo de coagulación (grupo blanco) .....	147
Anexo N° 6: Procesamiento estadístico para el recuento leucocitario .....	148
Anexo N° 7: Constancia de herbario U.N.S.A. ....	150
Anexo N° 8: Comité de bioética U.A.P. ....	151
Anexo N° 9: Células sanguíneas .....	152
Glosario de términos .....	153
Definiciones adicionales .....	154

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla N° 1:</b> Concentración del Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) con efecto anticoagulante sobre la sangre obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas .....	98
<b>Tabla N° 2:</b> Efecto del Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) sobre Neutrófilos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas .....	98
<b>Tabla N° 3:</b> Efecto del Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) sobre Eosinófilos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.....	100
<b>Tabla N° 4:</b> Efecto del Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) sobre Basófilos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.....	102
<b>Tabla N° 5:</b> Efecto del Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) sobre Monocitos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.....	104
<b>Tabla N° 6:</b> Efecto del Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) sobre Linfocitos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.....	106

- Tabla N° 7:** Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre alteraciones morfológicas de Hematíes de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas .....108
- Tabla N° 8:** Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre alteraciones morfológicas de Leucocitos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas .....110
- Tabla N° 9:** Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre alteraciones morfológicas de Plaquetas de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas .....112

## ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
<b>Cuadro N° 1:</b> Operalización de Variables.....	06
<b>Cuadro N° 2:</b> Caracteres organolépticos de las hojas de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) ..	15
<b>Cuadro N° 3:</b> Análisis macroscópico y/o morfológico de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) ...	17
<b>Cuadro N° 4:</b> Grupos de trabajo.....	25
<b>Cuadro N° 5:</b> Fórmula leucocitaria .....	31
<b>Cuadro N° 6:</b> Material vegetal .....	35
<b>Cuadro N° 7:</b> Material biológico .....	35
<b>Cuadro N° 8:</b> Factores de coagulación sanguínea .....	57
<b>Cuadro N° 9:</b> Localidad, coordenadas, hora y fecha de recolección .....	74
<b>Cuadro N° 10:</b> Ensayos organolépticos de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ).....	76
<b>Cuadro N° 11:</b> Ensayo macroscópico y/o morfológico de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> )..	77
<b>Cuadro N° 12:</b> Análisis microscópico de las hojas de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) .....	78
<b>Cuadro N° 13:</b> Identificación de metabolitos secundarios .....	81
<b>Cuadro N° 14:</b> Identificación de cumarinas volátiles .....	84
<b>Cuadro N° 15:</b> Procedimiento para la identificación de cumarinas por cromatografía de capa fina .....	86
<b>Cuadro N° 16:</b> Análisis cromatográfico por capa fina de la ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> )..	86
<b>Cuadro N° 17:</b> Preparación de los frascos blanco, control y experimental .....	89

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura N° 1:</b> Campo de recolección de la muestra vegetal.....	74
<b>Figura N° 2:</b> Estado natural de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ).....	75
<b>Figura N° 3:</b> Ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) desecada.....	75
<b>Figura N° 4:</b> Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ).....	76
<b>Figura N° 5:</b> Análisis macroscópico y/o morfológico de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ).....	77
<b>Figura N° 6:</b> Análisis microscópico negativo de almidón en la ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) .....	78
<b>Figura N° 7:</b> Análisis microscópico negativo de tricomas epidérmicos y oxalato de calcio en la ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) .....	79
<b>Figura N° 8:</b> Análisis microscópico positivo de grasas en la ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) ..	79
<b>Figura N° 9:</b> Análisis microscópico positivo de estomas en la ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) ..	80
<b>Figura N° 10:</b> Análisis microscópico positivo de glándulas secretoras de esencia en la ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) .....	80
<b>Figura N° 11:</b> Análisis cualitativo de alcaloides con reacción positiva - coloración rojo anaranjado, mediante el reactivo de Dragendorff en la ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ).....	82
<b>Figura N° 12:</b> Análisis cualitativo de alcaloides con reacción positiva – precipitado color crema, mediante el reactivo de Mayer en la ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ).....	82
<b>Figura N° 13:</b> Análisis cualitativo positivo de saponinas con reacción positiva– formación de espuma, mediante la Prueba de la espuma en la ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ).....	83
<b>Figura N° 14:</b> Análisis cualitativo positivo de taninos con reacción positiva – coloración verde negruzca, mediante el reactivo de Cloruro férrico en la ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) .....	83

<b>Figura N° 15:</b> Análisis cualitativo positivo de flavonoides con reacción positiva – coloración rojo anaranjado, mediante el reactivo de Shinoda en la ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ).....	84
<b>Figura N° 16:</b> Fluorescencia amarilla verdosa con luz UV de 365nm. para la identificación de cumarinas volátiles.....	85
<b>Figura N° 17:</b> Cromatofolio irradiado con luz UV. 365nm., mostrando fluorescencia violeta a azul para la identificación cualitativa de cumarinas.....	87
<b>Figura N° 18:</b> Distribución de grupos de trabajo.....	89
<b>Figura N° 19:</b> Preparación de frascos para el grupo CONTROL .....	90
<b>Figura N° 20:</b> Preparación de frascos para el grupo EXPERIMENTAL .....	90
<b>Figura N° 21:</b> Venopunción por el Método convencional con jeringa y aguja .....	91
<b>Figura N° 22:</b> Obtención de muestras sanguíneas.....	92
<b>Figura N° 23:</b> Control del tiempo de coagulación mediante el Método de Lee-White. (GRUPO BLANCO) .....	92
<b>Figura N° 24:</b> Frotis sanguíneos obtenido a los 0 minutos, 15 minutos y 45 minutos por el Método de portaobjetos o cuña del grupo CONTROL y EXPERIMENTAL.....	93
<b>Figura N° 25:</b> Tinción de Wright de muestras sanguíneas obtenidas a los 0 minutos, 15 minutos y 45 minutos del grupo CONTROL y EXPERIMENTAL ...	94
<b>Figura N° 26:</b> Valoración de hemogramas a partir del extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) a los 15 minutos.....	95
<b>Figura N° 27:</b> Valoración de hemogramas a partir del extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) a los 15 minutos.....	95
<b>Figura N° 28:</b> Valoración de hemogramas a partir del extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) a los 15 minutos.....	96
<b>Figura N° 29:</b> Valoración de hemogramas a partir del extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) a los 15 minutos.....	96
<b>Figura N° 30:</b> Valoración de hemogramas a partir del extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) a los 45 minutos.....	97
<b>Figura N° 31:</b> Valoración de hemogramas a partir del extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) a los 45 minutos.....	97

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
<b>Gráfico N° 1:</b> Método de la investigación .....	09
<b>Gráfico N° 2:</b> Origen biosintético de las cumarinas .....	45
<b>Gráfico N° 3:</b> Hemostasia .....	55
<b>Gráfico N° 4:</b> Esquema de cascada de MacFarlane de la coagulación sanguínea.....	59
<b>Gráfico N° 5:</b> Distribución de grupos de trabajo .....	72
<b>Gráfico N° 6:</b> Efecto del Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) sobre Neutrófilos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas .....	99
<b>Gráfico N° 7:</b> Efecto del Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) sobre Eosinófilos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.....	101
<b>Gráfico N° 8:</b> Efecto del Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) sobre Basófilos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.....	103
<b>Gráfico N° 9:</b> Efecto del Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) sobre Monocitos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.....	105
<b>Gráfico N° 10:</b> Efecto del Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) sobre Linfocitos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.....	107

- Gráfico N° 11:** Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre alteraciones morfológicas de Hematíes de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas .....109
- Gráfico N° 12:** Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre alteraciones morfológicas de Leucocitos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas .....111
- Gráfico N° 13:** Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre alteraciones morfológicas de Plaquetas de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas .....113

## INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad los análisis clínicos han sido de gran ayuda e importancia, para esclarecer el diagnóstico, prevención y tratamiento de muchas enfermedades. Para ello se hizo de rutina la utilización de sangre con sustancias anticoagulantes, para mantener la viabilidad de sus elementos formes “Células sanguíneas”, por un tiempo prolongado.

Actualmente, a pesar de la existencia de una gran variedad de anticoagulantes de origen sintético para análisis hematológicos, existen Instituciones ubicados en zonas rurales, que no cuentan con ninguna opción anticoagulante *in vitro* ya sea por ser importados, de elevado costo o se hace muy difícil su adquisición; además de minimizar tiempos cuando se trabaja con bastantes muestras hematológicas.

En la actualidad el Perú cuenta con miles de especies vegetales, las cuales están siendo estudiadas científicamente por investigadores científicos, para recuperar y comprobar sus principios activos, así como el efecto que tiene sobre el organismo, sin embargo, de pocas de ellas se han validado sus propiedades terapéuticas.

Las cumarinas son metabolitos secundarios distribuidos en las plantas, principalmente en las familias Rutaceae y Umbeliferae; se encuentran en todas las partes de la planta desde la raíz a flores y frutos; se presentan a menudo como mezcla, en forma libre o como glicósidos. Teniendo diversas actividades biológicas y terapéuticas anticoagulante, microbicida y antioxidante, entre otras.

En la actualidad poco o nada se conoce sobre el efecto anticoagulante de la ruda (*Ruta graveolens L.*), es por ello que la presente investigación ha orientado su estudio en este efecto, y de ser así, ello podría abrir un nuevo campo de investigación

científica sobre anticoagulantes naturales *in vitro*, siendo importante que este no altere la morfología ni la valoración de los elementos formes.

Hay mucho por investigar acerca de las propiedades de esta planta medicinal, para quien realizó este trabajo ha sido una experiencia valiosa, adentrarse en este proceso, con lo cual se demuestra que la farmacología es el campo de la investigación experimental, ofrece una amplitud de estudio muy interesante, donde esta investigación científica puede enriquecerse cada vez más.

Esta investigación tiene como objetivo evaluar el efecto anticoagulante *in vitro* del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) y su utilidad sobre hemogramas en sitios rurales, donde no siempre se cuenta con los recursos adecuados para la obtención de muestras hematológicas. La realización de esta investigación permitirá encontrar una alternativa anticoagulante *in vitro*, de bajo costo y de fácil procesamiento

## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

#### 1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Para casi todo el trabajo hematológico y para muchas determinaciones se emplea sangre sin coagular. Ello exige el uso de anticoagulantes, los cuales impiden que el calcio actúe en la coagulación, sea precipitándolo como sal insoluble (Oxalatos) o fijándolo en forma no ionizada (Citrato de calcio, EDTA). La heparina actúa como agente antitrombínico, o sea neutraliza a la trombina.<sup>1</sup>

Se sabe que los análisis hematológicos como hemograma, hemoglobina, hematocrito, recuento leucocitario y otros, son de manejo diario muchas veces de emergencia, y para su procesamiento se utilizan anticoagulantes *in vitro*, algunos de origen sintético como el oxalato de amonio, citrato trisódico, heparina, EDTA entre otros, por lo que resulta costoso y no estaría al alcance de algunas instituciones, especialmente aquellas ubicados en zonas rurales y se estaría limitando los servicios prestados por estas instituciones para esclarecer el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de cualquier dolencia o enfermedad .

El extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*), podría poseer actividad anticoagulante *in vitro* por lo cual sería de mucha utilidad para mantener la viabilidad de las células sanguíneas por tiempo prolongado y para el trabajo a gran escala con muestras hematológicas por el personal de salud que requiera de una opción anticoagulante económica y práctica, ya que esta planta es de fácil obtención y procesamiento por ser cosmopolita.

---

<sup>1</sup> Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 108.

## 1.2. DELIMITACIONES Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

### 1.2.1. DELIMITACIONES

- A. **DELIMITACIÓN ESPACIAL:** Se realizó en los Laboratorios de la Universidad Alas Peruanas de Arequipa - Perú.
- B. **DELIMITACIÓN TEMPORAL:** Se realizó entre los meses de Abril a Agosto del año 2015.
- C. **DELIMITACIÓN SOCIAL:** Los resultados de esta investigación están dirigidos a los profesionales de salud que trabajan en laboratorios de análisis clínicos situados en zonas rurales, de escasa accesibilidad.
- D. **DELIMITACIÓN CONCEPTUAL**
  - 1. **ÁREA:** Ciencias de la salud.
  - 2. **CAMPO:** Bioquímica.
  - 3. **LÍNEA:** Farmacognosia.
  - 4. **TEMA GENERAL:** Anticoagulantes naturales.
  - 5. **TEMA ESPECÍFICO:** Efecto anticoagulante del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) *in vitro* y su utilidad sobre hemogramas.

### 1.2.2. DEFINICIÓN DE PROBLEMA

Los análisis hematológicos son procedimientos realizados a diario y para ello se necesita anticoagulantes *in vitro*, comúnmente la adquisición de ellos es limitada para zonas rurales por su elevado costo y/o por su distribución, esto es perjudicial para el paciente que solicita distintos análisis hematológicos que van a mejorar su calidad de vida en cuanto a la prevención, el tratamiento y el diagnóstico de cualquier dolencia o enfermedad. El extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) podría ser utilizado en ensayos hematológicos por su diversa composición química.

### 1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA A INVESTIGAR

¿Qué resultados se obtendrán al evaluar el efecto anticoagulante *in vitro* del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre la sangre obtenida de alumnos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica para la realización de hemogramas?.

#### 1.3.1. SUBPROBLEMAS

- ¿Qué concentración del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) tendrá efecto anticoagulante *in vitro* sobre la sangre obtenida de alumnos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, realizado en Laboratorios de la Universidad Alas Peruanas - Arequipa, 2015?.
- ¿Qué resultados se obtendrán al cuantificar los elementos formes realizados de muestras anticoaguladas con el extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*), sobre la sangre obtenida de los alumnos referidos?.
- ¿Qué morfología presentarán las células sanguíneas de muestras anticoaguladas con el extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre la sangre obtenida de los citados alumnos?.

## 1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.4.1. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto anticoagulante del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) *in vitro* sobre la sangre obtenida de alumnos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica para la realización de hemogramas, en Laboratorios de la Universidad Alas Peruanas - Arequipa, 2015.

### 1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la concentración del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) con efecto anticoagulante *in vitro* sobre la sangre obtenida de alumnos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, en Laboratorios de la Universidad Alas Peruanas - Arequipa, 2015.
- Cuantificar los elementos formes de muestras anticoaguladas con extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*), sobre la sangre obtenida de los alumnos referidos.
- Analizar la existencia de alguna alteración morfológica de las células sanguíneas de muestras anticoaguladas con el extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre la sangre obtenida de los citados alumnos.

## 1.5. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

En vista que la ruda (*Ruta graveolens L.*) presenta una composición química compleja tal como cumarinas y otros metabolitos secundarios, es probable que alguno de ellos, pueda presentar efecto anticoagulante, y que éste no afecte la valoración ni los resultados de los hemogramas.

## 1.6. VARIABLES E INDICADORES

### 1.6.1. DEFINICIÓN CONCEPTUAL DE LAS VARIABLES

#### A. VARIABLE INDEPENDIENTE

1. Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*).

Su obtención es mediante la acción de una fuerza mecánica, un líquido es separado de un residuo sólido, sin uso de la acción de un disolvente.

#### B. VARIABLE DEPENDIENTE

1. Efecto anticoagulante.

Los anticoagulantes, son sustancias que inhiben la coagulación impidiendo o retardando la formación de coágulos, disminuyendo la activación de los factores de la coagulación dependientes de vitamina K.

2. Hemograma.

Medición del tamaño, cantidad y madurez de las diferentes células sanguíneas en un volumen de sangre específico.

3. Recuento leucocitario.

Consiste en conocer y valorar los porcentajes relativos de las distintas variedades de glóbulos blancos que se observan en los extendidos bien coloreados, después del recuento de 100 o 200 leucocitos.

4. Morfología de las células sanguíneas.

Observar el tamaño celular, núcleo, forma, posición, color, membrana nuclear, presencia o ausencia de nucléolos, citoplasma, color, y características de los gránulos.

### 1.6.2. DEFINICIÓN OPERACIONAL DE LAS VARIABLES

**Cuadro N° 1: Operalización de Variables.**

Variables	Dimensión	Indicador	Subindicador	Ítems	Escala	Categorización
Efecto anticoagulante del extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens</i> L.)	Concentración del extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens</i> L.).	% Solución concentrada evaporada	0.3mL./mL. de sangre 0.3%	1	Razón	Cuantitativa Independiente
	Método de Lee –White. <sup>2</sup>	Valor normal	Coagula de 5 a 15 minutos	2	Intervalo	Cuantitativa Independiente
		Coagulopatía	No coagula > 15 minutos			
	Recuento leucocitario. <sup>3</sup>	Neutrófilos	55-65%	5	Cardinal	Cuantitativa Dependiente
		Eosinófilos	0.5-4%			
		Basófilos	0.5-1%			
		Linfocitos	25-35%			
		Monocitos	4-8%			

Fuente: Elaboración propia.

<sup>2</sup> Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. Op. cit. Pág. 108.

<sup>3</sup> Prieto J. *La clínica y el laboratorio. Interpretación de análisis y pruebas funcionales. Exploración de los síndromes. Cuadro biológico de las enfermedades*. 20° Ed. España: Elseviermasson; 2006. Págs. 11-12.

## 1.7. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

Desde la antigüedad los análisis clínicos han sido de gran ayuda e importancia, para esclarecer el diagnóstico, prevención y tratamiento de muchas enfermedades. Para ello se hizo de rutina la utilización de sangre con sustancias anticoagulantes, para mantener la viabilidad de sus elementos formes “Células sanguíneas”, por un tiempo prolongado.<sup>4</sup>

Actualmente, a pesar de la existencia de una gran variedad de anticoagulantes de origen sintético para análisis hematológicos, existen Instituciones ubicados en zonas rurales, que no cuentan con ninguna opción anticoagulante *in vitro* ya sea por ser importados, de elevado costo o se hace muy difícil su adquisición.

Debido a la aguda crisis económica que soportamos los países en vías de desarrollo se intensifica la necesidad de investigación y la búsqueda de alternativas más económicas, en todos los campos para lograr un futuro desarrollo. Esta investigación se realizará como una alternativa anticoagulante *in vitro* para sitios rurales, donde no siempre se cuenta con los recursos adecuados para la obtención de muestras hematológicas y por ende limita los servicios prestados por estas instituciones para esclarecer el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de cualquier dolencia o enfermedad.

La diversa composición química que tiene la ruda (*Ruta graveolens L.*), se genera una investigación científica en cuanto al efecto anticoagulante debido a la presencia de cumarinas que tienen estructura variada y, debido a ello, se observa una gran variabilidad en sus acciones farmacológicas. Las principales acciones que se han apreciado para las diferentes cumarinas son anticoagulante, antiinflamatorio, vasodilatador coronario entre otras.

Por ello es importante realizar pruebas donde se evalúe el efecto anticoagulante de esta planta, además de este efecto también podemos realizar un recuento de células sanguíneas.

---

<sup>4</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 108.

## **1.8. LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN**

- Escasez de información bibliográfica de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre el efecto anticoagulante.
- Difícil adquisición de reactivos y reveladores por solicitud de permiso especial para venta.

## **1.9. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN**

### **1.9.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

Investigación experimental de tipo explicativa, de corte transversal.

### **1.9.2. NIVEL DE INVESTIGACIÓN**

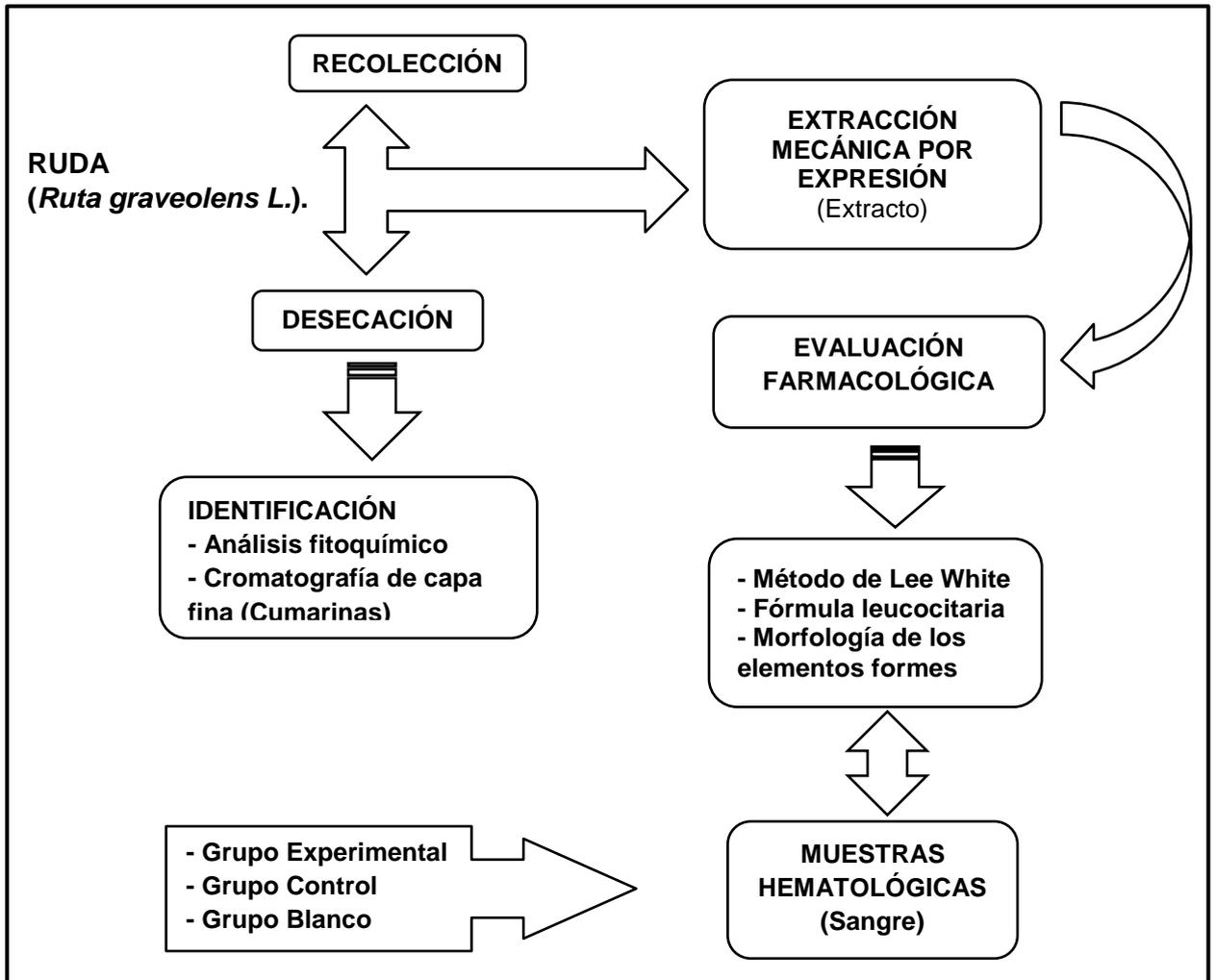
Investigación de laboratorio de nivel básico.

## 1.10. MÉTODO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.10.1. MÉTODO DE LA INVESTIGACIÓN

Investigación cualitativa y cuantitativa.

Gráfico N° 1: Método de la investigación.



Fuente: Elaboración propia.

### 1.10.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Experimental.

## 1.11. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

A partir de este aspecto, se detalla los procedimientos desarrollados en la investigación.

### 1.11.1. TÉCNICAS

#### A. RECOLECCIÓN, SELECCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL

##### 1. Recolección de ruda (*Ruta graveolens L.*)

###### Fundamento

Para la recolección de la muestra vegetal se utilizó el método punto centro cuadrado. Este método está basado en la medida de cuatro puntos a partir de un centro, consiste en ubicar puntos a través de una línea imaginaria, se debe ubicar un punto a partir del cual se hará el muestreo del material vegetal. En este punto se cruzan dos líneas imaginarias, con las cuales se obtienen 4 cuadrantes con ángulos de 90°. <sup>5</sup>

En cada cuadrante se debe ubicar la muestra vegetal más cercana al punto central y tomar la distancia respectiva para la recolección de la muestra vegetal, hasta completar la cantidad necesaria debido a que el área de trabajo es extensa.

###### Procedimiento

- La identificación taxonómica de la planta la realizó en el HERBARIUM AREQVPENSE (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Departamento Académico de Biología. (Anexo N° 7).
- Se recolectó 3 kg. aproximadamente de la planta durante la floración porque es ahí cuando posee más principios activos, para la realización del análisis fitoquímico y la elaboración del extracto de

<sup>5</sup> Mostacedo B, Fredericksen T. *Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal*. 6° Ed. Bolivia. El País; 2000. Págs. 12-13.

ruda (*Ruta graveolens* L.). La muestra vegetal se obtuvo del Pueblo de Yumina situado a una altitud de 2552 m.s.n.m., perteneciente al Distrito de Sabandía de la Provincia de Arequipa y Región de Arequipa.

- La muestra vegetal se trasladó en bolsas de papel porque una incorrecta recolección, traslado y conservación puede traer como consecuencia una fallida extracción de sus componentes o podría perderse alguno de ellos.<sup>6</sup>
- Se mantuvo en condiciones óptimas hasta el momento de su identificación. Posteriormente se eliminó vestigios de tierra o sustancias extrañas que acompañaban a la muestra vegetal mediante un flujo continuo con agua potable.
- Se separó las ramas de las hojas con la ayuda de tijeras, luego se pusieron en agua por 4 horas, se desinfectó con hipoclorito de sodio al 2%, y se enjuagó con agua destilada, se dejó escurrir por 15 minutos y se dio un oreado por 4 horas colocando las hojas de forma homogénea sobre bandejas que contienen papel en la base.
- Finalmente se dividió la muestra en dos partes, una parte se llevó a desecación para la identificación de cumarinas por Cromatografía de capa fina (CCF) e identificación de metabolitos secundarios, y de la otra parte, se obtuvo el extracto por el método de extracción mecánica por expresión haciendo solo uso de hojas frescas, para la posterior evaluación del efecto anticoagulante.

## 2. Desecación de ruda (*Ruta graveolens* L.)

### Fundamento

El secado a la sombra y bajo abrigo es el método más utilizado a escala artesanal. Se colocan las plantas sobre bandejas y se someten a temperatura ambiente y protegidos del sol. Es conveniente seguir de cerca el proceso, removiendo la planta de vez en cuando y desechando las que presenten alteraciones por microorganismos.<sup>7</sup>

La ventilación es muy buena, el proceso es lento y económico.

<sup>6</sup> Villar A. *Farmacognosia general*. 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Págs.47-48.

<sup>7</sup> Kuklinski C. *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Ed. España: Omega S.A.; 2003. Pág. 15.

### Procedimiento

- La muestra vegetal para su desecación fue distribuida de forma homogénea sobre bandejas de pírax conteniendo papel craft extendido.
- Las bandejas permanecieron bajo sombra, a una temperatura de 20 a 25°C, humedad relativa, protegida de la luz directa y con una buena circulación de aire durante 6 días.
- Se siguió de cerca el proceso, con la finalidad de remover las hojas de vez en cuando, y si hubiera alteraciones desechar las hojas en mal estado.

### 3. Elaboración del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*)

#### Fundamento

El método por extracción mecánica es una técnica que permite obtener los principios activos disueltos en los fluidos propios de la planta, los cuales una vez extraídos se denominan “Jugo”.

La extracción mecánica se puede realizar:

- Por expresión: Consiste en ejercer una presión sobre la droga.
- Con calor.
- Mediante incisiones por las que fluyen los fluidos de la planta.<sup>8</sup>

#### Procedimiento

- Se seleccionó la parte aérea, para este caso se usó las hojas organolépticamente aceptables y limpias, después de haber sido tratadas y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% y seguidamente enjuagada con agua destilada.
- Se procedió al oreado por 4 horas, una vez que la muestra estuvo libre de restos de agua; se pesó 1 Kg. de hojas frescas que seguidamente fueron sometidas a un proceso de molienda con ayuda de un mortero obteniéndose finalmente una “Pasta”.
- Luego se ejerció presión sobre la “Pasta” contenida en una gasa estéril obteniéndose 209mL. de extracto crudo de ruda (*Ruta*

<sup>8</sup> Kuklinski C. *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Op. cit. Pág. 32.

*graveolens L.*) de consistencia semi-acuosa y color verde oscuro. Se filtró quedando residuos en la gasa estéril y el sobrenadante en una probeta obteniéndose 108mL. de extracto oscuro.

- Posteriormente el sobrenadante se centrifugó a 2500 r.p.m. durante 5 minutos con la finalidad de clarificar el extracto y separar el sobrenadante del sedimento aun contenido, repitiéndose este procedimiento por duplicado, obteniendo un volumen final de 97mL.
- Seguidamente se agitó por 40 minutos con ayuda del agitador magnético, para eliminar las saponinas, compuesto químico de la planta, que son solubles en agua y producen hemólisis.
- Se sometió a ebullición con agitación constante durante 2 horas para concentrar el extracto, observando una separación de dos fases, una acuosa y la otra semi-acuosa conteniendo los residuos, se volvió a filtrar en papel filtro Whatmann (0.16 mm), obteniéndose finalmente el sobrenadante como extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) concentrado, con un volumen de 25mL. y de consistencia líquida de color ámbar.
- Finalmente se envasó el extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) en un frasco de vidrio ámbar oscuro debidamente rotulado y fue conservado a 4°C para luego realizar los análisis correspondientes.

## **B. ENSAYOS DE IDENTIFICACIÓN DE RUDA (*Ruta graveolens L.*)**

El empleo con fines terapéuticos de las drogas vegetales, ya sea la planta directamente o bien como fuente de extracción de principios activos, debe estar sometido a unos rigurosos controles antes que estas puedan ser empleadas como tal. La identificación de las diferentes drogas es realizada fundamentalmente mediante el reconocimiento botánico de éstas o bien por métodos fisicoquímicos que, a través de una serie de ensayos de tipo cualitativo, nos permiten verificar, sobre la droga entera o pulverizada o incluso sobre extractos de la misma (obtenidos por los diferentes procedimientos de extracción y con diferentes solventes), la identidad de aquella.<sup>9</sup>

---

<sup>9</sup> Villar A. *Farmacognosia general*. Op.cit. Pág. 59.

## 1. Ensayos organolépticos

### Fundamento

La identificación a través de las características organolépticas supone un examen preliminar de la droga y se basa en la valoración de la misma por medio de los órganos del sentido; incluye el olor, el sabor y, ocasionalmente, el ruido o “chasquido” de su fractura, y la “sensación” que la droga produce al tacto.

El examen de estos caracteres organolépticos junto con los macroscópicos o morfológicos suele ser suficiente para identificar la mayoría de las drogas que se presentan enteras. Cuando se trata de drogas pulverizadas estas observaciones no son en modo alguno definitivas y solo sirven de modo orientativo. No obstante podemos obtener algunos datos sobre las distintas características organolépticas que nos aporten indicios de la droga de que pueda tratarse.<sup>10</sup>

### Procedimiento

- Se colocó la muestra vegetal sobre una superficie plana y se observó minuciosamente las características organolépticas propias de las hojas de la planta, lo que permitirá una correcta identificación.
- Para este procedimiento se realizó el llenado del siguiente cuadro:

---

<sup>10</sup> Villar A. Ibid. Pág. 60.

**Cuadro Nº 2: Caracteres organolépticos de las hojas de ruda (*Ruta graveolens L.*).**

<b>CARACTERES ORGANOLÉPTICOS DE LAS HOJAS DE RUDA (<i>Ruta graveolens L.</i>)</b>	
<b>OLOR</b>	Los términos generales empleados para describir los olores de las drogas son: aromático, aliáceo, alcanforáceo, nauseabundo, desagradable, a especia, etcétera. Muchas drogas poseen olores característicos.
<b>COLOR</b>	La observación del color por ejemplo si es o no uniforme o si presenta fragmentos de distinto color, podría hacernos sospechar en una posible mezcla de polvos. De manera general, los polvos procedentes de hojas, sumidades y tallos son de color verde, los que proceden de cortezas y raíces suelen ser de color marrón oscuro o marrón rojizo.
<b>SABOR</b>	Puede ser dulce, amargo, ácido, salino, astringente, punzante, nauseabundo, aromático, etcétera. Ha de señalarse, igualmente, la existencia de drogas con sabores que las caracterizan.

Fuente: Villar Ángel. *Farmacognosia general*. 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003.

## 2. Ensayos botánicos

Este tipo de ensayos permiten confirmar la identidad de la droga detectando posibles falsificaciones y estableciendo, en muchos casos, incluso el grado de calidad de esa droga.<sup>11</sup>

Se controlan características macroscópicas y microscópicas. Las características macroscópicas se aprecian directamente o con ayuda de una lupa y las características microscópicas precisan el uso del microscopio y a menudo es necesario hacer tinciones específicas para comprobar la presencia o ausencia de determinados elementos.

Los ensayos botánicos permiten identificar una droga y detectar falsificaciones pero no dan información sobre los principios activos de la droga. El estudio de la droga pulverizada por microscopia permite detectar elementos diferentes según se estudien las hojas, la corteza, los frutos, etcétera. La caracterización de una droga se puede producir tanto por presencia como por ausencia de determinados elementos.<sup>12</sup>

<sup>11</sup> Villar A. Ibid. Pág. 59.

<sup>12</sup> Kuklinski C. Ibid. Pág. 21.

## a) Análisis macroscópico y/o morfológico

### Fundamento

Los caracteres macroscópicos o morfológicos de una droga son determinados en cada órgano se conocen examinando sus características típicas como, por ejemplo, la forma y tamaño, las marcas externas y su color, o la fractura y el color interno.<sup>13</sup>

### Procedimiento

- Se colocó la muestra vegetal sobre una superficie plana y se observó minuciosamente las características morfológicas propias de cada órgano, que permitirá una correcta identificación.
- Se usó una lupa, un centímetro, un vernier y material bibliográfico, para la realización de un reporte detallado de los caracteres generales de la muestra vegetal y que brevemente se citó:

---

<sup>13</sup> Villar A. Ibid. Págs. 60-61.

