



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE  
TECNOLOGÍA MÉDICA**

Validación del extracto del exocarpo de *Renalmia alpinia* (kumpia)  
como colorante nuclear tisular

**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE  
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA EN LABORATORIO CLÍNICO  
Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**Presentada por**  
Santa Cruz Sánchez, Óscar

**Asesor**  
Dr. Carlos Hugo García Vásquez

**Lima-Perú**  
2014

### ***Dedicatoria***

Dedico este trabajo a Dios, por darme vida, salud y las fuerzas necesarias para culminar mi carrera y continuar luchando día tras día, para el logro de mis metas.

A mis padres, Francisco y Dalinda, a mis hermanos Margarita, Marta, Carmen, Angélica, Mesías, Luisa, Dalia, a quienes amo mucho, por estar siempre a mi lado, apoyándome en todo momento, para lograr uno de mis objetivos y ser un profesional de éxito.

### ***Agradecimientos***

Agradezco infinitamente a Dios por haberme dado salud y las fuerzas necesarias para culminar con éxito mi carrera profesional y la tesis.

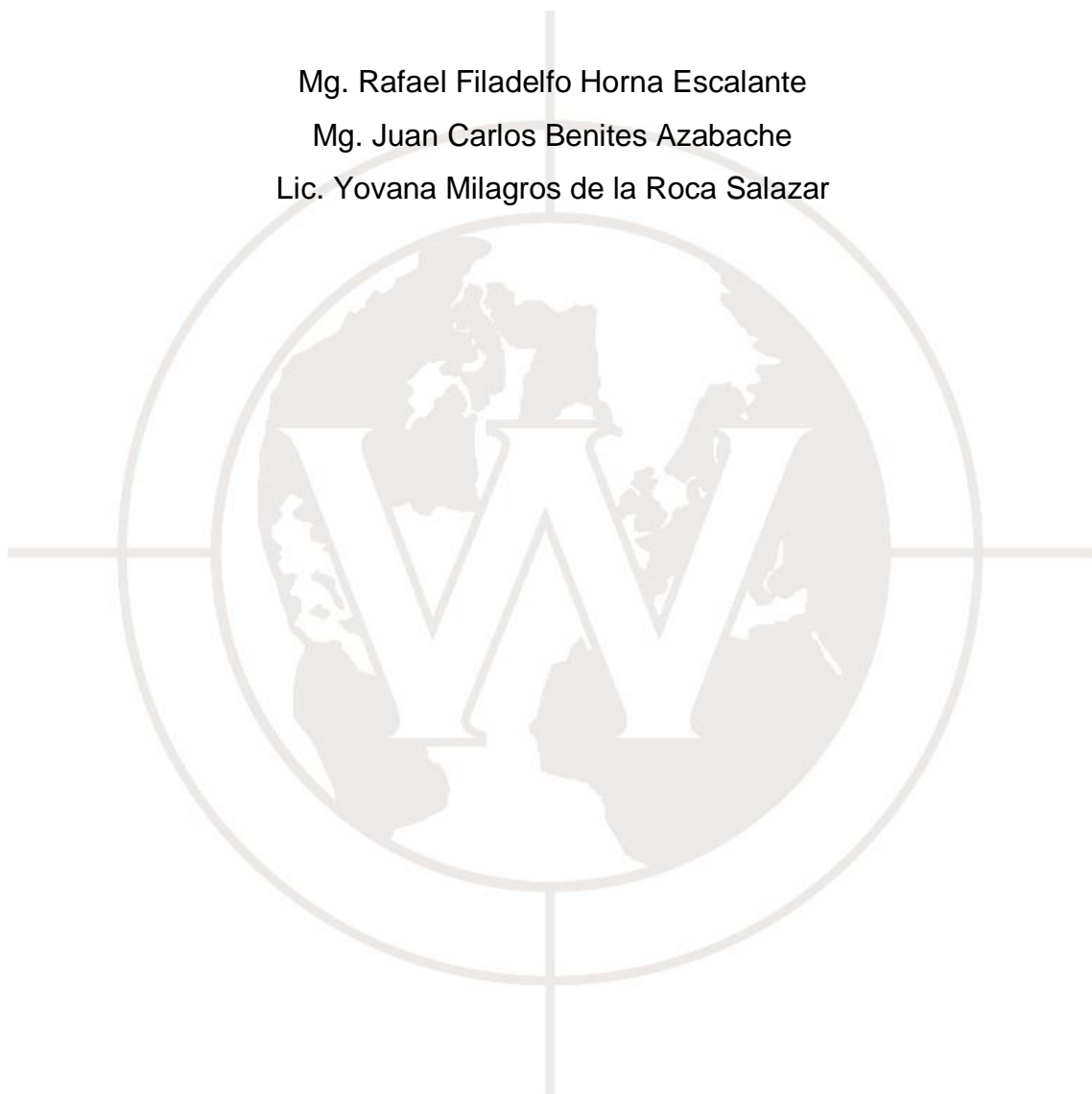
A mis padres, hermanos, por su inmenso amor y por su apoyo constante e incondicional en todo momento.

A mi asesor Lic. Carlos Hugo García Vásquez, y al Dr. Cesar Vela Velásquez, anatomopatólogo, quien dio la validación y evaluación al colorante, por su apoyo, asesoramiento y darme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia.

A todos mis profesores, a los trabajadores de Anatomía Patológica del Sabogal, y a mis amigos, los que de una u otra manera, gracias a su apoyo incondicional, pude lograr mi objetivo trazado.

## Jurado

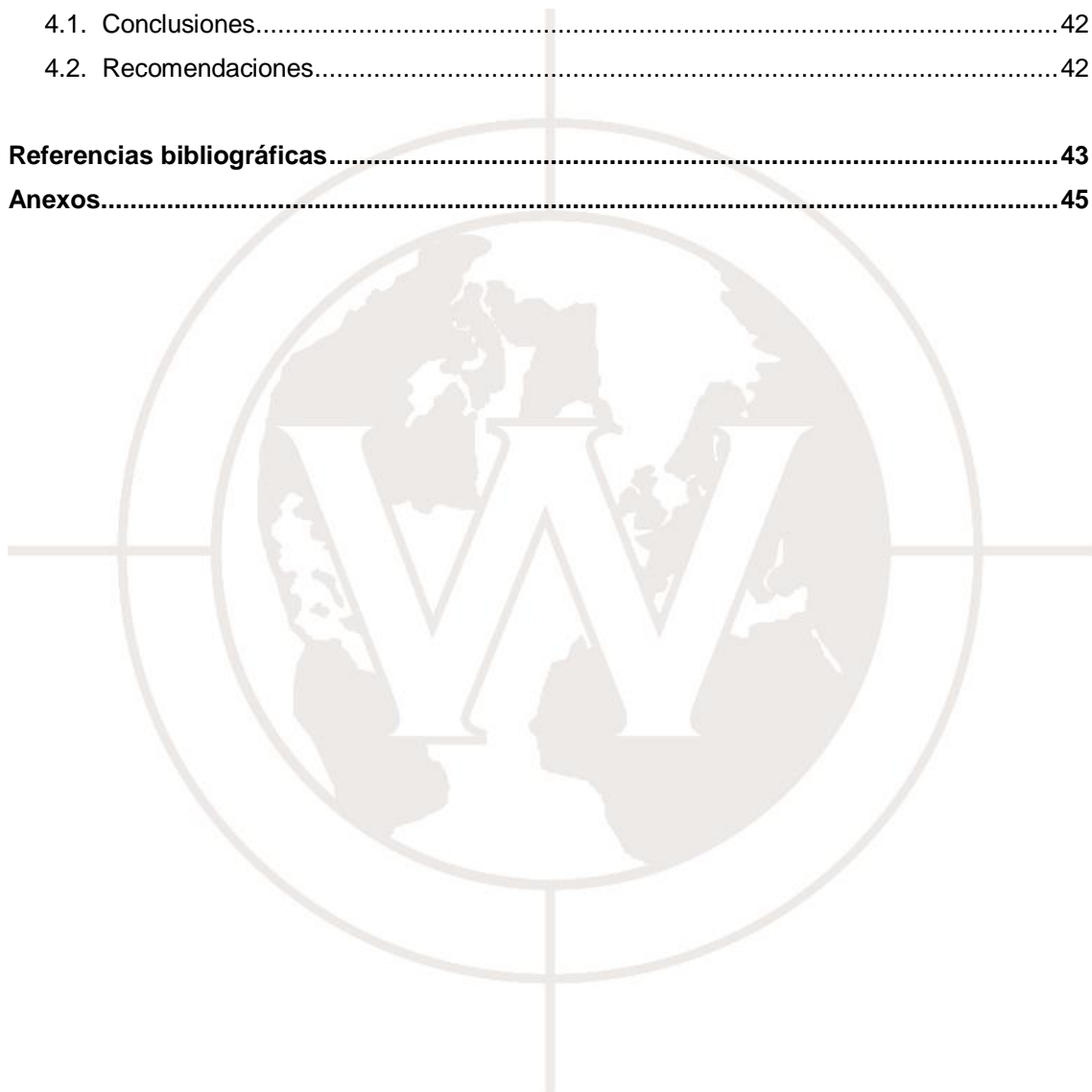
Mg. Rafael Filadelfo Horna Escalante  
Mg. Juan Carlos Benites Azabache  
Lic. Yovana Milagros de la Roca Salazar



## ÍNDICE

	Pág.
<b>I. EL PROBLEMA.....</b>	<b>10</b>
1.1. Planteamiento del problema.....	10
1.2. Formulación del problema.....	11
1.3. Justificación.....	11
1.4. Objetivos.....	12
1.4.1. Objetivos generales.....	12
1.4.2. Objetivos específicos.....	12
<b>II. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>13</b>
2.1. Antecedentes.....	13
2.2. Base teórica.....	20
2.3. Terminología básica.....	29
2.4. Hipótesis.....	30
2.5. Variables.....	30
<b>III. DISEÑO METODOLÓGICO.....</b>	<b>31</b>
3.1. Tipo y nivel de investigación.....	31
3.2. Población y muestra.....	31
3.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	32
3.4. Procesamiento de datos y análisis estadístico.....	35
3.5. Aspectos éticos.....	35
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>36</b>
4.1. Resultados.....	36
4.2. Discusión.....	41

<b>V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>42</b>
4.1. Conclusiones.....	42
4.2. Recomendaciones.....	42
<b>Referencias bibliográficas.....</b>	<b>43</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>45</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1.....	36
Tabla 2.....	37
Tabla 3.....	38
Tabla 4.....	39
Tabla 5.....	40

## RESUMEN

Del extracto del exocarpo de *Renalmia alpinia* (kumpia), proveniente de la Amazonía del Perú, mediante su extracción por trituración y posterior filtración, se logró obtener un colorante 100 % puro y natural, de tonalidad morada. Dicho colorante fue sometido a diversas pruebas de coloración nuclear tisular, controladas en tiempos (5, 10 y 15 minutos) y medición del pH, como mordiente el alcohol de 70°.

Por ello, el objetivo del presente estudio fue validar dicho colorante (kumpia) como colorante nuclear tisular. Para esto, se realizó un estudio de tipo experimental con piezas quirúrgicas del Hospital Alberto Sabogal Sologuren. Las muestras de tejidos se constituyeron por hígado, intestino y ganglios. Se obtuvieron 102 láminas (34 para cada tejido), de las que 51 se colorearon con kumpia-eosina y 51 hematoxilina- eosina, que fue tomada como prueba patrón o *gold standard*.

En la evaluación microscópica se consideraron tres criterios de evaluación:

**Imagen histológica para ambas coloraciones, kumpia y hematoxilina.** Se obtuvo el calificativo de 88,24 % (bueno) y 11,76 % (regular).

