

EFECTO DEL GEL DE *Aloe vera* L. MODIFICADO EN EL TRATAMIENTO DE HEPATOTOXICIDAD Y ALOPECIA INDUCIDAS CON CCl₄ Y DMSO EN RATONES

Effect of modified *Aloe vera* L gel in the treatment of liver toxicity and induced alopecia with CCl₄ and DMSO in mice

Félix Saavedra¹, Gloria Gordillo², Haydée Zúñiga², José A. Apesteiguía³, Henry Ostos⁴

¹Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara"; ²Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo"; ³Laboratorio de Toxicología y Química Legal. ⁴Bioterio. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM.

RESUMEN

El propósito del presente estudio fue evaluar si la pérdida del pelaje y variación de enzimas hepáticas, aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT), producidas en ratones albinos por administración vía oral de tetracloruro de carbono y dimetilsulfóxido (DMSO) (1:1), dosis 2 mL/Kg, son procesos reversibles cuando se administra gel de sábila modificado (GSM) por vía oral a dosis diaria de 8 mL/Kg de peso. Según los análisis realizados a los 13, 18 y 33 días de iniciado el tratamiento con GSM, se evidencia disminución progresiva y significativa de AST y ALT, sin variaciones en las proteínas y fosfatasa; en cambio, el nivel de triglicéridos experimenta disminución significativa durante la primera semana respecto a los roedores que recibieron la mezcla CCl₄+DMSO (grupo A), ejemplares que además recuperaron el pelaje en el pecho y hocico a los 33 días de iniciado el experimento. Los ratones de los grupos control, GSM, DMSO+alimento y alimento+agua, no presentan variación significativa en los indicadores estudiados.

Palabras clave: Hepatotoxicidad, CCl₄, DMSO, alopecia, *Aloe vera*.

SUMMARY

The purpose of this study was to assess whether the loss of fur and changes in liver enzymes, aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT), produced in albino mice by oral administration of carbon tetrachloride and dimethyl sulfoxide (DMSO) (1:1), 2 mL/kg dose, are reversible processes when administered modified aloe gel (GSM) orally daily dose of 8 mL/kg of weight. Tests carried out at 13, 18 and 33 days from starting treatment with GSM, was evidenced significant and progressive decrease in AST and ALT without significant variations in proteins and phosphatases; whereas triglyceride level by the effect of GSM (group B), experienced significant decrease during the first week compared to mice given CCl₄+DMSO mixture (group A), specimens that also recovered the fur on its chest and muzzle at 33 days of starting the experiment. The mice in the groups: control, GSM, DMSO+feed and water+feed, did not present significant variation in the studied indicators.

Keywords: Hepatotoxicity, CCl₄, DMSO, alopecia, *Aloe vera*.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos, *Aloe vera* (sábila) se utiliza en todas las latitudes para el tratamiento de diversas enfermedades de órganos y sistemas del ser humano, debido a su contenido en vitaminas, enzimas, minerales, polisacáridos, antraquinonas, carbohidratos, hormonas, aminoácidos, flavonoides, esteroides, lignina y ácido salicílico, atribuyéndose a los polisacáridos actividades biológicas como: cicatrizante, antimicótica, hipoglucemiante, antiinflamatoria, anticáncerosa, inmunomoduladora y gastroprotectoras⁽¹⁾.