**Cuadro Nº 3: Análisis macroscópico y/o morfológico de ruda (*Ruta graveolens L.*).**

<b>ANÁLISIS MACROSCÓPICO Y/O MORFOLÓGICO DE RUDA (<i>Ruta graveolens L.</i>)</b>	
<b>CARACTERES</b>	<b>OBSERVACIÓN</b>
<b>ALTURA</b>	Tamaño en centímetros o metros de la droga.
<b>TALLOS</b>	Si es de tipo leñoso o herbáceo, erecto o rastrero; sección cuadrangular, acanalada, redondeada, etcétera; disposición de las hojas; nudos, estrías, etcétera.
<b>HOJAS</b>	Color, forma del limbo; tipo de nerviación; presencia o no de pelos; textura; superficie, etcétera.
<b>INFLORESCENCIAS</b>	Disposición de las flores; presencia o no de brácteas, etcétera.
<b>FLORES</b>	Color, número de piezas del cáliz y de la corola; disposición de los estambres; número de los carpelos; disposición del ovario, etcétera.
<b>FRUTOS</b>	Tipos; formas y dimensiones; características del pericarpio; dehiscencia, etcétera.
<b>SEMILLAS</b>	Tamaño color y forma; presencia o no de pelos en el tegumento; albúmina, etcétera.
<b>ÓRGANOS SUBTERRÁNEOS</b>	Forma; aspecto de la superficie; características del corte transversal; consistencia, etcétera

Fuente: Villar A. *Farmacognosia general*. 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003.

## **b) Análisis microscópico**

### **Fundamento**

Resulta necesario llevar a cabo un análisis microscópico que es indispensable no solamente para confirmar la identidad de las drogas que se presentan de esa forma, o de aquellas otras no pulverizadas, cuando los datos morfológicos han sido insuficientes para su identificación, sino también para descartar la presencia de posibles adulteraciones en las mismas.<sup>14</sup>

Cuando se trata de drogas organizadas y no pulverizadas, enteras o troceadas, la identificación de las mismas puede realizarse a través del reconocimiento microscópico de los elementos celulares característicos, así como de sus contenidos celulares característicos.

<sup>14</sup> Villar A. *Ibid.* Pág. 61.

Esto se debe a que los órganos vegetales están constituidos por tejidos, cada uno de los cuales desempeña una función que es esencial para la vida de la planta, y su histología nos revela el carácter y distribución de esos tejidos, tales como se encuentran en la droga. Los estudios se llevan a cabo mediante cortes transversales o longitudinales, muy finos, debidamente montados con la ayuda de técnicas de aclarado y coloración.<sup>15</sup>

### **Procedimiento**

- Para el inicio del proceso primeramente se limpió el lente ocular, lente objetivo, el condensador y la fuente de luz.
- Se empleó el objetivo 10X para el examen general de preparación de la muestra y enfoque, también se usó el objetivo 40X solo cuando se quiso apreciar mejor algún detalle; de igual manera en caso de iluminación, enfoque propiamente dicho y el montaje de la preparación.
- Se hizo uso de reactivos como aclarantes o colorantes, para permitir la observación de elementos como la presencia de almidón; tricomas, oxalato de calcio, grasas, glándulas secretoras, estomas, etcétera.
- Para la determinación de almidón, se colocó 1 gota de agua destilada sobre la muestra vegetal situada en un portaobjeto y se cubrió con un cubreobjeto, se observó al microscopio, después se adicionó a la placa 1 gota de lugol y se volvió a observar cualquier gránulo coloreado.
- Para observar tricomas epidérmicos y oxalato de calcio se montó la placa en hidrato de cloral que disuelve almidón, proteínas, clorofila, resinas, aceites esenciales y produce la expansión de células retraídas, se hizo hervir suavemente hasta que clarifique y se observó.
- Para la identificación de grasas se observó la muestra vegetal en solución Sudán III, luego se colocó el cubreobjetos y se observó.
- Para determinar estomas y glándulas secretoras se montó la placa en agua destilada y se observó.

---

<sup>15</sup> Villar A. Ibid. Pág. 61.

### 3. Ensayos fisicoquímicos cualitativos

#### a) Identificación de metabolitos secundarios

##### Fundamento

Los compuestos derivados del metabolismo primario, como por ejemplo la clorofila, carotenoides, ácidos fenólicos, etcétera, van a ser comunes a todas las plantas y carecer por ello de interés diagnóstico. Estos métodos comprenden reacciones de identificación (coloreadas, de precipitación, fluorescencia, microsublimación, etcétera), que permiten detectar determinados constituyentes o sustancias químicas características de una planta (flavonoides, alcaloides, etcétera), y el análisis cromatográfico, que permite separar los diferentes componentes químicos de una especie determinada.<sup>16</sup>

##### Procedimiento

##### Alcaloides

- El extracto proveniente de la maceración del extracto con ácido clorhídrico (HCl) diluido se precipita con reactivo de Mayer o se somete a reacciones de color con reactivo Dragendorff.<sup>17 18</sup>
- Se pesó aproximadamente 3g. de muestra seca, se trituró en un mortero, se pasó a un beacker y se adicionó 20mL de etanol.
- Se calentó a ebullición por 5 a 10 minutos concentrando el extracto alcohólico a 5mL, posteriormente se agregó gotas de ácido clorhídrico (HCl) 1% por las paredes del beacker, se dejó enfriar y se filtró.
- Luego se colocó en dos tubos de ensayo aproximadamente 0.5mL del filtrado ácido, se agregó a cada uno de los tubos previamente rotulados con el respectivo nombre del reactivo, 2 gotas de reactivo Dragendorff y Mayer.

---

<sup>16</sup> Villar A. Ibid. Pág. 66.

<sup>17</sup> Marcano D, Hasegawa M. *Fitoquímica orgánica*. 2° Ed. Venezuela. Torino; 2002. Pág. 58.

<sup>18</sup> Lock O. *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales*. 2° Ed. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994. Pág. 264.

## Saponinas

- El extracto acuoso se agita. La aparición de espuma es indicio de estos compuestos (Prueba de la espuma).<sup>19 20</sup>
- Se pesó aproximadamente 3g. de muestra seca, se trituró en un mortero, se pasó a un beacker y se adicionó agua el doble del volumen (6mL).
- Se filtró a través de una gasa estéril, se trasladó 3mL a un tubo de ensayo y se agitó vigorosamente por 30 segundos.

## Taninos

- Los compuestos fenólicos se detectan por la coloración parda que producen en presencia de una solución de tricloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) al 1%.<sup>21</sup>
- Se pesó aproximadamente 3g. de muestra seca, se trituró en un mortero para ayudar a hidratar la muestra y facilitar el rompimiento de los tejidos, se pasó la muestra completamente macerada a un beacker.
- Se adicionó cantidad suficiente de agua que cubriera la muestra, se calentó a baño maría de 10 a 15 minutos, se filtró en caliente.
- Luego se colocó en un tubo de ensayo aproximadamente 1mL del filtrado debidamente rotulado y se agregó 2 gotas de la solución de tricloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) al 1%.

## Flavonoides

- El extracto alcohólico se trata con un trozo de Magnesio (Mg) y ácido clorhídrico (HCl) concentrado. Este ensayo es positivo si se produce una coloración roja al dejar en reposo la reacción por unos 10 a 20 minutos. (Reacción de Shinoda).<sup>22 23</sup>
- Se pesó aproximadamente 3g. de muestra seca, se trituró en un mortero, se pasó a un beacker y se adicionó 20mL de etanol, se

<sup>19</sup> Marcano D, Hasegawa M. *Fitoquímica orgánica*. Op. cit. Pág. 58.

<sup>20</sup> Lock O. *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales*. Op. cit. Pág. 5.

<sup>21</sup> Marcano D, Hasegawa M. *Ibid.* Pág. 58.

<sup>22</sup> Marcano D, Hasegawa M. *Ibid.* Pág. 58.

<sup>23</sup> Lock O. *Ibid.* Pág. 97.

calentó a ebullición por 5 a 10 minutos concentrando el extracto alcohólico a 5mL.

- Se dejó enfriar y se filtró, posteriormente se tomó 1mL del filtrado etanólico, se agregó gotas de ácido clorhídrico (HCl) concentrado por las paredes del tubo de ensayo, y virutas de magnesio.

## b) Cromatografía de capa fina para identificación de cumarinas

### Fundamento

Las cumarinas libres son solubles en alcohol, en otros disolventes orgánicos, como el éter etílico, así como en disolventes clorados, con los cuales se puede extraer. Si están en forma de heterósidos son más o menos solubles en agua.

Para su purificación podemos basarnos en la propiedad específica que tienen las lactonas de presentar tautometría anillo-cadena, solubilizándose en medio alcalino, mientras que en medio ácido el equilibrio se desplaza totalmente hacia la forma cíclica, o bien podemos recurrir en algunos casos a la sublimación.

Sin embargo, en estos dos procesos pueden producirse alteraciones en las estructuras originales. La separación se realiza usualmente por cromatografía de capa silicagel (CC), cromatografía de capa fina (CCF) o bien por CLAR semipreparativa, que ofrece la ventaja de obtener separados y purificados los compuestos finales.<sup>24</sup>

Las cumarinas poseen un espectro UV característico, muy influenciado por la naturaleza y posición de los sustituyentes, que se modifica sustancialmente en medio alcalino (KOH, NaOCH<sub>3</sub>). Examinadas a la luz ultravioleta, las CCF de drogas con cumarinas presentan manchas cuya coloración, exaltada en presencia de amoníaco, varía del azul al amarillo y al púrpura.<sup>25</sup>

<sup>24</sup> Villar A. Ibid. Págs. 200-201.

<sup>25</sup> Bruneton J. *Farmacognosia Fitoquímica. Plantas medicinales*. 2º Ed. España: Acribia S.A.; 2001. Pág. 265.

## Procedimiento

Para la identificación de cumarinas se realizaron los dos métodos señalados:

### Primer método

- Se colocó en un tubo de ensayo 0,5g. de muestra seca debidamente pulverizada, se adicionó 5mL. de agua destilada y se cubrió con papel filtro humedecido con una solución de Hidróxido de sodio (NaOH) al 10%.
- Seguidamente el tubo de ensayo así cubierto se colocó a baño maría por varios minutos.
- Se removió el papel filtro y se expuso a la luz ultravioleta (365nm). La aparición de una fluorescencia amarilla – verdosa o azul es indicativo de la presencia de cumarinas. Este procedimiento solo es aplicable para cumarinas volátiles.<sup>26</sup>

### Segundo método

- Se pesó 5g. de material seco ya pulverizado, se colocó a una pera de decantación para desengrasar con 20mL. de éter de petróleo (para remover los lípidos), luego se extrajo con una solución diluida de álcali (se forman los cumarinatos solubles).
- Se extrajo con éter de petróleo las impurezas orgánicas neutras y se acidificó la solución acuosa para regenerar la cumarina padre la cual fue luego extraída con éter de petróleo.
- Las impurezas ácidas presentes fueron removidas con solución de bicarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>). La solución etérea conteniendo las cumarinas fue concentrada a baño maría y posteriormente usado para cromatografía de capa fina.<sup>27</sup>
- La muestra obtenida se aplicó por medio de un tubo capilar en la capa fina adsorbente (sílica gel de tamaño 10 x 2.5cm.) en forma de banda, punto o mancha y fue adsorbida en la superficie por la acción de las fuerzas electrostáticas.

---

<sup>26</sup> Lock O. Ibid. Págs. 285-286.

<sup>27</sup> Lock O. Ibid. Pág. 286.

- La placa seca se colocó en la cámara cromatográfica, la cual se encontró saturado de eluyente (Fase móvil líquida): cloroformo: acetona (1:1) saturado con ácido acético al 10%.
- Posteriormente se procedió a aspersar el revelador que para este caso fue una mezcla de Hexacianoferrato (III) de potasio al 1% – Cloruro de Hierro (III) al 2%, la coloración se intensificó por aspersión de ácido clorhídrico 2N., y se evaluó a una radiación UV – 365nm.<sup>28</sup>

**Detección:** Cumarinas (violeta a azul, UV – 365nm.); Furanocumarinas (rojizo-marrón o amarillo, UV – 365nm.).<sup>29</sup>

- Luego se determinó los Rf. La constante Rf (Ratio of Front) es simplemente una manera de expresar la posición de un compuesto sobre una placa como una fracción decimal, mide la retención de un componente. Se define como:

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida desde el origen por el compuesto}}{\text{Distancia recorrida desde el origen por el frente del eluyente}} = \frac{X}{Y}$$

- La distancia recorrida por el compuesto se mide generalmente desde el centro de la mancha, los cálculos se simplifican si el denominador es 10. Para que los Rf sean reproducibles deben ser fijadas una serie de condiciones (Espesor de la placa, fase móvil, fase estacionaria, cantidad de muestra). El máximo valor de Rf que se puede alcanzar es de 1, lo ideal es un Rf entre 0.65 y 0.7.

## C. SELECCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE MUESTRAS DE SANGRE

### 1. Selección

#### Fundamento:

El tamaño de selección de las muestras se hizo por un muestreo probabilístico. Las muestras de sangre fueron obtenidas de los alumnos voluntarios de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; donde se consideró criterios de inclusión y exclusión.

<sup>28</sup> Lock O. Ibid. Pág. 262.

<sup>29</sup> Lock O. Ibid. Pág. 262.

### Procedimiento

- Se solicitó el permiso respectivo al comité de Bioética de la universidad Alas Peruanas, para la realización de la investigación la cual emitió un informe de aceptación. (Anexo N° 8).
- Se extrajo 34 muestras de sangre obtenida por venopunción de los alumnos voluntarios de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica.
- Cada muestra de sangre constituyó su propio blanco, control y experimental.
- No se tomó en cuenta el género, pero si se tomó en consideración la edad que osciló entre 20 a 40 años y otros criterios de selección.

## D. PREPARACIÓN DE LOS FRASCOS BLANCO, CONTROL Y EXPERIMENTAL

### 1. Anticoagulantes

#### Fundamento

Para casi todo el trabajo hematológico y para muchas determinaciones se emplea sangre sin coagular. Ello exige el uso de anticoagulantes, los cuales impiden que el calcio actúe en la coagulación, sea precipitándolo como sal insoluble (Oxalatos) o fijándolo en forma no ionizada (Citrato, EDTA). La Heparina actúa como agente antitrombínico o sea neutraliza a la trombina.<sup>30</sup>

#### Procedimiento

- Se lavaron los frascos de vidrio incoloro (como los que viene la Penicilina) con hipoclorito de sodio al 2% y se esterilizó en la autoclave a una temperatura mayor a 100°C por 30 minutos para la eliminación de microorganismos.
- Se determinó la concentración del extracto de ruda (*Ruta graveolens* L.) con efecto anticoagulante mediante pruebas piloto tomando en cuenta el tiempo de coagulación y la cantidad de extracto de ruda

---

<sup>30</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 108.

(*Ruta graveolens L.*) con efecto anticoagulante por un tiempo mayor a 24 horas que fue el observado y controlado.

- Se colocó 0.3mL. de extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) cuya concentración con efecto anticoagulante fue determinada con pruebas piloto en 34 previamente después de haber realizado pruebas piloto, frascos de vidrio blanco, previamente lavados y esterilizados, cubiertos con papel aluminio, luego se llevó a la estufa a una temperatura de 50°C por 30 minutos para su evaporación a sequedad, quedando adherido en las paredes y fondo de cada frasco.
- De la misma manera se puso 0.2mL. de EDTA (Sal disódica o dipotásica del ácido etilendiaminoteraacético) al 10% en frascos de vidrio blanco cubiertos con papel aluminio, y se evaporó a sequedad en la estufa a una temperatura de 37°C.
- En la realización del trabajo de investigación se trabajó con tres grupos que se detalla a continuación:

**Cuadro Nº 4: Grupos de trabajo.**

<b>GRUPOS DE TRABAJO</b>			
<b>Grupo A</b>	Blanco	34 Muestras.	Método de Lee-White (Coagulación)
<b>Grupo B</b>	Control	34 Muestras.	Anticoagulante usado en Laboratorio - EDTA 10%
<b>Grupo C</b>	Experimental	34 Muestras.	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 0.3%

Fuente: Elaboración propia.

## **E. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS DE SANGRE**

### **Fundamento**

La sangre es un fluido de color rojo y aspecto viscoso que es bombeado por el corazón, recorriendo todo el organismo a través del sistema vascular para llegar a todos los tejidos y volver de nuevo al corazón.

Este fluido es fácilmente coagulable si cesa su constante movimiento, lo cual puede crear problemas serios, ya que produciría obstrucciones en los vasos más pequeños.

La sangre consta de un líquido de color amarillo denominado plasma y diferentes elementos formes, que se encuentran en suspensión. El plasma forma el 50-55% de sangre total y a su vez el agua forma el 90% del plasma, el 10% restante lo forman diferentes sustancias disueltas como proteínas, enzimas, electrolitos o sustancias de desecho. Si eliminamos el fibrinógeno del plasma sanguíneo lo denominamos suero.<sup>31</sup>

El 45-50% restante de la sangre lo configuran las células que enumeramos a continuación:

- Glóbulos rojos o eritrocitos.
- Glóbulos blancos o leucocitos (neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos).
- Plaquetas.<sup>32</sup>

### Procedimiento

- Las muestras de sangre fueron tomadas en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas filial Arequipa, por el método convencional con jeringa descartable de 10mL. y aguja 21 x 1 ½” descartable.
- Se rotularon los frascos CONTROL y EXPERIMENTAL, en caso del BLANCO se usaron 3 tubos de ensayo por cada muestra. Las muestras obtenidas fueron codificadas por orden correlativo en los tres casos.
- Se acomodó al paciente, se le indicó que coloque y extienda su brazo encima de la mesa para formar una línea recta del brazo a la muñeca, se realizó la limpieza de la zona a colocar la aguja, con una torunda empapada con alcohol, realizando un movimiento circular de adentro hacia afuera sobre el sitio de punción.
- Se le dijo al paciente que cierre el puño, se le aplicó el torniquete con ayuda de una ligadura alrededor del brazo aproximadamente 8cm. arriba del sitio de la venopunción, se situó el bisel de la aguja hacia arriba, se penetró la piel y luego la vena a un ángulo de

<sup>31</sup> Silva M, García M, Gómez & colaboradores. *Técnico especialista en laboratorio del servicio Gallego de salud (SERGAS)*. 1ª Ed. España: Mad; 2006. Pág. 259.

<sup>32</sup> Silva M, García M, Gómez & colaboradores. *Técnico especialista en laboratorio del servicio Gallego de salud (SERGAS)*. Op. cit. Pág. 259.

aproximadamente 15 a 30°, una vez que la sangre penetró la jeringa se aflojó el torniquete, y se le indicó al paciente que abra el puño, se recolectó lentamente la sangre mediante la retracción del émbolo de la jeringa y así su posterior llenado.

- Se retiró suavemente la aguja del sitio de la venopunción, luego se aplicó un apósito estéril en el sitio de venopunción y se le indicó al paciente que doble el brazo manteniendo presión por 5 a 10 minutos aproximadamente, luego se le colocó una cinta de esparadrapo sobre el apósito una vez que el sangrado haya parado. Además se le indicó al paciente que mantenga el apósito adherido a su piel por unos 15 minutos aproximadamente.
- El volumen de sangre obtenida fue 9.5mL por el método ya descrito y en una sola venopunción, se descartó el primer mililitro de sangre, y se usó 4.5mL. para el método de Lee-White ya descrito, y, los 4mL. restantes, se colocó 2mL. al frasco CONTROL y 2mL. al frasco EXPERIMENTAL, se homogenizó suavemente cada muestra, hasta observar la disolución completa del contenido de ambos.
- Se desecharon las agujas usadas en un contenedor para desechos punzocortantes biológicos, con el debido cuidado para evitar incidentes y asegurarme que no se reutilicen.
- Posteriormente se observó la anticoagulación en los frascos considerados como CONTROL y EXPERIMENTAL, al no formarse el coágulo sanguíneo.
- Luego de comprobarse la anticoagulación, se procedió a las pruebas, a partir de las muestras de sangre procedente del frasco CONTROL y del frasco EXPERIMENTAL.

## **F. CONTROL DEL TIEMPO DE COAGULACIÓN**

### **Fundamento**

Según el Método de Lee-White La muestra se obtiene por punción venosa. Es de capital importancia que la punción venosa y la extracción sean correcta.<sup>33</sup>

---

<sup>33</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 150.

Técnica: Descartar el primer mililitro de sangre, usar los 4.5mL. siguientes y distribuir 1.5mL en cada uno de tres tubos colocados en baño maría a 38°C. Se dispara el reloj cuando la sangre penetra la jeringa. El primer tubo es observado por inclinación cuidadosamente cada 30 segundos hasta que la sangre deje de fluir. Se examina seguidamente el segundo tubo y se toma como definitivo el valor obtenido del tercer tubo.

Valores normales: De 5 a 15 minutos. Cuando el tiempo está prolongado, siempre es significativo.

### **Procedimiento**

- Se obtuvo 9.5mL de sangre de cada paciente por el método ya descrito, se descartó el primer mililitro de sangre, y se usó 4.5mL. para el método de Lee-White, donde se distribuyó de la siguiente manera, se colocó 1.5mL en tres tubos de ensayo que luego fueron colocados en baño maría a 38°C.
- El primer tubo fue observado por inclinación cuidadosamente cada 30 segundos hasta que la sangre dejó de fluir. Seguidamente se observó el segundo tubo y se tomó como definitivo el valor obtenido del tercer tubo. Además se controló el tiempo desde que la sangre penetró la jeringa hasta la formación del coágulo sanguíneo de los frascos considerados como BLANCO.
- Los 4mL. restantes fueron distribuidos de la siguiente manera 2mL. al frasco CONTROL y 2mL. al frasco EXPERIMENTAL.

## **G. EXTENSIÓN, COLORACIÓN E INTERPRETACIÓN DE HEMOGRAMAS MANUALES**

### **1. Extensión de la muestra**

#### **Fundamento**

El frotis de sangre periférica es un examen que proporciona información acerca del número y forma de las células sanguíneas a través de una inspección visual con la ayuda del microscopio. Es útil como complemento de la biometría hemática que nos ayuda en el diagnóstico de gran parte de las enfermedades hematológicas.

La sangre se obtiene por punción venosa; se coloca y extiende en un portaobjetos, teñida con un colorante especial y examinada al microscopio. Para una valoración adecuada de la sangre periférica, son importantes algunos aspectos, como la técnica del extendido, la tinción y el sitio del frotis donde se realizará la valoración.

Es posible obtener información sobre la morfología de todos los tipos de células sanguíneas, un estimado aproximado del número de leucocitos y plaquetas, y el recuento relativo por tipo de leucocitos, obtenido al contar 100 de estas células.<sup>34</sup>

### **Procedimiento**

- Para este proceso se realizó el método del portaobjetos o cuña. Para la extensión del frotis de sangre periférica. Se tomó 1 gota de sangre de aproximadamente 3mm. de diámetro del frasco CONTROL, y se colocó en el tercio proximal de un portaobjeto (de vidrio, limpio de 75 x 25mm.), se extendió hasta el tercio distal después de tocarla con el borde de otro portaobjetos en un ángulo de 35° a 45° con respecto al otro portaobjetos manteniendo el ángulo constante entre portaobjetos y una presión suave y uniforme.
- De igual manera se tomó 1 gota de sangre de aproximadamente 3mm. de diámetro del frasco EXPERIMENTAL, y se colocó en el tercio proximal de un portaobjeto, se extendió hasta el tercio distal después de tocarla con el borde de otro portaobjetos.
- Este procedimiento se repitió a los 0 minutos, 15 minutos y 45 minutos para ambos casos para el CONTROL y EXPERIMENTAL, con la finalidad de observar si existe alguna alteración morfológica de las células sanguíneas de muestras al tener como patrón muestras del grupo CONTROL.

---

<sup>34</sup> Jaime J. *Hematología. La sangre y sus enfermedades*. 2° Ed. México: McGraw-Hill interamericana S.A.; 2009. Pág. 279.

## 2. Coloración de la muestra según el Método de coloración Wright

### Fundamento

El colorante de Wright va a permitir suministrar un medio para estudiar la sangre y determinar las variaciones y anomalías de estructura, forma y tamaño de los leucocitos, plaquetas y eritrocitos como su contenido de hemoglobina y sus propiedades de coloración. La información obtenida de un frotis de sangre periférica depende en gran parte de la calidad del extendido y la coloración.<sup>35</sup>

### Procedimiento

- Una vez obtenido el frotis sanguíneo del grupo CONTROL y EXPERIMENTAL a partir de los tiempos 0 minutos, 15 minutos y 45 minutos para cada caso, se dejó secar entre 15 y 20 minutos sobre un puente de tinción al aire libre.
- Se cubrió completamente el portaobjetos con el colorante Wright y se dejó actuar por 5 minutos, para fijar los elementos formes, sin que el colorante sea derramado por los bordes. Si hubo evaporación del colorante, se adicionó cantidad suficiente sobre el portaobjetos.
- Luego se añadió cantidad suficiente del amortiguador directamente al colorante Wright, para este caso se usó agua destilada, para evitar la coloración débil. Se dejó actuar por 10 a 15 minutos y se esperó la formación del brillo metálico.
- Se lavó con agua a chorro cuidadosamente hasta que la extensión presente un aspecto rosado al examinarlo a simple vista. Se limpió el dorso de portaobjetos con una gasa humedecida en alcohol para eliminar cualquier resto de colorante.
- Se dejó secar al aire libre, y se observó con el microscopio óptico.

---

<sup>35</sup> Silva M, García M, Gómez & colaboradores. Ibid. Pág. 282.

### 3. Interpretación de Hemogramas manuales

#### Fundamento

Consiste en conocer y valorar los porcentajes relativos a las distintas variedades de glóbulos blancos que se observan en los extendidos bien coloreados, después del recuento de 100 o 200 leucocitos. Es indispensable para obtener el porcentaje de cada tipo de leucocitos que estos se hallen uniformemente distribuidos en el extendido sanguíneo.

Debe anotarse el tamaño celular; núcleo: forma, posición, color, membrana nuclear, presencia o ausencia de nucléolos; citoplasma y características de los gránulos. Se realizará por el Método de Schilling que consiste en tomar cuatro puntos marginales distintos recorriendo el campo en zigzag y contar 25 o 50 elementos en cada uno de los cuatro puntos.<sup>36</sup>

Leucocitos. La fórmula leucocitaria relativa en la sangre normal, según diversos autores, es aproximadamente la siguiente:

**Cuadro Nº 5: Fórmula leucocitaria.**

<b>Valores normales de los distintos tipos de leucocitos en términos absolutos y relativos.</b>		
<b>LEUCOCITOS</b>	<b>TÉRMINOS RELATIVOS</b>	<b>TÉRMINOS ABSOLUTOS</b>
Neutrófilos	55-65%	3.000-5.000/uL
Linfocitos	25-35%	1.500-4.000/uL
Monocitos	4-8%	100-500/uL
Eosinófilos	0,5-4%	20-350/uL
Basófilos	0,5-1%	10-100/uL

Fuente: Prieto J. *La clínica y el laboratorio. Interpretación de análisis y pruebas funcionales. Exploración de los síndromes. Cuadro biológico de las enfermedades.* 20<sup>o</sup> Ed. España: Elseviermasson; 2006.

<sup>36</sup> Prieto J. *La clínica y el laboratorio. Interpretación de análisis y pruebas funcionales. Exploración de los síndromes. Cuadro biológico de las enfermedades.* Op. cit. Págs. 11-12.

El eritrocito mide aproximadamente 7µm de diámetro; debido a su forma bicóncava, se aprecia una palidez central que corresponde a una tercera parte de su diámetro. Una forma sencilla de valorar su tamaño es compararlo con el núcleo del linfocito, que en condiciones normales es casi de la misma dimensión. Aparecen como las células más abundantes en el frotis de sangre periférica.<sup>37</sup>

Las plaquetas son fragmentos del citoplasma de sus precursores: los megacariocitos; su diámetro varía de 1 a 4µm; adquieren un tinte basófilo.<sup>38</sup>

Un teñido de manera adecuada tiene las siguientes características:

- Los eritrocitos deben ser de color rojo salmón.
- Los núcleos son de color azul oscuro a violeta.
- Los gránulos citoplasmáticos de los neutrófilos son de color lila.
- Los gránulos citoplasmáticos de los basófilos son de color azul oscuro a negro.
- Los gránulos citoplasmáticos de los eosinófilos son de color rojo a anaranjado.
- El área entre las células debe estar limpia y libre de precipitados de colorante.<sup>39</sup>

### **Procedimiento**

- Una vez seca la placa, se procedió al montaje de la placa, se observó con el microscopio óptico, enfocando con el objetivo 10X, y con el objetivo 40X se visualizó la calidad de coloración y la distribución de los elementos formes, realizando la valoración con el objetivo 100X haciendo uso del aceite de inmersión. Dicho proceso se repitió con las láminas coloreadas obtenidas de los frascos CONTROL y EXPERIMENTAL.
- Para el caso de leucocitos se observó el tamaño celular; núcleo: forma, posición, color, membrana nuclear, presencia o ausencia de nucléolos; citoplasma y características de los gránulos. Este proceso se realizó por el Método de Schilling que consiste en tomar cuatro puntos marginales distintos recorriendo el campo en

<sup>37</sup> Jaime J. *Hematología. La sangre y sus enfermedades*. Op. cit. Pág. 279.

<sup>38</sup> Jaime J. *Ibid.* Pág.280.

<sup>39</sup> Carr J, Rodack B. *Atlas de Hematología clínica*. 3º Ed. México: Panamericana S.A.; 2010. Pág. 5.

zigzag y contar 25 o 50 elementos en cada uno de los cuatro puntos. Posteriormente, se hizo el recuento diferencial de glóbulos blancos en 100 células.

- Para el caso de hematíes y plaquetas se examinó detenidamente la forma, el color, agrupación y distribución.
- Las observaciones se colocaron en la ficha de recolección de datos (Anexos N° 1, 2, 3 y 4), para su posterior análisis y pruebas de significancia estadística.

## H. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN RECOLECTADA

### Fundamento

Los resultados de las diferentes lecturas e interpretación de hemogramas, fueron procesados empleando gráficas de barra, medidas de tendencia, se realizaron mediante el Excel de Microsoft Windows. Así mismo para expresar gráficamente los cuadros se utilizó el gráfico de caja y bigotes.

### Procedimiento

- Se calculó la estadística descriptiva mediante la media y desviación estándar para verificar el recuento y morfología celular de leucocitos, hematíes, plaquetas. Además del tiempo de coagulación como la edad y sexo de pacientes voluntarios que participaron en la investigación.
- La comparación estadística de las lecturas del recuento leucocitario en los grupos CONTROL y EXPERIMENTAL a los 0 minutos, 15 minutos y 45 minutos, se realizó mediante el análisis de varianza (ANOVA) y para discriminar las medias de los dos grupos se utilizó la prueba del Test de Tukey.
- Para comparar las lecturas del recuento de hematíes y plaquetas en los grupos CONTROL y EXPERIMENTAL a los 0 minutos, 15 minutos y 45 minutos, se utilizó el Test de Chi cuadrado evidenciando ligera crenación en hematíes y una ligera disminución de tamaño en plaquetas.

## 1.11.2. INSTRUMENTOS

### A. LISTADO DE MATERIALES DE LABORATORIO

#### 1. Material de vidrio

- Tubos de ensayo
- Fiola 100mL.
- Balón
- Pera de decantación
- Matraz 50mL., 100mL.
- Mechero de alcohol
- Embudo de vidrio
- Probetas 100mL
- Pipetas 1mL., 5mL., 10mL.
- Vaso de precipitado 100mL., 250mL.
- Baguetas
- Lámina portaobjeto
- Lámina cubreobjeto
- Frascos viales esterilizados
- Capilares de siembra
- Luna de reloj
- Bandeja de vidrio

#### 2. Material de porcelana

- Mortero con pilón

#### 3. Material de metal

- Soporte universal con aro
- Puente de tinción
- Espátulas
- Escobillas
- Malla de asbesto
- Trípode
- Gradilla
- Pinza para tubo

#### 4. Material de plástico

- Bombilla
- Platos para pesar
- Pizetas
- Corchos
- Goteros

### B. LISTADO DE EQUIPOS DE LABORATORIO

- Refrigeradora
- Microscopio
- Centrífuga
- Microscopio
- Autoclave
- Estufa
- Agitador magnético
- Balanza analítica
- Cámara cromatográfica con luz ultravioleta (UV-365nm.)

### C. LISTADO DE MATERIAL BIOLÓGICO

#### 1. Material vegetal

**Cuadro N° 6: Material vegetal.**

<b>Nombre científico</b>	<i>Ruta graveolens L.</i>
<b>Nombre común</b>	“Ruda”

Fuente: Elaboración propia.

#### 2. Material biológico

**Cuadro N° 7: Material biológico.**

<b>Muestras sanguíneas</b>	Muestra de sangre obtenido de cada alumno voluntario de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica.
----------------------------	--

Fuente: Elaboración propia.