**Tinción nuclear para kumpia.** Se obtuvo 94,12 % (bueno) y 5,88 % (regular); y 100 % (bueno) para hematoxilina.

**Diferenciación núcleo-citoplasma.** Se obtuvo para ambas tinciones 100 % (bueno).

Se concluye que este colorante resulta ser bueno y eficaz. Una alternativa en la tinción nuclear tisular fácil de conseguir. En cuanto al precio del insumo, es muy cómodo.

**Palabras clave:** extracto, exocarpo, kumpia, colorante nuclear.



## SUMMARY

The extract of the exocarp of *Renealmia alpinia* (kumpia), from the Amazon region of Peru, through its removal by crushing and subsequent filtration is able to obtain a 100 % pure and natural dye hue of purple. The colorant is subjected to various tests of nuclear staining tissue controlled in times (5, 10 and 15 minutes), measurement of the pH, as a mordant alcohol of 70°. The objective of this study was to validate the dye (kumpia) as nuclear dye tissue.

A study was conducted in experimental type with parts of the Hospital surgical Alberto Sabogal Sologuren, tissue samples were: liver, intestines and lymph, obtaining 102 illustrations, 34 for each tissue, of which 51 were treated with Kumpia - Eosin and 51 Hematoxylin and Eosin that this was taken as a test pattern or Gold Standard. In the microscopic evaluation are considered three criteria of evaluation.

Histological Image for both Kumpia hematoxylin staining were obtained the qualification of 88.24 % (Good) and 11.76 % (regular).

Nuclear staining for kumpia was obtained 94.12 % (Good) and 5.88 % (Regular); while the 100 % (Good) for haematoxylin.

Core Differentiation-cytoplasm was obtained for both stains 100% good. Concluding that this dye proves to be efficient, an alternative in the nuclear tissue staining, readily available, and in regard to the price of the input is very comfortable.

**Key Words:** extract, ectocarp, Kumpia, Nuclear

## I. EL PROBLEMA

### 1.1. Planteamiento del problema

El Perú es un país caracterizado por sus diversos climas, esto va a permitir el desarrollo de una gran variedad de especies tanto de flora y fauna, asimismo esta megadiversidad de factores bióticos y abióticos en combinación darán vida a espacios naturales propios de cada región, donde la presencia del hombre de una manera irracional va modificando los espacios y alterándolos, llegando a extinguir algunas de estas especies, no siendo ajeno a ello la planta herbácea conocida con el nombre de Kumpia cuyo nombre científico es *Renealmia alpinia*, a la cual en el lugar no se le da el valor adecuado y es tratada como maleza en sus cultivos y terminará extinguiéndose, esta especie es conocida por las comunidades Nativas Awajum del Distrito de Aramango, Departamento de Amazonas de nuestro Perú.

A esta planta herbácea se le atribuyen múltiples propiedades medicinales, tanto de hojas, flores y frutos; los frutos inmaduros presentan una capsula de color rojo anacarado que al ser triturado se utiliza como antipirético y analgésico ante la picadura de la ínsula (hormiga grande). Asimismo el exocarpo en estado de maduración es de color negro a morado teniendo capacidad tintoreal que al tener contacto con la piel o cualquier tejido o superficie brinda una coloración azul oscura duradera, por ello es utilizado en la artesanía y textilería para dar coloración a hilos y vasijas; además de ser usado para pintar sus rostros y cuerpo en sus festividades.

Es por ello que al tener semejanza con la hematoxilina en cuanto al color morado oscuro, surge la idea de utilizarlo en la coloración nuclear tisular de muestras preparadas, y por ser un colorante natural el riesgo de exposición y el daño causado a quien lo manipula es mínimo o nulo.

## 1.2. Formulación del problema

### 1.2.1. Problema general

¿Cuál es la validez del extracto del exocarpo de *Renealmia alpinia* (kumpia) como colorante nuclear tisular?

### 1.2.2. Problemas específicos

¿Es buena la imagen histológica que brinda el extracto del exocarpo de *Renealmia alpinia* (kumpia) con relación a la hematoxilina?

¿Existe buena diferenciación entre el núcleo y citoplasma en los cortes histológicos coloreados con extracto del exocarpo de *Renealmia alpinia* (kumpia) con relación a la hematoxilina?

## 1.3. Justificación

Actualmente, los centros de investigación de patologías orientados al estudio anatomopatológico, emplean colorantes sintéticos para colorear diversos tejidos con la finalidad de emitir un resultado certero. Sin embargo, el uso de estos colorantes sintéticos implican riesgos en la salud del manipulador. Por ejemplo, se sabe que la exposición a la hematoxilina, de acuerdo a su composición, es tóxica para el manipulador por contener etanol absoluto, oxidantes artificiales, ácido acético glacial y sales metálicas, que pueden alterar nuestro organismo y que de acuerdo con el tiempo de exposición y frecuencia podría ser

mortal. Por ello, se debe buscar formas de reducirlos utilizando productos naturales. Se ha observado que, en la naturaleza, existen estos productos que nos pueden brindar similares resultados y su uso es limitado por su falta de conocimiento.

Existe una planta herbácea como alternativa para colorear núcleos de tejidos sin causar daño al manipulador y es conocida como *Renealmia alpina* (kumpia), que posee propiedades tintóreas básicas semejantes a la hematoxilina (la misma que se usa como *Gold standard* en la tinción de núcleos celulares, para luego contrastar el citoplasma con la Eosina).

En el presente estudio, se busca validar al extracto del exocarpo del fruto de *Renealmia alpina* (kumpia) como colorante nuclear tisular para ser utilizado en el diagnóstico histológico.

#### 1.4. Objetivos

##### 1.4.1. Objetivos generales

- Validar el extracto del exocarpo de *Renealmia alpina* (kumpia) como colorante nuclear tisular.

##### 1.4.2. Objetivos específicos

- Evaluar la imagen histológica que brinda el colorante en estudio con referencia a la hematoxilina.
- Establecer la validez de diferenciación entre el núcleo y citoplasma en los cortes histológicos coloreados.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

Marcía. M. J. (2003), y Maas (Zingiberaceae) sostienen que dicha planta herbácea no tóxica tiene distintas propiedades curativas, nutritivas y además del uso comestible del arilo de sus semillas, en América tropical y Sierra Norte de Puebla (México). Con el exocarpo carnoso de los frutos se ha preparado tinta y con las semillas se ha preparado un aceite usado para frituras en alimentación y como medicinal contra náuseas y vómitos. Se distribuye por las regiones tropicales de América y África. Consta aproximadamente de 85 especies, de las cuales 62 se encuentran en el trópico americano (Maas & Maas Van de Kamer, 2001). En México viven cuatro especies, aunque es posible que actualmente su número sea más elevado, debido a las muchas colecciones botánicas realizadas en las últimas décadas. Las especies citadas para México son *Renealmia cernua*, *Renealmia mexicana*, *Renealmia occidentalis* y *Renealmia alpinia* (Maas, 1977).

La *Renealmia alpinia* presenta una amplia distribución desde México, las Antillas Menores, Centroamérica y la región tropical sudamericana hasta Brasil. Curiosamente no vive en las Antillas Mayores. En México se ha citado en los estados de Chiapas, Oaxaca y Veracruz. Los nombres vernáculos para la región neotropical se recogen.

En América tropical, *Renealmia alpinia* ha sido utilizada para diferentes propósitos. Además del uso comestible del arilo de sus semillas, objeto de este estudio, con el exocarpo carnoso de los frutos se ha preparado tinta y con las semillas se ha preparado un aceite usado para frituras en alimentación y como medicinal contra náuseas y vómitos (Acero, 1979; Maas, 1977;

Martínez Alfaro et al. 1995; Villalobos Contreras, 1994). En Ecuador ha sido cultivada por sus frutos picantes (Maas, 1976). En este trabajo presenta la utilización que hace de *Renalmia alpinia* la etnia Totonaca en la Sierra Norte de Puebla, incluido en el estado de Puebla (México). Asimismo se muestran la forma de cosecha, propagación, procesado y mercado de los frutos. También se presentan datos cuantitativos sobre las medidas y el peso de los frutos<sup>1</sup>.

Según Uriol Bustamante P. (2004) señala que en la actualidad se emplean diversos colorantes sintéticos y naturales para la tinción de tejidos humanos, con la finalidad de diagnosticar patologías; que el maíz morado posee propiedades tintoreales básicas semejantes a la hematoxilina; y en su investigación para la tinción nuclear de células presentes en un corte histológico. Realizó un estudio de tipo comparativo y experimental con biopsias y piezas quirúrgicas de los hospitales Dos de Mayo y María Auxiliadora; las muestras lo constituyeron 100 tejidos: apéndice, estómago, ganglio, piel y próstata. Se procedió a la coloración de los grupos de láminas, en el primer grupo los cortes histológicos se colorearon con la hematoxilina-eosina. El segundo grupo de láminas de los respectivos cortes se realizó con la tinción del Maíz morado-eosina. El método de coloración de hematoxilina-eosina fue tomado como patrón o *gold standard*<sup>2</sup>.

Alarcón P. J. (2008) señala que la *Renalmia alpinia* (zingiberácea), que es un planta conocida vulgarmente con los nombres de guaiporé, pintura negra, jazmín de monte, matandrea o achira de monte, especie con germinación seminal poco exitosa y una propagación dependiente de la continua generación de vástagos a partir de su rizoma. Posee estructura herbácea musoide de altura mediana (hasta los 6 metros), olor canforáceo similar al cardamomo, peciolos normalmente ausentes y hojas elípticas enteras (30-110 x 5-18 cm) con limbos largos y anchos que se caracterizan por el color rojizo de las nervaduras similar a la coloración de estas últimas, los frutos (capsulas elipsoides de 1,5-3,5 cm coronados por restos del cáliz y con maduración

progresiva) y las flores son de tonalidades relacionadas, aunque la variación involucra algunos tonos más oscuros (tendencia al negro en los frutos), o tendencia al naranja y el rosa en las flores que se encuentran organizadas en panículas basales con brácteas de colores similares. Esta planta, cuya composición química involucra carotenoides, monoterpenos, diterpenos y sesquiterpenos, es típica de bosques tropicales húmedos de tierras bajas y es utilizada tradicionalmente para la extracción de tinte a partir de los frutos carnosos, la preparación de aceites a partir de semillas, como comestible (arilo de las semillas), en decocción o extracto etanólico como febrífugo, contra náuseas y vómitos, para proteger los cultivos de maíz de roedores y aves y como antiedematizante, antihemorrágico y neutralizante del veneno de *Bothrops asper* (Mapaná Equis), serpiente causante del 50 % a 70 % de las mordeduras de reptiles en este país. Técnicas como la desdiferenciación tisular y la producción *in vitro* de metabolitos no han sido exploradas en esta especie vegetal, a pesar de su potencial utilización en el estudio y la producción *in vitro* de metabolitos con actividad neutralizante de venenos de serpiente. Así, adquieren especial relevancia los trabajos encaminados a la aplicación de técnicas *in vitro*, y a la generación de plantas que, con escasa variación somaclonal, garanticen potencialmente la uniformidad en la producción y se conviertan en un mecanismo alternativo de generación de metabolitos neutralizantes del veneno o, también, de interés en algunos eventos farmacológicos adicionales como el neurotóxico, el miotóxico y el agregante plaquetario<sup>3</sup>.