El uso de tetracloruro de carbono (CCl₄) en animales de experimentación es un modelo adecuado para elucidar

los mecanismos de acción de los efectos hepatotóxicos como: degeneración grasa, fibrosis, cirrosis, tumores y carcinomas hepáticos. El metabolismo del CCl₄ es iniciado por enzimas citocromo P-450, para formar el radical triclorometilo ($\cdot\text{CCl}_3$) que reacciona con oxígeno formando el radical triclorometilperóxido ($\cdot\text{CCl}_3\text{OO}$); este compuesto genera fosgeno y reacciona con la molécula antioxidante glutatión o cisteína, especies altamente reactivas. La desmedida producción de estos y otros radicales libres, causan peroxidación lipídica de la membrana celular y activación de factores de transcripción que regulan los genes del TNF α (citoquina pro inflamatoria cuya sobreexpresión favorece la apoptosis y activación

de las células estelares) y de otros involucrados en la regeneración tisular, lo cual se comprobó observando modificaciones morfológicas de las células hepáticas y formaciones tumorales ^(2, 3). En este sentido, los polisacáridos y flavonoides de *Aloe barbadensis* Miller, y los polisacáridos y compuestos fenólicos del gel de *Aloe arborescens* Miller han demostrado potencial antioxidante *in vitro* ^(4, 5).

El CCl₄ se administra a ratas Wistar y ratones albinos (BALB/c) y cepa C57BL/6, en la mayoría de los casos combinado con aceite de oliva, aceite de maíz o parafina líquida, vía intraperitoneal u oral (dosis 0,4 a 2 mL/Kg.); también se aplica por vía subcutánea o por inhalación. Este modelo origina el incremento de las enzimas hepáticas alanina aminotransferasa (ALT), marcador específico de daño al hepatocito, aspartato aminotransferasa (AST), lactato deshidrogenasa (LDH), fosfatasa alcalina (ALP), proteínas totales (TP), triglicéridos (TG) y malondialdehído (MDA), mientras disminuye la actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión reductasa (GR) y glutatión peroxidasa (GPX) ⁽⁶⁾.

Aloe vera L. tiene acción moduladora en los perfiles de las enzimas asociadas con el metabolismo carcinógeno en diversos órganos de ratones. En el hígado, se presenta incremento significativo en los niveles de ácido sulfhídrico soluble (-SH), NADPH-citocromo P450 reductasa, NADH-citocromo b5 reductasa, glutatión S-transferasa (GST), DT-diaforasa (DTD), SOD, CAT, GPX y GR. De esta manera, *Aloe vera* es un claro inductor del sistema enzimático fase II ⁽⁷⁾.

La microscopía electrónica evidenció que la pulpa está constituida por células claras y grandes, en cuyas paredes y membranas hay número limitado de organelas degeneradas distribuidas a lo largo.

Por centrifugación secuencial se obtienen tres componentes: hojas claras delgadas, micropartículas y líquido viscoso, que concuerdan con la pared celular, organelas celulares degeneradas y líquido viscoso del gel; estos tres componentes, representan 16,2 - 83,1% del extracto seco del gel que se localiza en la parte central de la hoja. La composición de hidratos de carbono de cada componente fue distinta: el gel contenía mannan; las micropartículas, galactosa rica en polisacáridos; y las paredes celulares, un nivel inusualmente elevado de ácido galacturónico (34% w/w). Por tanto, los diferentes componentes estructurales de la pulpa se asocian con diferentes polisacáridos, en consecuencia, tienen diferente funcionalidad ⁽⁸⁾.

Por hidrólisis ácida de los polisacáridos de *Aloe vera* L., se obtuvo mayor cantidad de manosa, glucosa,

galactosa y trazas de arabinosa, xilosa y ramnosa. En *Aloe arborescens* Miller, se detectó mayor cantidad de glucosa, también galactosa, arabinosa y trazas de xilosa ⁽⁹⁾.

Para neutralizar la injuria hepática en roedores por CCl₄, *in vitro* y *in vivo*, se han utilizado diversos componentes y extractos de diferentes aloes, por ejemplo, polvo de *Aloe vera* disuelto en acetato de etilo ⁽¹⁰⁾, extracto acuoso de las partes aéreas de *Aloe barbadensis* Mill ⁽¹¹⁾.