#### D. LISTADO DE REACTIVOS

- Agua destilada
- Sudán III
- Lugol
- Etanol
- Ácido clorhídrico (HCl)
- Limaduras de magnesio
- Reactivo Dragendorff
- Reactivo Mayer
- Tricloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ )
- Ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )
- Cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ )
- Acetona ( $\text{CH}_3(\text{CO})\text{CH}_3$ )
- Colorante de Wright
- Aceite de inmersión
- EDTA (Sal disódica o dipotásica del ácido etilendiaminotetraacético)
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Hidróxido de potasio (KOH)
- Éter de petróleo
- Bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ )
- Cloruro de sodio (NaCl)
- Hexacianoferrato (III) de potasio ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )
- Hipoclorito de sodio
- Agua destilada

#### E. LISTADO DE INSUMOS

- Algodón
- Gasa
- Esparadrapo
- Encendedor
- Plumón indeleble
- Guantes de látex
- Papel filtro
- Placas de sílica gel
- Papel aluminio

- Alcohol medicinal
- Ligaduras
- Jeringas 5mL., 10mL.
- Agujas 21 x1 ½”
- Papel Craft
- Cinta masking
- Lupa
- Frascos ámbar
- Frascos incoloro
- Extensiones
- Adaptadores
- Hoja de bisturí
- Pote rojo (Agujas)
- Detergente
- Trapo

## **1.12. COBERTURA DEL ESTUDIO**

### **1.12.1. UNIVERSO**

Se tomó como población a los estudiantes universitarios voluntarios de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas, del I a X ciclo del año 2015. Dentro de las limitaciones se consideró lo siguiente:

#### **A. CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

1. Estudiantes Universitarios de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica.
2. Voluntarios.
3. Edad entre 20 a 40 años.
4. Aparentemente sanos.
5. Sin antecedentes de coagulopatías de acuerdo al interrogatorio realizado. (Anexo N° 4).
6. Que no reciban y/o hayan recibido tratamiento medicamentoso. (Anexo N° 4).

## B. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Estudiantes Universitarios de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica que no cumplan los criterios de inclusión ya configurados.

### 1.12.2. MUESTRA

El tamaño de la muestra fue calculada de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 N p q}{E^2(N-1) + Z^2 p q}$$

Dónde:

$Z^2$  = Nivel de significancia al 95% y vale 1.96

N = Población

p = Probabilidad de éxito se considera como 0.5

q = 0.5

E = Error permisible como 0.05

Constituyendo cada muestra el grupo experimental y al mismo tiempo su propio control.

$$n = \frac{(1.96)^2 (458) (0.5) (0.5)}{(0.05)^2 (457) + (1.96)^2 (0.5) (0.5)}$$

$$n = 209$$

Cuando el tamaño de la muestra pasa el 10% de la población se hace un ajuste:

$$n = \frac{n}{1 + \frac{n}{N}}$$

$$n = \frac{209}{1 + \frac{209}{458}}$$

$$n = 0.674 \times 100 = 68\%$$

$$n = \frac{0.68}{2} = 0.34 \times 100 = 34 \text{ Muestras}$$

El tamaño de muestra estuvo conformada por 34 muestras de sangre, donde cada muestra fue su propio BLANCO, CONTROL y EXPERIMENTAL.

El tamaño de la muestra vegetal fue 1Kg. de hojas frescas de ruda (*Ruta graveolens* L.) para la elaboración del extracto obtenido por el método de extracción mecánica por expresión.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

- 2.1.1. *Chenopodium petiolare* H.B.K. (Llipcha) como anticoagulante in vitro y su utilización en Hemogramas. Tesis de Bachiller en medicina presentado en la Universidad San Agustín: Perú; 1995.<sup>40</sup>

Sánchez R.

El presente trabajo se realizó para determinar el efecto anticoagulante de la Llipcha (*Chenopodium Petiolare* H.B.K.), donde se observó la anticoagulación en el cien por ciento de las muestras tratadas con el extracto de Llipcha (*Chenopodium Petiolare* H.B.K.), al observar que no hubo coagulación por un tiempo mayor a 24 horas, que fue el tiempo de observación controlado, siendo el resultado estadístico altamente significativo. Cuando se realizó los hemogramas con *Chenopodium Petiolare* a los cero y cuarenta y cinco minutos, mostró que es una alternativa al uso del oxalato de amonio y potasio. Es importante señalar que se observó en los frotis sanguíneos algunas alteraciones morfológicas en los hematíes con el empleo del extracto de Llipcha (*Chenopodium Petiolare* H.B.K.).

---

<sup>40</sup> Sánchez R. *Chenopodium petiolare* H.B.K. (Llipcha) como anticoagulante in vitro y su utilización en Hemogramas. Tesis de Bachiller en Medicina presentado en la Universidad San Agustín: Perú; 1995.

**2.1.2. Efecto *in vitro* del látex de *Ficus insípida* sobre la cascada de la coagulación sanguínea.** Revista médica herediana volumen 21 N° 3: Perú; 2010. <sup>41</sup>

Concha F

La presente investigación muestra que se obtuvo el látex de *Ficus insípida* y se prepararon diferentes concentraciones del mismo, seguidamente se obtuvieron muestras de sangre venosa periférica de 5 donantes voluntarios, que se anticoaguló con citrato de sodio. Posteriormente las muestras obtenidas se mezclaron con las diluciones del látex, se centrifugó y se extrajo el plasma. Posteriormente, se obtuvo un pool de plasma para cada concentración del látex y se procedió a determinar el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa), respectivamente; generando resultados donde el látex de *Ficus insípida* prolongó el TP a una concentración mayor o igual a 0,03125% (V/V), y ambos, el TP y TTPa a una concentración mayor o igual a 0,15% (V/V) y los resultados obtenidos permitió afirmar que el látex de *Ficus insípida* posee un efecto anticoagulante *in vitro* dosis dependiente sobre la vía extrínseca de la coagulación sanguínea a una concentración igual o mayor a 0,03125% (V/V) y que a una concentración igual o mayor a 0,15% (V/V) posee un potente efecto anticoagulante sobre ambas vías de la coagulación.

**2.1.3. Efecto antitrombótico, una característica poco conocida de las frutas y hortalizas.** Revista chilena de nutrición volumen 35 N° 1: Chile; 2008. <sup>42</sup>

Torres C, Guzmán L, Moore R, Palomo I.

El presente trabajo se realizó para informar acerca de los efectos, tanto *in vitro* como *in vivo*, y los posibles mecanismos de cada afección. Para ello, en el caso de las frutas, se trabajó con extractos acuosos (Jugo), alcohólicos (Pulpa) y de las hortalizas sólo en metanol. Inicialmente los extractos fueron evaluados a 1mg/mL. Generando como resultados el efecto antiagregante plaquetario, entre las frutas que poseen dicha característica se incluyen a la uva negra, piña, frutilla y kiwi. Entre las hortalizas en que se ha descrito efecto antiagregante están el ajo, la cebolla, el cebollín, el tomate y el melón. Por otra parte, el efecto

<sup>41</sup> Concha F. Efecto *in vitro* del látex de *Ficus insípida* sobre la cascada de la coagulación sanguínea. Revista Médica Herediana volumen 21 N° 3: Perú; 2010.

<sup>42</sup> Torres C, Guzmán L, Moore R, Palomo I. Efecto antitrombótico, una característica poco conocida de las frutas y hortalizas. Revista Chilena de nutrición volumen 35 N°1: Chile; 2008.

anticoagulante, entre las frutas, sólo se ha encontrado en la piña, y entre las hortalizas en ajos y cebollas. El efecto fibrinolítico se ha descrito en frutas como el kiwi y la piña, y hortalizas como el ajo, las cebollas y la soya. Algunas frutas (piña y kiwi) y hortalizas (ajo y cebollas) presentan más de un efecto antitrombótico por lo que seguramente su consumo regular protege de las enfermedades cardiovasculares (ECV).

**2.1.4.** *Actividad anticoagulante in vivo del extracto acuoso de las hojas de Ricinus communis L.* Revista cubana de plantas medicinales volumen 2002 N° 3: Habana; 2002.<sup>43</sup>

Díaz L.

En la presente investigación se realizó el estudio farmacológico del efecto anticoagulante de un extracto acuoso de las hojas de *Ricinus communis L.* (Higuereta), a una concentración al 3% de sólidos totales. Dicha investigación fue realizada en conejos de la línea Nueva Zelanda entre 1,5-3kg de peso corporal y las muestras de sangre fueron tomadas por extracción directa del músculo cardíaco, vena central de la oreja y arteria carótida, después de la administración de una dosis de 2mg/kg de peso del extracto en inyección en bolo intravenoso, a través de la vena marginal de la oreja. Luego se realizaron las pruebas de tiempo de protrombina, tiempo parcial de tromboplastina activada y tiempo de Howell. Finalmente se puede concluir que el extracto acuoso de las hojas de *Ricinus communis L.* (Higuereta) en dosis de 2mg/kg de peso actuó como un anticoagulante alargando los tiempos de coagulación en las pruebas empleadas en condiciones *in vivo*.

---

<sup>43</sup> Díaz L. *Actividad anticoagulante in vivo del extracto acuoso de las hojas de Ricinus communis L.* Revista Cubana de Plantas Medicinales volumen 2002 N° 3: Habana; 2002.

## 2.2. MARCO CONCEPTUAL

### 2.2.1. RUDA (*Ruta graveolens* L.)

#### A. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La identificación taxonómica se realizó en el HERBARIUM AREQVIPENSE (*HUSA*) de la Universidad Nacional de San Agustín, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Departamento Académico de Biología, emitiendo la certificación correspondiente. (Anexo N° 7).

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Sapindales
Familia:	Rutaceae
Subfamilia:	Rutoideae
Género:	Ruta
Especie:	<i>Ruta graveolens</i> L. <sup>44</sup>

#### B. NOMBRES VULGARES

Ruda, ruda hortense, rue herb (ing); rue, péganion, herbe de grace (fr.); Raute (ale.).<sup>45</sup>

#### C. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Esta familia de árboles, arbustos y ocasionalmente, hierbas comprende varias especies de gran importancia económica: limones, naranjas, mandarinas y limas, entre otras, así como también especies ornamentales.<sup>46</sup>

Son matas perennes, con tallos leñosos en la base y las hojas profundamente divididas, con manchas negras, ubicadas en el envés de las hojas; éste es el rasgo distintivo de las Rutáceas.

<sup>44</sup> Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. *Plantas medicinales de uso en Chile. Química y farmacología*. 2º Ed. Chile: Universitaria S.A.; 2004. Pág. 253.

<sup>45</sup> Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. *Plantas medicinales de uso en Chile. Química y farmacología*. Op. cit. Pág. 253.

<sup>46</sup> Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. *Ibid*. Pág. 253.

Toda la planta desprende un olor intenso característico, que puede resultar extremadamente desagradable. Alcanza 40-90 cm de alto, siendo su tallo ramoso y erecto con hojas alternas, verde azuladas, profundamente subdivididas, con segmentos espatulados u oblongos de 15 mm. de largo, contiene glándulas translúcidas con aceite esencial responsable de su olor característico. Las flores, terminales y amarillentas, se agrupan umbelas, haciendo su aparición entre la primavera y el verano. Los frutos son cápsulas redondeadas.

#### **D. HÁBITAT**

La ruda (*Ruta graveolens L.*) es oriunda del Mediterráneo (África del norte y sur de Europa) y del Asia menor. Crece espontáneamente en lugares pedregosos, matorrales, suelos secos, o cerca de huertos, jardines siendo su distribución cosmopolita y que por siglos ha sido cultivada.<sup>47</sup>

#### **E. COMPOSICIÓN QUÍMICA**

La ruda contiene 0.2 – 0.7% de aceite esencial formado casi en un 90% de dos cetonas: metil- nonil cetona (2-undecanona) y metil-heptil cetona. Posee 0.4 – 1.4% de diversos alcaloides, básicamente del tipo furoacridona y quinolina: arborinina, graveolina, rutacridona, graveolina, gama fagarina, kokusaginina, 6-metoxidictamnina y skimmianina. También tienen flavonoides y sus glicósidos: quercetina y rutina, esta última aislada y caracterizada por primera vez en la especie; cumarinas: bergapteno, naftoherniarina, suberona e isorutarina; xantotoxina, rutamarina e isopimpenelina. Además tiene furanocumarinas con propiedades fototóxicas y útiles en el tratamiento de la psoriasis.<sup>48</sup>

#### **F. TOXICOLOGÍA**

- La planta en estado fresco y la esencia pueden generar fotodermatitis de contacto, especialmente por el contenido en bergapteno y psoraleno (furanocumarinas) y alcaloides furoquinólicos dictamnina, rutacridona, gamma-fagarina y skimmianina.

<sup>47</sup> Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. Ibid. Pág. 253.

<sup>48</sup> Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. Ibid. Pág. 255.

- Los casos de intoxicación pueden generar síntomas leves como cólicos gastrointestinales, diarreas, movimientos fibrilares de la lengua, congestión pelviana o síntomas graves como confusión mental, metrorragias, shock, convulsiones y muerte.
- Induce contracción uterina y congestión pélvica, principalmente hemorragia uterina y posible aborto, por lo que se recomienda no utilizar esta especie durante el embarazo ni en la lactancia.
- El aceite esencial demostró ser neurotóxico en altas dosis, contraindicándose en pacientes con antecedentes de epilepsia o convulsiones.
- Altas dosis de ruda (*Ruta graveolens L.*) generan irritación génito-urinaria por lo que no se recomienda administrar extractos de la planta en insuficiencia renal.
- No administrar conjuntamente con drogas antihipertensivas debido a que se puede potenciar el efecto hipotensor.
- Contraindicado en mujeres en edad fértil que tengan vida sexual activa no protegida con métodos contraceptivos.<sup>49</sup>

## G. ANTECEDENTES TERAPÉUTICOS

Esta planta se describe como medicinal en casos de dolores menstruales y premenstruales, amenorrea; como abortiva; en casos de inapetencia y dispepsia; trastornos circulatorios, arteriosclerosis; neuralgias, cefaleas, nerviosismo, histeria; debilidad visual; fiebre, reumatismo, inflamaciones, espasmos y trastornos de la diuresis. Se sugiere preparar en infusión con no más de 0.5g. de planta y hasta dos veces al día. Sin embargo, debido al escaso margen entre dosis terapéutica y dosis tóxica, no sería recomendable su administración oral. Por vía externa se aconseja como emplasto al 5% en luxaciones, lesiones óseas y cutáneas (eczema y psoriasis).<sup>50</sup>

---

<sup>49</sup> Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. Ibid. Pág. 255.

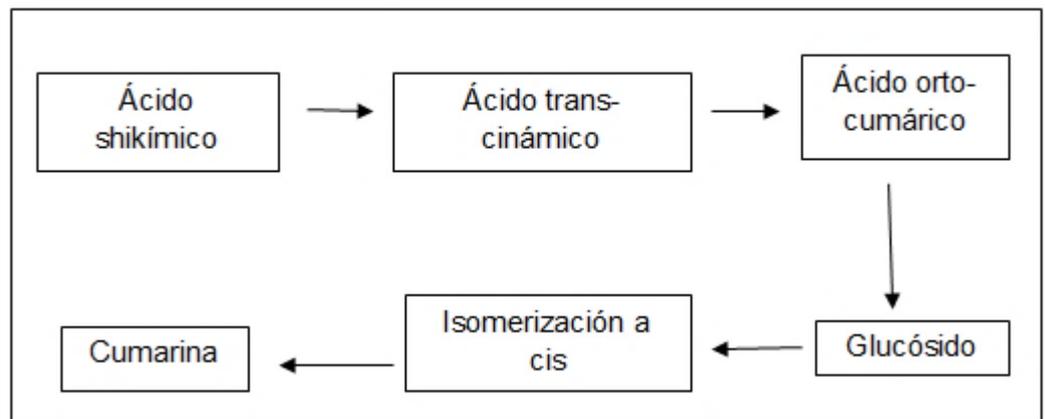
<sup>50</sup> Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. Ibid. Pág. 255.

## 2.2.2. CUMARINAS

### A. ORIGEN BIOSINTÉTICO

Las cumarinas son metabolitos secundarios que proceden de la ruta del ácido shikímico según la secuencia que se resume a continuación:<sup>51</sup>

**Gráfico N° 2: Origen biosintético de las cumarinas.**



Fuente: Kuklinski C. *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Ed. España: Omega S.A.; 2003.

### B. DEFINICIÓN

Las cumarinas deben su denominación a la palabra “*Coumarou*”, nombre vernáculo del haba tonka (*Dipteryx odorata* Will., Fabaceae) de la que fue aislada, en 1820, la cumarina.<sup>52</sup>

Las cumarinas son compuestos con estructura de 2H-1-benzopiran-2-ona que pueden ser consideradas lactonas del ácido O-hidroxicinámico. Se conocen casi un millar de cumarinas de estructura muy variada, desde moléculas simples a otras más complejas.<sup>53</sup>

<sup>51</sup> Kuklinski C. *Ibid.* Pág. 100.

<sup>52</sup> Bruneton J. *Farmacognosia Fitoquímica. Plantas medicinales*. 2ª Ed. España: Acribia S. A.; 2001. Pág. 261.

<sup>53</sup> Villar A. *Ibid.* Pág. 197.

## C. DISTRIBUCIÓN

Las cumarinas se hallan ampliamente extendidas en el reino vegetal. Hay sin embargo determinadas familias de Angiospermas que poseen gran cantidad de cumarinas: Fabáceas, Rubiáceas, Rutáceas, Asteráceas, Apiáceas, Umbelíferas, Apocináceas y Compuestas.<sup>54 55 56</sup>

## D. BIOSÍNTESIS

### 1. ORIGEN DE LAS CUMARINAS SIMPLES

Derivan, como el resto de fenilpropanoides, del metabolismo de la fenilalanina vía un ácido cinámico, el ácido o-cumárico. El proceso incluye una hidroxilación en 2' del eslabón tricarbonado, seguido de una reacción de lactonización espontánea. A veces, el ácido o-cumárico se encuentra glucosilado y la cumarina se forma al sufrir el tejido una lesión que trae como consecuencia una hidrólisis enzimática y una lactonización.<sup>57</sup>

### 2. ORIGEN DE LAS CUMARINAS POLICÍCLICAS

La prenilación por la DMAPP del núcleo bencénico, en 6 o en 8 de una 7-OH cumarina, es el origen del ciclo suplementario que caracteriza estas moléculas. La prenilación en 6 da lugar a las furano y piranocumarinas, denominadas también cumarinas lineales (psoraleno, imperatonina, xantiletina); si se origina en el C<sub>8</sub> se forman sus homólogos angulares (angelicina, visnadina).<sup>58</sup>

## E. PROPIEDADES

- Son sólidos cristalizables de color blanco o amarillento.
- Solubilidad: Las hidroxycumarinas son solubles en disolventes orgánicos (éter, cloroformo, alcoholes); los glucósidos son solubles en agua y alcoholes y las furanocumarinas y piranocumarinas lo son únicamente en disolventes orgánicos apolares (éter etílico, cloroformo).

<sup>54</sup> Kuklinski C. Ibid. Pág. 100.

<sup>55</sup> Bruneton J. *Farmacognosia Fitoquímica. Plantas medicinales*. Op. cit. Págs. 261-262.

<sup>56</sup> Villar A. Ibid. Pág. 197.

<sup>57</sup> Villar A. Ibid. Págs. 197-198.

<sup>58</sup> Villar A. Ibid. Pág. 198.

- Fluorescencia a la luz ultravioleta (UV): Las cumarinas presentan fluorescencia (azul, amarilla, verde, púrpura), lo cual permite su reconocimiento.<sup>59</sup>

## F. EXTRACCIÓN Y SEPARACIÓN

Las cumarinas libres son solubles en alcohol, en otros disolventes orgánicos, como el éter etílico, así como en disolventes clorados, con los cuales se puede extraer. Si están en forma de heterósidos son más o menos solubles en agua.

Para su purificación podemos basarnos en la propiedad específica que tienen las lactonas de presentar tautometría anillo-cadena, solubilizándose en medio alcalino, mientras que en medio ácido el equilibrio se desplaza totalmente hacia la forma cíclica, o bien podemos recurrir en algunos casos a la sublimación.

Sin embargo, en estos dos procesos pueden producirse alteraciones en las estructuras originales. La separación se realiza usualmente por cromatografía de capa silicagel (CC), cromatografía de capa fina (CCF) o bien por CLAR semipreparativa, que ofrece la ventaja de obtener separados y purificados los compuestos finales.<sup>60</sup>

Las cumarinas poseen un espectro UV característico, muy influenciado por la naturaleza y posición de los sustituyentes, que se modifica sustancialmente en medio alcalino (KOH, NaOCH<sub>3</sub>). Examinadas a la luz ultravioleta, las CCF de drogas con cumarinas presentan manchas cuya coloración, exaltada en presencia de amoníaco, varía del azul al amarillo y al púrpura.<sup>61</sup>

---

<sup>59</sup> Kuklinski C. Ibid. Pág. 102.

<sup>60</sup> Villar A. Ibid. Págs. 200-201.

<sup>61</sup> Bruneton J. Ibid. Pág. 265.

## G. ACCIONES FARMACOLÓGICAS

Los compuestos que se engloban bajo la denominación de cumarinas tienen estructura muy variada y, debido a ello, se observa una gran variabilidad en sus acciones farmacológicas. Las principales acciones que se han apreciado para las diferentes cumarinas son:

- Acción vitamínica P: Disminuye la permeabilidad capilar y refuerzan los capilares.
- Tónicos venosos (venotónico).
- Fotosensibilizadoras (furanocumarinas)
- Antiinflamatorios.
- Antiespasmódicos.
- Vasodilatadores coronarios.
- Ligero efecto hipnótico.
- Sedantes.
- Anticoagulantes (dicumarol).<sup>62</sup>

### 2.2.3. COMITÉS INSTITUCIONALES DE BIOÉTICA

#### A. FUNDAMENTO

Son los que se crean en una determinada institución con objeto de abordar los conflictos de valores que puedan aparecer en su seno. Una universidad o un centro experimental pueden constituir una comisión encargada de evaluar sus proyectos de investigación. Sin embargo los que han tenido mayor implantación, hasta el momento, han sido los comités destinados a estudiar los problemas derivados de la práctica clínica, ya sea en su vertiente asistencial o investigadora. También aquí, como en el primer nivel, un comité bioético debe ser pluralista en cuanto a posturas, ideologías y creencias; tiene que estar formado, además de por sanitarios, por otros profesionales.<sup>63</sup>

<sup>62</sup> Kuklinski C. Ibid. Pág. 102.

<sup>63</sup> López M. *Bioética. Entre la medicina y la ética*. 1º Ed. España. Gráficas Cervantes S.A.; 2005. Págs. 39-40.

## B. FUNCIONES

Entre las funciones del comité de ética asistencial se encuentran:

- Analizar, asesorar y facilitar el proceso de decisión clínica en las situaciones que plantean conflictos éticos entre sus intervinientes, ya sea personal sanitario, usuario o instituciones.
- Elaborar protocolos de actuación para las situaciones en que surgen conflictos éticos.
- Elaborar informes y recomendaciones ante casos concretos.
- Colaborar en la formación en bioética de los miembros del comité, haciendo extensiva esta formación al personal del hospital y del área de salud.<sup>64</sup>

### 2.2.4. DEFINICIÓN DE LA SANGRE

La sangre es un fluido de color rojo y aspecto viscoso que es bombeado por el corazón, recorriendo todo el organismo a través del sistema vascular para llegar a todos los tejidos y volver de nuevo al corazón. Este fluido es fácilmente coagulable si cesa su constante movimiento, lo cual puede crear problemas serios, ya que produciría obstrucciones en los vasos más pequeños.

La sangre consta de un líquido de color amarillo denominado plasma y diferentes elementos formes, que se encuentran en suspensión. El plasma forma el 50-55% de sangre total y a su vez el agua forma el 90% del plasma, el 10% restante lo forman diferentes sustancias disueltas como proteínas, enzimas, electrolitos o sustancias de desecho. Si eliminamos el fibrinógeno del plasma sanguíneo lo denominamos suero.<sup>65</sup>

El 45-50% restante de la sangre lo configuran las células que enumeramos a continuación:

- Glóbulos rojos o eritrocitos.
- Glóbulos blancos o leucocitos (neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos).
- Plaquetas.

<sup>64</sup> López M. *Bioética. Entre la medicina y la ética*. Op. cit. Págs. 39-40.

<sup>65</sup> Silva M, García M, Gómez & colaboradores. *Ibid.* Pág. 259.

Estas células tienen su origen en una célula única denominada célula madre que se localiza en los órganos hematopoyéticos y que puede madurar hacia cualquiera de estos tres tipos de células. Una vez que completan la maduración pasaran a la circulación general de donde serán eliminadas pasado un tiempo por el sistema mononuclear fagocítico (SMF) manteniendo la renovación constante de la sangre. <sup>66</sup>

## A. FUNCIONES DE LA SANGRE <sup>67</sup>

La sangre cumple importantes funciones dentro del organismo, manteniendo en todo momento las condiciones necesarias para la vida, llevando los nutrientes necesarios, recogiendo desechos, manteniendo la temperatura adecuada.

### 1. TRANSPORTE

- a) **Sustancias nutritivas:** Se encarga de transportarlas desde los órganos de absorción hasta los tejidos.
- b) **Oxígeno y dióxido de carbono:** Lleva oxígeno, captado a nivel de los capilares pulmonares, hasta los capilares tisulares donde es utilizado por la respiración celular, produciendo CO<sub>2</sub> que de nuevo es transportado por la sangre hasta los pulmones para ser eliminado.
- c) **Productos de desecho metabólico:** Son llevados hacia los órganos de excreción, para proceder a su eliminación. Todas las sustancias transportadas por la sangre pueden estar libres en el plasma, dentro de las células sanguíneas o bien unidas a proteínas.

### 2. INMUNIDAD

Es llevado a cabo por la serie blanca, es decir, por los glóbulos blancos o leucocitos, participando pues en el proceso de defensa del organismo frente a microorganismos.

---

<sup>66</sup> Silva M, García M, Gómez & colaboradores. Ibid. Pág. 259.

<sup>67</sup> Silva M, García M, Gómez & colaboradores. Ibid. Págs. 259-260.

### 3. HEMOSTASIA

Proceso por el cual es controlada la hemorragia gracias a unos complejos y eficaces mecanismos de coagulación. En el organismo aparecen constantemente heridas que producen pequeñas hemorragias, en la sangre se encuentra las plaquetas, principales responsables de frenar esta hemorragia que el organismo considera un atentado contra el bienestar, además de estas plaquetas la sangre contiene otros factores de coagulación que van a intervenir en este proceso.

### 4. HOMEOSTASIA

Es la función más general de la sangre y consiste en el mantenimiento constante del medio en el que viven las células del organismo, es decir, el mantenimiento de la temperatura, pH, concentración de iones, etcétera.

## B. PROPIEDADES FÍSICAS DE LA SANGRE <sup>68</sup>

### 1. VOLUMEN

El volumen oscila entre 4,5-5,5L. en las mujeres y 5-6L. en los hombres. Cuando el volumen sanguíneo se encuentra dentro de los valores normales se denomina normovolemia, si es superior hipervolemia e hipovolemia si es inferior. En los tres casos anteriores las variaciones pueden ser referentes a los cuerpos formes denominándose hipersitemia a su aumento y oligositemia a su disminución.

### 2. DENSIDAD

La densidad sanguínea varía con el número de cuerpos formes y composición del plasma. Su valor es de 1,005g/mL.

---

<sup>68</sup> Silva M, García M, Gómez & colaboradores. Ibid. Págs. 260-261.

### 3. VISCOSIDAD

Todos los líquidos tienen la propiedad de modificar su forma como consecuencia de la mutua atracción entre sus moléculas, y es a lo que llamamos viscosidad. En el caso de la sangre ésta es dependiente de su contenido de células y del tamaño de las mismas. De manera que un aumento en el número o tamaño de la parte celular en relación con la parte líquida o plasma conlleva a un aumento de la viscosidad.

Hay además otras causas por las que la viscosidad sanguínea puede encontrarse aumentada o disminuida. Por ejemplo, la temperatura hace disminuir la viscosidad, de lo cual podemos deducir que en un sujeto con fiebre la viscosidad está por debajo de los valores normales. Otras circunstancias son:

- a) **Concentración de proteínas:** El aumento en los niveles normales de proteínas en la sangre eleva en forma directa la viscosidad de la misma.
- b) **La dieta:** Aumenta con una alimentación rica y abundante. Por el contrario disminuye con el ayuno, aumenta en la ingesta de líquidos, dieta rica en vegetales, etcétera.
- c) **El ejercicio:** Valores disminuidos ante un trabajo corporal moderado.
- d) En el caso de la sangre venosa su alto contenido en  $\text{CO}_2$  hace que el hematíe se hinche, de manera que la sangre venosa es más viscosa que la arterial que tiene una viscosidad más baja por su contenido en  $\text{O}_2$ .

### 4. VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR

Podemos definir la VSG como el tiempo que tardan los eritrocitos en sedimentar una vez sacados del torrente sanguíneo y dejado en reposo. Se cuentan sólo los eritrocitos por ser la clase celular más importante en la sangre total.

## C. HEMOSTASIA

Ante una lesión vascular, la hemostasia se activa para detener la hemorragia. La primera respuesta es la vasoconstricción e inmediatamente se produce el coágulo plaquetario que requiere una malla de fibrina que le de firmeza. Cualquier alteración de estos tres mecanismos impide la formación de un coágulo de calidad y predispone a la hemorragia.

La hemostasia se divide en hemostasia primaria, cierre inmediato de una lesión por vasoconstricción y activación plaquetaria sin que se forme la fibrina (fase marginal ya que la hemorragia se reactiva si el coágulo plaquetario no se refuerza con una red de fibrina) y hemostasia secundaria, formación de fibrina por medio de la fase fluida y cuya función es hacer más estable el coágulo. Si la fibrina se destruye prematuramente por la fibrinólisis, la hemorragia reaparece.<sup>69</sup>

### 1. LA PARED VASCULAR EN LA HEMOSTASIA

La vasoconstricción ayuda a controlar la hemorragia porque las arterias y venas tiene una capa de músculo liso que se contrae al dañarse el vaso. Como esta capa es mayor en la arteria, la contracción arterial es más intensa que la venosa. La vasoconstricción reduce el flujo sanguíneo a la lesión, deteniendo la hemorragia parcialmente. Aunque transitoria, es importante para controlar la hemorragia de pequeños vasos y en la menstruación. Sustancias generales en la lesión son vasoconstrictores, por ejemplo, el tromboxano A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) secretado por las plaquetas.<sup>70</sup>

### 2. ENDOTELIO Y HEMOSTASIA

El endotelio es clave en toda la hemostasia ya que controla el tono vascular y activa plaquetas, la fase fluida y la fibrinólisis. Cambia según su localización, por ejemplo, en los capilares secreta cien veces más a TP que en las venas aunque ambos secretan igualmente Tm.

<sup>69</sup> Ruiz G, *Fundamentos de hematología*. 4ª Ed. México: Panamericana; 2009. Págs. 230-231.

<sup>70</sup> Ruiz G, *Fundamentos de hematología*. Op. cit. Pág. 231.

Ante una lesión, se activa y cambia a un fenotipo procoagulante al producir factor de Von Willebrand (FvW), laTP-1 y FV y al permitir que se le unan plaquetas y los factores IX, IXa y X.

Estimula la activación plaquetaria y produce factor tisular (FT) que inicia la formación de trombina. Este patrón procoagulante es estimulado por citocinas inflamatorias como la interleucina 1 o el factor de necrosis tumoral, los cuales aumentan el FT y el laTP-1 y disminuyen la Tm. En presencia de trombina, producen activadores de plaquetas y leucocitos que atraen estas células a la lesión.<sup>71</sup>

### **3. FLUJO SANGUÍNEO Y HEMOSTASIA**

El flujo sanguíneo modula al sistema de coagulación y por lo tanto, la fluidez y hemostasia. Normalmente, todo el tiempo se activan plaquetas y factores en la coagulación. El flujo despeja estos componentes activados impidiendo que se acumulen y favorezcan una trombosis. En caso de lesión, el flujo facilita el transporte de plaquetas y factores hemostáticos a este sitio. Al contactar al endotelio, el flujo genera una fuerza de rozamiento, fuerza con que la sangre frota al endotelio. La sangre tiene diversos constituyentes con diferentes densidades y que se mueven velocidades diversas en el torrente sanguíneo.

En el centro del flujo van eritrocitos y leucocitos (más pesados, más rápidos), mientras que las plaquetas y el plasma (más ligeros, más lentos), son empujados a la periferia, cerca del endotelio. Si aumentan las fuerzas de rozamiento, las plaquetas agregan espontáneamente y algunas reacciones hemostáticas se aceleran.<sup>72</sup>

### **4. CÉLULAS HEMÁTICAS CIRCULANTES Y HEMOSTASIA**

Eritrocitos y leucocitos intervienen en la hemostasia. El tiempo de hemorragia se alarga en anémicos y se normaliza con la transfusión. Los eritrocitos influyen en la hemostasia primaria liberando Adenosín difosfato (ADP), y mejoran la adhesión plaquetaria al empujar a las

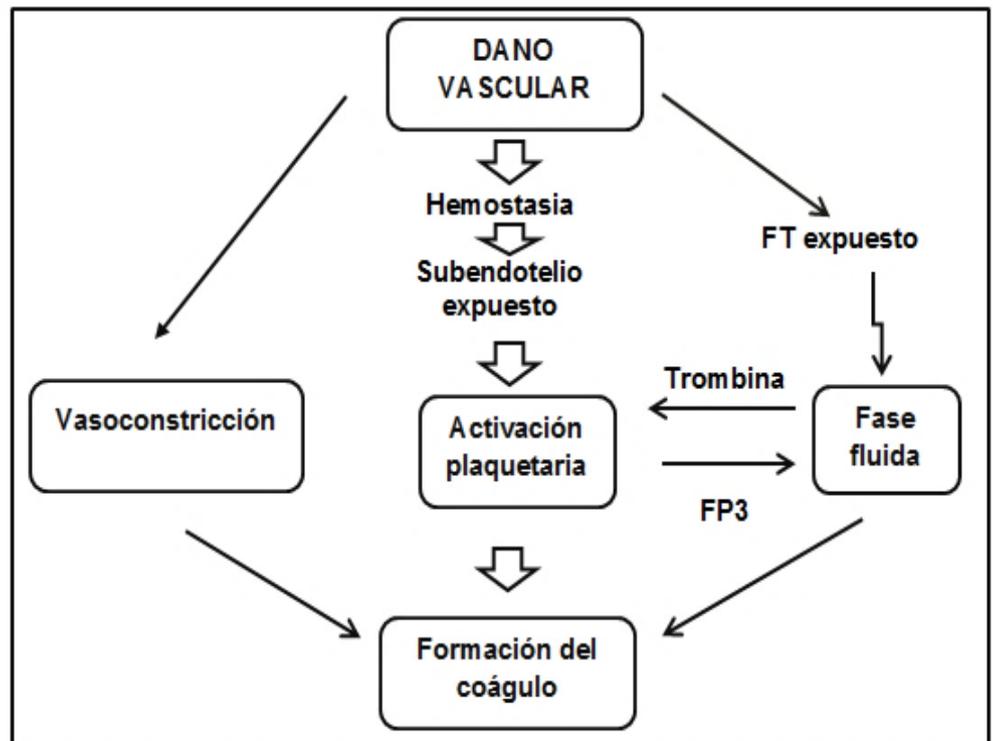
---

<sup>71</sup> Ruiz G. Ibid. Pág. 231.