Noriega R. p. (2011) menciona que mediante una extracción alcohólica y posterior evaporación del solvente del exocarpo del fruto comestible de la especie *Renealmia alpinia*, proveniente de la Amazonía sur del Ecuador, se obtuvo una fracción colorante de tonalidad púrpura con un rendimiento del 2,13 %. A dicha fracción se la sometió a diversas pruebas para analizar su estabilidad en variadas condiciones como pH, temperatura y su comportamiento con solventes de diversa polaridad. Para conocer

anticipadamente su naturaleza química se efectuaron diversos ensayos entre los que destacan: su espectro ultravioleta visible, su espectro infrarrojo, la cuantificación de antocianinas totales y sus perfiles cromatográficos en HPLC a 520 nanómetros. Adicionalmente, se evaluó la toxicidad de la especie. Las plantas del género *Renalmia* L. *Zingiberaceae* se encuentran ampliamente distribuidas a lo largo de los trópicos de América y África, con un total de 82 especies, de las cuales 62 se hallan en América (Mass & Mass Van de Kamer, 2001). En Ecuador son cultivadas debido a sus frutos de naturaleza picante (Mass, 1976); crece en alturas comprendidas entre los 50 y 1 500 msnm (Maas & Marcía, 2005). Para el pueblo Shuar del Ecuador, el fruto de la *Renalmia alpinia* constituye una importante fuente alimenticia, pero también de su exocarpo se extrae un colorante para pintar sus artesanías. El nombre tradicional que este pueblo da a la planta es kumpia y es una planta herbácea de 2 m de alto aproximadamente, hojas simples, alternas, sin estípulas, largo lanceoladas, hasta 110 cm de longitud y 11 cm de ancho, nervadura paralela, vaina de la hoja abierta, con lígula. Inflorescencia racimosa, basal, 20-50 cm de longitud; brácteas de la inflorescencia rosado rojizas, raquis pardo rojizo; flor tubular, amarilla o rojiza. Fruto en cápsula, rojo cuando inmaduro, negro al madurar, ovoide, 3-4 cm de largo y 1,5-2 cm de diámetro, posee numerosas semillas embebidas en una pulpa amarilla (Manuel J. Marcía, 2003). En los últimos años, el uso de colorantes de origen natural ha ganado gran importancia en el sector industrial, debido a la serie de observaciones que se han realizado a los colorantes sintéticos (Feakes & Giusti, 2003).

El grupo natural que reviste la mayor importancia dentro de los compuestos naturales coloreados son los flavonoides, no solo por presentar una gama amplia de diversas coloraciones, sino también porque últimamente se les atribuye un sin número de características funcionales beneficiosas para la salud como dilatador arterial, hepatoprotector, antioxidante, colerético, antifúngico, entre otras. Químicamente, son sustancias fenólicas cuya característica principal es la de estar formadas por dos anillos bencénicos



unidos por un puente de tres átomos de carbono C6-C3-C6 (Cartoya & Reynaldo, 2001). Se dividen en antocianinas, isoflavonas, auronas, flavonas, flavononas, flavonoides, chalconas, flavandioles y dihidroflavonoides, que se diferencian entre sí por los diversos grupos que se sustituyen alrededor del esqueleto básico. Las antocianinas son metabolitos secundarios de gran interés debido a varios factores entre los que destacan una amplia gama de diversas coloraciones como la azul, roja y morada (Rein y Maarit, 2002), una gran solubilidad en agua (Mozetic et al., 2002), potenciales beneficios a la salud humana (Giusti et al., 1999) y una inexistente toxicidad. Las antocianinas presentan espectros en el ultravioleta y visible en donde se evidencian dos bandas generales: la primera a longitudes de onda entre 270 a 280 nm y la segunda entre 465 y 560 nm (Navarro y Fabiola, 2010). En la actualidad, la demanda de colorantes de naturaleza antociánica es muy alta. Su producción se calcula entre 1 200 y 1 300 toneladas anuales. Los requerimientos más importantes provienen de la industria alimenticia, debido a que en varios países de la Unión Europea, sudeste asiático y Latinoamérica su empleo no presenta restricciones<sup>4</sup>.

Patiño (2012) demuestra que el extracto de las hojas de la *Renealmia alpinia* no produce efectos tóxicos en animales de experimentación, además presenta efectos analgésicos in vitro y antiofídicos in vitro y protege contra los efectos letales del veneno de *Bothrops asper*, in vitro. El estudio concluye que esta planta herbácea puede ser una buena alternativa terapéutica como complemento al tratamiento con antiveneno en el accidente ofídico, por sus efectos analgésicos y antiofídicos. Es incuestionable que la medicina tradicional es una invaluable fuente de investigación de nuevos remedios basados en plantas medicinales, como solución a problemas de salud que acechan la humanidad, principalmente en países con un bajo índice de desarrollo humano, donde paradójicamente abundan los recursos naturales. Uno de estos problemas de salud es el accidente ofídico, considerado como un problema de salud pública y para el cual el único tratamiento es el antiveneno; no obstante,

por la lejanía de las zonas geográficas donde ocurren los accidentes, en muchas ocasiones se retrasa el inicio del tratamiento adecuado y se aumentan las posibilidades de mortalidad. En abril de 2009, la Organización Mundial de la Salud emitió un listado de enfermedades tropicales desatendidas, entre las cuales se encontraba el accidente ofídico. Al igual que la malaria, el dengue, la tuberculosis y algunas enfermedades parasitarias, el riesgo de mordedura por serpiente siempre está presente y, aunque no tiene el potencial epidémico de las enfermedades infecciosas y parasitarias, sigue sin ser reconocida como un riesgo para la salud pública, a pesar de la carga de sufrimiento que causa en los seres humanos. En el mundo se registran anualmente cerca de 5,4 millones de accidentes por serpientes, de los cuales, entre el 50 y el 75 % requiere tratamiento para evitar la muerte, amputaciones o secuelas permanentes. Para Latinoamérica se estiman 150 000 accidentes ofídicos y una cifra de 5 000 decesos por esta causa; la mayoría de los casos se registra en niños y trabajadores rurales en edad productiva, lo que pone en riesgo la subsistencia familiar; además, el impacto de las secuelas y las defunciones representan una gran carga, no solo social, sino de salud y económica. Por otra parte, su magnitud no es bien conocida debido a que los accidentes ocurren predominantemente en las áreas rurales, muchas veces alejadas de los servicios de salud y para las cuales no hay un registro adecuado. Colombia no es ajena a esta realidad mundial. La diversidad de su fauna se refleja en la presencia de una gran cantidad de especies de serpientes venenosas que habitan, principalmente, en los climas cálidos y templados. En el 2010 se registraron 3 945 casos de accidentes ofídicos con una incidencia de 8,66 casos por cada 100 000 habitantes. Según la densidad de la población, esta incidencia osciló entre 127,61 para el departamento del Vaupés (zona con menos población) y 2,66 para el departamento de Cundinamarca (zona más densamente poblada), con una mortalidad de 0,96 %. El veneno de las serpientes tiene como función inmovilizar, matar y ayudar a digerir la presa; está constituido por una compleja variedad de

toxinas con actividad enzimática, que incluye hemorraginas, proteasas y fosfolipasas A2, y por otras toxinas sin actividad enzimática, como neurotoxinas, citotoxinas, cardiotoxinas y miotoxinas. Asimismo, contiene sustancias no proteicas, como las aminas (histamina, bradicinina, serotonina y acetilcolina), causantes de edema, hipotensión y el intenso dolor que manifiestan las víctimas. El accidente ofídico causado por miembros de la familia Viperidea se caracteriza por alteraciones patológicas locales y sistémicas, tales como edema, necrosis, hipotensión, alteraciones de la coagulación, hemorragia sistémica, trombocitopenia, dolor y nefrotoxicidad, que pueden variar en intensidad según la especie, la edad y el tamaño de la serpiente. Hasta el momento, el antiveneno por vía parenteral es el único tratamiento disponible y aprobado en el mundo para el manejo del accidente ofídico. Sin embargo, el retraso en el inicio del tratamiento y la rápida instalación de los síntomas, proveen escasa protección del mismo; además, con frecuencia se producen reacciones de hipersensibilidad que demoran aún más el tratamiento. Sumado a esto, en muchas ocasiones el antiveneno no se encuentra disponible por razones tales como la lejanía de las comunidades rurales, las dificultades en la producción de los mismos y las difíciles condiciones geográficas que impiden un rápido acceso a los centros de atención hospitalaria, lo cual retrasa el inicio del tratamiento adecuado y aumenta las posibilidades de mortalidad.

Ante esta problemática, se hace necesaria la búsqueda de alternativas terapéuticas que eviten los efectos ocasionados por la mordedura de estos ofidios. Entre las alternativas naturales, las plantas medicinales se constituyen en la principal fuente de recursos contra la mordedura de serpientes, especialmente en áreas tropicales donde hay fuentes abundantes de especies vegetales. Algunos extractos de plantas han demostrado inhibir las alteraciones generadas, no solo por los venenos, sino también por toxinas aisladas de los mismos. Una de estas plantas es *Renalmia alpinia* (Rottb.), más usada

tradicionalmente por los indígenas de la región de Antioquia y Chocó contra la mordedura de serpiente. Además, entre sus usos populares tiene aplicación como antipirético y analgésico, lo que podría ser de gran utilidad como coadyuvante en el tratamiento del dolor que se produce durante el accidente ofídico. Su rica composición química incluye taninos, carotenoides, monoterpenos, diterpenos y sesquiterpenos, al igual que un alto contenido en cumarinas, metabolitos encontrados en algunas plantas con actividad antiofídica comprobada. En diversos trabajos de investigación llevados a cabo por diferentes autores, se confirma el uso tradicional de *Renealmia alpinia* al demostrar que neutraliza el efecto del veneno de *Bothrops asper*. El presente trabajo de investigación profundiza en los estudios de esta prominente especie botánica y explora la toxicidad aguda, la actividad neutralizadora in vitro de varios extractos obtenidos ex vitro de las hojas de *Renealmia alpinia* sobre los efectos coagulante y hemolítico indirecto del veneno de *Bothrops asper*, además de comprobar su actividad analgésica<sup>5</sup>.

## 2.2. Base teórica

### 2.2.1. Colores y moléculas colorantes.

De forma genética, todos los tejidos de origen animal son incoloros, salvo que contengan algún tipo de pigmento, en cuyo caso adoptan el color que aquel les proporciona.

La primera utilización conocida de un agente colorante para teñir un tejido animal se debe a Van Leeuwenhoek (1714), que empleó una solución de azafrán en vino para facilitar la observación de las fibras musculares estriadas en sus preparaciones histológicas. Más tarde se introdujeron como colorantes el carmín (Goppert Cohn, 1849) y la hematoxilina (Waldeyer, 1863). A partir de 1856, comienza la gran expansión mundial de la industria textil motivada por la fabricación de los primeros colorantes artificiales, los colorantes de anilina, que rápidamente se extienden a los métodos de

coloración para cortes histológicos provocando un vertiginoso desarrollo de la Histotecnología. El fundamento de cualquier método de tinción radica en la propiedad que poseen todos los tejidos para incorporar y fijar de modo variable diversas sustancias coloreadas llamadas colorantes.

Un colorante puede definirse como una sustancia que, puesta en contacto con un soporte adecuado, se une a él de forma perdurable transmitiéndole su color.

### 2.2.2. Tipos de colorantes

En función de su origen, se distinguen dos tipos fundamentales de colorantes: naturales y artificiales.

**Los colorantes naturales:** son relativamente escasos y se obtienen en forma de extractos a partir de ciertas plantas o insectos. En la histología de rutina son ampliamente utilizados, siendo los más conocidos como colorantes nucleares la hematoxilina y el carmín, y como colorantes citoplasmáticos, la safranina y la orceína.

**Los colorantes artificiales:** son derivados de la anilina que constituye la base de numerosas coloraciones histológicas. Aunque inicialmente se obtiene a partir del alquitrán de carbón, en la actualidad se sintetizan en el laboratorio.

### 2.2.3. Naturaleza química de los colorantes

El soporte químico fundamental de la mayor parte de los colorantes naturales y artificiales son anillos aromáticos derivados del benceno. El hecho de que los dobles enlaces entre los átomos de carbono de estos anillos no sean fijos, y por tanto, puedan ser reordenados.

El benceno, al igual que todos los hidrocarburos aromáticos, es originariamente una sustancia incolora. Si en un momento determinado se

produce la fijación de los dobles enlaces dentro del anillo por ocurrir alguna reacción química sobre este, puede mostrar color. Los radicales químicos responsables de la modificación molecular a la que se debe la aparición del color reciben el nombre genérico de grupos cromóforos, reservándose la denominación de cromógeno para el conjunto formado por el grupo cromóforo más anillo aromático.