El extracto de *Aloe vera* L. Burm. F., administrado a conejos—dosis para adulto 500 mg/70 Kg de peso, ajustada al peso del animal—, disminuye los niveles de ALT, AST y bilirrubina directa, lo que sugiere que la planta protege del estrés oxidativo e inhibe la acumulación de radicales libres mediante los fitoconstituyentes biológicamente activos como flavonoides y alcaloides ⁽¹²⁾.

Los glicósidos totales de *Aloe vera* var. *Chinensis*, administrados por vía i.p. en ratas y ratones, disminuyen los niveles de GPT elevados por CCl₄, tioacetamida y D-amino-lactosa; también son útiles en 86% pacientes con hepatitis crónica ⁽¹³⁾.

Filatov, investigando sustancias bioestimulantes para el tratamiento de cataratas, guardó hojas enteras de *Aloe vera* L. a 4°C durante dos semanas y en éstas se sintetizaron sustancias que incrementan la adaptación de las hojas a las condiciones adversas y retardan su muerte ⁽¹⁴⁾. Con este antecedente, en lugar de refrigerar las hojas, se refrigeró durante tres semanas el gel licuado sin aloína, y este gel de sábila modificado (GSM) produjo mayor motilidad en el íleo de rata aislado respecto al gel fresco ⁽¹⁵⁾.

El objetivo del presente estudio es comprobar si el GSM presenta efecto hepatoprotector y revierte la alopecia inducida en ratones albinos hembra intoxicadas con CCl₄ mezclado en DMSO.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos químicos

Todos los reactivos utilizados fueron grado analítico.

Preparación del gel de sábila modificado (GSM)

450 g de trozos de hojas de *Aloe vera* Linneo, se maceraron en 600 mL de agua destilada, después de dos horas se renovó el agua y se maceró por una hora más. Enseguida, sobre una superficie adecuada, se cortaron los bordes espinosos y se separó la parte plana, de manera que la parte convexa conserve la mayor cantidad de gel, el cual, luego es separado con

espátula y llevado al vaso de una licuadora. El gel espeso y espumoso obtenido, se vierte en pequeños recipientes de vidrio de 100 a 120 mL con tapa, sin llenarlos –para evitar se rompan por la dilatación del gel- y se congelan a 0°C durante dos semanas. Iniciado el experimento, cada dos días se descongela un frasco y se separa, en recipiente pequeño con tapa, la cantidad aproximada a utilizar guardando el recipiente original en la parte inferior de la refrigeradora. Se repitió esta secuencia hasta concluir el experimento.

Durante la maceración de los trozos de *Aloe vera* en agua, se disuelven los carbohidratos solubles –principalmente glucosa-, ácidos orgánicos y aloína⁽¹⁶⁾. Este último compuesto es el acíbar amarillento que fluye de los túbulos pericíclicos de la hoja de la planta, cuyo principal componente es la aloe emodina, la cual, administrada a la concentración de 50 mg/Kg, demostró tener algún efecto hepatoprotector, así como en la respuesta inflamatoria posterior a la peroxidación lipídica en ratas intoxicadas con CCl_4 ⁽¹⁷⁾. Sin embargo, cuando se administra, a ratas albinas, el extracto liofilizado de las hojas de *Aloe barbadensis* (que incluye todos los nutrientes biológicamente activos, además aloína A, aloe emodina y otros derivados antraquinónicos) en agua de bebida al 2-3%, durante 104 semanas –sin período de descanso-, se desarrollan neoplasias en diferentes órganos y sistemas⁽¹⁸⁾.

Animales de experimentación

Se utilizaron ratones albinos hembra, cepa NIH, de 20-25 g, del Instituto Nacional de Salud, aclimatados por siete días, con libre acceso a alimento y agua, bajo condiciones establecidas de temperatura (23°C) y humedad (60-70%), se les agrupó en cuatro grupos de cinco cada uno, suministrándoles tratamiento oral por 32 días.