<sup>72</sup> Ruiz G. Ibid. Págs. 231-232.

plaquetas a la periferia. Eritrocitos y leucocitos forman parte del coágulo porque las plaquetas los atraen y fijan. Los eritrocitos aumentan la reactividad plaquetaria y los neutrófilos la inhiben, efecto que modula el tamaño del coágulo. La membrana monocítica puede iniciar y amplificar la hemostasia al expresar FT y ensamblar algunas reacciones hemostáticas.<sup>73</sup>

**Gráfico N° 3: Hemostasia.**



Fuente: Ruiz G, *Fundamentos de hematología*. 4° Ed. México: Panamericana; 2009.

#### **D. MECANISMOS HEMOSTÁTICOS**

Cuando un vaso se daña, el sistema de coagulación mantiene la integridad vascular y preserva la vida al limitar la hemorragia mediante la formación del coágulo. Además cuando los mecanismos de reparación tisular terminan, también se encarga de eliminar el coágulo. En condiciones normales, mantiene permanentemente la sangre líquida, condición imperativa para la vida.

<sup>73</sup> Ruiz G. *Ibid.* Págs. 232-233.

Además, interviene en la inflamación, metástasis, regulación de la presión arterial y aterogénesis. Está formado por subsistemas hemostasia, fibrinólisis y regulación natural, los cuales funcionan armónicamente. También son importantes la función del vaso sanguíneo (pared vascular, endotelio y flujo sanguíneo) y las células hemáticas circulantes. Normalmente, el sistema está en reposo pero se activa rápidamente ante una lesión.<sup>74</sup>

### 2.2.5. SISTEMA DE COAGULACIÓN EN CONDICIONES NORMALES

El endotelio sano no activado es anticoagulante ya que expresa sustancias antiplaquetarias que evitan que las plaquetas se adhieran a él como la prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) y el factor de relajación endotelial (óxido nítrico; NO) produce proteínas antihemostáticas como la antitrombina (AT), y el cofactor II de la heparina (*Coll-Hep*) (inhibidores de factores hemostáticos activados); la trombomodulina (Tm), la cual inhibe a la trombina; y el inhibidor de la vía del factor tisular (IVFT), proteína reguladora de la hemostasia. El endotelio también produce proteínas fibrinolíticas, el activador tisular del plasminógeno (aTP), y su contraparte, el inhibidor del aTP tipo 1 (IaTP-1), ambos clave en la fibrinólisis. Como se aprecia, el endotelio es la base del sistema de coagulación.<sup>75</sup>

#### A. COAGULACIÓN SANGUÍNEA

Las modificaciones físicas y químicas que conducen a la formación del coágulo sanguíneo fueron objeto de gran número de investigaciones. En la actualidad, la coagulación de la sangre es considerada como un proceso de transformación, en el que invierten factores vasculares, la formación del tapón de plaquetas y la formación del coágulo de fibrina. Diversos son los factores que intervienen en la fase vascular de la coagulación para reducir la pérdida de sangre, ya que las plaquetas se concentran rápidamente y constituyen un tapón mecánico del cual participan el adenosindifosfato (ADP) y al menos otro factor más.<sup>76</sup>

Frente a una lesión los vasos reaccionan con vasoconstricción y retracción refleja. Las plaquetas forman en el interior de los vasos una

<sup>74</sup> Ruiz G. Ibid. Pág. 234.

<sup>75</sup> Ruiz G. Ibid. Pág. 237.

<sup>76</sup> Guerci A. Ibid. Págs. 148-149.

especie de tapón protector y además aportan a su superficie sustancias vasoconstrictoras como adrenalina, noradrenalina y serotonina. El mecanismo de la coagulación se pone en marcha con la formación de un coágulo de fibrina; en una palabra, la coagulación de la sangre es el resultado de la transformación del fibrinógeno soluble en fibrina insoluble. A parte de las plaquetas, son 13 los factores que hasta el presente han sido reconocidos y que intervienen en la coagulación sanguínea.

De acuerdo con el *International Committee for Nomenclature of Blood Clotting Factors*, ellos son los que se detallan en el cuadro expuesto.<sup>77</sup>

**Cuadro N° 8: Factores de coagulación sanguínea.**

NUMERACIÓN	SINONIMIA	LUGAR DONDE SE ENCUENTRA
Factor I	Fibrinógeno	Plasma
Factor II	Protrombina	Plasma
Factor III	Tromboplastina	Tejido
Factor IV	Calcio	Plasma y suero
Factor V	Factor lábil, proacelerina, globulina Ac.	Plasma
Factor VI	Número vacante	-
Factor VII	Proconvertina, factor estable	Plasma y suero
Factor VIII	Factor antihemofílico	Plasma
Factor IX	Componente tromboplástico del plasma	Plasma y suero
Factor X	Factor Stuart	Plasma y suero
Factor XI	Antecedente tromboplástico del plasma	Plasma y suero
Factor XII	Factor Hageman	Plasma y suero
Factor XIII	Estabilizador de la fibrina	Plasma y suero

Fuente: Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4º Ed. Argentina: El Ateneo; 2003.

En la primera etapa de la coagulación sanguínea se forma la tromboplastina sanguínea o extracto tisular, designado factor III. Actualmente se sabe que existen al menos 8 factores que intervienen en la generación de la tromboplastina sanguínea y son 1) las plaquetas; 2) el calcio; 3) el factor V; 4) el factor VIII; 5) el factor IX; 6) el factor X; 7) el factor XI; 8) el factor XII.

<sup>77</sup> Guerci A. *Ibid.* Págs. 148-149.

En la segunda etapa la protrombina se convierte en trombina. La generación de trombina pueden efectuarla la tromboplastina sanguínea o la tromboplastina hística. Si es producida por esta última, además de los factores V y X y del calcio, es necesario el factor VII.

En la tercera etapa, que es la última de la coagulación, la trombina transforma el fibrinógeno en fibrina y de esta manera se forma el coágulo. El factor XIII es el factor estabilizador de la fibrina. Se considera actualmente que el proceso de formación del coágulo consiste en una sucesión de reacciones (proenzimas), con excepción del fibrinógeno, se convierten en forma activa por acción enzimática. La activación de cada factor coadyuvante tiene lugar en una sucesión, de fases, en las cuales la enzima recién formada reacciona con su sustrato específico, que la transforma en enzima activa.<sup>78</sup>

La teoría de MacFarlane acerca de la cascada enzimática explica mejor el modo en que reaccionan los factores de coagulación. Muchos fueron los estudios de los factores que toman parte en la reacción del contacto de superficie, y se conoce como factor XII el factor sensible que resultaba activado por el contacto con el vidrio. Posteriormente se demostró que el factor XII así activado reacciona con el factor IX; éste, una vez activado, reacciona con el factor VIII, y el producto de esta reacción da lugar a la activación del factor X.

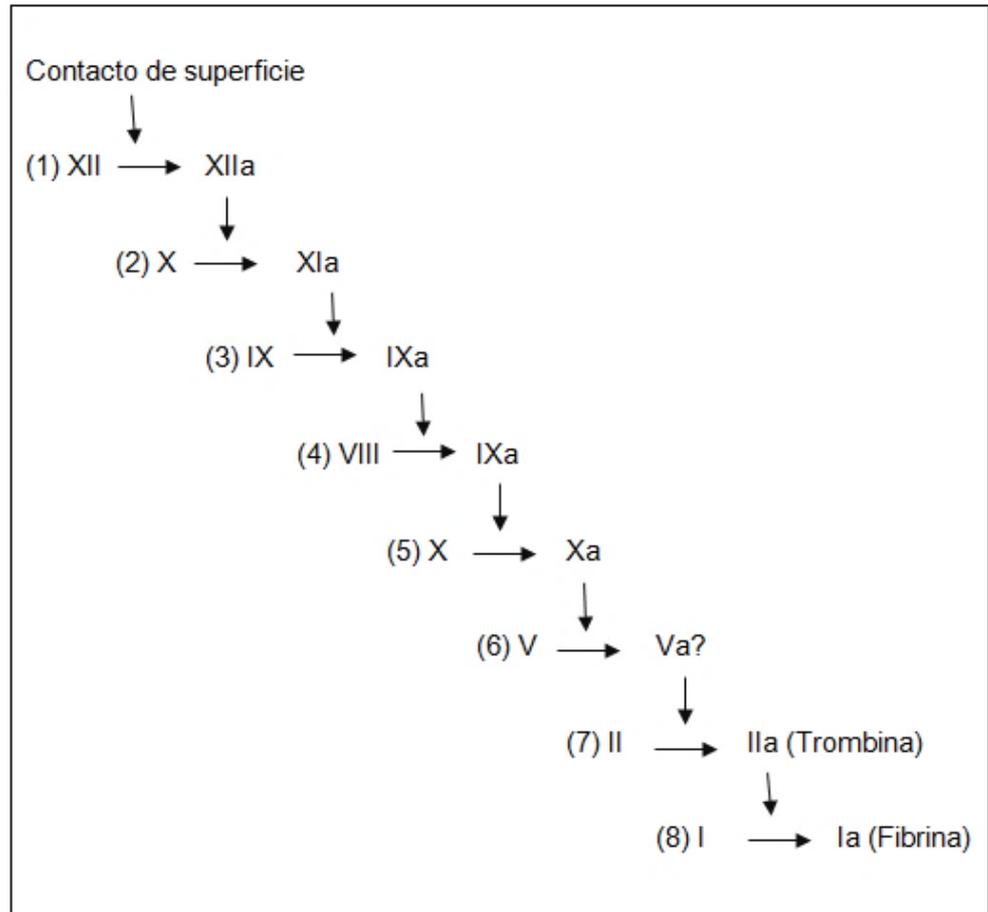
Se ha puesto de manifiesto que la trombina y el Xa son enzimas, y que el factor X y la protrombina son proenzimas. El factor XII en contacto con una superficie tiene actividad enzimática; el factor XI activado tiene una actividad estearasa. El factor X puede resultar activado por acción de una enzima, y la cinética de la activación del factor X mediante los factores VIII y IX indica que este proceso es también enzimático.<sup>79</sup>

---

<sup>78</sup> Guerci A. Ibid. Págs. 148-149.

<sup>79</sup> Guerci A. Ibid. Págs. 148-149.

**Gráfico N° 4: Esquema de cascada de MacFarlane de la coagulación sanguínea.**



Fuente: Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4º Ed. Argentina: El Ateneo; 2003.

## B. MECANISMOS DE REGULACIÓN DEL SISTEMA DE COAGULACIÓN <sup>80</sup>

Al lesionarse un vaso inmediatamente se forma el coágulo. Normalmente este no se extiende a lo largo del lumen del vaso ni tampoco lo ocluye. La formación del coágulo ocurre y se mantiene sólo donde y cuando es necesario. Con el tiempo el coágulo se reemplaza por tejido conjuntivo. Así, su inicio, crecimiento y mantenimiento están estrechamente regulados, temporal y espacialmente.

<sup>80</sup> Ruiz G. *Ibid.* Págs. 241-242.

## 1. FLUJO SANGUÍNEO

El movimiento de la sangre limpia el sitio del daño vascular del exceso de factores y plaquetas activados. La importancia del flujo sanguíneo en la prevención de la trombosis se ilustró al inyectar factores activados a animales; no aparecieron trombos a menos que el flujo fuera interrumpido. Por lo tanto, para que el trombo se forme se requieren ineludiblemente estasis venosa, lesión vascular y un estado protrombótico.

## 2. REGULACIÓN DE LA FASE FLUIDA DE LA HEMOSTASIA

El plasma tiene inhibidores hemostáticos de los factores hemostáticos activados que limitan y localizan la hemostasia: AT, Coll-Hep, el sistema de la proteína C (PC), y el IVFT. Los síndromes clínicos secundarios a la deficiencia adquirida o congénita de estas proteínas son muy específicos. La AT es el inhibidor más importante de la trombina aunque también inhibe a los factores XIIa, XIa, Xa, IXa, FT-VIIIa, calicreína y plasmina.

Su efecto se acelera por la heparina la cual cambia su formación y permite que se una más rápidamente a la trombina. Otros glicosaminoglicanos similares a la heparina están en el endotelio y también aceleran el efecto de la AT. La deficiencia congénita o adquirida de esta proteína se asocia con trombosis.

El *Coll-Hep* inhibe a la trombina y, al igual que la AT, su actividad aumenta con heparina, sin embargo, no inhibe otros factores activados. El IVFT tiene una concentración endotelial alta. Es clave en la regulación de la fase fluida ya que inactiva al complejo FT-FVIIa. El exceso de FXa generado en ambas vías hemostáticas se une al IVFT y luego inhiben al complejo FT-FVIIa estableciendo un mecanismo de regulación negativa que limita la generación de trombina extrínseca sin interferir con la generación de trombina extrínseca sin interferir con la generación de trombina intrínseca.

Cualquier estímulo hemostático mínimo activa la fase fluida que genera trombina por amplificación de las vías hemostáticas. La generación de trombina se regula por varios inhibidores siendo el más importante el sistema de la PC compuesto por la PC, la proteína S (PS) y la Tm, receptor endotelial para la trombina. La activación de la PC ocurre si la Tm se une a la trombina. La PS es el cofactor del sistema. La Tm inhibe la activación del fibrinógeno, FV y plaquetas por trombina, permite la activación de la PC por trombina y aumenta la inhibición de la trombina por AT. Así, convierte a la trombina procoagulante en anticoagulante.

Si hay exceso de trombina circulante inmediatamente la captura la Tm. El complejo trombina-Tm activa a la PC la cual se une a la PS en la superficie plaquetaria o endotelial e inhibe a los factores Va y VIIIa. Las deficiencias del sistema de la PC se manifiestan como trombosis. Junto a estas deficiencias existen defectos funcionales como la resistencia a la PCa (RPCa), alteración secundaria a diversas mutaciones del gen del FV. Además de la RPCa secundaria a mutaciones del FV, existe la RPCa adquirida que acompaña a una gran cantidad de patologías.

### **3. INHIBIDORES FIBRINOLÍTICOS**

La alfa2-antiplasmina, la deficiencia de este inhibidor se asocia con trombosis. El tPA se produce en el endotelio, hepatocitos y fibroblastos y se almacena en los gránulos plaquetarios alfa. Regula la fibrinólisis al inhibir al tPA y su deficiencia se asocia con hemorragia. Las lesiones ateroscleróticas contienen ARNm de esta proteína sugiriendo que interviene en la fisiopatología.

### **4. DEPURACIÓN DE FIBRINA, FACTORES Y COMPLEJOS ENZIMA-INHIBIDOR ACTIVADO**

El hígado y el sistema retículo endotelial remueven fibrina y factores complejos activados generados en la hemostasia. La perfusión hepática de FXa o FX lleva a la depuración casi inmediata del FXa pero deja circular al FX.

Los complejos activador - inhibidor como FXa-AT y aTP-laTP-1, se depuran rápidamente por el hígado. El bloqueo del sistema retículo endotelial induce coagulación intravascular diseminada al permitir la circulación de factores y/o complejos activados. Las células de Kupffer depuran la fibrina formada luego de infundir trombina.

## **2.2.6. ESTUDIO CITOMORFOLÓGICO DE EXTENDIDOS COLOREADOS**

El estudio citomorfológico de los extendidos coloreados de la sangre pone de manifiesto el producto final de un maravilloso y complicado proceso de maduración que tiene lugar en el sistema hematopoyético, y que se encuentra representado por los eritrocitos, los leucocitos, y las plaquetas.

81

### **A. ERITROCITOS O GLÓBULOS ROJOS**

Se denominan hematíes, glóbulos rojos o normocitos (normales en sangre). Son los elementos más numerosos de la sangre, de idéntico tamaño en condiciones normales y de 7 a 7,5u de diámetro por 2 ó 3u de espesor. Presenta forma de disco bicóncavo achatado, y un tono amarillento por el pigmento del que son portadores, la hemoglobina, que es acidófila y por lo tanto toma los colorantes ácidos (eosina). La zona central es más pálida.<sup>82</sup>

### **B. LEUCOCITOS O GLÓBULOS BLANCOS**

#### **1. SERIE GRANULOCÍTICA**

Por el aspecto del núcleo y el colorido de las granulaciones citoplasmáticas se clasifican en granulocitos neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Los granulocitos o polimorfonucleares son elementos maduros de la célula granulocítica de la médula ósea.

Tienen un núcleo dispuesto en lóbulos, unidos por delgados filamentos de cromatina de color rojo púrpura con refuerzos cromáticos más destacados (basicromatina). Normalmente hay entre

---

<sup>81</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 116.

<sup>82</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 117.

dos y cinco lóbulos; cuando la segmentación es mayor, se califica a la célula como pleocariocito (propio de las anemias megaloblásticas).<sup>83</sup>

#### **a) Granulocitos neutrófilos**

El citoplasma, débilmente acidófilo, se tiñe de color rosa pálido y está lleno de granulaciones de color rojo púrpura. El tamaño de estas células es de una y media a dos veces, la dimensión de los eritrocitos, es decir, de 12 a 15u de diámetro. Normalmente se encuentran otros granulocitos de núcleo no segmentado, los cuales se denominan granulocitos en cayado o bastón, o comúnmente, cayados, con las mismas características de los anteriores. Los granulocitos constituyen normalmente del 55 al 67%, mientras que las formas en cayado representan del 2 al 5%.

84

#### **b) Granulocitos eosinófilos**

Se caracterizan por tener un núcleo constituido generalmente por dos lóbulos (raramente 3 o 4), unidos por filamentos cromáticos. El citoplasma es ligeramente claro o azulado, con granulaciones voluminosas, esféricas, teñidas intensamente por la eosina de color rojo anaranjado. El tamaño de lo eosinófilos es similar al de los neutrófilos. Se encuentran normalmente en una proporción del 2 al 4%.<sup>85</sup>

#### **c) Granulocitos basófilos**

Tienen un núcleo lobulado y con cromatina gruesa. Son menos coloreados que los neutrófilos, de citoplasma color rosa pálido, y están cargados de gránulos de color azul muy oscuro, casi negro, que llegan a ocultar los detalles nucleares. Su tamaño es semejante al de los neutrófilos. La concentración normal oscila entre 0,5 y 1%.<sup>86</sup>

---

<sup>83</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 117.

<sup>84</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 117.

<sup>85</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 117.

<sup>86</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 117.

## 2. SERIE LINFOCÍTICA

Los linfocitos son células pequeñas, de 6 a 12u de diámetro, de núcleo esférico o a veces oval, escotado, intensamente basófilo, que se colorea de rojo violeta oscuro, y de estructura cromática muy densa. El citoplasma es de color azul pálido, y en algunos casos presenta granulaciones rojizas azurófilas. De acuerdo con el tamaño, se distinguen tres clases de linfocitos: pequeños, medianos y grandes. Normalmente representan del 20 al 30% de los leucocitos.<sup>87</sup>

## 3. SERIE MONOCÍTICA

Los monocitos son las células sanguíneas de mayor tamaño: miden de 15 a 20u de diámetro. Tienen un núcleo con red cromática fina y delicada, de forma variable: redondo con pequeñas escotaduras, intensamente lobulado o en herradura. Su citoplasma, de color gris azulado característico, es ancho y está repleto de un polvo de granulación azurófila; en algunos se aprecian vacuolas en la periferia. Normalmente se encuentran en la proporción de 4 a 8% de los leucocitos.<sup>88</sup>

## C. TROMBOCITOS O PLAQUETAS

Estas células son las más pequeñas de la sangre, pues miden 2u de diámetro. Presentan un citoplasma azul transparente, hialino, sin formación nuclear y repleta de granulación azurófila. Se hallan como término medio de 200.000 a 300.000 por  $\text{mm}^3$ , según el método empleado.<sup>89</sup>

---

<sup>87</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 118.

<sup>88</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 118.

<sup>89</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 118.

## 2.2.7. EL FROTIS DE LA SANGRE PERIFÉRICA EN LAS ENFERMEDADES MÁS FRECUENTES

### A. ERITROCITO NORMAL

El eritrocito mide aproximadamente 7µm de diámetro; debido a su forma bicóncava, se aprecia una palidez central que corresponde a una tercera parte de su diámetro. Una forma sencilla de valorar su tamaño es compararlo con el núcleo del linfocito, que en condiciones normales es casi de la misma dimensión. Aparecen como las células más abundantes en el frotis de sangre periférica.<sup>90</sup>

### B. NEUTRÓFILO

Los neutrófilos pueden ser, según las características de su núcleo, bandas o segmentados. Cuando el núcleo está separado por filamentos, es un neutrófilo segmentado. Un neutrófilo maduro tiene un diámetro de 12 a 14µm y un núcleo multilobulado característico. Normalmente el núcleo tiene un máximo de tres segmentos. El citoplasma está ligeramente teñido con presencia de gránulos azurófilos. El neutrófilo es el leucocito más abundante en sangre periférica; comprende del 35 al 70% del total.

Se llama neutrofilia al aumento de número de neutrófilos en sangre, para la cual existen múltiples causas: movilización de la reserva marginal, frecuente en situaciones de estrés; condiciones fisiológicas como ejercicio, tensión emocional, trabajo de parto, menstruación; en infecciones agudas generalizadas y localizadas; procesos inflamatorios; trastornos mieloproliferativos, como en la leucemia granulocítica crónica, o administración de esteroides, como la prednisona.

La neutropenia corresponde a una producción reducida o consumo aumentado de neutrófilos. Causas de neutropenia absoluta incluyen medicamentos (inmunosupresores, antineoplásicos, analgésicos antiinflamatorios, antibióticos, antitiroideos, sulfamidas), infecciones (parvovirus, fiebre tifoidea, paludismo, tuberculosis, hepatitis), enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso, artritis reumatoidea).

---

<sup>90</sup> Jaime J. Ibid. Pág. 279.

La neutropenia acompañada de anemia, trombocitopenia, o de ambas, ocurre en la hipoplasia medular, las leucemias agudas, la anemia megaloblástica, el hiperesplenismo y la administración de quimioterapia.<sup>91</sup>

### C. LINFOCITO

Los linfocitos son células de 6 a 9µm de diámetro, con núcleo ovoide o redondo que ocupa casi el 90% de la célula; el citoplasma se observa ligeramente basófilo. Es la segunda células más abundante de los leucocitos, de 20 a 50%.

Se observa linfocitosis en infecciones virales (mononucleosis infecciosa, hepatitis, parotiditis, rubeola, hepatitis, varicela); por micobacterias, sífilis, toxoplasma, brucelosis; infecciones crónicas, leucemia linfocítica crónica.

La linfopenia se advierte en infecciones virales como la debida al VIH, enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso diseminado, uso de quimioterapia, ingesta de esteroides, etcétera.<sup>92</sup>

### D. EOSINÓFILO

Los eosinófilos tienen un diámetro de 12 a 17µm; se les reconoce fácil por sus grandes gránulos densamente concentrados, que se tiñen de color naranja o rojo brillante; tiene un núcleo único y generalmente bilobulado. Los eosinófilos varían de 0 a 5% de los leucocitos, por lo que en algunas ocasiones no es fácil observarlos.

Eosinofilia es el aumento de eosinófilos en la sangre; la causas más frecuentes son enfermedades parasitarias, medicamentos, reacciones alérgicas, neoplasias como linfoma, o idiopática, cuando no se determina la causa. Puede ser normal no encontrar eosinófilos en el frotis de sangre periférica.<sup>93</sup>

---

<sup>91</sup> Jaime J. Ibid. Págs. 279-280.

<sup>92</sup> Jaime J. Ibid. Pág. 280.

<sup>93</sup> Jaime J. Ibid. Pág. 280.

## E. BASÓFILO

Los basófilos tienen un diámetro de 10 a 14µm; se caracterizan por sus grandes gránulos citoplasmático color azul intensamente oscuro que con frecuencia ocultan el núcleo bilobulado. Comprenden del 0 al 2% de los leucocitos en la sangre, y al igual que los eosinófilos, no es posible determinar basilopenia.

Es posible encontrar basofilia en procesos alérgicos, como hipersensibilidad a alimentos o medicamentos; procesos inflamatorios, como la colitis ulcerosa; endocrinopatías, como el hipotiroidismo; infecciones, como gripe, sarampión y tuberculosis, y en enfermedades mieloproliferativas, como leucemia granulocítica crónica, policitemia vera, mielofibrosis y trombocitosis.<sup>94</sup>

## F. MONOCITO

Los monocitos son células grandes de 15 a 20µm de diámetro; tienen un citoplasma pálido y vacuolado; el núcleo es irregular; con frecuencia presenta una muesca en uno de sus lados. Comprende 1 a 5% de los leucocitos.

La monocitosis sugiere la presencia de una infección crónica (tuberculosis, brucelosis, endocarditis, paludismo, rickettsiosis), procesos inflamatorios crónicos (colitis ulcerosa, enteritis regional, sarcoidosis), o una neoplasia maligna (enfermedad de Hodgkin, leucemia aguda).

La monocitopenia ocurre en la aplasia de la médula ósea, leucemia de células peludas o tricoleucemia, y en la terapia con esteroides.<sup>95</sup>

## G. PLAQUETAS

Las plaquetas son fragmentos del citoplasma de sus precursores: los megacariocitos; su diámetro varía de 1 a 4µm; adquieren un tinte basófilo. Las causas de la trombocitopenia incluyen la púrpura trombocitopénica idiopática, hiperesplenismo, leucemia aguda, anemia aplásica, anemia

---

<sup>94</sup> Jaime J. Ibid. Pág. 280.

<sup>95</sup> Jaime J. Ibid. Pág. 280.

megaloblástica, púrpura trombocitopénica trombótica, lupus eritematoso diseminado y administración de citotóxicos, entre otras.

Las causas de la trombocitosis son: hemorragia aguda, deficiencia de hierro, post-esplenectomía, enfermedades inflamatorias crónicas y neoplasias.<sup>96</sup>

### **2.2.8. ANTICOAGULANTES USADOS EN LABORATORIO**

Para casi todo el trabajo hematológico y para muchas determinaciones se emplea sangre sin coagular. Ello exige el uso de anticoagulantes, los cuales impiden que el calcio actúe en la coagulación, sea precipitándolo como la sal insoluble (Oxalatos) o fijándolo en forma no ionizada (Citrato, EDTA). La Heparina actúa como agente antitrombínico, o sea neutraliza a la trombina.<sup>97</sup>

#### **A. SECUESTRENE**

Es la sal disódica o dipotásica del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Por quelación impide que se ionice el calcio y ejerce una acción anticoagulante muy intensa. Tiene muchas ventajas en hematología; por ejemplo, pueden hacerse recuentos de glóbulos blancos y rojos al cabo de muchas horas, así como también buenos extendidos con morfología satisfactoria de eritrocitos y leucocitos. Asimismo, permite efectuar recuentos de plaquetas, ya que impide que se aglutinen o adhieran las superficies.

Es considerado como el mejor anticoagulante para hematología, y las muestras se pueden conservar toda la noche a 4°C en el refrigerador, sin inconvenientes. Para las técnicas habituales se emplea en la concentración 1 ó 2mg de sal por cada mililitro de sangre, con la que debe mezclarse bien. Corrientemente se prepara una solución al 10% de EDTA (sal potásica), se pone 0,1mL de esta solución (para 5mL de sangre) en tubos o frascos y se evapora a sequedad en estufa a 37°C.<sup>98</sup>

---

<sup>96</sup> Jaime J. Ibid. Pág. 280.

<sup>97</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 108.

<sup>98</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 109.

## B. OXALATO DE POTASIO

Se utiliza frecuentemente en la proporción de 0,01mL de una solución al 30% por cada mililitro de sangre; se debe colocar en la estufa a 37°C para evaporar todo el agua y que quede el polvo seco.<sup>99</sup>

## C. OXALATO DE AMONIO Y POTASIO

Se conoce con el nombre de sal Heller y Paul o Wintrobe. Consiste en oxalato de amonio 1,2g.; oxalato de potasio 0,8g, agua destilada 100mL. De esta mezcla se emplea 0,1mL por cada mililitro de sangre; se debe evaporar a sequedad en estufa a 37°C. Tiene la ventaja de su fácil preparación y suministra muestras de sangre adecuadas para la medición de la hemoglobina, recuento de glóbulos blancos y rojos, hematocrito, glucemia, etcétera, pero no para la determinación del nitrógeno ni proteico ni de la urea, puesto que la sal de amonio contiene nitrógeno.

Su principal desventaja es que los extendidos sanguíneos no pueden hacerse después de 5 minutos porque el oxalato produce degeneración nuclear de los leucocitos y aparecen vacuolas citoplasmáticas en los granulocitos, cuyos lóbulos nucleares se juntan hasta formar una masa esférica. Los núcleos de los linfocitos y monocitos puede presentar prolongaciones y hasta dividirse en lóbulos; además, ocasiona plasmólisis de los glóbulos rojos.<sup>100</sup>

## D. CITRATO TRISÓDICO

Se usa en solución acuosa al 3,8% (P/V); es isotónica y se emplea para una parte de solución de citrato y cuatro partes de sangre para la velocidad de sedimentación globular de Westergren; y una parte de citrato y nueve de sangre para el estudio de los trastornos de la coagulación.<sup>101</sup>

---

<sup>99</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 108.

<sup>100</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 108.

<sup>101</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 109.

## **E. FLUORURO DE SODIO**

Se combina con el calcio y actúa como veneno enzimático potente. No solamente es utilizado como anticoagulante, sino también como conservador, sobre todo para valorar la glucosa de la sangre y el LCR (líquido cefalorraquídeo) cuando se tiene que esperar unas horas entre la toma de la muestra y el análisis. Se emplean 10mg de fluoruro de sodio por mililitro de sangre y puede añadirse 1mg de timol si se quiere detener la acción bacteriana (por ejemplo, en las muestras que se envían por correo).<sup>102</sup>

## **F. HEPARINA**

Es el mejor anticoagulante (seco) cuando se procura reducir al mínimo la hemólisis, para el estudio de electrolitos y de fragilidad de los glóbulos rojos. Se usa en cantidades de 0,1 a 0,2mg para cada mililitro de sangre; no altera el tamaño corpuscular ni el valor del hematocrito. No es satisfactoria cuando se hacen extendidos de sangre porque produce fondo azul en las preparaciones teñidas con el colorante de May-Grünwald-Giemsa.<sup>103</sup>

---

<sup>102</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 109.

<sup>103</sup> Guerci A. Ibid. Pág. 109.

## **CAPÍTULO III**

### **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

#### **3.1. POBLACIÓN Y MUESTRA**

##### **3.1.1. POBLACIÓN**

Estudiantes universitarios de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas Filial Arequipa, del I a X ciclo del año 2015.

##### **3.1.2. MUESTRA**

Se trabajó con 34 estudiantes universitarios voluntarios de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas Filial Arequipa a los que se les extrajo sangre, constituyendo cada muestra sanguínea su propio CONTROL, BLANCO y EXPERIMENTAL. Los criterios de inclusión fueron:

- Estudiantes voluntarios.
- Edad entre 20 a 40 años.
- Aparentemente sanos.
- Sin antecedentes de coagulopatías de acuerdo al interrogatorio realizado (Anexo N° 4).
- Que no reciban y/o hayan recibido tratamiento medicamentoso. (Anexo N° 4).

### 3.2. NIVEL DE CONFIANZA Y GRADO DE SIGNIFICANCIA

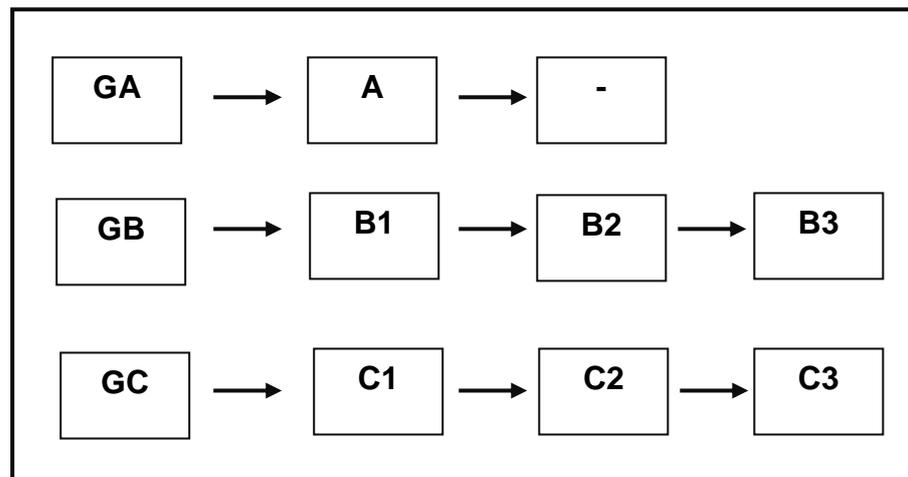
Para contrastar la hipótesis se utilizó un nivel de significancia de 95% y error permisible como 0.05, donde el valor de ( $p > 0.05$ ). (Anexo N° 6).