La conversión de un cromógeno en colorante está vinculada a la adición sobre la molécula aromática, de otros grupos atómicos que le confieren la propiedad de disociarse electrolíticamente o de formar sales con los tejidos.

Estos radicales reciben el nombre de grupos auxócromos o potenciadores de color, y por lo común están dotados de carga eléctrica que pueden ser de carácter ácido o básico, siendo estos los responsables de que el colorante tenga mayor o menor afinidad por la estructura que se va a teñir.

Los grupos auxócromos de mayor importancia son los radicales hidroxilo (-OH), carboxilo (-COOH), amino (-NH<sub>2</sub>), sulhidrilo (-SH), y determinados iones metálicos derivados del hierro, cromo, aluminio, molibdeno, etc.

### **Clasificación de los colorantes según sus grupos auxócromos y aptitud tisular**

Se distinguen en cinco grupos fundamentales: básicos, ácidos, neutros, y metacromáticos.

#### **Colorantes básicos**

Formados por la asociación de un cromógeno de baja intensidad y carácter débilmente ácido, con grupos auxócromos catiónicos fuertemente básicos que son los responsables de la carga global del colorante.

Por este motivo, se utilizan para colorear estructuras ácidas, principalmente contenidas en el interior de los núcleos celulares en forma de ácidos nucleicos (lacas de hematoxilina, fucsina básica, galocianina).

### **Colorantes ácidos**

Son productos de la unión de un cromógeno de baja intensidad débilmente básico con grupos auxócromos ácidos que confieren dicho carácter al colorante.

En general, tiñen estructuras básicas contenidas en los citoplasmas celulares (eosina, fucsina ácida, pironina, etc).

### **Colorantes neutros**

Se producen por la unión de carácter salino entre colorantes ácidos y básicos para formar un precipitado, comúnmente insoluble en agua y muy estable en disolución alcohólica. De esta forma, siendo su carga global neutra, conservan en parte la propiedad de colorear conjunta o separadamente diversas estructuras.

### **Colorantes indiferentes**

Son aquellos que no poseen un carácter ácido, básico o salino definido, por lo que habitualmente colorean los tejidos a través de un mecanismo por impregnación física.

### **Colorantes metacromáticos**

En condiciones normales, la mayor parte de los tejidos tienden a teñirse con una tonalidad semejante a la del colorante utilizado para su demostración. A esta demostración se le conoce con el nombre de ortocromasia.

Sin embargo, cuando se utilizan ciertos colorantes básicos derivados de la anilina, algunas estructuras tisulares se tiñen de color totalmente distintos, este efecto se conoce con el nombre de metacromasia y las estructuras así teñidas, cromótopas. Los colorantes metacromáticos son sustancias químicamente puras y no de carácter salino.

#### **2.2.4. Mecanismos generales de la coloración**

Según la naturaleza de la vinculación molecular entre los colorantes y los tejidos, existen tres mecanismos generales: de carácter físico, fisicoquímico o histoquímico. Estos mecanismos, combinados entre sí en distinta medida, explican las particularidades de las principales técnicas de tinción en anatomía patológica.

Los mecanismos de carácter puramente físico están ligados a las propiedades de disolución e impregnación del colorante sobre el tejido. Las tinciones ligadas a un mecanismo principalmente químico están basadas en el desarrollo de una reacción química entre el colorante y la estructura, objeto de tinción; de forma que al interaccionar ambos se produce un nuevo cromógeno responsable del color obtenido. Al conjunto de procedimientos técnicos que se fundamentan en este mecanismo común se agrupan dentro de la histoquímica.

Los mecanismos fisicoquímicos de coloración tisular están vinculados a la formación de uniones intermoleculares por atracción electrostática o por fuerza de tensión superficial.

#### **2.2.5. Coloraciones nucleares**

La mayor parte de las coloraciones que se utilizan habitualmente en histopatología contienen algún colorante que tiñen de manera específica el núcleo celular, definiendo su contorno y realzando su contenido cromático.



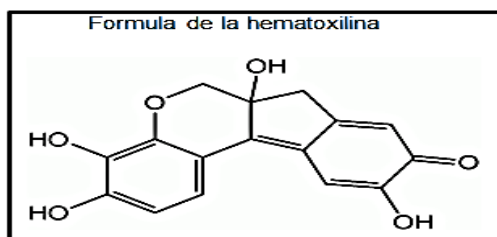
Con esta finalidad se utilizan colorantes de carácter básico con apetencia por los grupos fosfóricos ácidos del ADN. Entre ellos se encuentran algunos colorantes artificiales como la galocianina, el verde de metilo, el azul de alizarina S, la fucsina básica, el violeta de cresilo. Siendo de mayor importancia los de origen natural como el carmín, la safranina, y sobre todo la hematoxilina, que es el colorante nuclear por excelencia.

### **Hematoxilina**

La hematoxilina es un colorante natural que se extrae del árbol *Hematoxylón campechianum*, palo de campeche o palo azul de Centroamérica. Inicialmente fue utilizada para teñir seda y lona, y en 1862 empezó a emplearse en la coloración de tejidos animales. En el comercio se encuentra en forma de cristales rosados o amarillentos solubles en agua y alcohol. Tradicionalmente se ha mantenido que la hematoxilina en su forma natural no es un colorante, pero los progresos de la química de los colorantes han permitido establecer que pese a expenderse en forma de leucocompuestos, la molécula de hematoxilina se une especialmente mediante puentes de hidrógeno a diversos sustratos entre los que se encuentran múltiples derivados de la celulosa. Si bien esta unión no genera color.

Para que la hematoxilina pueda ser empleada como colorante en Histotecnología, ha de ser oxidada previamente a hemateína. Este proceso oxidativo que puede ocurrir espontáneamente en contacto con el oxígeno atmosférico a lo largo de 4-6 semanas, o ser inducido de forma artificial a través del empleo de agentes químicos de carácter oxidante provoca la aparición sobre la molécula de un anillo paraquinónico que, actuando como cromóforo, le confiere la propiedad de teñir. El proceso de oxidación del colorante, conocida también con el nombre de maduración de la hematoxilina, que puede ser acelerado mediante la utilización de agentes oxidantes artificiales como óxido de mercurio (0,5 g), yodato de

sodio (0,05 g), permanganato potásico (0,177 g), dicromato potásico (0,28 g), clorato potásico (0,11 g), yodato potásico (0,20 g), cantidades para un gramo de hematoxilina.



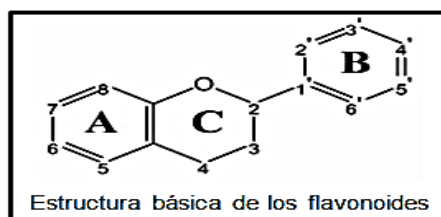
### ***Renealmia alpinia* (kumpia)**

Es una planta herbácea no tóxica con distintas propiedades curativas, nutritivas y medicinales. Con el exocarpo carnoso de los frutos maduros se ha preparado tinta; con las semillas, un aceite usado para frituras en alimentación. Sirve como medicina contra náuseas y vómitos y de sus hojas se extrae una sustancia como efecto inhibitorio sobre el veneno por la mordedura de la serpiente *Bothrops asper* (mapaná). Se distribuye en África, en las regiones tropicales de toda América hasta el Perú. Consta aproximadamente de 85 especies, de las que 62 se encuentran en el trópico americano (Maas & Maas Van de Kamer, 2001).

La *Renealmia alpinia* es una hierba rizomatosa aromática de 2-6 m de altura. Sus hojas son elípticas (30-110 x 5-18 cm), con pecíolos normalmente ausentes. La inflorescencia es un racimo basal de 12-55 cm. Los frutos son cápsulas elipsoides, 1,5-3,5 cm, coronados por restos del cáliz y de color rojizo a negruzco morado cuando están maduros.

Es una especie típica de los bosques tropicales húmedos de tierras bajas, pero puede alcanzar hasta los 1500 m de altitud. El exocarpo de este fruto en estado de maduración es de color negro a morado teniendo capacidad tintoreal que al tener contacto con la piel, cualquier tejido o superficie brinda una coloración azul oscura duradera. Químicamente, son sustancias

fenólicas cuya característica principal es la de estar formadas por dos anillos bencénicos unidos por un puente de tres átomos de carbono C6-C3-C6. Este fruto tiene antocianinas que son metabolitos secundarios de gran interés, debido a varios factores entre los que destacan una amplia gama de diversas coloraciones como la azul, roja y morada, con una gran solubilidad en agua, y alcohol, de potenciales beneficios para la salud humana.



### 2.2.6. Histotecnología

Es la ciencia que concentra los conocimientos sobre el análisis estructural o químico, orgánico e inorgánico, de tejidos normales o patológicos. Se clasifican según el tipo de estudio:

**Vital:** cuando se realizan en tejidos vivos sin que estos hayan sido separados del organismo del que procede.

**Supravital:** cuando se realiza en tejidos extraídos de organismos vivos que tienen un periodo de vida con actividad metabólica.

**Posvital:** cuando se realizan en tejidos muertos que han sido separados del organismo del que proceden.

Puede ser de dos clases:

**Histológica:** tejido obtenido de una persona o animal sano con la finalidad de investigar su estructura y composición normal.

**Histopatológica:** tejido obtenido con la finalidad de obtener un diagnóstico o investigar el origen de la enfermedad.

**Biopsia:** procedimiento cuyo objetivo es la obtención de muestras histopatológicas de un organismo vivo para estudios posvital.

**Biopsias diagnósticas:** tienen como objetivo fundamental obtener un diagnóstico microscópico de una enfermedad. Se caracteriza por: ser de pequeño tamaño y no comprender la totalidad de la lesión, solo una porción de ella.

**Biopsias quirúrgicas:** tienen como objetivo fundamental confirmar el diagnóstico microscópico de una enfermedad, establecer el pronóstico y contribuir al tratamiento. Se caracteriza por ser de gran tamaño y comprender la totalidad de la lesión o del órgano.

**Necropsia:** procedimiento cuyo objetivo es la obtención de muestras histopatológicas de un organismo “muerto” para estudios postvitales. Estas se realizan en la denominada “sala de necropsias” con equipamiento específico.

**Necropsia clínica:** tiene como objetivo fundamental conocer la historia natural de la enfermedad que causó la muerte.

**Necropsia legal:** tiene como objetivo fundamental conocer las circunstancias que causaron la muerte. La realiza el médico legista.

Existe un tercer procedimiento de obtención de muestras denominado **extendido Cérvico vaginal** y es aquel resultante de la dispersión de células procedentes del raspado o exfoliación del cérvix uterino sobre una lámina portaobjetos. Se utiliza para la coloración de papanicolao.

### 2.2.7. Procedimientos y técnicas histotecnológicas

Conjunto de pasos a seguir para la obtención de preparados histológicos aptos para su estudio mediante el microscopio óptico.

**Fijación:** es el proceso físico que logra una situación estable de los constituyentes tisulares, interrumpiendo las reacciones enzimáticas de autólisis y la putrefacción.

**Inclusión:** proceso por el cual brinda la dureza, consistencia al tejido para que pueda ser cortado.

Hay cuatro etapas:

- Deshidratación
- Aclaramiento
- Inclusión con parafina
- Corte

Este último se realiza en micrótomos que son muy precisos para obtener láminas de tejidos muy delgados de (4  $\mu\text{m}$ -6  $\mu\text{m}$ ) aproximadamente.

- Desparafinización e hidratación
- Coloración
- Deshidratación
- Montaje

### 2.3. Terminología básica

**Validación.** Acción y efecto de validar. Es dar firmeza, fuerza, seguridad o subsistencia de algún acto.

**Extracto** (del lat. *extractus*, sacar). Producto sólido o espeso obtenido por evaporación de un zumo o de una disolución de sustancias vegetales o animales. Extracto acuoso, alcohólico, etéreo.