Grupo A: Recibieron, por vía oral, II gotas de la mezcla CCl_4 +DMSO (1:1) equivalente a CCl_4 , 2 mL/Kg de peso durante tres días; luego, por 29 días, IV gotas de GSM equivalente a 8 mL/Kg de peso.

Grupo B: GSM 8 mL/Kg durante 32 días.

Grupo C: DMSO 2 mL/Kg de peso por 32 días.

Grupo D: Control, acceso libre a alimento y agua por 32 días.

Preparación de las muestras biológicas

Se anestesiaron los ratones y por punción cardiaca se les extrajo sangre, la cual se dejó en reposo para retracción del coágulo y se centrifugó para obtener el suero para las determinaciones de alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina (ALP), proteínas totales y triglicéridos.

RESULTADOS

Observación macroscópica

Grupo A. Al inicio del experimento, por acción del CCl_4 , presentaron pérdida de pelo a nivel del hocico, cuello y parte del pecho. Conforme transcurren las semanas, por efecto del GSM, es notorio el crecimiento de pelo en dichas zonas y, conforme se iban sacrificando los roedores, mejora el aspecto –color y tamaño- de las vísceras (pulmones, hígado, intestino, bazo), en especial el hígado, el cual inicialmente estuvo fragmentado en lóbulos de color rojo oscuro, mientras que en los últimos sacrificios, luce íntegro y de color rojo vinoso. Asimismo, los ejemplares sacrificados antes de las dos semanas, a nivel medio de la línea interlobular del hígado, presentaron una pequeña vesícula oleosa amarillenta la cual desaparece al finalizar la tercera semana de tratamiento.

Grupo B. Algunos ejemplares presentaron acumulación de grasa debajo de la piel. El grupo se caracterizó por el rápido metabolismo de alimentos y líquidos, presentando el intestino casi vacío, excesiva diuresis, incremento de peso y vísceras con aspecto de estar siempre bien irrigadas.

Grupos C y D. Internamente las vísceras lucían normales y mantuvieron el incremento de peso con la edad.

DISCUSIÓN

La administración de CCl_4 en ratones, origina necrosis centrilobular con degeneración de hepatocitos y una sobreproducción del factor de crecimiento del hepatocito (HGF), el cual lo protege del tóxico; sin embargo, la isoforma transgénica NK2 neutraliza *in vitro* el HGF endógeno en términos de promover la injuria hepática generada por el xenobiótico. Esto se comprueba administrando CCl_4 a ratones transgénicos HGF y NK2, y al grupo control WT, observándose incremento de ALT dos a tres veces en el grupo NK2, respecto al grupo WT, y disminución dramática de dicha enzima en el grupo HGF, respecto al grupo WT⁽¹⁹⁾, lo que sugiere que cuando se administra GSM y disminuye el nivel de ALT, las expresiones RNA del grupo de ratones intoxicados con la mezcla CCl_4 +DMSO se desplazan hacia expresiones RNA análogas que favorecen la sobreproducción de HGF.

Después de haber recibido la tercera dosis de la mezcla CCl_4 +DMSO, los roedores del grupo A presentaron aspecto y pelaje muy deteriorado. Transcurridos cinco días del experimento, los ratones del grupo A –que habían recibido GSM por dos días–,

Tabla 1. Variaciones de algunos indicadores bioquímicos en ratones hembra por efecto de CCl₄ disuelto en DMSO (1:1) y su tratamiento con ingesta de GSM comparados con grupo control.