### 3.3. TAMAÑO DE LA MUESTRA REPRESENTATIVA

El tamaño de la muestra vegetal fue 1Kg. de hojas frescas de ruda (*Ruta graveolens L.*) para la elaboración del extracto obtenido por el método de extracción mecánica por expresión.

El tamaño de muestra fue conformado por 34 muestras de sangre, donde cada muestra fue su propio BLANCO, CONTROL y EXPERIMENTAL. Según el Gráfico N° 5.

**Gráfico N° 5: Distribución de grupos de trabajo.**



Fuente: Elaboración propia.

#### **Leyenda:**

**GA:** Grupo BLANCO de muestras de sangre sin anticoagulante, obtenidos de estudiantes universitarios voluntarios de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas Filial Arequipa.

**GB:** Grupo CONTROL de muestras de sangre con anticoagulante EDTA al 10%, obtenidos de estudiantes universitarios voluntarios de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas Filial Arequipa.

**GC:** Grupo EXPERIMENTAL de muestras de sangre con anticoagulante Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*), obtenidos de estudiantes universitarios voluntarios de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas Filial Arequipa.

**A:** Determinación del efecto coagulante a las muestras de sangre del Grupo BLANCO por el método de Lee –White.

**B1:** Determinación del efecto anticoagulante a las muestras de sangre del Grupo CONTROL a los 0 minutos mediante la observación y la realización del hemograma manual.

**B2:** Determinación del efecto anticoagulante a las muestras de sangre del Grupo CONTROL a los 15 minutos mediante la observación y la realización del hemograma manual.

**B3:** Determinación del efecto anticoagulante a las muestras de sangre del Grupo CONTROL a los 45 minutos mediante la observación y la realización del hemograma manual.

**C1:** Determinación del efecto anticoagulante a las muestras de sangre del Grupo EXPERIMENTAL a los 0 minutos mediante la observación y la realización del hemograma manual.

**C2:** Determinación del efecto anticoagulante a las muestras de sangre del Grupo EXPERIMENTAL a los 15 minutos mediante la observación y la realización del hemograma manual.

**C3:** Determinación del efecto anticoagulante a las muestras de sangre del Grupo EXPERIMENTAL a los 45 minutos mediante la observación y la realización del hemograma manual.

### 3.4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 3.4.1. RECOLECCIÓN, SELECCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL

##### A. RECOLECCIÓN DE RUDA (*Ruta graveolens L.*)

El material vegetal fue recolectado según se detalla en el Cuadro N° 9. En las Figuras N° 1 y N° 2 se muestra a la ruda (*Ruta graveolens L.*) en su estado natural.

**Cuadro N° 9: Localidad, coordenadas, hora y fecha de recolección.**

<b>Ruda (<i>Ruta graveolens L.</i>)</b>	<b>Localidad:</b> Pueblo de Yumina situado a una altitud de 2552 m.s.n.m., perteneciente al Distrito de Sabandía de la Provincia de Arequipa y Región de Arequipa.	<b>Parte utilizada:</b> Hojas <b>Hora de recolección:</b> 7:00 a.m. <b>Fecha de recolección:</b> 19 de febrero del 2015.
---	---	---

Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 1: Campo de recolección de la muestra vegetal.**



Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 2: Estado natural de ruda (*Ruta graveolens* L.).**



Fuente: Elaboración propia.

### **B. DESECACIÓN DE RUDA (*Ruta graveolens* L.)**

El material vegetal recolectado fue desecado bajo sombra, a temperatura de 20 a 25°C, humedad relativa y protegida de la luz, con buena circulación de aire, como se observa en la Figura N° 3. Considerando las fechas desde 19 al 24 de febrero del año 2015.

**Figura N° 3: Ruda (*Ruta graveolens* L.) desecada.**



Fuente: Elaboración propia.

### C. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO DE RUDA (*Ruta graveolens* L.)

Se obtuvo 25mL de extracto de ruda (*Ruta graveolens* L.) concentrado a partir de 1 Kg. de hojas frescas siguiendo el método de extracción mecánica como se observa en la Figura N° 4. Fechas del 19 al 20 de febrero del año 2015.

**Figura N° 4: Extracto de ruda (*Ruta graveolens* L.).**



Fuente: Elaboración propia.

### 3.4.2. ENSAYOS DE IDENTIFICACIÓN DE RUDA (*Ruta graveolens* L.)

#### A. ENSAYOS ORGANOLÉPTICOS

El ensayo organoléptico se realizó el 18 de febrero del 2015 antes de la recolección, procediendo al llenado del Cuadro N° 10.

**Cuadro N° 10: Ensayos organolépticos de ruda (*Ruta graveolens* L.).**

<b>CARACTERES ORGANOLÉPTICOS DE LAS HOJAS DE RUDA (<i>Ruta graveolens</i> L.)</b>	
<b>OLOR</b>	Olor intenso característico que resulta picante y desagradable.
<b>COLOR</b>	Verde glauco.
<b>SABOR</b>	Ligeramente picante, aromático

Fuente: Elaboración propia.

## B. ENSAYOS BOTÁNICOS

### 1. ANÁLISIS MACROSCÓPICO Y/O MORFOLÓGICO

El ensayo macroscópico y/o morfológico se realizó el 18 de febrero del 2015 antes de la recolección según la Figura N° 5 y se procedió al llenado del Cuadro N° 11.

**Figura N° 5: Análisis macroscópico y/o morfológico de ruda (*Ruta graveolens* L.).**



Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro N° 11: Ensayo macroscópico y/o morfológico de ruda (*Ruta graveolens* L.).**

<b>ANÁLISIS MACROSCÓPICO Y/O MORFOLÓGICO DE RUDA (<i>Ruta graveolens</i> L.)</b>	
<b>CARACTERES</b>	<b>OBSERVACIÓN</b>
<b>ALTURA</b>	De 40 a 90 centímetros.
<b>TALLOS</b>	Leñoso en la base, ramoso y erecto. Rígidos y redondos.
<b>HOJAS</b>	Consistencia algo carnosa, alternas, de color verde azulado, con manchas negras en el envés. No hay pelos y textura tersa.
<b>INFLORESCENCIAS</b>	Las flores se agrupan en umbelas.
<b>FLORES</b>	Las flores dispuestas en inflorescencias de tipo umbelar poseen 4 o 5 pétalos de color amarillo verdoso.
<b>FRUTOS</b>	Son cápsulas redondeadas con cinco lóbulos, sin presencia de pelos.
<b>SEMILLAS</b>	Numerosas semillas reniformes de color negro con ausencia de pelos.
<b>ÓRGANOS SUBTERRÁNEOS</b>	No presenta.

Fuente: Fuente: Elaboración propia.

## 2. ANÁLISIS MICROSCÓPICO

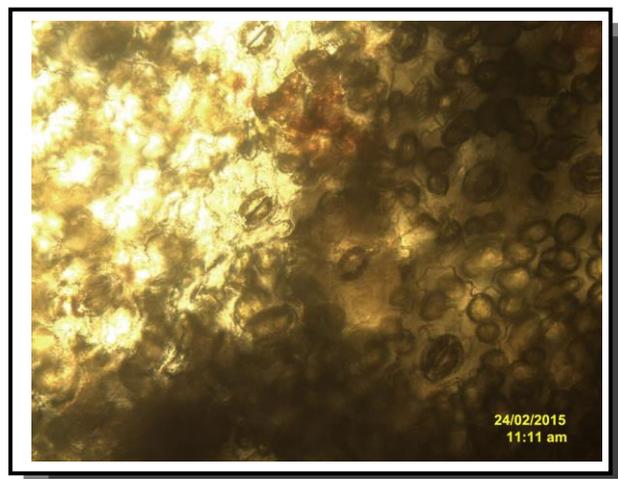
El análisis microscópico se realizó en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas filial Arequipa, y, consistió en observar cortes histológicos de la hoja de ruda (*Ruta graveolens L.*), como se muestra en las Figuras N° 6, 7, 8, 9 y 10. El resultado de los elementos observados figura en el Cuadro N° 12. Fecha 24 de febrero del año 2015.

**Cuadro N° 12: Análisis microscópico de las hojas de ruda (*Ruta graveolens L.*).**

<b>Ruda (<i>Ruta graveolens L.</i>)</b>	Almidón	Lugol	(-) Granos de fécula o almidón color azul oscuro.
	Tricomas epidérmicos	Hidrato cloral	(-) No hay presencia de tricomas o pelos
	Oxalato de calcio	Hidrato cloral	(+) Cristales
	Grasas	Sudán III	(+) Grasas de color rojo anaranjado.
	Estomas	Agua destilada	(+) Estoma tipo paracítico.
Agua destilada		(+) Numerosos y grandes depósitos de glándulas secretoras de esencia.	

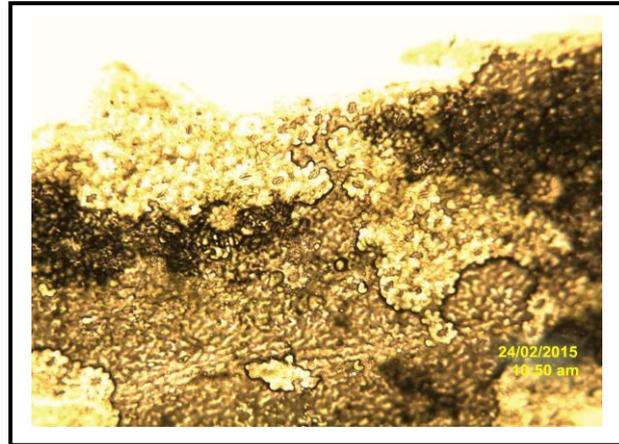
Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 6: Análisis microscópico negativo de almidón en la ruda (*Ruta graveolens L.*).**



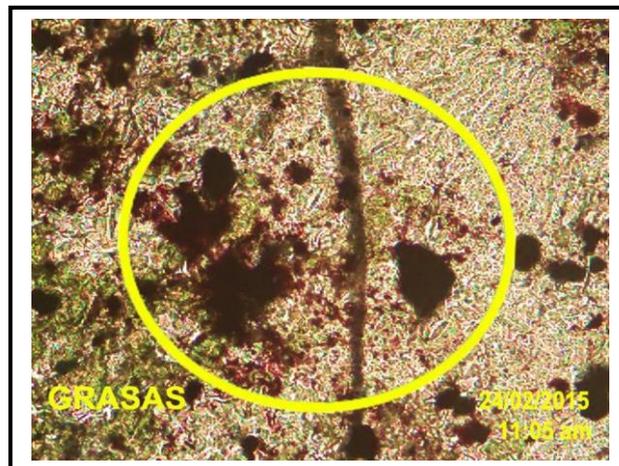
Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 7: Análisis microscópico negativo de tricomas epidérmicos y oxalato de calcio en la ruda (*Ruta graveolens* L.).**



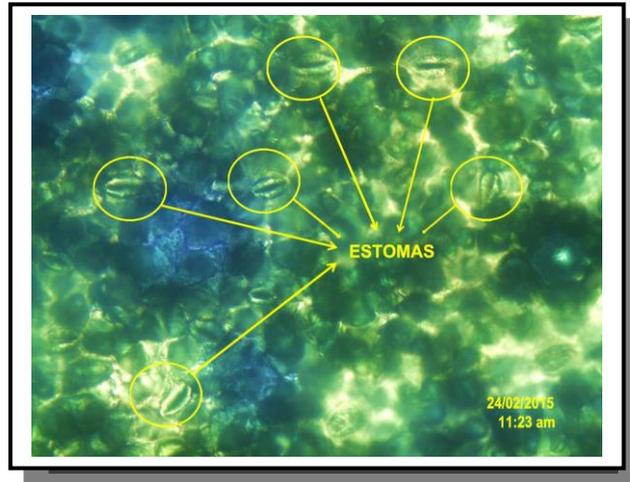
Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 8: Análisis microscópico positivo de grasas en la ruda (*Ruta graveolens* L.).**



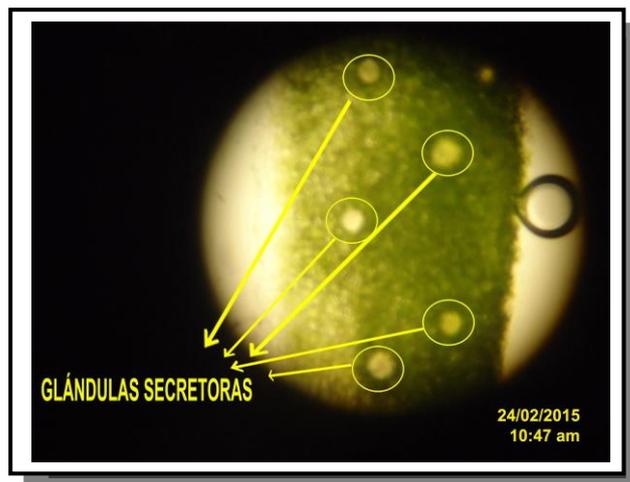
Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 9: Análisis microscópico positivo de estomas en la ruda (*Ruta graveolens* L.).**



Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 10: Análisis microscópico positivo de glándulas secretoras de esencia en la ruda (*Ruta graveolens* L.).**



Fuente: Elaboración propia.

### 3. ENSAYOS FISICOQUÍMICOS CUALITATIVOS

#### a) IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN LA RUDA (*Ruta graveolens L.*)

La identificación de metabolitos secundarios como alcaloides (Figuras N° 11, 12), saponinas (Figura N° 13), taninos (Figura N° 14) y flavonoides (Figura N° 15), realizado en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas filial Arequipa el 25 al 26 de febrero del año 2015, obteniéndose los siguientes resultados en el Cuadro N° 13.

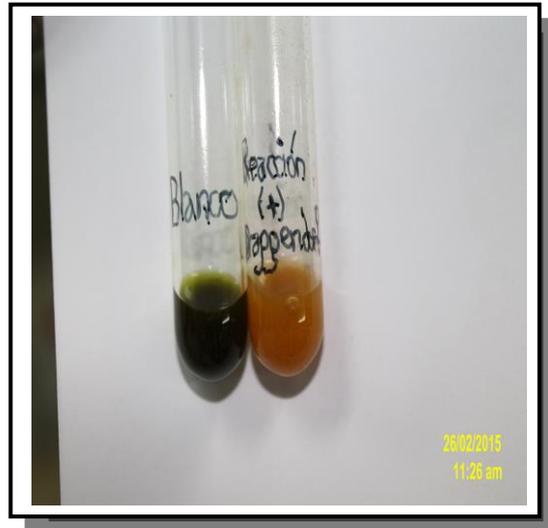
**Cuadro N° 13: Identificación de metabolitos secundarios.**

<b>METABOLITO SECUNDARIO</b>	<b>REACTIVO</b>	<b>RESULTADO</b>
<b>Alcaloides</b>	Dragendorff	(+) Coloración rojo anaranjado.
	Mayer	(+) Precipitado color crema.
<b>Saponinas</b>	Prueba de la Espuma	(+) Formación de espuma.
<b>Taninos</b>	Cloruro férrico	(+) Coloración verde negruzca.
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	(+) Coloración roja anaranjado.

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro N° 13 muestra que la ruda (*Ruta graveolens L.*) presentó una reacción positiva para alcaloides, saponinas, taninos y flavonoides.

**Figura N° 11: Análisis cualitativo de alcaloides con reacción positiva - coloración rojo anaranjado, mediante el reactivo de Dragendorff en la ruda (*Ruta graveolens* L.).**



Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 12: Análisis cualitativo de alcaloides con reacción positiva – precipitado color crema, mediante el reactivo de Mayer en la ruda (*Ruta graveolens* L.).**



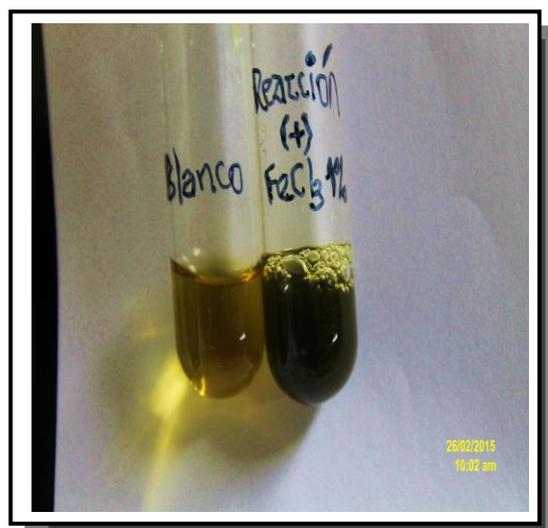
Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 13: Análisis cualitativo positivo de saponinas con reacción positiva – formación de espuma, mediante la Prueba de la espuma en la ruda (*Ruta graveolens* L.).**



Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 14: Análisis cualitativo positivo de taninos con reacción positiva – coloración verde negruzca, mediante el reactivo de Cloruro férrico en la ruda (*Ruta graveolens* L.).**



Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 15: Análisis cualitativo positivo de flavonoides con reacción positiva – coloración rojo anaranjado, mediante el reactivo de Shinoda en la ruda (*Ruta graveolens L.*).**



Fuente: Elaboración propia.

## b) IDENTIFICACIÓN CUALITATIVA DE CUMARINAS

Las cumarinas se determinaron por dos métodos:

### IDENTIFICACIÓN DE CUMARINAS VOLÁTILES

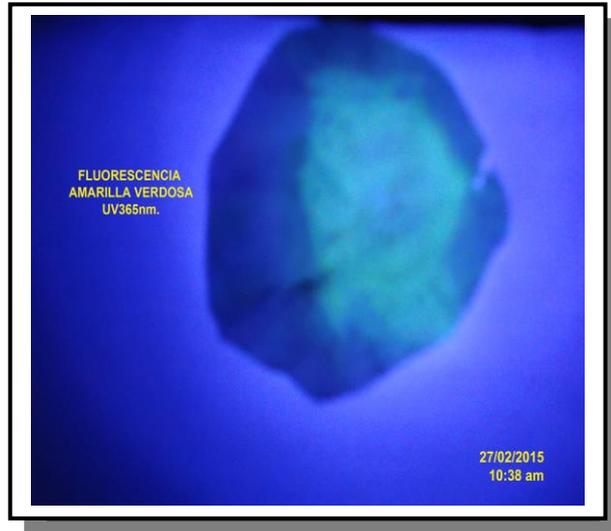
Las cumarinas volátiles se identificaron siguiendo el procedimiento que aparece en el Cuadro N° 14. Mostrando como resultados en la Figura N° 16. Fecha 27 de febrero del año 2015.

**Cuadro N° 14: Identificación de cumarinas volátiles.**

<b>CUMARINAS VOLÁTILES.</b>	0.5g. muestra seca + 5mL. agua destilada.	Papel filtro humedecido con NaOH 10%. + Ebullición.	Evaluar a 365nm.  (+) Fluorescencia amarilla-verdosa.
-----------------------------	---	---	---

Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 16: Fluorescencia amarilla verdosa con luz UV de 365nm. para la identificación de cumarinas volátiles.**



Fuente: Elaboración propia.

### **CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA PARA CUMARINAS**

Las cumarinas se identificaron por el método de cromatografía de capa fina según la Figura N° 17 y el Cuadro N° 15 y obteniendo resultados según el Cuadro N° 16. Fecha del 2 al 3 de marzo del año 2015.

**Cuadro N° 15: Procedimiento para la identificación de cumarinas por cromatografía de capa fina.**

<b>CUMARINAS.</b>	<p>Muestra seca desengrasada con éter de petróleo + Extracción con solución álcali + Cumarina padre es luego extraída con éter de petróleo + Se acidifica pH + Impurezas ácidas se removieron con NaHCO<sub>3</sub> ↓ Solución etérea fue concentrada.</p>	<p>Aspersar Color intensifica con HCl 2N.</p> <p>Evaluar a 365nm. (+) Fluorescencia</p> <p>Cumarinas violeta a azul Furanocumarinas rojizo marrón o amarillo.</p>
-------------------	--	---

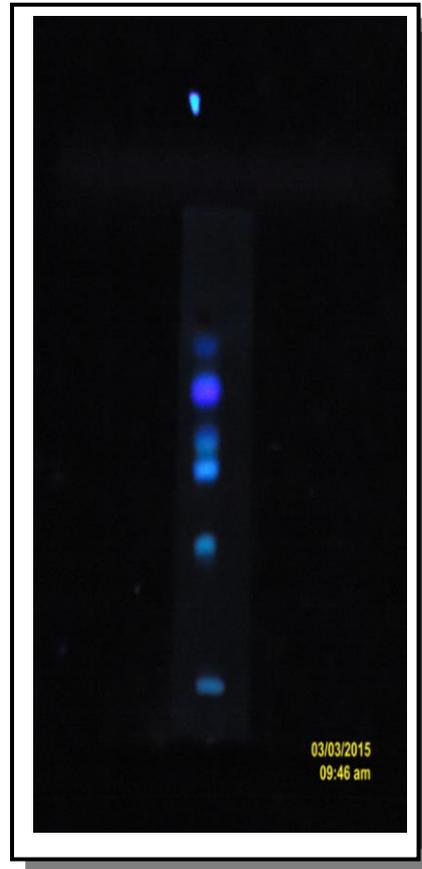
Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro N° 16: Análisis cromatográfico por capa fina de la ruda (*Ruta graveolens L.*).**

<b>Rf (RATIO OF FRONT) PARA CADA MANCHA</b>	<b>VALOR DEL Rf</b>
Rf <sub>1</sub>	0.38
Rf <sub>2</sub>	0.49
Rf <sub>3</sub>	0.54
Rf <sub>4</sub>	0.65
Rf <sub>5</sub>	0.73

Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 17: Cromatofolio irradiado con luz UV. 365nm., mostrando fluorescencia violeta a azul para la identificación cualitativa de cumarinas.**



Fuente: Elaboración propia.

### **3.4.3. SELECCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE MUESTRAS DE SANGRE**

Se cumplió los principios de Bioseguridad antes, durante y después de la toma de muestra sanguínea, se interrogó a cada paciente para el posterior llenado de la ficha de datos. (Anexo N° 1, 2, 3 y 4). Se realizó pruebas piloto para la determinación de la concentración del extracto según la Tabla N° 2. Además, se distribuyó cada muestra según el Gráfico N° 6 y la Figura N° 18. También se muestra la unidad de estudio según la Tabla N° 1. Fechas del 9 al 24 de marzo del año 2015.

**Tabla N° 1: Concentración del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) con efecto anticoagulante sobre la sangre obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**

TIEMPO DE COAGULACIÓN									
Concentración del extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) mL.	5 min.	10 min.	15 min.	20 min.	30 min.	1 hora	3 horas	5 horas	24 horas
	0.1mL.	NC	NC	NC	C	C	C	C	C
0.2mL.	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	C	C
0.3mL.*	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
0.4mL.	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
0.5mL.	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
0.6mL.	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
0.7mL.	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
0.8mL.	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
0.9mL.	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
1.0mL.	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC

Fuente: Elaboración propia.

C: Coagulación.

NC: No coagulación.

\*: Concentración de extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) con que se trabajó.

La tabla N° 1 refiere el efecto anticoagulante que presenta el extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*), se encontró que con la concentración de 0.3 mL. no produce coagulación de la sangre obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.

**Figura N° 18: Distribución de grupos de trabajo.**



Fuente: Elaboración propia.

#### 3.4.4. PREPARACIÓN DE LOS FRASCOS BLANCO, CONTROL Y EXPERIMENTAL

Se preparó 34 frascos para el grupo CONTROL y para el grupo EXPERIMENTAL cubiertos con papel aluminio, según el Cuadro N° 17 y Figuras N° 19 y 20. Fechas del 5 al 7 de marzo del año 2015.

**Cuadro N° 17: Preparación de los frascos blanco, control y experimental.**

GRUPO BLANCO	GRUPO CONTROL	GRUPO EXPERIMENTAL
Sin anticoagulantes	0.2mL. de EDTA 10%.	0.3mL. de Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ).
-	37°C por 24 horas.	50°C por 30 minutos.
3 Tubos de ensayo por cada muestra de sangre.	34 frascos.	34 frascos.

Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 19: Preparación de frascos para el grupo CONTROL.**



Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 20: Preparación de frascos para el grupo EXPERIMENTAL.**



Fuente: Elaboración propia.

### 3.4.5. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS DE SANGRE

Las muestras de sangre fueron tomadas en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas filial Arequipa, según las Figuras N° 21 y 22. Fechas del 9 al 24 de marzo del año 2015.

**Figura N° 21: Venopunción por el Método convencional con jeringa y aguja.**



Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 22: Obtención de muestras sanguíneas.**



Fuente: Elaboración propia.

### 3.4.6. CONTROL DEL TIEMPO DE COAGULACIÓN DEL GRUPO BLANCO

Se realizó por el método de Lee-White conforme se fue obteniendo muestras de sangre según la Figura N° 23 y teniendo un promedio del tiempo de coagulación según el Anexo N° 6. Fechas del 9 al 24 de marzo del año 2015.

**Figura N° 23: Control del tiempo de coagulación mediante el Método de Lee-White. (GRUPO BLANCO).**



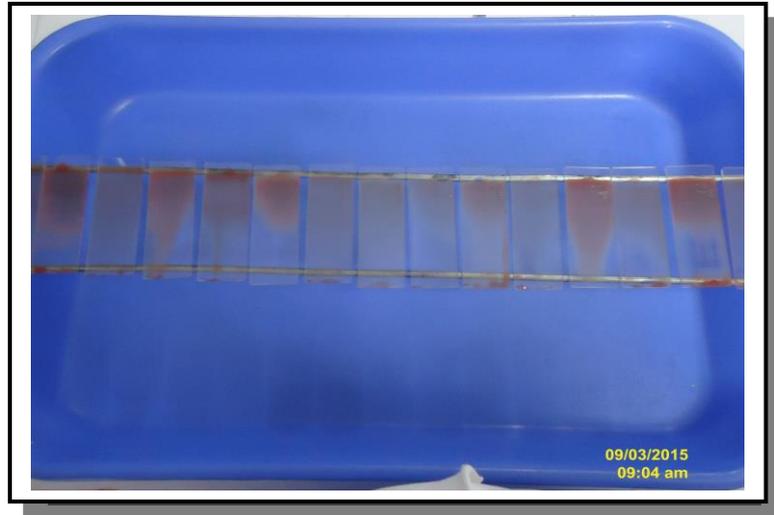
Fuente: Elaboración propia.

### 3.4.7. EXTENSIÓN, COLORACIÓN E INTERPRETACIÓN DE HEMOGRAMAS MANUALES

#### A. EXTENSIÓN DE LA MUESTRA

Se realizó un frotis por el método del portaobjetos o cuña para ambos grupos tanto el CONTROL y el EXPERIMENTAL. Este procedimiento se repitió a los 0 minutos, 15 minutos y 45 minutos para ambos casos de acuerdo a la Figura N° 24. Fechas del 9 al 24 de marzo del año 2015.

**Figura N° 24: Frotis sanguíneos obtenido a los 0 minutos, 15 minutos y 45 minutos por el Método de portaobjetos o cuña del grupo CONTROL y EXPERIMENTAL.**



Fuente: Elaboración propia.

## **B. COLORACIÓN DE LA MUESTRA**

Para la coloración se realizó el método de Tinción de Wright. Dicho proceso se repitió con las láminas coloreadas obtenidas de los frascos CONTROL y EXPERIMENTAL de tiempos 0 minutos, 15 minutos y 45 minutos para ambos casos de acuerdo a la Figura N° 25. Fechas del 9 al 24 de marzo del año 2015.

**Figura N° 25: Tinción de Wright de muestras sanguíneas obtenidas a los 0 minutos, 15 minutos y 45 minutos del grupo CONTROL y EXPERIMENTAL.**

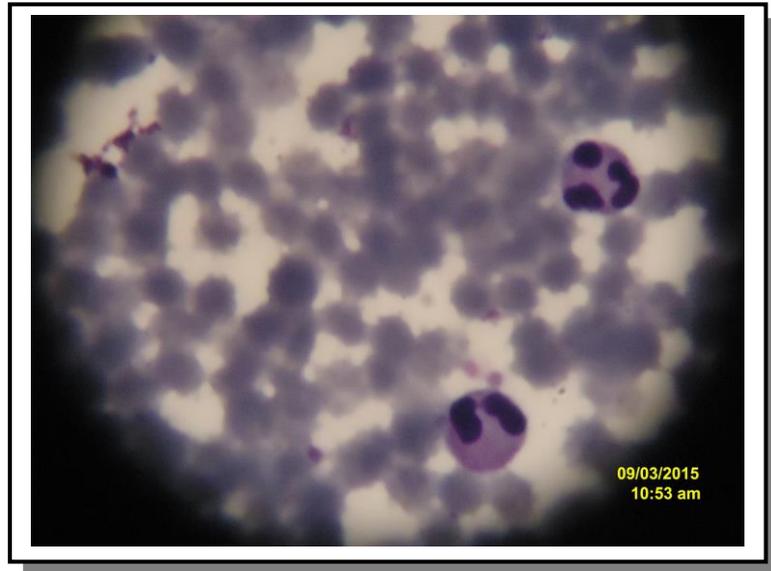


Fuente: Elaboración propia.

### **C. INTERPRETACIÓN DE HEMOGRAMAS MANUALES**

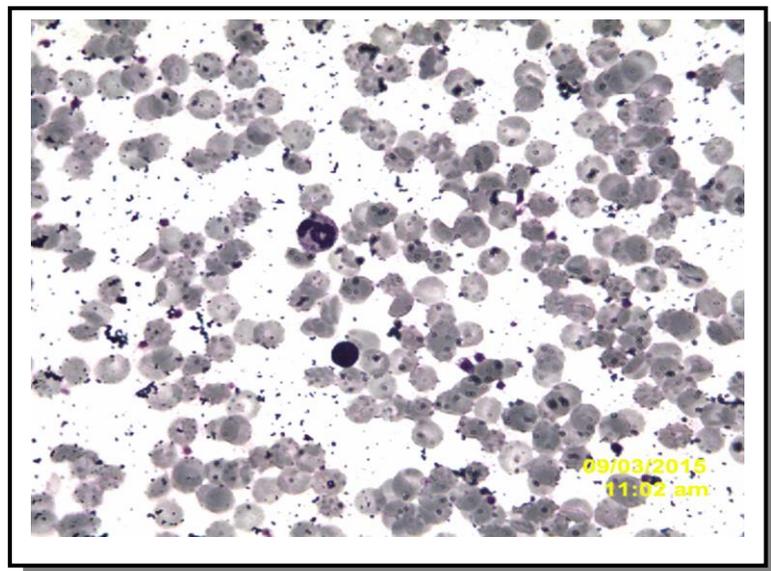
Para la interpretación de hemogramas se tomó en cuenta el campo donde las células sanguíneas estaban bien distribuidas y se valoró por el Método de Schilling observando el diámetro, la cantidad y la forma de los eritrocitos, también se observó características propias de las plaquetas las cuales se colocaron en la ficha de recolección de datos (Anexo N° 3), para su análisis y pruebas de significancia estadística. Según las Figuras N° 26, 27, 28, 29, 30 y 31. Fechas del 9 al 24 de marzo del año 2015.