**Exocarpo.** (*exo*, exterior y el *karpo*, fruto). Palabra formada con raíces griegas que significa “cáscara la parte más externa del fruto”.

**Kumpia.** Pertenece a la familia Zingiberaceae, genero *Renealmia*, especie *alpinia*, planta herbácea no tóxica, conocida comúnmente con los nombres de kumpia, platanillo, guaiporé, jazmín de monte, pintura negra, matandrea o achira de monte, por las comunidades nativas Awajum del distrito de Aramango, departamento del Perú, como también en el pueblo Shuar del Ecuador, en el poblado de Puebla de México, y África.

**Colorante.** Sustancia natural o artificial que se emplea para teñir las células o los tejidos orgánicos, a efecto de que sean visibles al examinarlos con el microscopio.

**Nuclear.** Relativo al núcleo de una célula. El núcleo celular es un orgánulo membranoso que se encuentra en las células eucariotas. Contiene la mayor parte del material genético celular, organizado en múltiples moléculas lineales de ADN de gran longitud formando complejos con una gran variedad de proteínas como las histonas para formar los cromosomas.

**Tisular.** Término biológico que pertenece o es relativo a los tejidos de los organismos.

**Tejido.** Un conjunto asociado de células de la misma naturaleza.

## 2.4. Hipótesis

### 2.4.1. Hipótesis general

- El extracto del exocarpo de *Reineckia alpinia* (kumpia) es válido como colorante nuclear tisular.

### 2.4.2. Hipótesis específicas

- La imagen histológica que brinda el colorante en estudio en comparación a la coloración con hematoxilina es buena.
- Es aceptable la validez de diferenciación entre el núcleo y citoplasma en los cortes histológicos coloreados.

## 2.5. Variables

### 2.5.1. Variable independiente

- Extracto del exocarpo de *Reineckia alpinia* (kumpia) como colorante.

### 2.5.2. Variable dependiente

- La coloración nuclear tisular.

### III. DISEÑO METODOLÓGICO

#### 3.1. Tipo de investigación

- Experimental

#### 3.2. Población y muestra

La población universo del estudio fue de 2 560 muestras quirúrgicas obtenidas durante el mes de julio de 2014, en el Hospital Alberto Sabogal Sologuren, del área de Anatomía Patológica.

El cálculo muestral del estudio se obtuvo según la fórmula:

$$n = \frac{k^2 * p * q * N}{(e^2 * (N - 1)) + k^2 * p * q}$$

La población del estudio fue 102 cortes de tejidos: hígado (34), intestino (34), ganglio (34). De estas, se les distribuyó de la siguiente manera: 17 láminas para coloración kumpia-eosina, y 17 láminas para coloración hematoxilina-eosina.

#### Criterios de inclusión

Son incluidas las muestras quirúrgicas obtenidas durante el mes de julio de 2014, en el hospital Alberto Sabogal Sologuren, del área de Anatomía Patológica. Son seleccionadas las muestras que presenten un alto contenido de células y núcleo, estas comprenden hígado, colon, ganglio.

- **Hígado:** por presentar cordones celulares de hepatocitos, con los que se evaluara mejor el número de núcleo celular.
- **Intestino:** formada por la glándula tubular simple (revestidas por un epitelio cilíndrico simple), células absorbentes (citoplasma eosinófilo y núcleo basal), y por células mucosas de polo abierto (caliciformes).
- **Ganglio:** formada por las siguientes partes:
  - Cápsula y seno subcapsular o (marginal) que consiste en un espacio revestido por células endoteliales.
  - Corteza: folículos linfoides, seno cortical, (folículos donde se encuentran los linfocitos maduros), y zona cortical o centro germinal constituida por linfocitos inmaduros.
  - Medula: senos o canales medulares que drenan la linfa desde la corteza hasta el hilio.

**Criterios de exclusión:** se excluirán las muestras quirúrgicas que presentan complicada estructura del tejido y tamaño nuclear-celular, y presentan dificultad en la evaluación del colorante en estudio

### 3.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

#### 3.3.1. Técnica de obtención del colorante kumpia

- a. Se cortó los frutos maduros de la kumpia.
- b. Se separó el exocarpo de los frutos.
- c. Se trituró con un molino de fierro casero.
- d. Se obtuvo el colorante exprimiendo con una tela muy fina.
- e. Se envasó el colorante en frascos de vidrio color (ámbar).
- f. Se obtuvo el colorante libre de impurezas con un papel filtro.



### **Técnica para la obtención del tejido en las láminas**

- a. Se buscó en el libro de archivos las muestras procesadas en el mes de julio de 2014.
- b. Se seleccionó los bloques o tacos ya procesados.
- c. Se colocó en la nevera de la refrigeradora.
- d. Se realizó el corte del tejido con micrótomo tipo minot.
- e. Se colocó en agua alcohólica, luego en el baño de flotación para el extendido del tejido y parafina.
- f. Se fijó en la lámina cada uno de los cortes de las muestras.
- g. Se colocó en la estufa a 100 °C, para sacar la parafina.
- h. Se colocó en los tres xilenos.
- i. Luego se colocó en alcoholes de 100°, 100°, 100°, 95°, 80°, 70° y agua corriente.
- j. Se distribuyó a las láminas en dos grupos de 51, un grupo para la coloración kumpia-eosina, y el otro grupo para hematoxilina-eosina.

### **Técnica y método de la coloración hematoxilina-eosina**

- a. Un grupo de 51 láminas se colocó en la cubeta de hematoxilina por 5 minutos
- b. Agua corriente
- c. Alcohol ácido
- d. Agua corriente
- e. Agua amoniacal
- f. Agua corriente
- g. Eosina durante 3 minutos
- h. Alcoholes de 70°, 80°, 95°, 100°, xilol
- i. Estufa a 60°C
- j. Montaje
- k. Se rotuló las láminas con su respectivo nombre del tejido y tipo del colorante.

### **Técnica y método de la coloración kumpia-eosina**

- a. El otro grupo de 51 láminas se colocó en la cubeta de kumpia por 10 minutos
- b. Agua corriente
- c. Agua amoniacal
- d. Agua corriente
- e. Eosina durante 3 minutos
- f. Alcoholes de 70°, 80°, 95°, 100°, xilol
- g. Estufa a 60°C
- h. Montaje
- i. Se rotuló las láminas con su respectivo nombre del tejido y tipo del colorante.
- j. Entrega de la bandeja de láminas al Dr. Cesar Vela Velásquez, anatómopatólogo de la Red Asistencial Sabogal, para su evaluación y validación del colorante kumpia en los núcleos de las células de los cortes histológicos.

### **3.3.2. Instrumento de recolección de datos**

Ficha de evaluación de láminas coloreadas con kumpia-eosina en referencia a la hematoxilina-eosina. (Ver anexo N.º 4).

Esta ficha fue evaluada y validada por el Dr. Cesar Vela Velásquez, anatómopatólogo de la Red Asistencial Sabogal (C.M.P. 19730 R.E. 11654).

### **3.4. Procesamiento de datos y análisis estadístico**

Los datos obtenidos fueron analizados en el programa Excel.

### **3.5. Aspectos éticos**

Se utilizaron piezas quirúrgicas que estuvieron en el archivo del Hospital Alberto Sabogal Sologuren, en el área de Anatomía Patológica, siguiendo los lineamientos de la declaración de Helsinki, el código de ética del tecnólogo médico y el código mundial de ética médica.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Resultados

Se realizó el corte y coloración en 102 piezas quirúrgicas de tres tipos de tejido que se reportan en la tabla N.º 1.

Del total de láminas que fueron coloreadas, 51 corresponden a la tinción con Kumpia-eosina y 51 a la tinción con hematoxilina-eosina, las que se distribuyeron en 17 láminas por cada tipo de muestra, y tipo de colorante (según tabla N.º 1).

**TABLA 1**

**Número de láminas obtenidas según tipo de muestras y colorantes**

TIPO DE MUESTRA	KUMPIA - EOSINA	HEMATOXILINA - EOSINA	TOTAL
INTESTINO	17	17	34
HIGADO	17	17	34
GANGLIO	17	17	34
<b>TOTAL</b>	51	51	102

El total de láminas coloreadas fueron 102, distribuyéndose según el tipo de muestra: 34 corresponden a intestino, 34 a hígado, y 34 a ganglio (según tabla 2).

**TABLA 2**  
**Total de láminas coloreadas según tipo de muestra**

<b>TIPO DE MUESTRA</b>	<b>NÚMERO DE LÁMINAS</b>
<b>INTESTINO</b>	34
<b>HIGADO</b>	34
<b>GANGLIO</b>	34
<b>TOTAL</b>	102

Los resultados de la evaluación microscópica se presentan en las tablas 3, 4 y 5, en las que se aprecian los tres criterios de evaluación que fueron; la imagen histológica, tinción nuclear y diferenciación núcleo-citoplasma, dando como resultado Bueno, lo que significa que la calidad de las imágenes registradas se encuentran en un intervalo de 80 a 100 %.

En la tabla 3, se evaluó la imagen histológica para la tinción con kumpia y hematoxilina, obteniéndose en ambas tinciones un 88,24 % de láminas con el calificativo de Bueno y 11,76 % de láminas con calificativo de Regular.

**TABLA 3**  
**Evaluación de la imagen histológica respecto a la tinción con kumpia y hematoxilina**

IMAGEN HISTOLÓGICA	TINCIÓN KUMPIA		TINCIÓN HEMATOXILINA	
	Nº LÁMINAS	EVALUACIÓN N (%)	Nº LÁMINAS	EVALUACIÓN N (%)
<b>BUENO</b>	45	88.24	45	88.24
<b>REGULAR</b>	6	11.76	6	11.76
<b>MALO</b>	0	0	0	0
<b>TOTAL</b>	51	100	51	100

En la tabla 4, se evaluó la tinción nuclear, obteniéndose para la tinción con kumpia un 94,12 % de láminas con el calificativo de Bueno y 5,88 % de láminas con calificativo de Regular; mientras que el 100 % de láminas coloreadas con hematoxilina dieron un calificativo de Bueno.

**TABLA 4**  
**Evaluación de la tinción nuclear referente a la tinción con kumpia y hematoxilina**

TINCIÓN NUCLEAR	TINCIÓN KUMPIA		TINCIÓN HEMATOXILINA	
	Nº LÁMINAS	RESULTADO (%)	Nº LÁMINAS	RESULTADO (%)
<b>BUENO</b>	48	94,12	51	100
<b>REGULAR</b>	3	5.88	0	0
<b>MALO</b>	0	0	0	0
<b>TOTAL</b>	51	100	51	100

En la tabla 5, se evaluó la diferenciación núcleo-citoplasma, obteniéndose para ambas tinciones el 100 % de láminas con calificativo de Bueno.

**TABLA 5**  
**Evaluación de la diferenciación núcleo-citoplasma de la tinción con kumpia y hematoxilina**

DIFERENCIACIÓN NÚCLEO- CITOPLASMA	TINCIÓN KUMPIA		TINCIÓN HEMATOXILINA	
	N.º LÁMINAS	RESULTADO (%)	N.º LÁMINAS	RESULTADO (%)
<b>BUENO</b>	51	100	51	100
<b>REGULAR</b>	0	0	0	0
<b>MALO</b>	0	0	0	0
<b>TOTAL</b>	51	100	51	100



## 4.2. Discusión

- Existe un estudio realizado con extracto de maíz morado-eosina, por Uriol Bustamante P. en el año 2004, con 100 muestras.
  - Imagen histológica (81 %) de láminas con un calificativo de Bueno.
  - Tinción nuclear (65 %) de láminas con un calificativo de Bueno.
  - Diferenciación núcleo-citoplasma (75 %) de láminas con un calificativo de Bueno.
  