Grupo	Sustancia adm. vía oral (mL/Kg)	Tratamiento Días	Peso (*promedio) (g)	AST UI/L	ALT UI/L	Proteínas g/dL	Fosfatasa	Triglicéridos (mg/dL)
A	CCl ₄ +DMSO (1:1) 2 mL/Kg	5	24,0	208	235	7,2	310	148
		13	*26,6	193,5	207	6,95	283	88
		32	*35,25	93	122	8,25	223	73,5
B	GSM 8 ml/Kg	13	31,1	55	73	7,6	225	67
		18	*33,0	60,5	54	7,3	166	45
		32	*34,0	46,5	47	7,5	162	106
C	DMSO 2 ml/Kg	5	27,2	67	78	6,5	216	198
		18	31,6	56	66	6,8	196	132
		28	*33,0	45	49	7,0	155	104
D	CONTROL	32	35,0	48	53	7,3	155	79
		5	35,4	50	69	6,9	235	85
		18	*35,5	48	52	7,3	155	142
		32	*39,0	67	98	7,8	186	55

según la tabla 1, presentan incremento de AST en 2,5 veces y ALT en más de 2 veces, respecto al promedio de dichos indicadores en los tres grupos control B, C y D; en cambio, los niveles de triglicéridos se incrementan en el grupo A y en el grupo con DMSO (grupo C), respecto al grupo control D. Los indicadores proteínas y fosfatasa no presentan variaciones significativas en los tres grupos control, pero de manera relativa, están ligeramente elevados en el grupo A.

Durante el transcurso del tratamiento para el grupo A (3 días con la mezcla CCl₄+DMSO y 10 días con GSM), la cinética en la disminución de los niveles de AST y ALT es pequeña, pero la recuperación de movilidad y pelo en los roedores es ostensible, tal como se muestra en la figura 2.

Al finalizar el experimento, el grupo A por efecto del GSM –durante 29 días– disminuye los niveles de AST y ALT en casi el doble que el promedio de los equivalentes de los tres grupos control, lo cual sugiere secuelas hepáticas de lenta remisión. Sin embargo, respecto a los niveles iniciales –3 días de tratamiento con GSM– los niveles de dichas enzimas se han reducido en 50%. Por otro lado, conforme transcurre el experimento los ratones del grupo A tratados con GSM, presentan incremento del nivel de proteínas y disminución de fosfatasa, además de mejoría de la función hepática, por lo que se propone que el GSM interviene en algunas rutas metabólicas que promueven el desarrollo del folículo piloso y crecimiento de pelo en los roedores de este grupo. Al parecer, el GSM restablece la producción de células productoras del factor de crecimiento epitelial, teniendo en cuenta un estudio con ratones mutantes carentes de células

productoras de dicho factor⁽²⁰⁾.

Se evidencia la participación de los componentes químicos presentes en GSM, observando crecimiento de pelo alrededor del cuello y pecho en ratones hembra (fig. 1, 2,3) a los cuales se indujo alopecia con la mezcla CCl₄+DMSO.

El pelo es un ejemplo notable de diferenciación celular

especializada y el ratón es un excelente modelo para investigar la biología del crecimiento y estructura del pelo. Se ha demostrado en ratones transgénicos disminución sustancial en la proteína alta en azufre y la proteína alta en los grupos del glicina/tirosina, constituyentes de la matriz de queratina del pelo⁽²¹⁾.

Entre los componentes del gel de sábila se hallan los aminoácidos esenciales metionina, histidina, arginina, triptófano, lisina, valina, leucina e isoleucina. El aminoácido sulfurado metionina es el componente indispensable para la síntesis de queratina, proteína principal del filamento piloso. A este aminoácido, que ingresa al organismo con los alimentos, se le considera “aminoácido de partida” en la síntesis de proteínas a nivel de los ribosomas. Asimismo, L-metionina es donante fundamental de azufre, aporta el grupo –SH indispensable para la producción de queratina, glutatión, carnitina, fosfolípidos y otras sustancias importantes. La metionina es la fuente de azufre en la biosíntesis de cisteína (precursor del glutatión), la cual también participa en la elaboración de queratina⁽²²⁾.