**Figura N° 26: Valoración de hemogramas a partir del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) a los 15 minutos.**



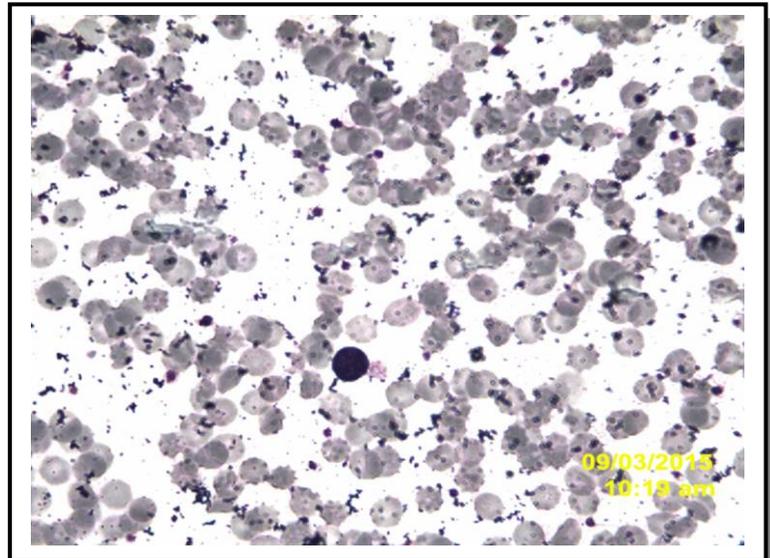
Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 27: Valoración de hemogramas a partir del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) a los 15 minutos.**



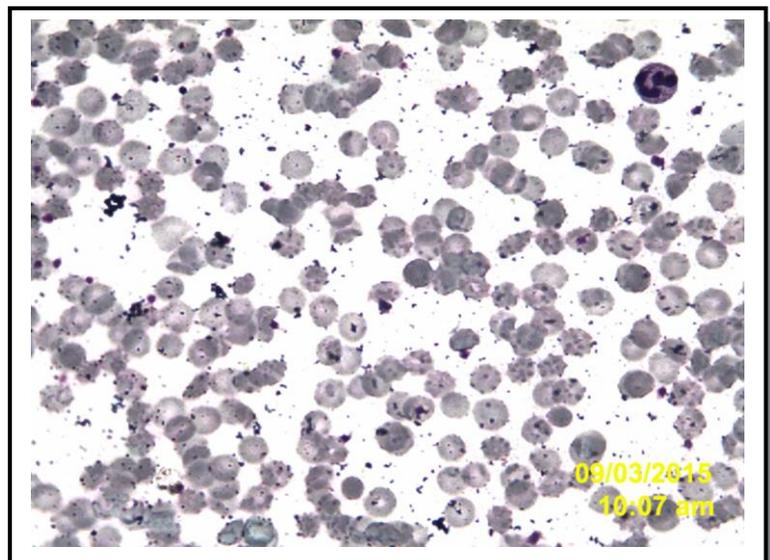
Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 28: Valoración de hemogramas a partir del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) a los 15 minutos.**



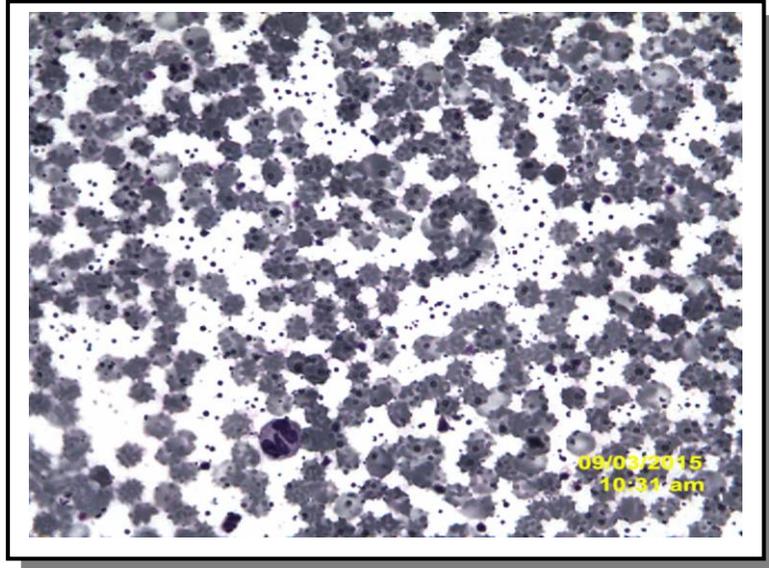
Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 29: Valoración de hemogramas a partir del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) a los 15 minutos.**



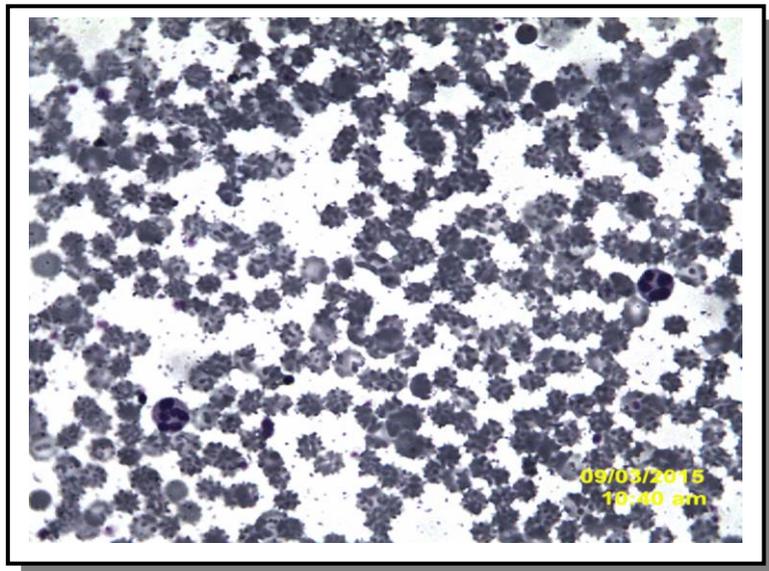
Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 30: Valoración de hemogramas a partir del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) a los 45 minutos.**



Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 31: Valoración de hemogramas a partir del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) a los 45 minutos.**



Fuente: Elaboración propia.

### 3.4.8. LECTURA DE HEMOGRAMAS

La valoración de los hemogramas manuales se muestra a continuación para cada célula sanguínea.

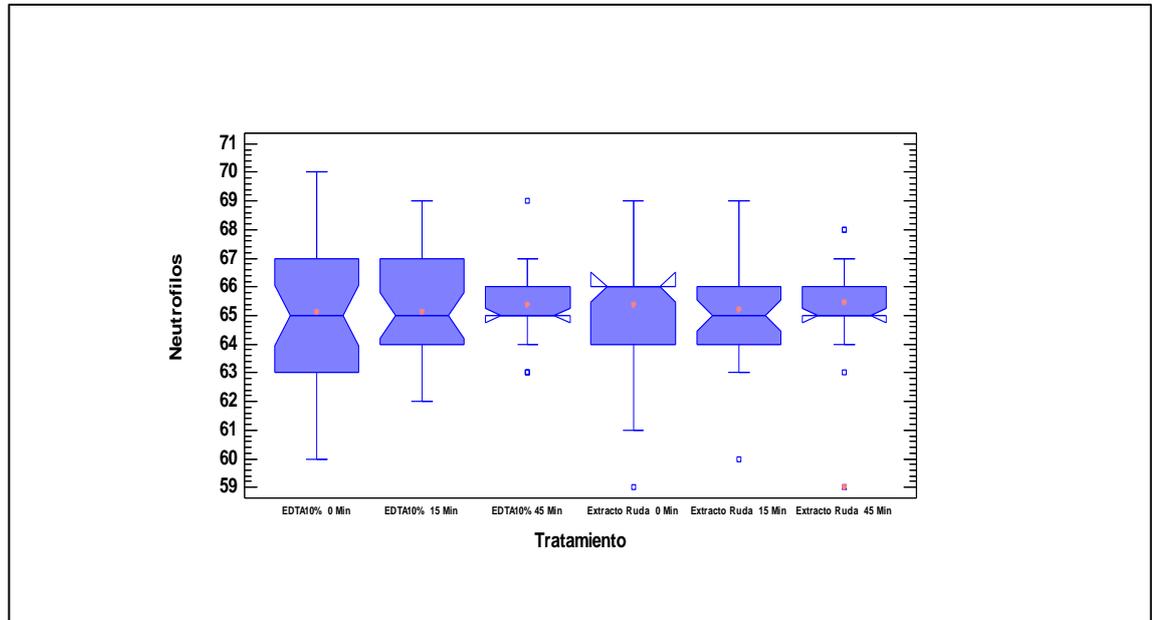
**Tabla N° 2: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre Neutrófilos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**

Tratamiento		Promedio +/- DS	Mediana	Tukey Significancia
GRUPO CONTROL	EDTA10% 0 Minutos	65.14 +/-2.37	65	A
	EDTA10% 15 Minutos	65.12 +/- 1.61	65	A
	EDTA10% 45 Minutos	65.38 +/-1.30	65	A
GRUPO EXPERIMENTAL	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 0 Minutos	65.38 +/- 1.96	65	A
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 15 Minutos	65.21 +/- 1.61	65	A
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 45 Minutos	65.47 +/- 1.60	65	A
Test de Fisher		Fc= 0.23	p>0.05	

Fuente: Matriz de datos.

En la Tabla N° 2, muestra resultados para Neutrófilos sometidos a tratamiento con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*). Al respecto se encontró diferencias no significativas en el recuento de Neutrófilos entre EDTA y Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*), tal como lo evidencia el Test de Fisher ANOVA (p>0.05). El Test de Tukey muestra que tanto con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) como de EDTA los promedios alcanzados están alrededor de 65 Neutrófilos. (Anexo N° 6).

**Gráfico N° 6: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre Neutrófilos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**



Fuente: Matriz de datos.

El Gráfico N° 6, muestra resultados para Neutrófilos sometidos a tratamiento con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) dando como promedio alrededor de 65 Neutrófilos. (Anexo N° 6).

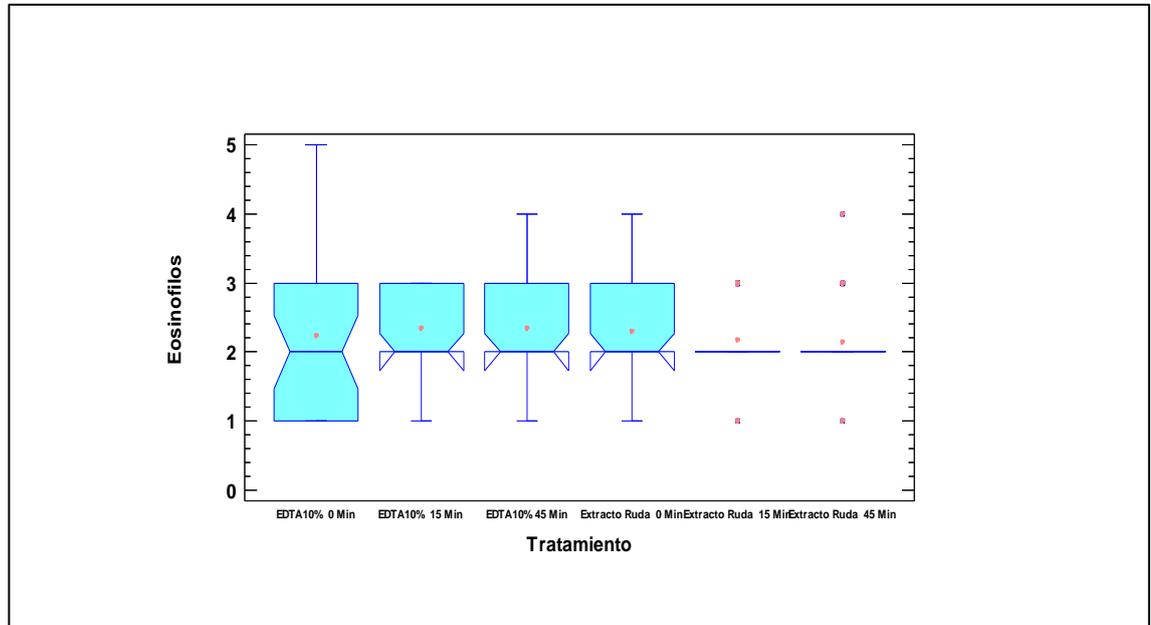
**Tabla N° 3: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre Eosinófilos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**

Tratamiento		Promedio +/- DS	Mediana	Tukey Significancia
<b>GRUPO CONTROL</b>	EDTA10% 0 Minutos	2.24 +/-1.07	2	A
	EDTA10% 15 Minutos	2.35 +/- 0.69	3	A
	EDTA10% 45 Minutos	2.35 +/-0.88	2	A
<b>GRUPO EXPERIMENTAL</b>	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 0 Minutos	2.29 +/- 0.63	2	A
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 15 Minutos	2.17 +/- 0.46	2	A
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 45 Minutos	2.15 +/- 0.50	2	A
Test de Fisher		Fc= 0.49	p>0.05	

Fuente: Matriz de datos.

También se determinó el efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre Eosinófilos, encontrándose diferencias no significativas en el número de Eosinófilos sometidos a tratamiento con EDTA y Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*). Según el Test de Fisher ANOVA ( $p>0.05$ ) y el Test de Tukey se encontró que con el Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) y EDTA se obtiene promedios de 2 Eosinófilos, tal como se muestra en la Tabla N° 3. (Anexo N° 6).

**Gráfico N° 7: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre Eosinófilos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**



Fuente: Matriz de datos.

El Gráfico N° 7, muestra resultados para Eosinófilos sometidos a tratamiento con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) dando como promedio alrededor de 2 Eosinófilos. (Anexo N° 6).

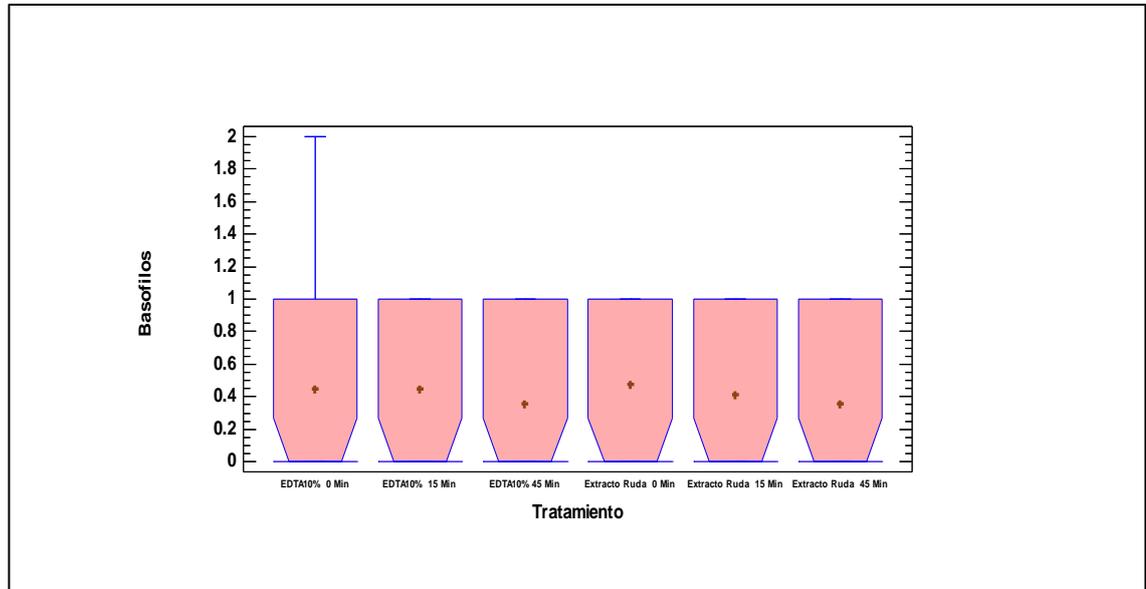
**Tabla N° 4: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre Basófilos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**

Tratamiento		Promedio +/- DS	Mediana	Tukey Significancia
GRUPO CONTROL	EDTA10% 0 Minutos	0.44 +/-0.56	0	A
	EDTA10% 15 Minutos	0.44 +/- 0.50	0	A
	EDTA10% 45 Minutos	0.35 +/-0.48	0	A
GRUPO EXPERIMENTAL	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 0 Minutos	0.47 +/- 0.51	0	A
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 15 Minutos	0.41 +/- 0.49	0	A
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 45 Minutos	0.35 +/- 0.48	0	A
Test de Fisher		Fc= 0.32	p>0.05	

Fuente: Matriz de datos.

Para el caso del estudio de Basófilos de sangre anticoagulada sometida a tratamiento con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*), se encontró que no existen diferencias significativas en el recuento de Basófilos a partir del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) y EDTA. Como lo muestra el Test de Fisher ANOVA ( $p>0.05$ ) y el test de Tukey los promedios fluctúan entre 0.44 +/-0.56 a 0.35+/-0.48. Tal como se muestra en la Tabla N° 4. (Anexo N° 6).

**Gráfico N° 8: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre Basófilos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**



Fuente: Matriz de datos.

El Gráfico N° 8, muestra resultados para Basófilos sometidos a tratamiento con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) dando como promedio entre 0.44 +/-0.56 a 0.35+/-0.48 Basófilos. (Anexo N° 6).

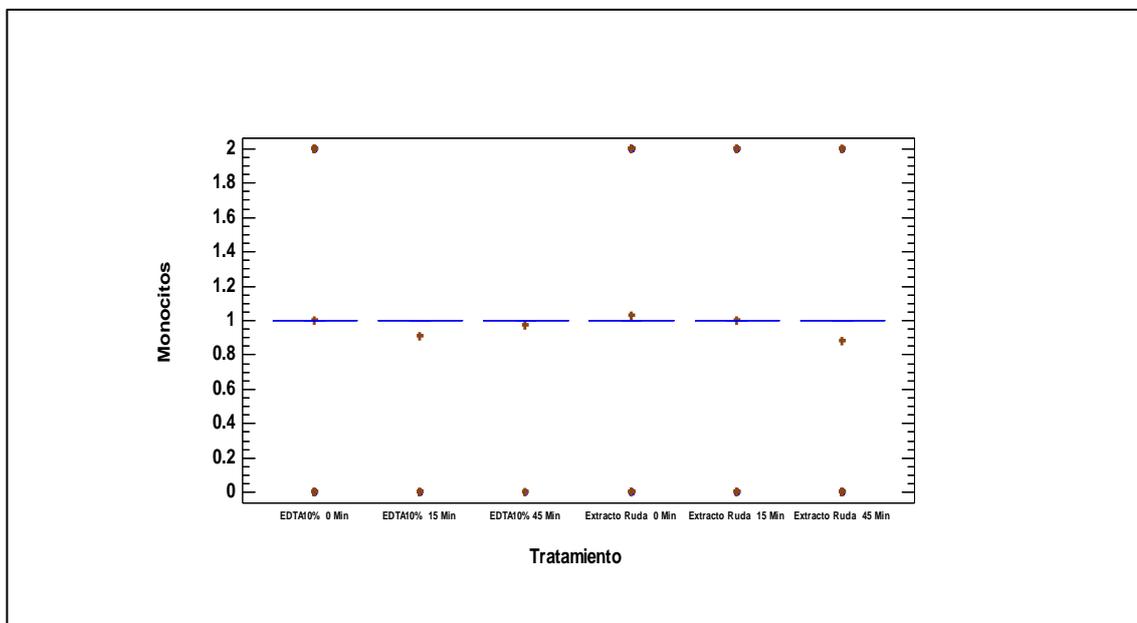
**Tabla N° 5: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre Monocitos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**

Tratamiento		Promedio +/- DS	Mediana	Tukey Significancia
<b>GRUPO CONTROL</b>	EDTA10% 0 Minutos	1.0 +/-0.55	1	A
	EDTA10% 15 Minutos	0.91 +/- 0.29	1	A
	EDTA10% 45 Minutos	0.97 +/-0.17	1	A
<b>GRUPO EXPERIMENTAL</b>	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 0 Minutos	1.03 +/- 0.57	1	A
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 15 Minutos	1.0 +/- 0.49	1	A
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 45 Minutos	0.88 +/- 0.48	1	A
Test de Fisher		Fc= 0.55	p>0.05	

Fuente: Matriz de datos.

También se evaluó el recuento de Monocitos de sangre anticoagulada con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*), encontrándose a través del Test de Fisher ANOVA diferencias no significativas para el recuento de Monocitos con tratamiento de EDTA y con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*), tal como se aprecia en la Tabla N° 5. (Anexo N° 6).

**Gráfico N° 9: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre Monocitos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**



Fuente: Matriz de datos.

El Gráfico N° 9, muestra resultados para Monocitos sometidos a tratamiento con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) encontrándose diferencias no significativas para el recuento de Monocitos. (Anexo N° 6).

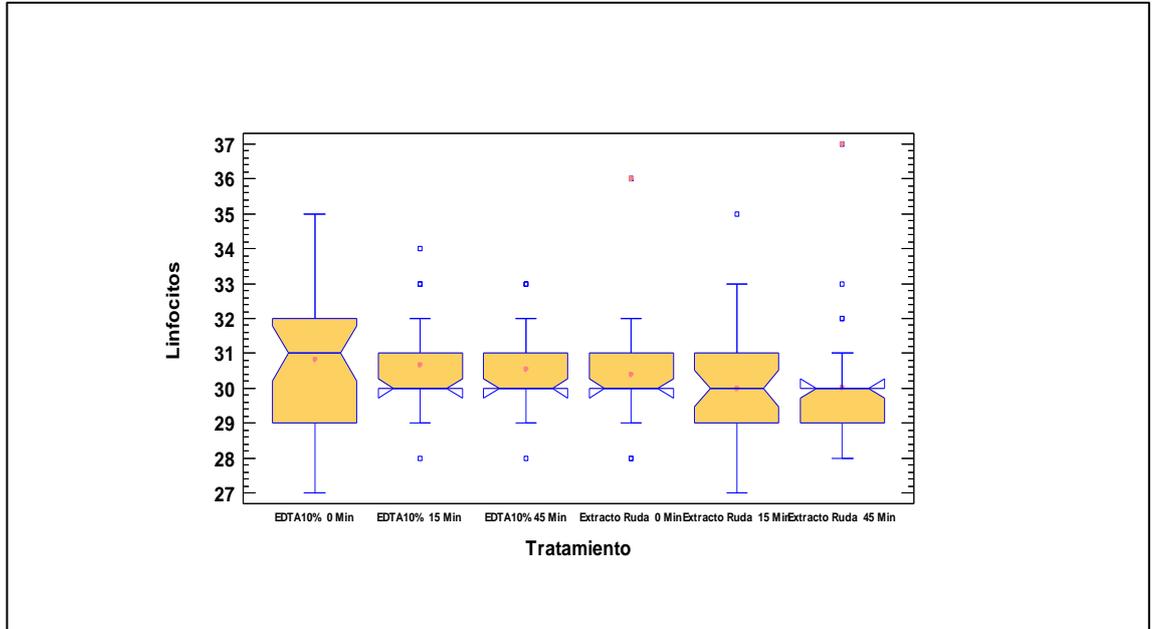
**Tabla N° 6: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre Linfocitos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**

Tratamiento		Promedio +/- DS	Mediana	Tukey Significancia
<b>GRUPO CONTROL</b>	EDTA10% 0 Minutos	30.82 +/-1.99	31	A
	EDTA10% 15 Minutos	30.68 +/- 1.34	30	A
	EDTA10% 45 Minutos	30.56 +/-1.19	30	A
<b>GRUPO EXPERIMENTAL</b>	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 0 Minutos	30.41 +/- 1.72	30	A
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 15 Minutos	30.03 +/- 1.62	29	A
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 45 Minutos	30 +/- 1.59	29.5	A
Test de Fisher		Fc= 1.53	p>0.05	

Fuente: Matriz de datos.

El estudio del recuento de Linfocitos en sangre anticoagulada sometida a tratamiento con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) no mostró diferencias significativas entre EDTA y Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) tal como lo demuestra el Test de Fisher ANOVA ( $p>0.05$ ). Según la aplicación del Test de Tukey se evidencia que tanto con el Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) como con EDTA se obtienen los promedios de recuentos que giran alrededor de 30 Linfocitos. Tal como se aprecia en la Tabla N° 6 (Anexo N° 6).

**Gráfico N° 10: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre Linfocitos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**



Fuente: Matriz de datos.

El Gráfico N° 10, muestra resultados para Linfocitos sometidos a tratamiento con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) dando como promedio alrededor de 30 Linfocitos. (Anexo N° 6).

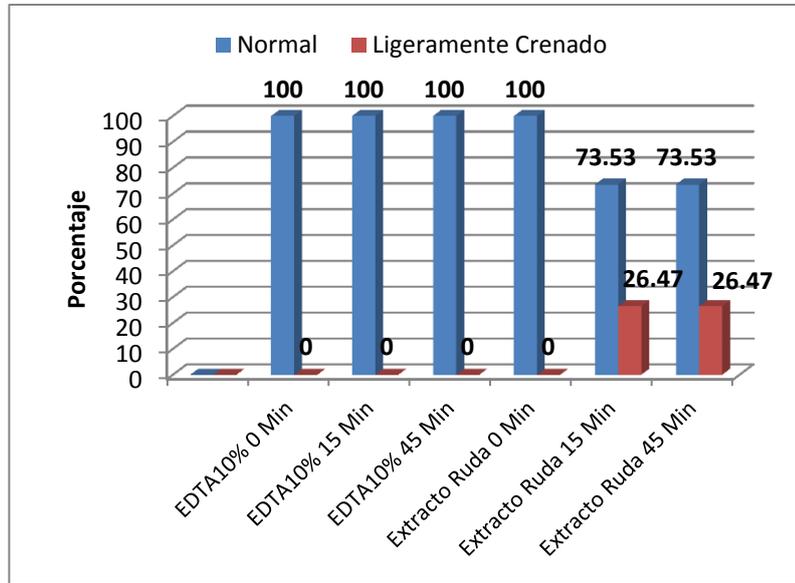
**Tabla N° 7: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre alteraciones morfológicas de Hematíes de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**

Tratamiento		Normal		Ligeramente Crenado		Total	
		N	%	N	%	N	%
<b>GRUPO CONTROL</b>	EDTA10% 0 Minutos	34	100	0	0	34	100
	EDTA10% 15 Minutos	34	100	0	0	34	100
	EDTA10% 45 Minutos	34	100	0	0	34	100
<b>GRUPO EXPERIMENTAL</b>	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 0 Minutos	34	100	0	0	34	100
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 15 Minutos	25	73.53	9	26.47	34	100
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 45 Minutos	25	73.53	9	26.47	34	100
Test de Chi Cuadrado		X <sup>2</sup> = 39.48		p<0.001			

Fuente: Matriz de datos.

En la Tabla N° 7, se evidencia que el efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) produce ligeras alteraciones morfológicas en los Hematíes al ser determinado con el Test de Chi cuadrado con diferencias altamente significativas ( $p < 0.01$ ), lo que implica que con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) a los 15 minutos y 45 minutos se obtienen Hematíes con ligera crenación. (Anexo N° 6).

**Gráfico N° 11: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre alteraciones morfológicas de Hematíes de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**



Fuente: Matriz de datos.

En el Gráfico N° 11, se evidencia que el efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) a los 15 minutos y 45 minutos muestra Hematíes con ligera crenación. (Anexo N° 6).

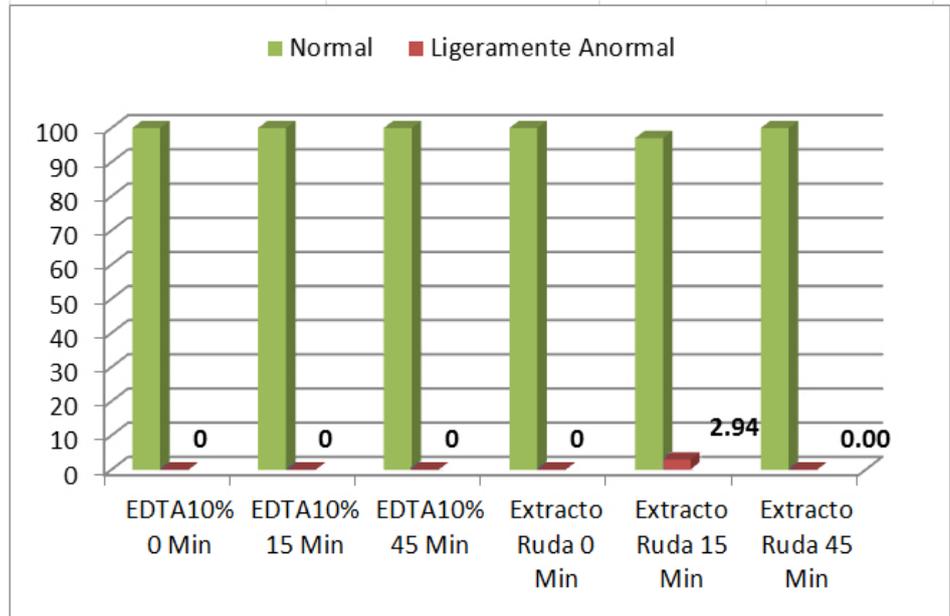
**Tabla N° 8: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre alteraciones morfológicas de Leucocitos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**

Tratamiento		Normal		Ligeramente Anormal		Total	
		N	%	N	%	N	%
<b>GRUPO CONTROL</b>	EDTA10% 0 Minutos	34	100	0	0	34	100
	EDTA10% 15 Minutos	34	100	0	0	34	100
	EDTA10% 45 Minutos	34	100	0	0	34	100
<b>GRUPO EXPERIMENTAL</b>	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 0 Minutos	34	100	0	0	34	100
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 15 Minutos	33	97.06	1	2.94	34	100
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 45 Minutos	34	100	0	0.00	34	100
Test de Chi Cuadrado		X <sup>2</sup> = 0.94		p>0.05			

Fuente: Matriz de datos.

En lo referente a las alteraciones morfológicas de Leucocitos de muestras de sangre anticoaguladas con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) y EDTA se encontró a través del Test de Chi cuadrado diferencias no significativas ( $p>0.05$ ). Según la Tabla N° 8. (Anexo N° 6).

**Gráfico N° 12: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre alteraciones morfológicas de Leucocitos de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**



Fuente: Matriz de datos.

En lo referente a las alteraciones morfológicas de Leucocitos de muestras de sangre anticoaguladas con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) y EDTA se encontró diferencias no significativas según el Gráfico N° 12. (Anexo N° 6).

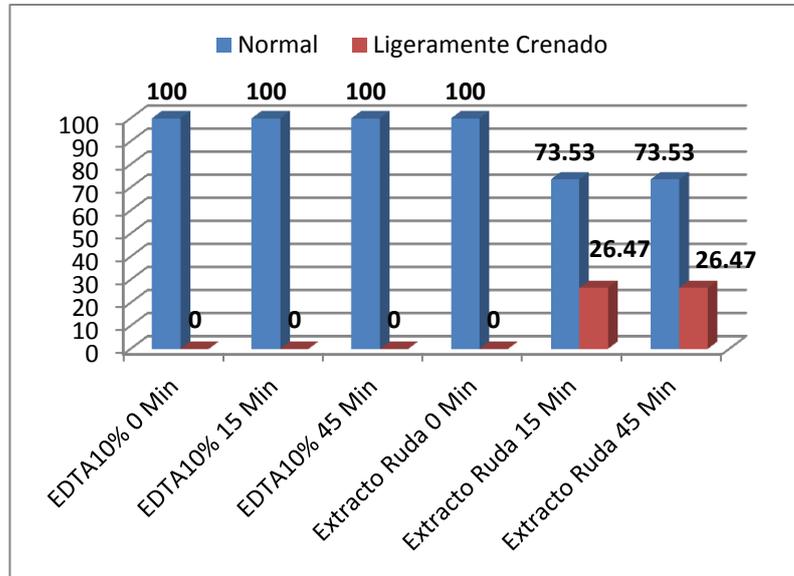
**Tabla N° 9: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre alteraciones morfológicas de Plaquetas de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**

Tratamiento		Normal		Ligeramente Crenado		Total	
		N	%	N	%	N	%
<b>GRUPO CONTROL</b>	EDTA10% 0 Minutos	34	100	0	0	34	100
	EDTA10% 15 Minutos	34	100	0	0	34	100
	EDTA10% 45 Minutos	34	100	0	0	34	100
<b>GRUPO EXPERIMENTAL</b>	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 0 Minutos	34	100	0	0	34	100
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 15 Minutos	25	73.53	9	26.47	34	100
	Extracto de ruda ( <i>Ruta graveolens L.</i> ) 45 Minutos	25	73.53	9	26.47	34	100
Test de Chi Cuadrado		X <sup>2</sup> = 39.48		p<0.001			

Fuente: Matriz de datos.

En la Tabla N° 9, se muestran los resultados para el efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*), sobre alteraciones morfológicas de Plaquetas en sangre anticoagulada obtenidas de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas. Al respecto se aprecia que existen diferencias altamente significativas en la morfología de las plaquetas sometidas a tratamiento con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) según el Test de Chi Cuadrado ( $p < 0.01$ ), a los 15 minutos y 45 minutos se aprecia un 26.47% de células ligeramente crenadas, lo cual no sucede con el EDTA. (Anexo N° 6).

**Gráfico N° 13: Efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) sobre alteraciones morfológicas de Plaquetas de sangre anticoagulada obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas.**



Fuente: Matriz de datos.

El Gráfico N° 13, muestra resultados para el efecto del Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) donde existen diferencias altamente significativas en la morfología de las plaquetas sometidas a tratamiento con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) a los 15 minutos y 45 minutos se aprecia un 26.47% de células ligeramente crenadas, lo cual no sucede con el EDTA. (Anexo N° 6).

En lo referente al efecto anticoagulante que presentó el extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) se evidenció que el 100% de las muestras tratadas no presentaron coagulación, este efecto puede deberse a la presencia de cumarinas y metabolitos secundarios presentes en la planta, los cuales fueron identificados cualitativamente mediante reacciones de coloración, precipitación y cromatografía de capa fina, este hecho indica que puede ser considerado como igual con los demás anticoagulantes *in vitro*.

El resultado estadístico mostró diferencias no significativas en cuanto al recuento de neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos entre el EDTA y el Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*), tal como lo evidencia el Test de Fisher ANOVA ( $p > 0.05$ ) y el Test de Tukey donde los promedios

alcanzados en la valoración de hemogramas de ambos grupos son similares.

Además, es importante señalar que se evidenció alteraciones morfológicas de hematíes y plaquetas determinándose con el Test de Chi cuadrado diferencias altamente significativas ( $p < 0.01$ ), esto implica que con Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) a los 15 minutos y 45 minutos se obtuvieron hematíes ligeramente crenado y plaquetas de menor tamaño, lo que no sucedió con el EDTA.

Por lo expuesto, la hipótesis ha sido comprobada en su totalidad, ya que la ruda (*Ruta graveolens L.*) tiene una composición química compleja y es por ello que presenta un efecto anticoagulante y puede ser utilizado en la realización de hemogramas.

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1. CONCLUSIONES

**PRIMERA:** El extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) si presentó efecto anticoagulante *in vitro* sobre las muestras de sangre obtenidas de los alumnos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, por un tiempo mayor a 24 horas, por lo cual puede ser utilizado en la realización de hemogramas.

**SEGUNDA:** La concentración de 0.3 mL. de extracto desecado de ruda (*Ruta graveolens L.*) no produce coagulación de la sangre obtenida de los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas, lo que permite su utilización en la realización de hemogramas y la observación de caracteres propios de cada célula sanguínea.

**TERCERA:** El recuento leucocitario obtenido a partir del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) y el anticoagulante EDTA, no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p>0.05$ ) por lo tanto, el extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) si puede ser utilizado en el recuento leucocitario.

**CUARTA:** La morfología de las células sanguíneas de los frotis sanguíneos a partir del extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) se observó ligera alteración morfológica en cuanto a Hematíes y Plaquetas, con significancia estadística según el Test de Chi cuadrado ( $p<0.01$ ) al ser comparado con el EDTA.