- Otro estudio realizado por Oscar Santa Cruz Sánchez, en el año 2014, utilizando el colorante (kumpia-eosina), con 102 muestras, se obtuvo los resultados:
  - Imagen histológica: 88,24% (Bueno) y 11,76 % (Regular) del total de láminas.
  - Tinción nuclear: 94,12% (Bueno) y 5,88 % (Regular) del total de láminas.
  - Diferenciación núcleo-citoplasma 100 % (Bueno) del total de láminas, ocurriendo lo mismo para ambas tinciones, tanto el colorante kumpia-eosina, como para hematoxilina-eosina, que esta fue tomada como prueba patrón o *gold standard*.
  
- Este colorante kumpia no utiliza ningún tipo de agentes oxidantes artificiales, sales metálicas, ácido acético, a diferencia del extracto del maíz morado y la hematoxilina que sí se utilizan para dar color y acelerar la reacción fisicoquímica.

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

El presente estudio llegó a las siguientes conclusiones:

- Es un colorante 100 % puro y natural, no tóxico, y con propiedades propias de las antocianinas (metabolitos secundarios muy favorables para tinciones y colorantes) y muy beneficioso para el manipulador por no ser tóxico.
- Tiene un calificativo de Bueno para sus tres indicadores de evaluación del estudio y es muy eficaz para la tinción nuclear tisular.
- Es fácil de conseguir y no necesita ningún tipo de evaporación ni concentración.

### 5.2. Recomendaciones

- Se recomienda utilizar este producto como una alternativa en cuanto a colorantes nucleares tisulares.
- Realizar otros métodos de estudio para acelerar la reacción en menor tiempo de la coloración del colorante kumpia con los núcleos tisulares.
- Realizar otras pruebas al colorante kumpia en procedimientos histoquímicos e inmunohistoquímicos, tricromía de Masson, citología ginecológica y no ginecológica, en el área de hematología, citogenética como en la coloración del bandeado cromosómico.
- Se recomienda el uso de este colorante kumpia porque resultó ser Bueno, eficaz, fácil de conseguir, no necesita ningún tipo de procesamiento ni evaporación, es un colorante 100 % puro, natural, y directo, en cuanto al precio del insumo es muy cómodo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Marcia, M. J. (2003). *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas (zingiberaceae): planta comestible de la sierra Norte de Puebla (México). *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 60(1), 183-187.
2. Uriol Bustamante, P. (2004). *Aplicación del colorante del maíz morado en la tinción nuclear de células presentes en un corte histológico* (Tesis para optar el grado de Licenciado en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica). UNMSM, Perú.
3. Alarcón, Juan C. (2008). Propagación in vitro de *Renealmia alpinia* (Rottb), planta con actividad antiofídica. *Vitae. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 15(1), 61-69.
4. Noriega Rivera. P. (2011). Extracción, pruebas de estabilidad y análisis químico preliminar de la fracción del colorante obtenido a partir del exocarpo del fruto de *Renealmia alpinia*. *La Granja* 13(1), 13-20.
5. Patiño, A. C. (2012). Efecto inhibitorio de extractos de *Renealmia alpinia* Rottb. Maas (Zingiberaceae). Sobre el veneno de *Bothrops asper* (mapaná). *Biomédica*, 32(3), 365-374.
6. Shirata, Y. (1996). *Colorantes naturales*. México: Biblioteca Nacional de Antropología e Historia.
7. McGraw-Hill. Interamericana de España. (2003). *Diccionario médico Dorland*. (26.<sup>a</sup> edición). México: McGraw-Hill.
8. Gorodner, O. (2007). *Histología: métodos e instrumentos de histología*. Parte I: Técnica histológica. Cátedra II de Histología y Embriología. Argentina: UNNE.

9. Agurto Sáenz, T. (n. d). *Técnicas de coloraciones de células y tejidos*. Lima: Universidad Ricardo Palma.
10. Colorantes nucleares. (n. d).  
Recuperado de [Medicinaupv.Files.wordpress.com/2010/04/3-sem-tinciones](http://Medicinaupv.Files.wordpress.com/2010/04/3-sem-tinciones)
11. Real Academia Española. (n. d.). Recuperado de <http://www.rae.es/>
12. Fisterra. (n. d). *Guías clínicas*. Recuperado de <http://www.fisterra.com/guias-clinicas/mas-sobre-guias/buscar-pubmed/>
13. Feedback Networks. (n. d.). *Experiencia*. Recuperado de <http://www.feedbacknetworks.com/cas/experiencia/sol-preguntar-calculador.html>
14. Kennedy Educar. (n. d.). *Técnicas*. Recuperado de [Kennedy.educar/departamentos/biología/2011/-1tecnicas2011.pdf](http://Kennedy.educar/departamentos/biología/2011/-1tecnicas2011.pdf)
15. Tejido Plantas. (n. d.). Tejido de las plantas. Recuperado de <http://tejido-plantas.blogspot.com/2012/11/tejido-de-las-plantas.html>
16. García Jimenes, G. (2010). *Métodos histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América*.
17. García del Moral, R. (1999). *Laboratorio de Anatomía Patológica*. Interamericana McGraw-Hill.
18. Martínez, R. P. (2011). Comparación histológica e inmunohistoquímica de muestras de tejido procesadas por la técnica convencional o por el método simplificado de acetonas. *Int. J. Morphol.* 29(2), 575-580.
19. Bravo García, M. (2011). *Manual de procedimientos y técnicas histopatológicas*. México: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
20. Médica Panamericana (2012). *Histología*. Editorial Médica Panamericana.
21. Montalvo Arenas, C. E. (2010). *Técnica histológica*. México: Universidad Nacional Autónoma.

## ANEXOS

### ANEXO 1. Cuadro de operacionalización de variables

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	DIMENSION	INDICADOR	ESCALA DE MEDICION	VALOR
Colorante (kumpia) como colorante nuclear tisular.	Colorante 100% puro y natural, no toxico, ligeramente ácido, en cuanto a la coloración nuclear tisular es Buena, semejante a la hematoxilina, una alternativa en histotecnología, en cuanto al precio del insumo es muy cómodo y fácil de conseguir.	Diagnóstico Histológico	Imagen Histológica	Buena	(80-100)%
				Regular	(60-79)%
				Mala	(50-59)%
		Tinción Nuclear	Buena	(80-100)%	
			Regular	(60-79)%	
			Mala	(50-59)%	
		Diferenciación Núcleo-Citoplasma	Buena	(80-100)%	
			Regular	(60-79)%	
			Mala	(50-59)%	

**ANEXO 2. Ficha de evaluación de las láminas**

2

1. Evaluar la coloración que brinda el colorante en estudio con referencia a la hematoxilina.

Dr. Anatómo Patólogo: .....

**Dr. César Vela Velasquez**  
 C.M.P. 19730 R.E. 11654  
 ANATOMIA PATOLÓGICA  
 RED ASISTENCIAL SABOGAL  


Lic. Tecnólogo Médico: .....

**Lic. Carlos H. García Vásquez**  
 TECNÓLOGO MÉDICO  
 C.T.M.P. 6003

Lugar de trabajo: .....

Marcar con un (x) o (+) el puntaje que corresponda.

Imagen Histológica	Kumpia - Eosina	Hematoxilina - Eosina
Buena (80 - 100) %	x	x
Regular (60 - 79) %		
Mala (50 - 59) %		

(x)

Tinción Nuclear	Kumpia - Eosina	Hematoxilina - Eosina
Buena (80 - 100) %	x	x
Regular (60 - 79) %		
Mala (50 - 59) %		

(x)

Diferenciación Núcleo Citoplasma	Kumpia - Eosina	Hematoxilina - Eosina
Buena (80 - 100) %	x	x
Regular (60 - 79) %		
Mala (50 - 59) %		

(x)

### ANEXO 3. Imágenes de tesis



Figura 1. Hábitat natural de la planta herbácea *Renealmia alpinia* (kumpia)  
Distrito Aramango del departamento de Amazonas.



Figura 2.- Planta herbácea *Renealmia alpinia* (kumpia), en su estado de floración y frutos verdes.



Figura 3. Recolección de los frutos maduros de *Renealmia alpinia* (kumpia).





Figura 4. Separación del exocarpo de los frutos *Renealmia alpinia* (kumpia) y trituración con molino de hierro.



Figura 5. Hospital Nacional Alberto Sabogal Sologuren, lugar y área donde se realizó el experimento de la tesis.



Figura 6.- Filtrando el colorante, colorante kumpia libre de impurezas.

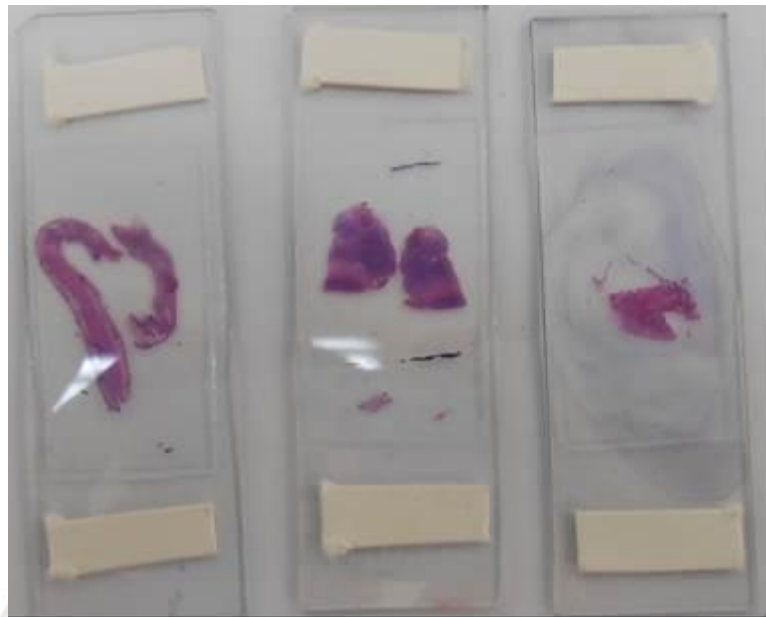


Figura 7. Coloración piloto muestras de intestino y de hígado.

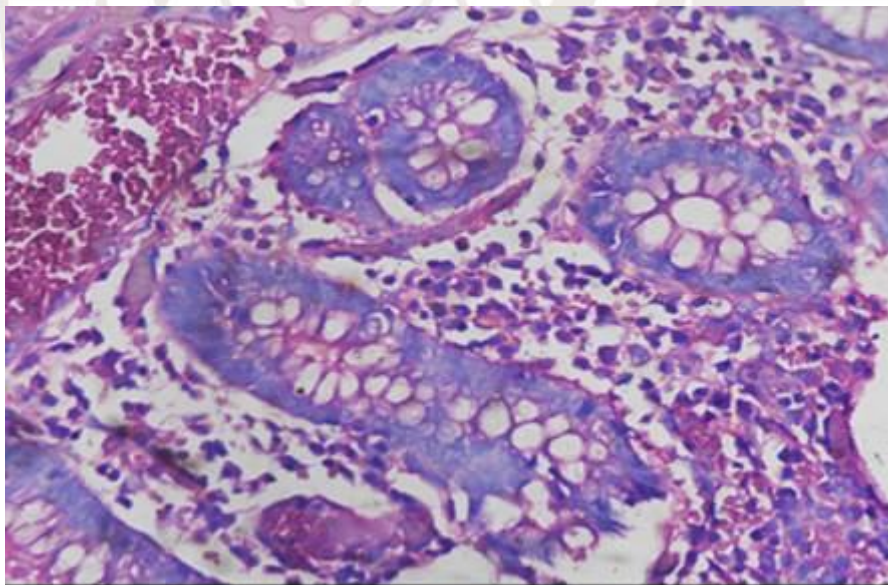


Figura 8. Muestra de intestino observación microscópica a 40x.