La L-Arginina es sustrato para las enzimas denominadas NO-sintasas, cuyo trabajo conduce a la formación de óxido de nitrógeno (NO), el cual es un poderoso vasodilatador que regula el ingreso de sangre y nutrientes en órganos y tejidos del organismo, entre ellos, los folículos pilosos. La arginina es indispensable para la síntesis de hormonas (como la del crecimiento) y procesos del intercambio nitrogenado⁽²³⁾. El factor de crecimiento semejante a la insulina tipo I (IGF-1) es sintetizado principalmente en el hígado (pero también en la glándula mamaria y otros tejidos) y desempeña diversos roles importantes en la proliferación,

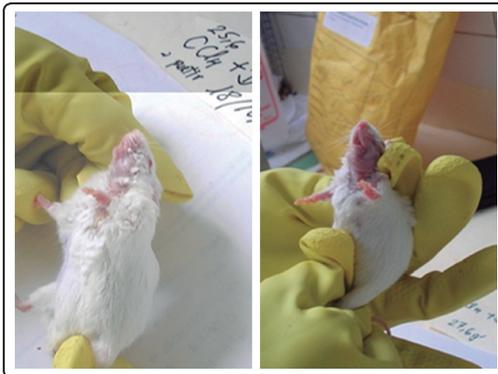


Figura 1. Vista de dos ejemplares del grupo A tratados con GSM durante tres días (pesos 25,6 y 27,6 g), antes de ser sacrificados.

diferenciación y funciones de la célula, por consiguiente contribuye al mantenimiento e integridad de los tejidos. Se sabe que la hormona de crecimiento (GH) aumenta los niveles de IGF-1 en suero estimulando la producción hepática, pero no se conoce con certeza el mecanismo por el cual la producción local de IGF-1 en tejidos individuales está regulada. La estimulación de neuronas sensoriales por capsaicina (componente irritante de ajíes y pimientos) incrementa los niveles de IGF-1 y del IGF-1-RNA en diversos órganos vía incremento de calcitonina péptido relacionada con el gen (CGRP) en ratones. El fitoestrógeno isoflavona aumenta la producción de CGRP aumentando su transcripción en neuronas sensoriales. La administración de capsaicina e isoflavona aumenta producción de IGF-I en folículos pilosos, por consiguiente favorece el crecimiento de pelo en ratones y en voluntarios con alopecia ⁽²⁴⁾. Es decir, el GSM, al normalizar la función hepática, favorece la producción de IGF-1 regenerando el pelo en los roedores tratados con la mezcla CCl_4 +DMSO.

El gel también contiene vitaminas y minerales que favorecen el crecimiento del pelo, por ejemplo, la vitamina C (ácido ascórbico), un poderoso antioxidante que desempeña un rol importante en la regulación de los procesos óxido-reductores, participa en la síntesis de colágeno -y procolágeno-, metabolismo del ácido fólico y hierro, síntesis de hormonas esteroideas y catecolaminas. En presencia de cantidad adecuada de ácido ascórbico, se incrementa significativamente la estabilidad de las vitaminas B₁, B₂, A, E, ácidos pantoténico y fólico, también necesarios para el normal funcionamiento del folículo piloso y crecimiento del pelo ⁽²⁵⁾.



Figura 2. Recuperación del pelo en ratones hembra por efecto de GSM, previamente intoxicados con CCl_4 . A) Con 15 días de tratamiento B) Tratamiento por 24 días.



Figura 3. Los mismos roedores mostrando recuperación anímica y de pelaje por tratamiento con GSM durante 29 días (pesos 37,0 y 33,5 g.) A) Vista de ambos ejemplares. B) Vista del pecho y vientre de uno de ellos.

Entre los ingredientes minerales, el gel contiene zinc, selenio, magnesio y cobre (también calcio, potasio y cromo) que forman parte del centro activo de enzimas antioxidantes. El Cu forma parte del centro activo de muchas enzimas y también participa en los procesos de crecimiento y desarrollo de la célula y tejidos. Junto con el ácido ascórbico el Cu apoya el estado activo del sistema inmunológico y sostiene la estructura de la enzima SOD; además la elasticidad de la piel se mantiene con ayuda de colágeno en cuya composición participa el cobre. El Zn es importante para el ciclo vital del pelo, desempeña efecto antiandrógeno, estimulando el crecimiento del pelo.