#### 4.2. RECOMENDACIONES

- Se sugiere realizar estudios adicionales orientados al trabajo hematológico con eritrocitos y plaquetas, considerando distintas concentraciones del extracto de ruda (*Ruta graveolens* L.).
- Podría realizarse estudios para la identificación y cuantificación del principio activo que produce la anticoagulación, así como el mecanismo de acción que produce este efecto.
- El uso de esta planta podría abaratar costos de los análisis hematológicos en los que se emplean anticoagulantes *in vitro*, se puede implementar o capacitar al personal de salud para realizar el procesamiento del extracto, por lo que se debe complementar estudios de esta planta.
- Difundir la propiedad anticoagulante encontrada de esta planta a profesionales de salud que laboran en sitios rurales, donde muchas veces no se cuenta con los recursos necesarios, y puedan tener una alternativa natural para la conservación de sangre anticoagulada y realizar los hemogramas.
- Promover el estudio de otras plantas que contribuyan en aportar principios activos útiles para el trabajo en laboratorio y su posterior utilización en la clínica, como un aporte científico para el desarrollo y avance científico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

	<b>Pág.</b>
1. Guerci A. <i>Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación</i> . 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 108 .....	01
2. Guerci A. <i>Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación</i> . 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 108 .....	06
3. Prieto J. <i>La clínica y el laboratorio. Interpretación de análisis y pruebas funcionales. Exploración de los síndromes. Cuadro biológico de las enfermedades</i> . 20° Ed. España: Elseviermasson; 2006. Págs. 11-12.....	06
4. Guerci A. <i>Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación</i> . 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 108 .....	07
5. Mostacedo B, Fredericksen T. <i>Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal</i> . 6° Ed. Bolivia. El País; 2000. Págs. 12-13.....	10
6. Villar A. <i>Farmacognosia general</i> . 2° Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Págs.47-48.....	11
7. Kuklinski C. <i>Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural</i> . Ed. España: Omega S.A.; 2003. Pág. 15 .....	11
8. Kuklinski C. <i>Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural</i> . Ed. España: Omega S.A.; 2003. Pág. 32 .....	12
9. Villar A. <i>Farmacognosia general</i> . 2° Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Pág. 59 .....	13
10. Villar A. <i>Farmacognosia general</i> . 2° Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Pág. 60 .....	14

11. Villar A. <i>Farmacognosia general</i> . 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Pág. 59 .....	15
12. Kuklinski C. <i>Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural</i> . Ed. España: Omega S.A.; 2003. Pág. 21 .....	15
13. Villar A. <i>Farmacognosia general</i> . 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Págs. 60-61.....	16
14. Villar A. <i>Farmacognosia general</i> . 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Pág. 61 .....	17
15. Villar A. <i>Farmacognosia general</i> . 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Pág. 61 .....	18
16. Villar A. <i>Farmacognosia general</i> . 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Pág. 66 .....	19
17. Marcano D, Hasegawa M. <i>Fitoquímica orgánica</i> . 2º Ed. Venezuela. Torino; 2002. Pág. 58.....	19
18. Lock O. <i>Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales</i> . 2º Ed. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994. Pág. 264 .....	19
19. Marcano D, Hasegawa M. <i>Fitoquímica orgánica</i> . 2º Ed. Venezuela. Torino; 2002. cit. Pág. 58 .....	20
20. Lock O. <i>Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales</i> . 2º Ed. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994. Pág. 5 .....	20
21. Marcano D, Hasegawa M. <i>Fitoquímica orgánica</i> . 2º Ed. Venezuela. Torino; 2002. Pág. 58.....	20
22. Marcano D, Hasegawa M. <i>Fitoquímica orgánica</i> . 2º Ed. Venezuela. Torino; 2002. Pág. 58.....	20
23. Lock O. <i>Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales</i> . 2º Ed. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994id. Pág. 97 .....	20
24. Villar A. <i>Farmacognosia general</i> . 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Págs. 200-201.....	21
25. Bruneton J. <i>Farmacognosia Fitoquímica. Plantas medicinales</i> . 2º Ed. España: Acribia S.A.; 2001. Pág. 265 .....	21

26. Lock O. *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales*. 2º Ed. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994. Págs. 285-286 .....22
27. Lock O. *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales*. 2º Ed. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994. Pág. 286 .....22
28. Lock O. *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales*. 2º Ed. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994. Pág. 262 .....23
29. Lock O. *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales*. 2º Ed. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994. Pág. 262 .....23
30. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4º Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 108 .....24
31. Silva M, García M, Gómez & colaboradores. *Técnico especialista en laboratorio del servicio Gallego de salud (SERGAS)*. 1ºEd. España: Mad; 2006. Pág. 259 .....26
32. Silva M, García M, Gómez & colaboradores. *Técnico especialista en laboratorio del servicio Gallego de salud (SERGAS)*. 1ºEd. España: Mad; 2006. Pág. 259 .....26
33. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4º Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 150 .....27
34. Jaime J. *Hematología. La sangre y sus enfermedades*. 2º Ed. México: McGraw-Hill interamericana S.A.; 2009. Pág. 279 .....29
35. Silva M, García M, Gómez & colaboradores. *Técnico especialista en laboratorio del servicio Gallego de salud (SERGAS)*. 1ºEd. España: Mad; 2006. Pág. 282 .....30
36. Prieto J. *La clínica y el laboratorio. Interpretación de análisis y pruebas funcionales. Exploración de los síndromes. Cuadro biológico de las enfermedades*. 20º Ed. España: Elseviermasson; 2006. Págs. 11-12.....31
37. Jaime J. *Hematología. La sangre y sus enfermedades*. 2º Ed. México: McGraw-Hill interamericana S.A.; 2009. Pág. 279 .....32
38. Jaime J. *Hematología. La sangre y sus enfermedades*. 2º Ed. México: McGraw-Hill interamericana S.A.; 2009. Pág.280 .....32

39. Carr J, Rodack B. *Atlas de Hematología clínica*. 3º Ed. México: Panamericana S.A.; 2010. Pág. 5.....32
40. Sánchez R. *Chenopodium petiolare H.B.K. (Llipcha) como anticoagulante in vitro y su utilización en Hemogramas*. Tesis de Bachiller en Medicina presentado en la Universidad San Agustín: Perú; 1995 .....39
41. Concha F. *Efecto in vitro del látex de Ficus insípida sobre la cascada de la coagulación sanguínea*. Revista Médica Herediana volumen 21 N° 3: Perú; 2010 .....40
42. Torres C, Guzmán L, Moore R, Palomo I. *Efecto antitrombótico, una característica poco conocida de las frutas y hortalizas*. Revista Chilena de nutrición volumen 35 N°1: Chile; 2008.....40
43. Díaz L. *Actividad anticoagulante in vivo del extracto acuoso de las hojas de Ricinus communis L.* Revista Cubana de Plantas Medicinales volumen 2002 N° 3: Habana; 2002 .....41
44. Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. *Plantas medicinales de uso en Chile. Química y farmacología*. 2º Ed. Chile: Universitaria S.A.; 2004. Pág. 253.....42
45. Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. *Plantas medicinales de uso en Chile. Química y farmacología*. 2º Ed. Chile: Universitaria S.A.; 2004. Pág. 253.....42
46. Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. *Plantas medicinales de uso en Chile. Química y farmacología*. 2º Ed. Chile: Universitaria S.A.; 2004. Pág. 253.....42
47. Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. *Plantas medicinales de uso en Chile. Química y farmacología*. 2º Ed. Chile: Universitaria S.A.; 2004. Pág. 253.....43
48. Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. *Plantas medicinales de uso en Chile. Química y farmacología*. 2º Ed. Chile: Universitaria S.A.; 2004. Pág. 255.....43
49. Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. *Plantas medicinales de uso en Chile. Química y farmacología*. 2º Ed. Chile: Universitaria S.A.; 2004. Pág. 255.....44

50. Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. *Plantas medicinales de uso en Chile. Química y farmacología*. 2º Ed. Chile: Universitaria S.A.; 2004. Pág. 255.....44
51. Kuklinski C. *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Ed. España: Omega S.A.; 2003. Pág. 100.....45
52. Bruneton J. *Farmacognosia Fitoquímica. Plantas medicinales*. 2º Ed. España: Acribia S. A.; 2001. Pág. 261 .....45
53. Villar A. *Farmacognosia general*. 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Pág. 197.....45
54. Kuklinski C. *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Ed. España: Omega S.A.; 2003. Pág. 100.....46
55. Bruneton J. *Farmacognosia Fitoquímica. Plantas medicinales*. 2º Ed. España: Acribia S.A.; 2001. Págs. 261-262 .....46
56. Villar A. *Farmacognosia general*. 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Pág. 197.....46
57. Villar A. *Farmacognosia general*. 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Págs. 197-198.....46
58. Villar A. *Farmacognosia general*. 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Pág. 198.....46
59. Kuklinski C. *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Ed. España: Omega S.A.; 2003. Pág. 102.....47
60. Villar A. *Farmacognosia general*. 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003. Págs. 200-201.....47
61. Bruneton J. *Farmacognosia Fitoquímica. Plantas medicinales*. 2º Ed. España: Acribia S.A.; 2001. Pág. 265 .....47
62. Kuklinski C. *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Ed. España: Omega S.A.; 2003. Pág. 102.....48
63. López M. *Bioética. Entre la medicina y la ética*. 1º Ed. España. Gráficas Cervantes S.A.; 2005. Págs. 39-40 .....48
64. López M. *Bioética. Entre la medicina y la ética*. 1º Ed. España. Gráficas Cervantes S.A.; 2005. Págs. 39-40 .....49

65. Silva M, García M, Gómez & colaboradores. *Técnico especialista en laboratorio del servicio Gallego de salud (SERGAS)*. 1ºEd. España: Mad; 2006. Pág. 259 .....49
66. Silva M, García M, Gómez & colaboradores. *Técnico especialista en laboratorio del servicio Gallego de salud (SERGAS)*. 1ºEd. España: Mad; 2006. Pág. 259 .....50
67. Silva M, García M, Gómez & colaboradores. *Técnico especialista en laboratorio del servicio Gallego de salud (SERGAS)*. 1ºEd. España: Mad; 2006. Págs. 259-260.....50
68. Silva M, García M, Gómez & colaboradores. *Técnico especialista en laboratorio del servicio Gallego de salud (SERGAS)*. 1ºEd. España: Mad; 2006. Págs. 260-261.....51
69. Ruiz G, *Fundamentos de hematología*. 4º Ed. México: Panamericana; 2009. Págs. 230-231.....53
70. Ruiz G, *Fundamentos de hematología*. 4º Ed. México: Panamericana; 2009. Pág. 231.....53
71. Ruiz G. *Fundamentos de hematología*. 4º Ed. México: Panamericana; 2009. Pág. 231.....54
72. Ruiz G. *Fundamentos de hematología*. 4º Ed. México: Panamericana; 2009. Págs. 231-232.....54
73. Ruiz G. *Fundamentos de hematología*. 4º Ed. México: Panamericana; 2009. Págs. 232-233.....55
74. Ruiz G. *Fundamentos de hematología*. 4º Ed. México: Panamericana; 2009. Pág. 234.....56
75. Ruiz G. *Fundamentos de hematología*. 4º Ed. México: Panamericana; 2009. Pág. 237.....56
76. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4º Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Págs. 148-149 .56
77. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4º Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Págs. 148-149 .57
78. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4º Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Págs. 148-149 .58
79. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4º Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Págs. 148-149 .58

80. Ruiz G. *Fundamentos de hematología*. 4° Ed. México: Panamericana; 2009. Págs. 241-242.....59
81. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 116 .....62
82. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 117 .....62
83. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 117 .....63
84. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 117 .....63
85. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 117 .....63
86. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 117 .....63
87. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 118 .....64
88. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 118 .....64
89. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 118 .....64
90. Jaime J. *Hematología. La sangre y sus enfermedades*. 2° Ed. México: McGraw-Hill interamericana S.A.; 2009. Pág. 279 .....65
91. Jaime J. *Hematología. La sangre y sus enfermedades*. 2° Ed. México: McGraw-Hill interamericana S.A.; 2009. Págs. 279-280 ...66
92. Jaime J. *Hematología. La sangre y sus enfermedades*. 2° Ed. México: McGraw-Hill interamericana S.A.; 2009. Pág. 280 .....66
93. Jaime J. *Hematología. La sangre y sus enfermedades*. 2° Ed. México: McGraw-Hill interamericana S.A.; 2009. Pág. 280 .....66
94. Jaime J. *Hematología. La sangre y sus enfermedades*. 2° Ed. México: McGraw-Hill interamericana S.A.; 2009. Pág. 280 .....67
95. Jaime J. *Hematología. La sangre y sus enfermedades*. 2° Ed. México: McGraw-Hill interamericana S.A.; 2009. Pág. 280 .....67
96. Jaime J. *Hematología. La sangre y sus enfermedades*. 2° Ed. México: McGraw-Hill interamericana S.A.; 2009. Pág. 280 .....68

97. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 108 .....68
98. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 109 .....68
99. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 108 .....69
100. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 108.....69
101. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 109.....69
102. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 109.....70
103. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4° Ed. Argentina: El Ateneo; 2003. Pág. 109.....70

## BIBLIOGRAFÍA

### LIBROS

1. Bruneton J. *Farmacognosia Fitoquímica. Plantas medicinales*. 2º Ed. España: Acribia S. A.; 2001.
2. Carr J, Rodack B. *Atlas de Hematología clínica*. 3º Ed. México: Panamericana S.A.; 2010.
3. D' Ocon C, García J, Vicente J. *Laboratorio de diagnóstico clínico. Fundamentos y técnicas de análisis bioquímico*. 3º Ed. España: Thomson paraninfo; 2006.
4. Guerci A. *Laboratorio. Métodos de análisis clínicos y su interpretación*. 4º Ed. Argentina: El Ateneo; 2003.
5. Jaime J, *Hematología. La sangre y sus enfermedades*. 2º Ed. México: McGraw-Hill interamericana S.A.; 2009.
6. Kuklinski C. *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Ed. España: Omega S.A.; 2003.
7. Lock O. *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales*. 2º Ed. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
8. López M. *Bioética. Entre la medicina y la ética*. 1º Ed. España. Gráficas Cervantes S.A.; 2005.
9. Marcano D, Hasegawa M. *Fitoquímica orgánica*. 2º Ed. Venezuela. Torino; 2002.
10. Mostacedo B, Fredericksen T. *Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal*. 6º Ed. Bolivia. El País; 2000.
11. Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. *Plantas medicinales de uso en Chile. Química y farmacología*. 2º Ed. Chile: Universitaria S.A.;2004.

12. Prieto J. *La clínica y el laboratorio. Interpretación de análisis y pruebas funcionales. Exploración de los síndromes. Cuadro biológico de las enfermedades.* 20º Ed. España: Elseviermasson; 2006.
13. Ruiz G, *Fundamentos de hematología.* 4º Ed. México: Panamericana; 2009.
14. Silva M, García M, Gómez & colaboradores. *Técnico especialista en laboratorio del servicio Gallego de salud (SERGAS).* 1ºEd. España: Mad; 2006.
15. Villar A. *Farmacognosia general.* 2º Ed. España: Síntesis S. A.; 2003.
16. Vives J, Aguilar J. *Manual de técnicas de laboratorio en Hematología.* 3º Ed. España: Masson S.A.; 2006.

### ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN

17. Concha F. *Efecto in vitro del látex de Ficus insípida sobre la cascada de la coagulación sanguínea.* Revista Médica Herediana volumen 21 N° 3: Perú; 2010.
18. Díaz L. *Actividad anticoagulante in vivo del extracto acuoso de las hojas de Ricinus communis L.* Revista Cubana de Plantas Medicinales volumen 2002 N° 3: Habana; 2002.
19. Sánchez R. *Chenopodium petiolare H.B.K. (Llipcha) como anticoagulante in vitro y su utilización en Hemogramas.* Tesis de Bachiller en Medicina presentado en la Universidad San Agustín: Perú; 1995.
20. Torres C, Guzmán L, Moore R, Palomo I. *Efecto antitrombótico, una característica poco conocida de las frutas y hortalizas.* Revista Chilena de nutrición volumen 35 N°1: Chile; 2008.

### PÁGINAS WEB

21. Fuente: [http://cmapsconverted.ihmc.us/rid=1216670655531\\_80372040\\_8160/mariacparis](http://cmapsconverted.ihmc.us/rid=1216670655531_80372040_8160/mariacparis). Hora 09.13 a.m., Fecha 3 noviembre 2015.

## ANEXOS

## ANEXO N° 1

## FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Paciente N°

Fecha:		
Nombres y Apellidos:		
Edad:		
Sexo:	<input type="radio"/> Femenino	<input type="radio"/> Masculino
Dirección:		
Teléfono:		
Semestre:		

## MUESTRA

A: Sangre entera (GRUPO BLANCO)

B: Sangre entera + EDTA (GRUPO CONTROL)

C: Sangre entera + Extracto de ruda (*Ruta graveolens L.*) (GRUPO EXPERIMENTAL)

Fuente: Elaboración propia.

## ANEXO Nº 2

## COAGULACIÓN

<b>MUESTRA A: (GRUPO BLANCO)</b>	<input type="text"/>			
Tiempo	<input type="text"/>	Minutos	<input type="text"/>	Segundos

---

<b>MUESTRA B: (GRUPO CONTROL)</b>	<input type="text"/>
Anticoagulada	

---

<b>MUESTRA C: (GRUPO EXPERIMENTAL)</b>	<input type="text"/>				
SI <input type="radio"/>	Tiempo	<input type="text"/>	Minutos	<input type="text"/>	Segundos
NO <input type="radio"/>	Anticoagulada				

Fuente: Elaboración propia.

## ANEXO N° 3

**RESULTADOS EMITIDOS A PARTIR DE HEMOGRAMAS REALIZADOS DEL  
GRUPO CONTROL Y GRUPO EXPERIMENTAL**

**MUESTRA N° 1**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>1 B1</b>	<b>1 B2</b>	<b>1 B3</b>	<b>1 C1</b>	<b>1 C2</b>	<b>1 C3</b>
Abastionados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	68	69	68	68	69	69
Eosinófilos	1	1	1	2	2	1
Basófilos	0	0	0	0	0	0
Monocitos	1	0	1	2	2	2
Linfocitos	30	30	30	28	27	28
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	LC	LC
Leucocitos	N	N	N	N	LA	LA
Plaquetas	N	N	N	N	LC	LC

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 2**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>2 B1</b>	<b>2 B2</b>	<b>2 B3</b>	<b>2 C1</b>	<b>2 C2</b>	<b>2 C3</b>
Abastionados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	68	66	67	67	66	68
Eosinófilos	2	3	3	3	2	2
Basófilos	0	0	0	0	0	0
Monocitos	1	1	1	0	1	1
Linfocitos	29	30	29	30	31	29
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	LC	LC
Leucocitos	N	N	N	N	LA	LA
Plaquetas	N	N	N	N	LC	LC

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 3**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>3 B1</b>	<b>3 B2</b>	<b>3 B3</b>	<b>3 C1</b>	<b>3 C2</b>	<b>3 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	70	71	69	69	69	68
Eosinófilos	2	2	2	1	2	1
Basófilos	0	0	0	0	0	0
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	27	28	28	29	28	30
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 4**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>4 B1</b>	<b>4 B2</b>	<b>4 B3</b>	<b>4 C1</b>	<b>4 C2</b>	<b>4 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	60	63	64	59	60	59
Eosinófilos	2	2	1	2	2	2
Basófilos	1	1	1	1	1	1
Monocitos	2	1	1	2	2	1
Linfocitos	35	33	33	36	35	37
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

## MUESTRA N° 5

RECuento LEUCOCITARIO						
	Muestra B (EDTA 10%)			Muestra C (Extracto de ruda )		
	5 B1	5 B2	5 B3	5 C1	5 C2	5 C3
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	69	67	66	66	64	66
Eosinófilos	3	4	3	3	2	2
Basófilos	0	0	0	1	1	0
Monocitos	0	0	1	0	0	0
Linfocitos	28	29	30	30	33	32
FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS						
Hematíes	N	N	N	N	LC	LC
Leucocitos	N	N	N	N	LA	LA
Plaquetas	N	N	N	N	LC	LC

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

## MUESTRA N° 6

RECuento LEUCOCITARIO						
	Muestra B (EDTA 10%)			Muestra C (Extracto de ruda )		
	6 B1	6 B2	6 B3	6 C1	6 C2	6 C3
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	63	62	63	64	65	63
Eosinófilos	2	3	3	2	1	2
Basófilos	0	1	1	1	1	1
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	34	33	32	32	32	33
FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 7**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>7 B1</b>	<b>7 B2</b>	<b>7 B3</b>	<b>7 C1</b>	<b>7 C2</b>	<b>7 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	66	64	65	67	66	66
Eosinófilos	4	3	3	3	3	4
Basófilos	1	1	1	0	1	0
Monocitos	1	1	1	1	0	2
Linfocitos	28	30	31	29	30	28
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	LC	LC
Leucocitos	N	N	N	N	LA	LA
Plaquetas	N	N	N	N	LC	LC

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 8**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>8 B1</b>	<b>8 B2</b>	<b>8 B3</b>	<b>8 C1</b>	<b>8 C2</b>	<b>8 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	64	65	65	68	69	68
Eosinófilos	3	3	4	2	2	1
Basófilos	1	1	0	0	0	0
Monocitos	1	1	1	2	2	1
Linfocitos	31	30	30	28	27	30
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 9**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>9 B1</b>	<b>9 B2</b>	<b>9 B3</b>	<b>9 C1</b>	<b>9 C2</b>	<b>9 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	63	64	65	64	68	68
Eosinófilos	4	4	4	4	3	2
Basófilos	0	0	0	0	0	0
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	32	31	30	31	28	29
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 10**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>10 B1</b>	<b>10 B2</b>	<b>10 B3</b>	<b>10 C1</b>	<b>10 C2</b>	<b>10 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	65	63	62	64	65	66
Eosinófilos	3	4	4	3	3	3
Basófilos	1	0	0	2	0	0
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	30	32	33	30	31	30
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	LC	LC
Leucocitos	N	N	N	N	LA	LA
Plaquetas	N	N	N	N	LC	LC

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 11**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>11 B1</b>	<b>11 B2</b>	<b>11 B3</b>	<b>11 C1</b>	<b>11 C2</b>	<b>11 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	67	65	67	68	68	69
Eosinófilos	1	2	2	1	2	1
Basófilos	0	0	0	0	0	0
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	31	32	30	30	29	29
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 12**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>12 B1</b>	<b>12 B2</b>	<b>12 B3</b>	<b>12 C1</b>	<b>12 C2</b>	<b>12 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	69	67	67	68	69	68
Eosinófilos	1	2	2	2	1	2
Basófilos	0	0	0	0	0	0
Monocitos	1	1	1	1	1	0
Linfocitos	29	30	30	29	29	30
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 13**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>13 B1</b>	<b>13 B2</b>	<b>13 B3</b>	<b>13 C1</b>	<b>13 C2</b>	<b>13 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	66	64	64	68	69	69
Eosinófilos	2	3	2	1	2	2
Basófilos	0	0	0	0	0	0
Monocitos	1	1	1	1	0	0
Linfocitos	31	32	33	30	29	29
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 14**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>14 B1</b>	<b>14 B2</b>	<b>14 B3</b>	<b>14 C1</b>	<b>14 C2</b>	<b>14 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	69	67	66	69	70	68
Eosinófilos	1	2	2	1	1	1
Basófilos	0	0	0	0	0	0
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	29	30	31	29	28	30
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	LC	LC
Leucocitos	N	N	N	N	LA	LA
Plaquetas	N	N	N	N	LC	LC

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 15**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>15 B1</b>	<b>15 B2</b>	<b>15 B3</b>	<b>15 C1</b>	<b>15 C2</b>	<b>15 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0		
Segmentados	62	64	65	61	65	64
Eosinófilos	1	1	1	1	1	2
Basófilos	1	0	0	1	0	0
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	35	34	33	36	33	33
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	LC	LC
Leucocitos	N	N	N	N	LA	LA
Plaquetas	N	N	N	N	LC	LC

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 16**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>16 B1</b>	<b>16 B2</b>	<b>16 B3</b>	<b>16 C1</b>	<b>16 C2</b>	<b>16 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	65	67	65	66	67	67
Eosinófilos	5	4	4	4	3	3
Basófilos	0	0	0	0	0	0
Monocitos	0	0	1	0	1	1
Linfocitos	30	29	30	30	29	29
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

## MUESTRA N° 17

RECuento LEUCOCITARIO						
	Muestra B (EDTA 10%)			Muestra C (Extracto de ruda )		
	17 B1	17 B2	17 B3	17 C1	17 C2	17 C3
Abastionados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	63	64	66	65	67	67
Eosinófilos	3	3	2	2	2	2
Basófilos	1	1	1	1	0	0
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	32	31	30	31	30	30
FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

## MUESTRA N° 18

RECuento LEUCOCITARIO						
	Muestra B (EDTA 10%)			Muestra C (Extracto de ruda )		
	18 B1	18 B2	18 B3	18 C1	18 C2	18 C3
Abastionados	0	0	0	0	0	
Segmentados	66	65	65	67	67	68
Eosinófilos	1	1	2	1	2	2
Basófilos	0	0	0	0	0	0
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	32	33	32	31	30	29
FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 19**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>19 B1</b>	<b>19 B2</b>	<b>19 B3</b>	<b>19 C1</b>	<b>19 C2</b>	<b>19 C3</b>
Abastionados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	68	67	67	68	67	69
Eosinófilos	2	3	2	2	2	2
Basófilos	0	0	0	0	0	0
Monocitos	0	1	1	0	1	0
Linfocitos	30	29	30	30	30	29
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 20**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>20 B1</b>	<b>20 B2</b>	<b>20 B3</b>	<b>20 C1</b>	<b>20 C2</b>	<b>20 C3</b>
Abastionados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	65	64	64	65	68	69
Eosinófilos	3	4	4	3	2	2
Basófilos	0	1	1	0	0	0
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	31	30	30	31	29	28
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 21**

<b>RECUESTO LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>21 B1</b>	<b>21 B2</b>	<b>21 B3</b>	<b>21 C1</b>	<b>21 C2</b>	<b>21 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	67	67	67	67	68	69
Eosinófilos	2	2	2	2	1	1
Basófilos	0	0	0	1	1	1
Monocitos	2	1	1	1	1	1
Linfocitos	29	30	30	29	29	28
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MJESTRA N° 22**

<b>RECUESTO LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>22 B1</b>	<b>22 B2</b>	<b>22 B3</b>	<b>22 C1</b>	<b>22 C2</b>	<b>22 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	65	64	65	64	67	67
Eosinófilos	5	4	4	5	3	3
Basófilos	0	0	0	0	0	0
Monocitos	0	1	1	1	1	1
Linfocitos	30	31	30	30	29	29
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 23**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>23 B1</b>	<b>23 B2</b>	<b>23 B3</b>	<b>23 C1</b>	<b>23 C2</b>	<b>23 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	62	63	63	63	67	67
Eosinófilos	3	4	3	3	2	2
Basófilos	0	1	1	1	1	1
Monocitos	2	1	1	2	1	1
Linfocitos	33	31	32	31	29	28
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	LC	LC
Leucocitos	N	N	N	N	LA	LA
Plaquetas	N	N	N	N	LC	LC

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 24**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>24 B1</b>	<b>24 B2</b>	<b>24 B3</b>	<b>24 C1</b>	<b>24 C2</b>	<b>24 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	63	64	66	66	66	65
Eosinófilos	3	4	3	2	3	3
Basófilos	2	1	0	1	1	1
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	31	30	30	30	29	30
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

## MUESTRA N° 25

RECuento LEUCOCITARIO						
	Muestra B (EDTA 10%)			Muestra C (Extracto de ruda )		
	25 B1	25 B2	25 B3	25 C1	25 C2	25 C3
Abastionados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	62	63	65	66	67	66
Eosinófilos	3	3	2	2	2	2
Basófilos	1	1	1	1	1	1
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	33	32	31	30	29	30
FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

## MUESTRA N° 26

RECuento LEUCOCITARIO						
	Muestra B (EDTA 10%)			Muestra C (Extracto de ruda )		
	26 B1	26 B2	26 B3	26 C1	26 C2	26 C3
Abastionados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	65	64	62	66	66	67
Eosinófilos	2	3	3	1	2	2
Basófilos	1	1	1	1	1	1
Monocitos	2	1	1	2	1	1
Linfocitos	30	31	32	30	30	29
FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 27**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>27 B1</b>	<b>27 B2</b>	<b>27 B3</b>	<b>27 C1</b>	<b>27 C2</b>	<b>27 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	64	63	65	66	65	66
Eosinófilos	1	3	2	2	2	2
Basófilos	1	1	1	1	1	1
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	33	32	31	30	31	30
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 28**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>28 B1</b>	<b>28 B2</b>	<b>28 B3</b>	<b>28 C1</b>	<b>28 C2</b>	<b>28 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	67	65	67	67	68	68
Eosinófilos	1	2	1	1	1	2
Basófilos	1	1	1	1	1	0
Monocitos	1	1	1	1	1	0
Linfocitos	30	31	30	30	29	30
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 29**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>29 B1</b>	<b>29 B2</b>	<b>29 B3</b>	<b>29 C1</b>	<b>29 C2</b>	<b>29 C3</b>
Abastoados	0	0		0	0	0
Segmentados	68	65	65	68	67	66
Eosinófilos	1	3	3	1	2	2
Basófilos	1	1	1	1	1	1
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	29	30	30	29	29	30
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	LC	LC
Leucocitos	N	N	N	N	LA	LA
Plaquetas	N	N	N	N	LC	LC

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 30**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>30 B1</b>	<b>30 B2</b>	<b>30 B3</b>	<b>30 C1</b>	<b>30 C2</b>	<b>30 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	64	66	65	66	67	66
Eosinófilos	4	3	3	3	2	2
Basófilos	1	1	1	1	1	1
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	30	29	30	29	30	30
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 31**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>31 B1</b>	<b>31 B2</b>	<b>31 B3</b>	<b>31 C1</b>	<b>31 C2</b>	<b>31 C3</b>
Abastoados	0	0		0	0	0
Segmentados	67	67	68	68	68	68
Eosinófilos	1	2	2	2	1	2
Basófilos	0	0	0	0	0	0
Monocitos	0	1	1	1	1	0
Linfocitos	32	30	29	29	30	30
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 32**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>32 B1</b>	<b>32 B2</b>	<b>32 B3</b>	<b>32 C1</b>	<b>32 C2</b>	<b>32 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	64	66	65	65	67	68
Eosinófilos	2	1	2	2	1	1
Basófilos	0	0	0	0	0	0
Monocitos	1	1	1	1	1	1
Linfocitos	33	31	32	32	31	30
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	LC	LC
Leucocitos	N	N	N	N	LA	LA
Plaquetas	N	N	N	N	LC	LC

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda (Página N°145).

**MUESTRA N° 33**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>33 B1</b>	<b>33 B2</b>	<b>33 B3</b>	<b>33 C1</b>	<b>33 C2</b>	<b>33 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	65	65	66	66	70	68
Eosinófilos	5	4	3	4	3	3
Basófilos	1	0	0	1	0	0
Monocitos	1	1	0	1	0	0
Linfocitos	28	30	31	28	27	29
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

**MUESTRA N° 34**

<b>RECuento LEUCOCITARIO</b>						
	<b>Muestra B (EDTA 10%)</b>			<b>Muestra C (Extracto de ruda )</b>		
	<b>34 B1</b>	<b>34 B2</b>	<b>34 B3</b>	<b>34 C1</b>	<b>34 C2</b>	<b>34 C3</b>
Abastoados	0	0	0	0	0	0
Segmentados	64	66	68	65	64	66
Eosinófilos	2	2	1	2	2	2
Basófilos	1	1	0	1	1	1
Monocitos	2	1	1	2	2	1
Linfocitos	31	30	30	30	29	30
<b>FORMAS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS</b>						
Hematíes	N	N	N	N	N	N
Leucocitos	N	N	N	N	N	N
Plaquetas	N	N	N	N	N	N

Fuente: Elaboración propia.

**Leyenda:**

N: Normal.

LC: Ligeramente crenado.

LA: Ligeramente anormal.

A: Muestra del Grupo blanco.

B1: Muestra del Grupo control a los cero minutos.

B2: Muestra del Grupo control a los quince minutos.

B3: Muestra del Grupo control a los cuarenta y cinco minutos.

C1: Muestra del Grupo experimental a los cero minutos.

C2: Muestra del Grupo experimental a los quince minutos.

C3: Muestra del Grupo experimental a los cuarenta y cinco minutos.

ANEXO N° 4



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

---

FICHA DE REGISTRO DE DATOS

Fecha .....

Nombres y Apellidos: .....

Edad .....

Dirección .....

Semestre .....

Sexo:  Femenino  
 Masculino

¿Presenta usted antecedentes de coagulopatías?

SI  
 NO

¿Ha recibido tratamiento farmacológico en estos últimos días?

SI  
 NO

¿Presenta alguna enfermedad?

SI      ¿Cuál es?.....  
 NO

---

Firma

DNI:

## ANEXO N° 5

## PROMEDIO DEL TIEMPO DE COAGULACIÓN (GRUPO BLANCO)

MUESTRA DE SANGRE	TIEMPO DE COAGULACIÓN
Muestra 01	7' 30"
Muestra 02	7' 38"
Muestra 03	7' 15"
Muestra 04	7' 02"
Muestra 05	7' 09"
Muestra 06	7' 01"
Muestra 07	7' 45"
Muestra 08	7' 30"
Muestra 09	7' 48"
Muestra 10	7' 10"
Muestra 11	7' 08"
Muestra 12	7' 02"
Muestra 13	8' 04"
Muestra 14	7' 58"
Muestra 15	12' 02"
Muestra 16	11' 10"
Muestra 17	7' 32"
Muestra 18	7' 34"
Muestra 19	7' 19"
Muestra 20	7' 21"
Muestra 21	7' 40"
Muestra 22	8' 04"
Muestra 23	7' 25"
Muestra 24	7' 15"
Muestra 25	8' 05"
Muestra 26	7' 48"
Muestra 27	7' 53"
Muestra 28	7' 28"
Muestra 29	7' 56"
Muestra 30	7' 24"
Muestra 31	10' 30"
Muestra 32	8' 20"
Muestra 33	6' 58"
Muestra 34	14' 02"
<b>PROMEDIO</b>	<b>8' 29"</b>
<b>DESVIACION STANDAR</b>	<b>1' 56" +/- 1</b>

Fuente: Elaboración propia.