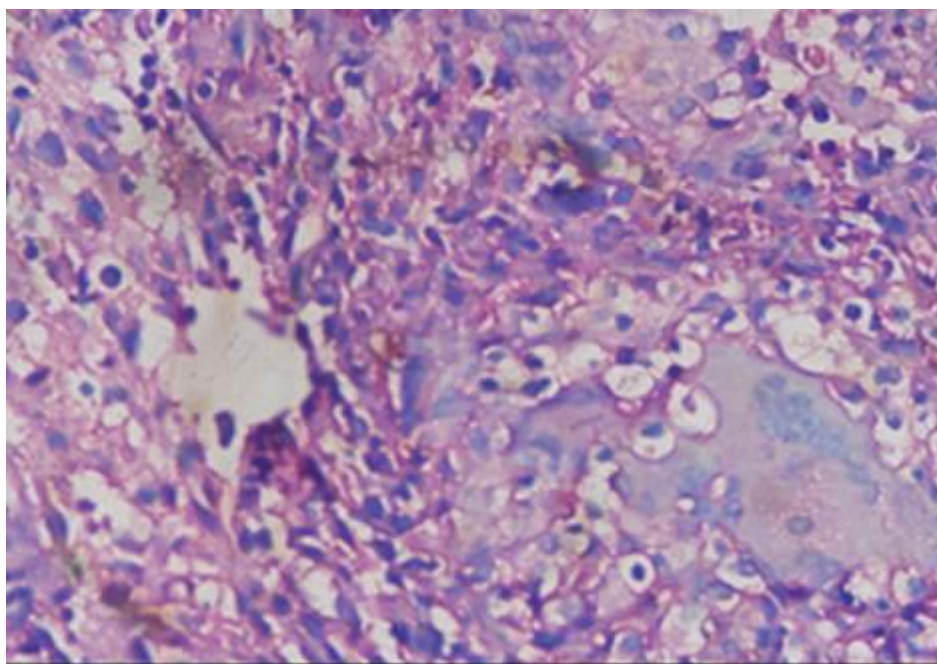


Figura 9. Muestra de hígado observación microscópica a 40x.

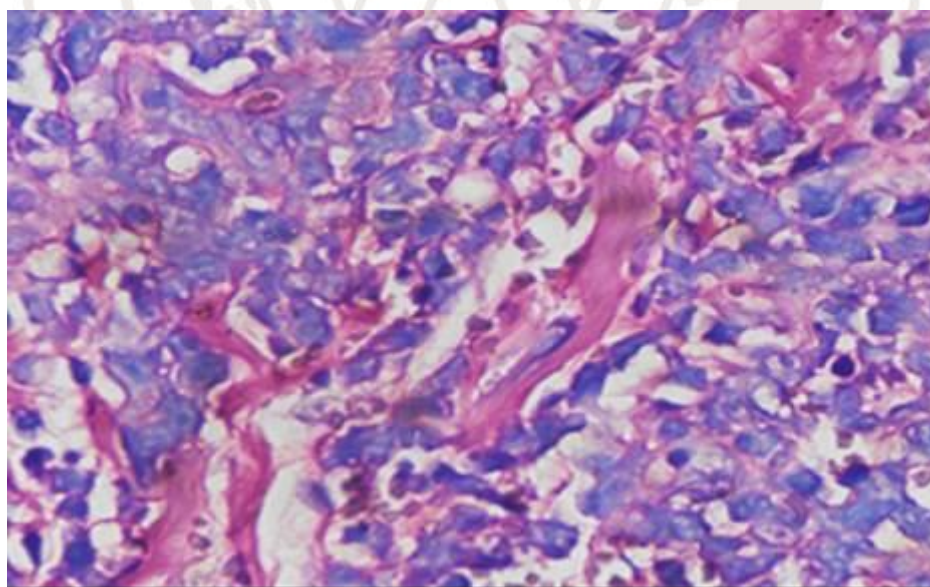


Figura 10. Muestra de hígado observación microscópica a 100x.

**Procedimiento de coloración de láminas de las muestras de los tejidos del estudio, procesadas y separadas para cada tipo de colorante**



Figura 11. Procedimiento de coloración hematoxilina-eosina.



Figura 12. Procedimiento de coloración kumpia-eosina.



Figura 13.-Láminas coloreadas con hematoxilina-eosina.



Figura 14. Láminas coloreadas con kumpia-eosina.

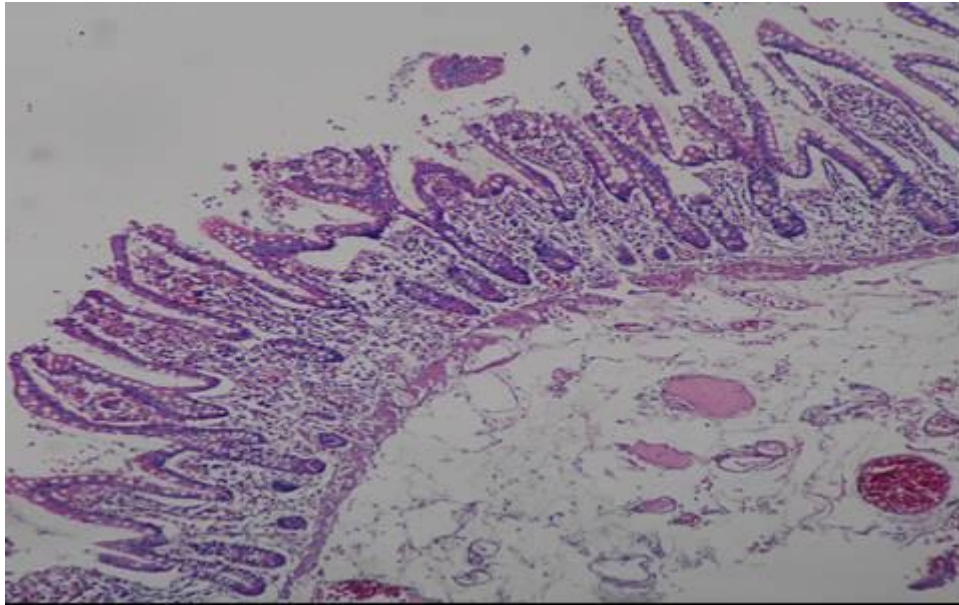


Figura 15. Intestino, imagen histológica, coloración hematoxilina-eosina.  
Observación microscópica a 10x.

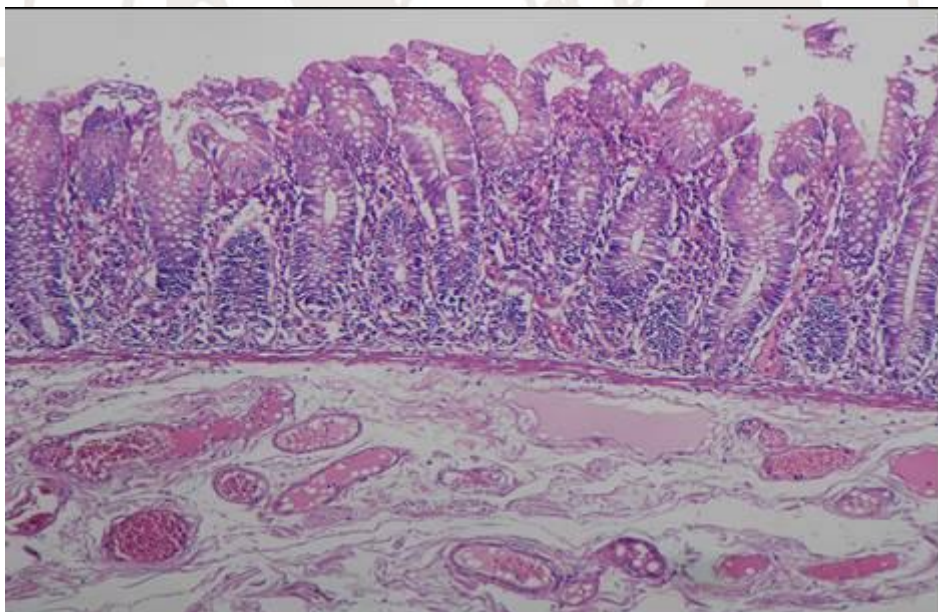


Figura 16. Intestino, imagen histológica, coloración kumpia-eosina.  
Observación microscópica a 10x.

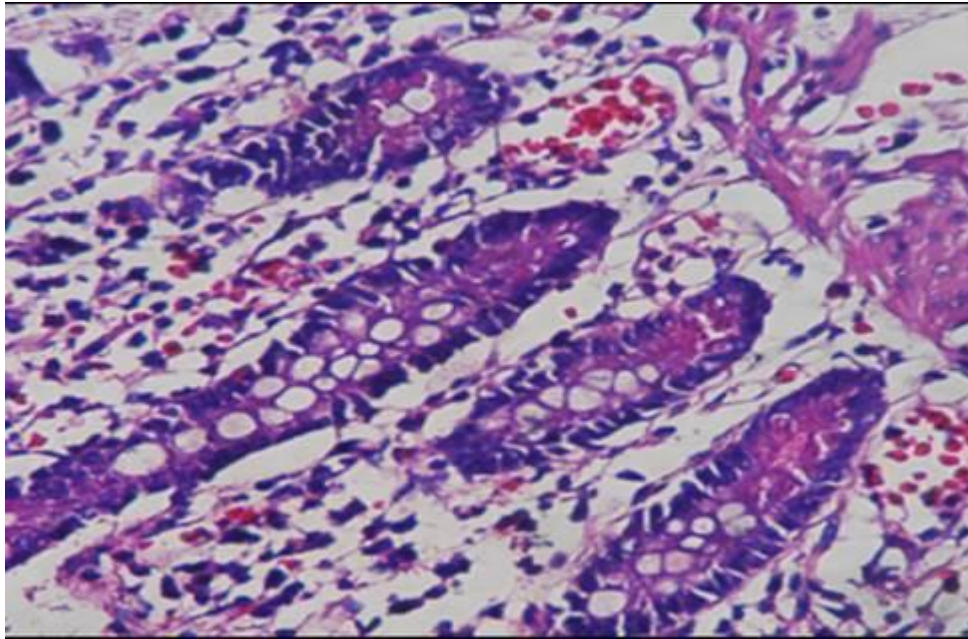


Figura 17. Intestino, tinción nuclear, y diferenciación núcleo-citoplasma coloración hematoxilina-eosina. Observación microscópica a 40x.

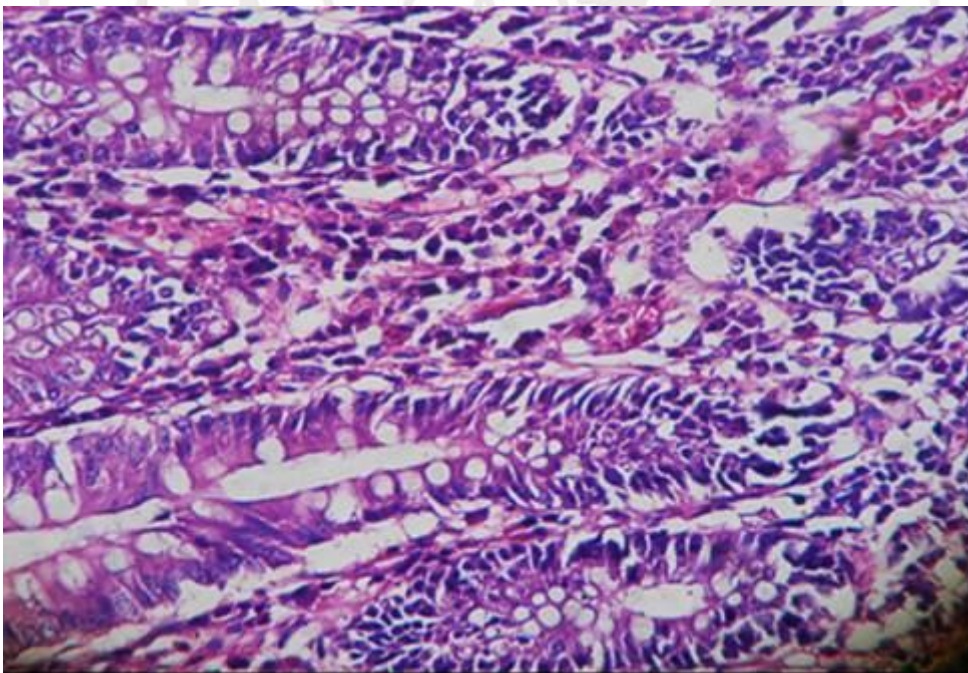


Figura 18. Intestino, tinción nuclear, y diferenciación núcleo-citoplasma coloración kumpia-eosina. Observación microscópica a 40x.