Por los resultados obtenidos es evidente que el GSM contiene la mayoría de los componentes químicos de *Aloe vera* L., entre ellos, polisacáridos, aminoácidos esenciales, enzimas antioxidantes y minerales complexados a moléculas orgánicas.

CONCLUSIONES

El gel de sábila modificado (GSM) tiene efecto hepatoprotector en ratones hembra intoxicados con CCl_4 disuelto en DMSO, a juzgar por la disminución de los niveles de las transaminasas (ALT y AST).

El GSM presenta efecto hipolipemiante, ya que disminuye los triglicéridos.

La alopecia generada por la mezcla CCl_4 + DMSO es reversible con un mes de tratamiento con GSM.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hamman JH. Composition and Applications of Aloe vera Leaf Gel. *Molecules* 2008; 13(8): 1599-616.
- Manibusan MK, Odin M, Eastmond DA. Postulated carbon tetrachloride mode of action: a review. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 2007; 25(3): 185-209.
- Moreno M. Investigación de nuevas estrategias Terapéuticas para la inflamación y cirrosis hepática. [Tesis para optar el grado de Doctor en Medicina]. Universidad de Barcelona. 2010. Pág. 29-30. [En línea] Acceso 08 de febrero 2013. Disponible en: www.tdx.cat/bitstream/10803/2326/1/MMS_TESIS.pdf
- Hu Y, Xu J, Hu Q. Evaluation of antioxidant potential of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) extracts. *J Agric Food Chem* 2003; 51(26): 7788-91.
- Olennikov DH, Zilfikarov YH, Ybraguimov TA, Toropova AA and Tanxayeva LM. Composición química del extracto de *Aloe arborescens* Miller y su actividad antioxidante *in vitro*. *Ximia pastítelnova siriá* 2010; 3: 83-90. [En línea] Acceso 02 de enero 2014. Disponible en: www.chem.asu.ru/chemwood/volume14/2010_03/1003_083.pdf
- Young J K, Dong W K and Chae Ch Ch. Carbon tetrachloride (CCl_4)-induced mouse liver damage and antioxidant activities of aqueous extracts of white, red, and fermented red ginseng. *Journal of Trace Analysis in Food and Drugs* 2013; 1: 22-9.
- Singh RP, Dhanalakshmi S, Rao AR. Chemomodulatory action of *Aloe vera* on the profiles of enzymes associated with carcinogen metabolism and antioxidant status regulation in mice. *Phytomedicine* 2000; 7(3): 209-19.
- Ni Y, Turner D, Yates KM, Tizard I. Isolation and characterization of structural components of *Aloe vera* L. leaf pulp. *Int Immunopharmacol* 2004; 4(14):1745-55.
- Larionova M, Menéndez R, Valiente O, Fusté V. Estudio químico de los polisacáridos presentes en *Aloe vera* L. y *Aloe arborescens* Miller cultivados en Cuba. *Rev Cubana Plant Med* 2004; 9(1) [En línea] Acceso 23 febrero 2013. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000100004&lng=en.
- Norikura T, Kennedy DO, Nyarko AK, Kojima A, Matsui-Yuasa I. Protective effect of aloe extract against the cytotoxicity of 1,4-naphthoquinone in isolated rat hepatocytes involves modulations in cellular thiol levels. *Pharmacol Toxicol* 2002; 90(5): 278-84.
- Chandan BK, Saxena AK, Shukla S, Sharma N, Gupta DK, *et al.* Hepatoprotective potential of *Aloe barbadensis* Mill. against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity. *J Ethnopharmacol* 2007; 111(3): 560-6.
- Sultana N, Najam R. Gross toxicities and hepatoprotective effect of *Aloe vera* (L) Burm F. *International Research Journal of Pharmacy* 2012; 3(10): 106-110.