## ANEXO N° 6

## PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO PARA EL RECUESTO LEUCOCITARIO

## 1. NEUTRÓFILOS

Tabla ANOVA para Neutrófilos por tratamiento					
Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3.62745	5	0.72549	0.23	0.9493
Intra grupos	625.882	198	3.16102		
<b>Total (Corr.)</b>	<b>629.51</b>	<b>203</b>			

Fuente: Matriz de datos.

## 2. EOSINÓFILOS

Tabla ANOVA para Eosinófilos por tratamiento					
Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.31863	5	0.263725	0.49	0.7812
Intra grupos	105.912	198	0.534908		
<b>Total (Corr.)</b>	<b>107.23</b>	<b>203</b>			

Fuente: Matriz de datos.

## 3. BASÓFILOS

Tabla ANOVA para Basófilos por tratamiento					
Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.411765	5	0.0823529	0.32	0.9007
Intra grupos	51	198	0.257576		
<b>Total (Corr.)</b>	<b>51.4118</b>	<b>203</b>			

Fuente: Matriz de datos.

#### 4. MONOCITOS

Tabla ANOVA para Monocitos por tratamiento					
Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.553922	5	0.110784	0.55	0.7416
Intra grupos	40.2059	198	0.20306		
<b>Total (Corr.)</b>	<b>40.7598</b>	<b>203</b>			

Fuente: Matriz de datos.

#### 5. LINFOCITOS

Tabla ANOVA para Linfocitos por tratamiento					
Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	19.6127	5	3.92255	1.53	0.1805
Intra grupos	505.971	198	2.55541		
<b>Total (Corr.)</b>	<b>525.583</b>	<b>203</b>			

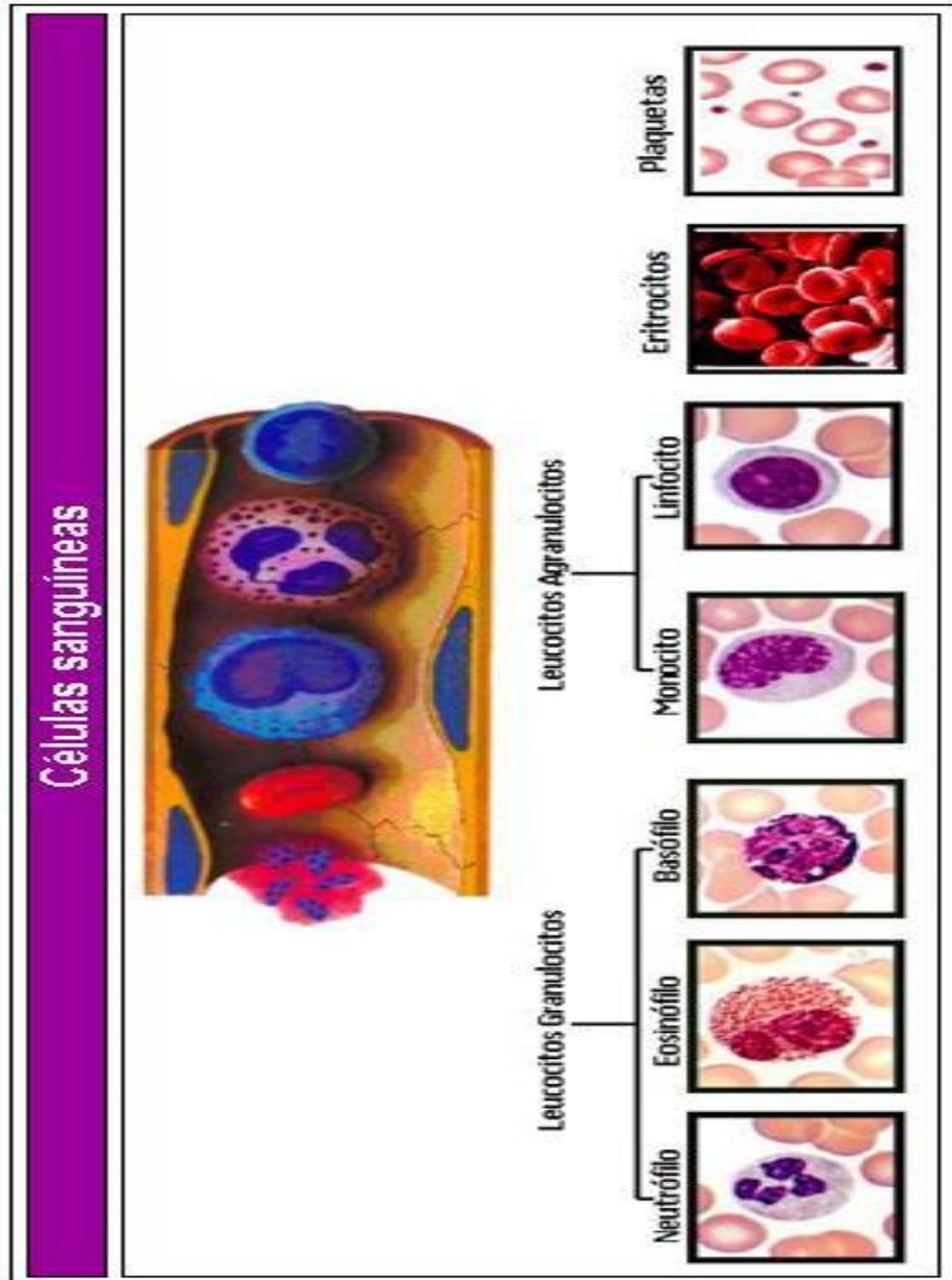
Fuente: Matriz de datos.





ANEXO N° 9

CÉLULAS SANGUÍNEAS



Fuente: [http://cmapsconverted.ihmc.us/rid=1216670655531\\_80372040\\_8160/mariacparis](http://cmapsconverted.ihmc.us/rid=1216670655531_80372040_8160/mariacparis).

**GLOSARIO DE TÉRMINOS**

**ADP:** Adenosín difosfato.

**ARNm:** Ácido ribonucleico mensajero.

**ATP:** Adenosín trifosfato.

**aTP:** Activador tisular del plasminógeno.

**CCF:** Cromatografía de capa fina.

**EDTA:** Sal disódica o dipotásica del ácido etilendiaminotetraacético.

**FNT:** Factor de necrosis tumoral.

**FT:** Factor tisular.

**FvW:** Factor de Von Willebrand.

**IVFT:** Inhibidor de la vía del factor tisular.

**m.s.n.m.:** Metros sobre el nivel de mar.

**NO:** Óxido nítrico.

**PC:** Proteína C.

**PGI:** Prostaciclina.

**PS:** Proteína S

**Rf:** Ratio of front.

**r.p.m.:** Revoluciones por minuto.

**SMF:** Sistema mononuclear fagocítico.

**TLC:** Thin layer chromatography.

**UV:** Ultravioleta.

**VSG:** Velocidad de sedimentación globular.

**Tm:** Trombomodulina.

**Tx:** Tromboxano.

## DEFINICIONES ADICIONALES

**Anticoagulante:** Sustancia endógena o exógena que interfiere o inhibe la coagulación de la sangre, creando un estado pre-hemorrágico. Capacidad de inhibir la fase plasmática de la coagulación

**Adrenalina:** Hormona segregada principalmente por la médula de las glándulas suprarrenales, que aumenta la presión sanguínea, el ritmo cardíaco y la cantidad de glucosa en sangre. La adrenalina se emplea como medicamento hemostático. Nerviosismo, exceso de tensión acumulada:

**Adenosín difosfato:** Es una coenzima y un importante intermediario del metabolismo celular, cuya estructura es una molécula de adenosina y dos moléculas de ácido fosfórico. El compuesto ADP es al ácido 5'-adenílico con un fosfato adicional unido mediante un enlace pirofosfato. También se le designa como ácido 5'-adenosín difosfato, ácido adenosín difosfórico, o difosfato de adenosina. Se origina por hidrólisis parcial de un grupo fosfato a partir del adenosín trifosfato (ATP), al liberarse la energía contenida en el enlace pirofosfato. El ADP interviene en una serie de reacciones metabólicas en los seres vivos, acoplado al ATP, reacciones de intercambio de energía, mediante la conversión de ATP en ADP y viceversa.

**Adenosín trifosfato:** Es un nucleótido fundamental en la obtención de energía celular. Está formado por una base nitrogenada (adenina) unida al carbono 1 de un azúcar de tipo pentosa, la ribosa, que en su carbono 5 tiene enlazados tres grupos fosfato. Es la principal fuente de energía para la mayoría de las funciones celulares. Se produce durante la fotorrespiración y la respiración celular, y es consumido por muchas enzimas en la catálisis de numerosos procesos químicos.

**Aglutinación:** Fenómeno en el que las bacterias o las células en suspensión en un líquido precipitan cuando se añaden anticuerpos; éstos se unen a sus antígenos y originan complejos del tipo células-antígenos-anticuerpos en forma de grumos visibles a simple vista. La aglutinación se aplica para la determinación del factor Rh, de los grupos sanguíneos y las pruebas de embarazo.

**Antitrombina:** Es una pequeña molécula que desactiva varias enzimas de la coagulación. La afinidad por éstas (su efectividad) está potenciada por la heparina. Acelerando la acción de la antitrombina III en 1000 veces.

**Angiosperma:** Forman el grupo más extenso del reino de las plantas. Tienen flores y producen frutos con semillas. Las angiospermas pueden ser árboles, como el roble, arbustos, como el tomillo, o hierbas, como el trigo. Son las únicas plantas que se han adaptado a vivir en todos los ecosistemas de la tierra, salvo en las regiones polares; los cactus viven en los desiertos, las poseidonias en el fondo del mar y los edelweiss en las cumbres de las montañas.

**Adsorción:** Retención sobre la superficie de una sustancia moléculas o iones de otra. Se trata de un fenómeno superficial.

**Antiagregante plaquetario:** impiden la formación de coágulos sanguíneos en las arterias. Los coágulos en las arterias del corazón y el cerebro pueden causar un infarto de miocardio o un ictus. Aunque a menudo se dice que los antiagregantes plaquetarios fluidifican la sangre, en realidad no actúan permitiendo que la sangre fluya con más facilidad por los vasos.

**Amenorrea:** Falta de menstruación en una mujer cuando tiene la edad correspondiente y no está embarazada. La amenorrea primaria se produce cuando la mujer todavía no ha tenido menstruaciones, y puede ser debida a una imperforación del himen, anomalías de las vías genitales, alteraciones hormonales o a la ausencia de útero. Es habitual que en la amenorrea primaria permanezcan algunos caracteres infantiles y la falta de caracteres sexuales secundarios. La amenorrea secundaria se produce en aquellas mujeres que anteriormente ya habían tenido menstruación, y puede ser debida a una enfermedad uterina, del ovario, a trastornos psicológicos, una pérdida de peso o a enfermedades que afectan al estado general (diabetes, tuberculosis, etcétera.).

**Análisis hematológico:** Es aquel que se realiza para determinar los valores de diferentes parámetros sanguíneos y los más frecuentes son hematocrito, hemoglobina, recuento leucocitario y recuento plaquetario.

**Biometría hemática:** La biometría hemática, también denominada citometría hemática o hemograma es un examen de laboratorio que examina las células que componen la sangre, ofrece una información general de la sangre y sus componentes, puede mostrar alteraciones o enfermedades hematológicas (propias de la sangre) o bien una alteración indirecta o reflejo de una enfermedad de algún otro órgano (no hematológicas). Hay valores de referencia específicos para los distintos componentes de la sangre (eritrocitos o glóbulos rojos, leucocitos o glóbulos blancos, plaquetas, etcétera) existen varios factores independientes de la enfermedad por los que estos valores pueden variar como el sexo, la edad, la altura sobre el nivel del mar, el laboratorio.

**Capilaridad:** Propiedad de atraer un cuerpo sólido y hacer subir por sus paredes hasta cierto límite el líquido que las moja, como el agua, y de repeler y formar a su alrededor un hueco o vacío con el líquido que no las moja, como el mercurio.

**Citosinas:** Las citosinas, también denominadas citoquinas son proteínas que regulan la función de las células que las producen sobre otros tipos celulares. Son los agentes responsables de la comunicación intercelular, inducen la activación de receptores específicos de membrana, funciones de proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, crecimiento y modulación de la secreción de inmunoglobulinas. Son producidas fundamentalmente por los linfocitos y los macrófagos activados, aunque también pueden ser producidas por leucocitos polimorfonucleares (PMN), células endoteliales, epiteliales, adipocitos, del tejido muscular (miocitos) y del tejido conjuntivo.

**Coagulopatía:** La coagulopatía, o trastorno hemorrágico, es una alteración de nuestro sistema de coagulación que hace que éste funcione de manera incorrecta o deficiente. Se caracteriza por una tendencia a sangrar con facilidad, y su origen puede estar, por ejemplo, en alteraciones en los vasos sanguíneos, en las plaquetas o en los factores de coagulación.

**Coagulación:** Sellado de un vaso sanguíneo con sangre coagulada.

**Coágulo sanguíneo:** Son masas que se presentan cuando la sangre se endurece pasando de líquida a sólida. Un coágulo sanguíneo que se forma dentro de una de las venas o las arterias se denomina trombo y también se puede formar en el corazón. Un trombo que se desprende y viaja desde un lugar en el cuerpo a otro se llama émbolo. Un trombo o émbolo puede bloquear parcial o totalmente el flujo de sangre en un vaso sanguíneo. Una obstrucción en una arteria puede impedir que el oxígeno llegue a los tejidos en esa área, lo cual se denomina isquemia. Si la isquemia no se trata oportunamente, puede provocar daños en los tejidos o la muerte. Una obstrucción en una vena generalmente provocará acumulación de líquido e hinchazón.

**Crenación:** es la contracción de las células dentro de los animales, particularmente los Eritrocitos en una solución hipertónica, debido a la pérdida de agua a través de ósmosis. Este encogimiento además provoca el detenimiento de las funciones propias de la célula.

**Cromatografía de capa fina:** Técnica cromatográfica empleada en la separación, identificación y cuantificación de los componentes de una mezcla de sustancias (en solución) en la cual se hace uso de un lecho constituido por un sólido finamente pulverizado (que opera como la fase estacionaria) dispuesto o inmovilizado sobre una placa plana ordinariamente de forma cuadrangular o rectangular, hecha de vidrio, aluminio o plástico. La separación se lleva a cabo colocando una gota de la solución que porta la mezcla a una distancia de aproximadamente 1 cm de uno de los costados de la placa, sin permitir que se extienda más allá de un par de milímetros de diámetro; tras ello, luego de permitir o inducir la evaporación del disolvente, la placa se introduce ligeramente inclinada dentro de un recipiente o cámara de elución que contiene la fase móvil, que es un disolvente que asciende por capilaridad por el lecho de la placa. Los diferentes eluatos se separarán de esta manera en base a sus diferentes afinidades entre las dos fases al ir migrando a lo largo de la placa impulsados por la fase móvil. La cámara se mantiene cerrada para que su atmósfera se sature en los vapores del eluyente con el objeto de facilitar su ascenso, evitando pérdidas por evaporación y manteniendo un flujo regular.

**Células de Kupffer:** son una forma especializada de células inmunes que existe sólo en el hígado. Son uno de varios tipos de macrófagos, un tipo de glóbulos blancos, que ayudan al cuerpo a mantener la salud por las bacterias que destruyen, células sanguíneas viejas y otras sustancias extrañas que ocurren en el torrente sanguíneo debido a una enfermedad, lesión o mal funcionamiento del cuerpo o simplemente a través de envejecimiento natural de las distintas células del cuerpo. Estas células se desarrollan dentro de la médula ósea, luego migran hacia el hígado, donde completan su desarrollo en células especialmente diseñadas para proteger el hígado. Estas células especializadas se consideran parte del sistema retículo endotelial, una parte del sistema inmunológico. Esta subdivisión del sistema inmunológico humano en general consiste no sólo de las células de Kupffer, pero también de las células inmunitarias localizadas en el tejido conectivo reticular. El tejido conectivo reticular es tejido especializado que soporta los ganglios linfáticos, el bazo y la médula ósea roja. También ayuda a mantener el tejido adiposo, o células de grasa. Todos estos elementos contribuyen a la compleja red de células y órganos que constituyen el sistema inmune humano.

**Desinfección:** es la eliminación de todos los microbios patógenos que se encuentran (o se sospecha que podrían encontrarse) en un sustrato o sobre una superficie. Existen numerosos agentes desinfectantes, tanto químicos como físicos.

A diferencia de la esterilización, que destruye todos los microbios, la desinfección tiene el objetivo de matar solo los microbios patógenos. Debido a las resistencias intrínsecas de los distintos patógenos, habrá que escoger cada vez el desinfectante que se va a utilizar, en función de la necesidad y las características de la superficie o del substrato a desinfectar.

**Extracto crudo:** Mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, obtenible por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos a partir de una fuente natural y utilizable en cualquier campo de la tecnología.

**Eluato:** Cada una de las sustancias que migran a través del lecho de la fase estacionaria (impulsadas por la fase móvil) dentro de un sistema de separación cromatográfico.

**Endotelio:** Tejido formado por células aplanadas y dispuestas en una sola capa, que reviste interiormente las paredes de algunas cavidades orgánicas que no comunican con el exterior: el endotelio recubre la pleura.

**Esterilización:** Eliminación o muerte de todos los microorganismos que contiene un objeto o sustancia, y que se encuentran acondicionados de tal forma que no pueden contaminarse nuevamente.

**Enfermedad de von Willebrand:** Forma de hemofilia causada por una anomalía del factor von Willebrand, necesario para que las plaquetas puedan adherirse a una vena o arteria para formar un coágulo que detenga la hemorragia.

**Factor:** Es una proteína de la sangre que es necesaria para formar coágulos de sangre.

**Factor de Von Willebrand:** Es una glucoproteína de la sangre que interviene en el momento inicial de la hemostasia. Su función, junto con la fibronectina es permitir que las plaquetas se unan de manera estable a la superficie del vaso roto. El gen que codifica la síntesis de la unidad de factor von Willebrand se halla en el cromosoma 12. La deficiencia de este factor es conocida como enfermedad de Von Willebrand. Además, el factor de von Willebrand está involucrado en un gran número de patologías diferentes, como la púrpura trombocitopénica trombótica, el síndrome de Heyde y posiblemente el síndrome hemolítico-urémico.

**Factor de necrosis tumoral:** Es una proteína del grupo de las citocinas liberadas por las células del sistema inmunitario que interviene en la inflamación y la destrucción articular secundarias a la artritis reumatoide, así como en otras patologías.

**Fibrinolítico:** Disuelve la fibrina y los coágulos sanguíneos.

**Fluorescencia:** Propiedad de algunos cuerpos de emitir luz al recibir una radiación.

**Fase estacionaria:** Fase en la cual están retenidos los componentes de la muestra, y a través de la cual fluye la fase móvil arrastrando a los mismos.

**Fase móvil:** que fluye a través de una fase estacionaria, arrastrando con ella a los compuestos de la mezcla.

**Fibrina:** Proteína insoluble que constituye la porción fibrosa de los coágulos de la sangre. Se sintetiza a partir de un precursor soluble, el fibrinógeno, cuando se detecta una hemorragia. La fibrina se deposita en la herida y forma un coágulo en el que quedan detenidos los elementos que forman la sangre. Su presencia es esencial en la detención de las hemorragias.

**Fibrinógeno:** El Factor I de la coagulación o fibrinógeno es una proteína que se encuentra en el plasma sanguíneo. El fibrinógeno se transforma en fibrina por la acción de otra proteína, la trombina. Esta fibrina interviene en la formación de un coágulo de sangre durante el fenómeno de la coagulación que detiene una hemorragia. Sus niveles en sangre pueden variar en ciertas condiciones. En caso de que aumente podemos pensar en muchas enfermedades como una infección, un cáncer, un linfoma o enfermedades inflamatorias. Su disminución puede deberse a una insuficiencia hepática porque una parte de su síntesis proviene del hígado.

**Frotis:** Preparación para el microscopio hecha tomando parte de un tejido, membrana o líquido que se necesita examinar.

**Herbario:** Colección clasificada de plantas secas para el estudio botánico.

**Hematocrito:** Es la medición del porcentaje de glóbulos rojos que se encuentran en un volumen específico de sangre.

**Hematología:** Es el estudio científico de la sangre y los tejidos que la forman.

**Hemoglobina:** Tipo de proteína presente en los glóbulos rojos cuya función es transportar oxígeno a los tejidos del cuerpo.

**Hematopoyesis:** La hematopoyesis es un proceso fisiológico que asegura la renovación de las células sanguíneas y que se produce de forma cotidiana en nuestro organismo. Encontramos tres tipos: la eritropoyesis para los glóbulos rojos; la leucopoyesis para los leucocitos (que se realiza en la médula ósea); y la trombocitopoyesis para la fabricación de las plaquetas. Un problema en la hematopoyesis puede provocar enfermedades como una hemopatía –una leucemia, un linfoma- o una aplasia de glóbulos rojos.

**Hemorragia:** Una hemorragia es la salida de sangre desde el aparato circulatorio, provocada por la ruptura de vasos sanguíneos como venas, arterias o capilares. Es una lesión que desencadena una pérdida de sangre, de carácter interno o externo, y dependiendo de su volumen puede originar diversas complicaciones (anemia, choque hipovolémico, etcétera.).

**Hemograma completo:** Medición del tamaño, la cantidad y la madurez de las diferentes células sanguíneas en un volumen de sangre específico.

**Hemólisis:** Destrucción de los eritrocitos por parte del cuerpo.

**Histología:** Es la disciplina que estudia todo lo relacionado con los tejidos orgánicos: su estructura microscópica, su desarrollo y sus funciones. La histología se identifica a veces con lo que se ha llamado anatomía microscópica, pues su estudio no se detiene en los tejidos, sino que va más allá, observando también las células interiormente y otros corpúsculos, relacionándose con la bioquímica y la citología.

**Interleucinas:** Grupo de citocinas producidas principalmente por los leucocitos "células T" con la función de regular la división y diferenciación de otras células del cuerpo, en especial las del sistema inmunitario.

**Ionización:** Es el fenómeno químico o físico mediante el cual se producen iones, estos son átomos o moléculas cargadas eléctricamente debido al exceso o falta de electrones respecto a un átomo o molécula neutra. A la especie química con más electrones que el átomo o molécula neutros se le llama anión, y posee una carga neta negativa, y a la que tiene menos electrones catión, teniendo una carga neta positiva. Hay varias maneras por las que se pueden formar iones de átomos o moléculas.

**Lactona:** Es un compuesto orgánico del tipo éster cíclico. Se forma como producto de la condensación de un grupo alcohol con un grupo ácido carboxílico en una misma molécula. Las estructuras más estables de las lactonas son las que poseen anillos con 5 (gama-lactonas) y 6 miembros (delta-lactonas), por razón de la menor tensión en los ángulos del compuesto. Las gama-lactonas son tan estables que en la presencia de ácidos diluidos a temperatura ambiente, éstos de inmediato sufren esterificación espontánea y ciclización sobre la lactona. Las beta-lactonas existen en la química orgánica, pero tienen que ser preparados por métodos especiales.

**Liofilización:** Proceso de eliminación del agua de muestras húmedas que tiene lugar a muy alto vacío (alrededor de 5um de mercurio, 0.7mPa) a temperaturas considerablemente bajas (-78 °C por ejemplo; las muestras muy frecuentemente se enfrían con hielo seco antes de iniciar el proceso). Bajo tales condiciones el agua se remueve por sublimación (esto es, se transforma en vapor directamente a partir de su forma sólida). Con este método se evita hacer uso de procesos que involucran temperaturas elevadas que podrían estropear las muestras. Es un método muy empleado para remover agua de muestras de tejido vegetal. Actualmente hay una gran variedad de modelos de aparatos de liofilización en diversas escalas.

**Longitud de onda:** Es la distancia real que recorre una perturbación (una onda) en un determinado intervalo de tiempo. Ese intervalo de tiempo es el transcurrido entre dos máximos consecutivos de alguna propiedad física de la onda.

**Metástasis:** Las metástasis son tumores malignos desarrollados en otras partes del cuerpo a partir de células cancerígenas desplazadas del tumor primario de origen.

**Metabolitos secundarios:** Son aquellos compuestos orgánicos sintetizados por el organismo que no tienen un rol directo en el crecimiento o reproducción del mismo. A diferencia de lo que sucede con los metabolitos primarios, la ausencia de algún metabolito secundario no le impide la supervivencia, si bien se verá afectado por ella, a veces gravemente.

**Microsublimación:** Este ensayo suele realizarse con drogas con principios fácilmente sublimables (antraquinonas, alcaloides). La determinación del punto de fusión o la producción de determinadas reacciones coloreadas características de los cristales formados sirven para la identificación de la droga.

**Noradrenalina:** Hormona que se sintetiza en las glándulas suprarrenales y actúa como neurotransmisor en las terminaciones nerviosas simpáticas de los nervios postganglionares. Su efecto produce una constricción de los vasos sanguíneos y la consiguiente subida de la tensión arterial.

**Plasma:** Parte líquida y acuosa de la sangre en la que están suspendidos los glóbulos rojos, los glóbulos blancos y las plaquetas.

**Precipitación:** Reacción química que separa una sustancia sólida que resulta insoluble al superar la disolución.

**Protrombina:** Es una proteína del plasma sanguíneo, forma parte del proceso de coagulación mediante la reacción de ésta con la enzima "tromboplastina", una enzima ubicada en el interior de los trombocitos, liberada al romperse la frágil membrana celular de los trombocitos. En esta etapa también participa el catión  $\text{Ca}^{++}$  (calcio), actuando como factor coenzimático. Cuando la protrombina entra en contacto con la tromboplastina, reaccionan y producen un compuesto proteico llamado trombina, a su vez ésta reacciona con el fibrinógeno, una proteína del plasma sanguíneo, dando como resultados enormes tiras de fibrina que van a cubrir el lugar de la hemorragia, y acto seguido van a crear una base sólida. La protrombina es creada en el hígado al igual que la mayoría de los factores coagulantes, también se denomina factor II de la coagulación. Se ha descubierto que un porcentaje reducido de personas sufren una mutación al gen de la protrombina, siendo más propensos a una trombosis.

**Polaridad:** Tendencia de las moléculas a ser atraídas o repelidas por cargas eléctricas.

**Prostaciclina:** La prostaciclina o  $\text{PGI}_2$  es uno de los miembros de la familia de moléculas lipídicas conocidas como eicosanoides. Una de las formas sintéticas de la prostaciclina usada en medicina es conocida como epoprostenol.

**Plasminógeno:** El plasminógeno o profibrinolisisina es una glicoproteína sintetizada por el hígado, presente en el plasma sanguíneo y la mayor parte del fluido extracelular como el precursor inactivo de una enzima proteasa llamada plasmina. El plasminógeno es el componente central del sistema fibrinolítico del organismo, es decir, actúa en la disolución de coágulos sanguíneos y otros organismos eucariotas. En humanos, la concentración de plasminógeno es entre 1.5 a 2  $\mu\text{mol/l}$ .<sup>2</sup>

**pH:** El pH indica el grado de acidez o basicidad de una solución, éste se mide por la concentración del ión hidrógeno; los valores de pH están comprendidos en una escala de 0 a 14, el valor medio es 7; el cual corresponde a solución neutra por ejemplo agua, los valores que se encuentran por debajo de 7 indican soluciones ácidas y valores por encima de 7 corresponde a soluciones básicas o alcalinas. Debido a que el pH indica la medida de la concentración del ión hidronio en una solución, se puede afirmar entonces, que a mayor valor del pH, menor concentración de hidrógeno y menor acidez de la solución.

**Proteína C:** Es producida por el hígado. El nivel de CRP se eleva cuando hay inflamación en todo el cuerpo. Esta es una de un grupo de proteínas llamadas "reaccionantes de fase aguda" que aumentan en respuesta a la inflamación.

**Proteína:** Las proteínas son moléculas complejas imprescindibles para la estructura y función de las células. Su nombre proviene del griego proteos que significa fundamental, lo cual se relaciona con la importante función que cumplen para la vida. Las proteínas se originan a partir de la unión de otras moléculas llamadas aminoácidos, estas se agrupan en largas cadenas y se mantienen estables por uniones químicas llamadas enlaces peptídicos.

**Quelante:** Sustancia de naturaleza química que tiene la facultad de unirse a los iones metálicos. Se emplea para eliminar del cuerpo los metales pesados y también para el tratamiento del cáncer.

**Ratio of front:** Es el desplazamiento de un eluato se cuantifica en términos de su Rf o factor de retardo, la relación entre la trayectoria recorrida por cada eluato entre la que ha recorrido el frente del disolvente.

**Sangre:** Líquido que mantiene la vida y que está compuesto de plasma, glóbulos rojos (eritrocitos), glóbulos blancos (leucocitos) y plaquetas. La sangre circula a través del corazón, las arterias, las venas y los capilares del cuerpo; transporta los desechos y el dióxido de carbono para su eliminación y aporta nutrientes, electrolitos, hormonas, vitaminas, anticuerpos, calor y oxígeno a los tejidos.

**Serotonina:** Neurotransmisor que se sintetiza a partir del aminoácido triptófano. En el cerebro las vías serotoninérgicas ejercen principalmente un control inhibitorio. La serotonina o 5HT está relacionada con los estados emocionales y el estado de ánimo.

**Suero sanguíneo:** Es el componente de la sangre resultante tras permitir la coagulación de ésta y eliminar el coágulo resultante. Es equivalente al plasma sanguíneo, pero sin las proteínas involucradas en la coagulación (fibrinógeno en su mayor parte). El suero es útil en la identificación de algunos analitos en los que no se requiere de la intervención de un anticoagulante, ya que este podría interferir en el resultado alterándolo.

**Trombina:** La trombina es una enzima del tipo de las peptidasas. No es parte de la sangre, sino que se forma como parte del proceso de coagulación sanguínea. Ayuda a la degradación del fibrinógeno a monómeros de fibrina.

**Tromboxano:** Los tromboxanos forman una familia de sustancias sintetizadas por los polinucleares (categoría de glóbulos blancos) y las plaquetas sanguíneas a partir del ácido araquidónico. Los tromboxanos juegan un papel importante en la coagulación de la sangre: en caso de lesión de un vaso sanguíneo favorecen la agregación plaquetaria y dan lugar a la aparición del trombo de sangre taponando así la lesión. Cuando hay un exceso de tromboxano pueden aparecer problemas de trombosis, es decir, de obstrucción de un vaso sanguíneo por un trombo. Diversos medicamentos pueden inhibir la producción de tromboxanos.

**Trombosis:** Es la formación de un coágulo en el interior de un vaso sanguíneo y uno de los causantes de un infarto agudo de miocardio. También se denomina así al propio proceso patológico, en el cual, un agregado de plaquetas o fibrina ocluye un vaso sanguíneo.

**Tautomería:** Proceso por el que dos compuestos se transforman espontáneamente el uno en el isómero del otro manteniendo el equilibrio químico:

**Tromboplastina parcial activada:** Es una prueba de sangre que examina el tiempo que le toma a la sangre coagularse y puede ayudar a establecer si uno tiene problemas de sangrado o de coagulación.

**Vasoconstricción:** Es la constricción o estrechamiento de un vaso sanguíneo que se manifiesta como una disminución de su volumen así como de su estructura. Un vasoconstrictor es una sustancia o estímulo ambiental que provoca vasoconstricción directa o indirectamente. Muchos vasoconstrictores actúan sobre receptores específicos de la vasopresina o sobre adrenorreceptores. Los vasoconstrictores son también utilizados clínicamente para incrementar la presión sanguínea o para reducir el flujo sanguíneo localmente.

La vasoconstricción a nivel de la microvasculatura cutánea hace que la piel adquiera un tono pálido o blanquecino. Este puede ser el resultado de factores ambientales o psicológicos como el frío o el estrés.

**Vasodilatación:** Es la capacidad de los vasos sanguíneos (arterias y venas) de dilatarse frente a estímulos químicos secretados por células inflamatorias, el endotelio (óxido nítrico), aferencias nerviosas o fármacos. Esto genera una disminución de la presión arterial cuando ocurre en el territorio arterial. Se utiliza también para la termorregulación al vasodilatarse la circulación periférica.

**Velocidad de sedimentación globular:** La velocidad de sedimentación globular (habitualmente referida como VSG) o eritrosedimentación es una prueba diagnóstica de laboratorio utilizada frecuentemente en medicina. Consiste en medir la velocidad con la que sedimentan (decantan, caen) los glóbulos rojos o eritrocitos de la sangre, provenientes de una muestra de plasma sanguíneo (tratado con solución de citrato o con EDTA), en un periodo determinado de tiempo, habitualmente una hora.

**Venopunción:** Es la extracción de sangre de una vena, generalmente tomada por un químico, bacteriólogo, parasitólogo, un laboratorista, un enfermero, un veterinario, un paramédico o un estudiante de estas profesiones. También se conoce con los nombres alternativos de extracción de sangre o flebotomía.

**Vestigio:** La palabra vestigio proviene en su etimología del latín “vestigium” con el significado de “ir detrás de una pista o huella” con referencia a la marca que dejan las pisadas en la arena o en la tierra. Los vestigios son rastros que pueden servir a nivel personal pero que muchas veces ayudan a esclarecer delitos, pues pueden servir como elementos de prueba, y también permiten avanzar investigaciones en ciencias naturales y sociales.

**Viscosidad:** Es una característica de los fluidos en movimiento, que muestra una tendencia de oposición hacia su flujo ante la aplicación de una fuerza. Cuanta más resistencia oponen los líquidos a fluir, más viscosidad poseen. Los líquidos, a diferencia de los sólidos, se caracterizan por fluir, lo que significa que al ser sometidos a una fuerza, sus moléculas se desplazan, tanto más rápidamente como sea el tamaño de sus moléculas. Si son más grandes, lo harán más lentamente.