- Fan YJ, Li M, Yang WL, Qin L, Zou J. Protective effect of extracts from *Aloe vera* L. var. chinensis (Haw.) Berg. on experimental hepatic lesions and a primary clinical study on the injection of in patients with hepatitis. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 1989; 14(12): 746-8.
- Mashkovsky M.D. *Lekartsvenni Sriedsva* (Sustancias medicinales) T1. Edit Medicina. Moscú, 1986. p. 188.
- Saavedra F, Carreño M, Rojas L, Almonacid A, Ávila J, *et al.* Variación fisicoquímica del aloe y su efecto farmacológico. XII Jornadas de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas 2009: 30.
- Páez A, Gebre M, González ME, Tschaplinski TJ. Growth, soluble carbohydrates, and aoin concentration of *Aloe vera* plants exposed to three irradiance levels. *Environ Exp Bot* 2000; 44(2): 133-9.
- Arosio B, Gagliano N, Fusaro LM, Parmeggiani L, Tagliabue J, *et al.* Aloe-Emodin Quinone Pretreatment Reduces Acute Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride. *Pharmacology & Toxicology* 2000; 87(5), 229-33.
- U.S. Department of Health and Human Services. National Toxicology Program. NTP Technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of a nondecolorized whole leaf extract of *Aloe barbadensis* Miller (Aloe vera) in F344/N rats and B6C3F₁ mice (drinking water study). Scheduled Peer Review Date: April 5, 2011 NTP TR 577: 223 [En línea] Acceso 05 noviembre 2012. Disponible en: ntp.niehs.nih.gov/Ntp/About/Ntp/Trpanel/2011/.../DraftTR577.Pdf.
- Otsuka T, Takagi H, Horiguchi N, Toyoda M, Sato K, *et al.* CCl_4 -induced acute liver injury in mice is inhibited by hepatocyte growth factor overexpression but stimulated by NK2 overexpression *FEBS Letters* 2002; 532(3): 391-5.
- Benavides F, Guénet JL. "Manual de Genética de Roedores de Laboratorio" Capítulo IX. Los roedores de laboratorio como modelo de enfermedades humanas. Universidad Alcalá de Henares. [En línea] Acceso 05 de febrero 2013. Disponible en: www.transtechsociety.org/.../09-GENETICA.pdf
- Fernandes MM, Lima CF, Loureiro A, *et al.* Keratin-based peptide: biological evaluation and strengthening properties on relaxed hair. *International Journal of Cosmetic Science* 2012; 34(4): 338-46.
- Powell BC, Rogers GE. Cyclic hair-loss and regrowth in transgenic mice over expressing an intermediate filament gene. *The EMBO Journal* 1990; 9(5): 1485-93.
- Lin MJ, Su MC, Tan CT, Su CC, Li SY, Lin RH. The effect of L-arginine on slow motility of mammalian outer hair cell. *Hear Res* 2003; 178(1-2): 52-8.
- Harada N, Okajima K, Arai M, Kurihara H, Naomi Nakagata N. Administration of capsaicin and isoflavone promotes hair growth by increasing insulin-like growth factor-I production in mice and in humans with alopecia. *Growth Hormone & IGF Research* 2007; 17(5): 408-15.

25. Shada M. AL-Sudani, Maha K. AL-Mallak. Study on effect of Vitamin C and E (normal and double dose) on skin wounds healing in experimental rats wistar albino. Biology department, Science collage. University of Basrah. [En línea] Acceso 30 de diciembre 2013. Disponible en: <http://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&aId=50304>

Correspondencia

Nombre: Félix Enrique Saavedra Nizama
Dirección: Jr. Puno 1002 -Lima 1 - Perú
E-mail: fesn2709@gmail.com