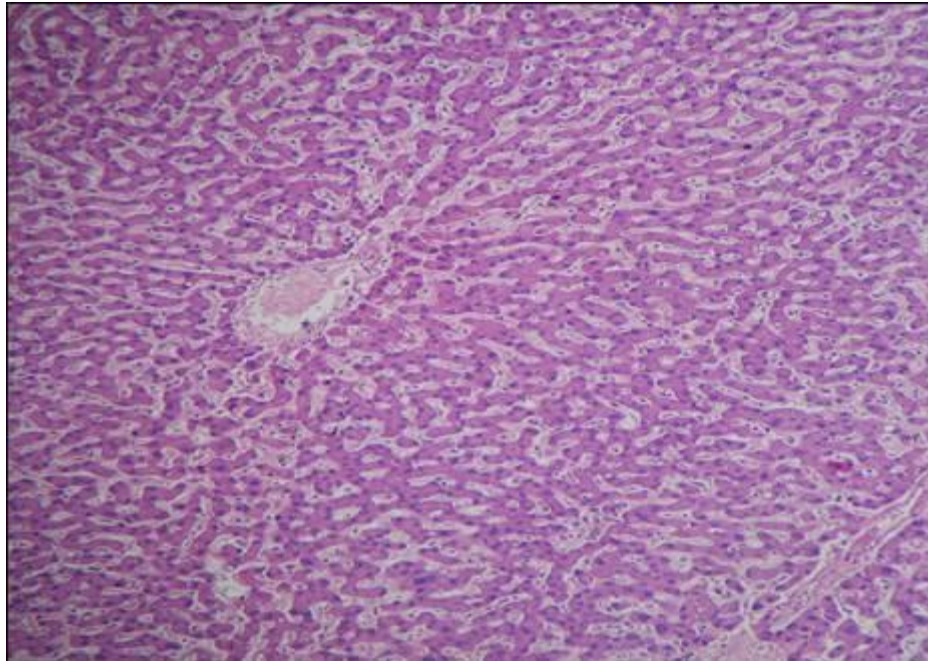


Figura 19.- Hígado, imagen histológica, coloración hematoxilina-eosina.  
Observación microscópica a 10x.

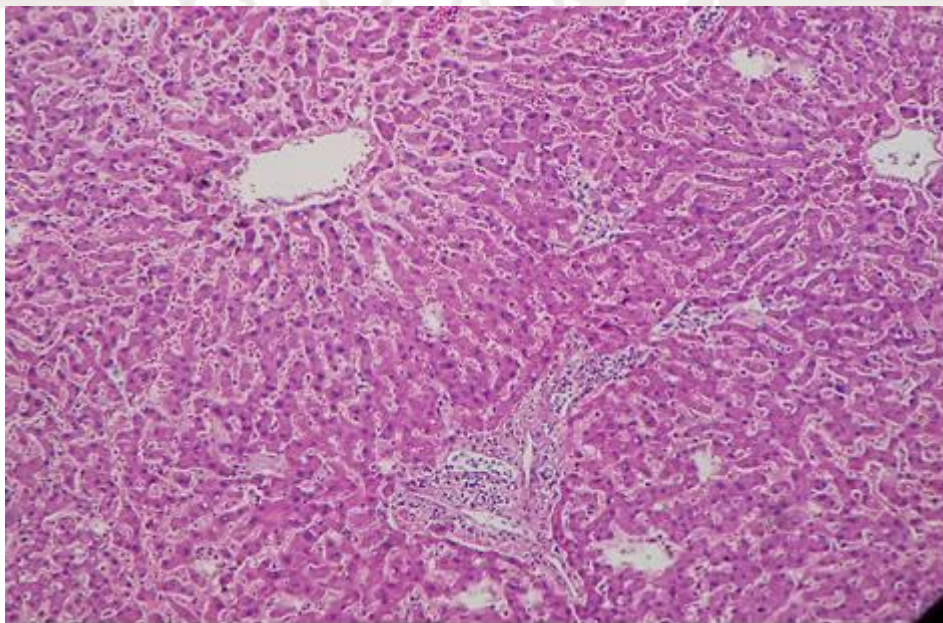


Figura 20. Hígado, imagen histológica, coloración kumpia-eosina.  
Observación microscópica a 10x.

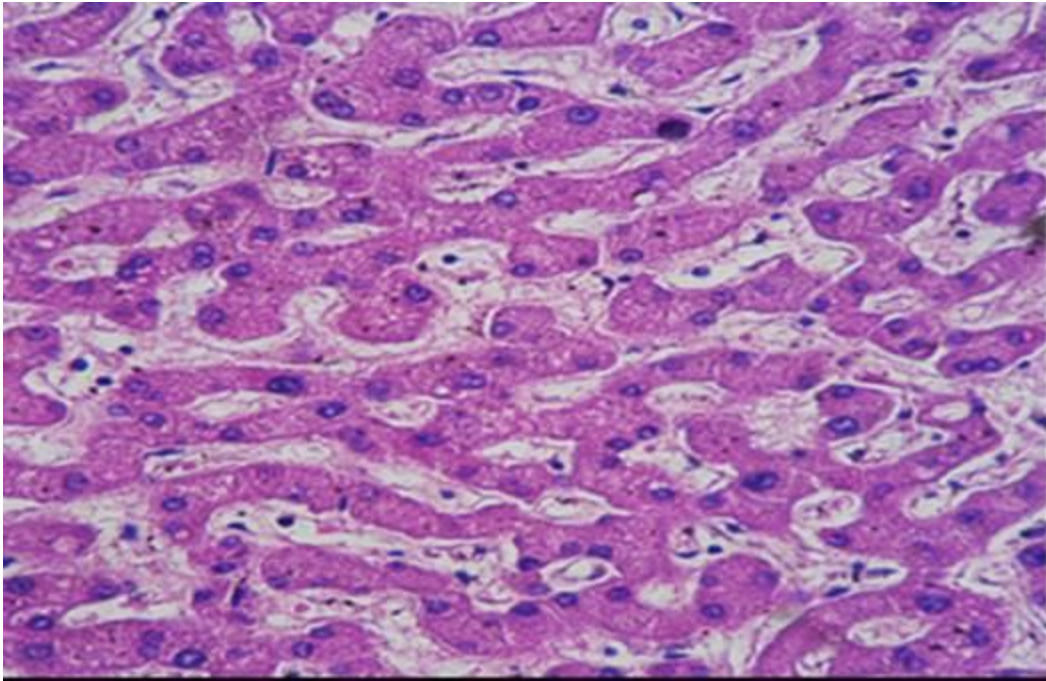


Figura 21. Hígado, tinción nuclear, y diferenciación núcleo-citoplasma coloración Hematoxilina-eosina. Observación microscópica a 40x.

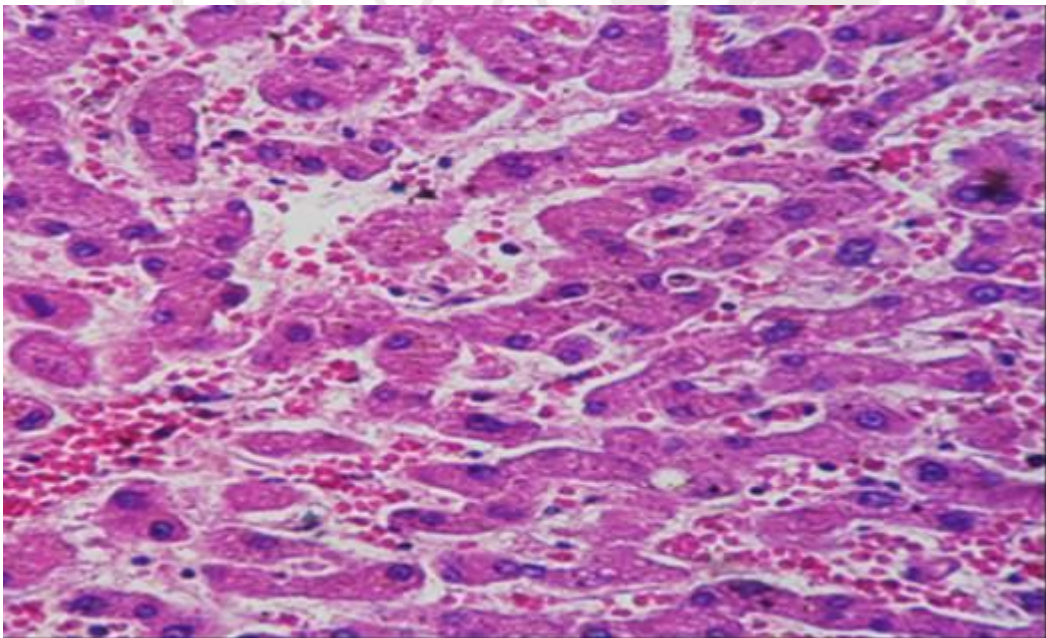


Figura 22. Hígado, tinción nuclear, y diferenciación núcleo-citoplasma coloración kumpia-eosina. Observación microscópica a 40x.

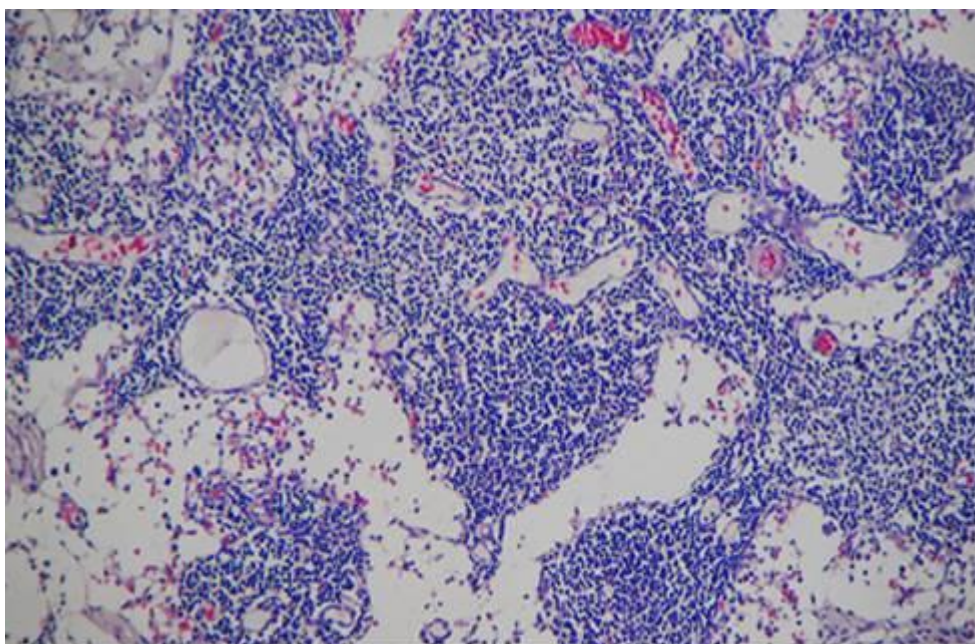


Figura 23. Ganglio, imagen histológica, coloración hematoxilina-eosina.  
Observación microscópica a 10x.

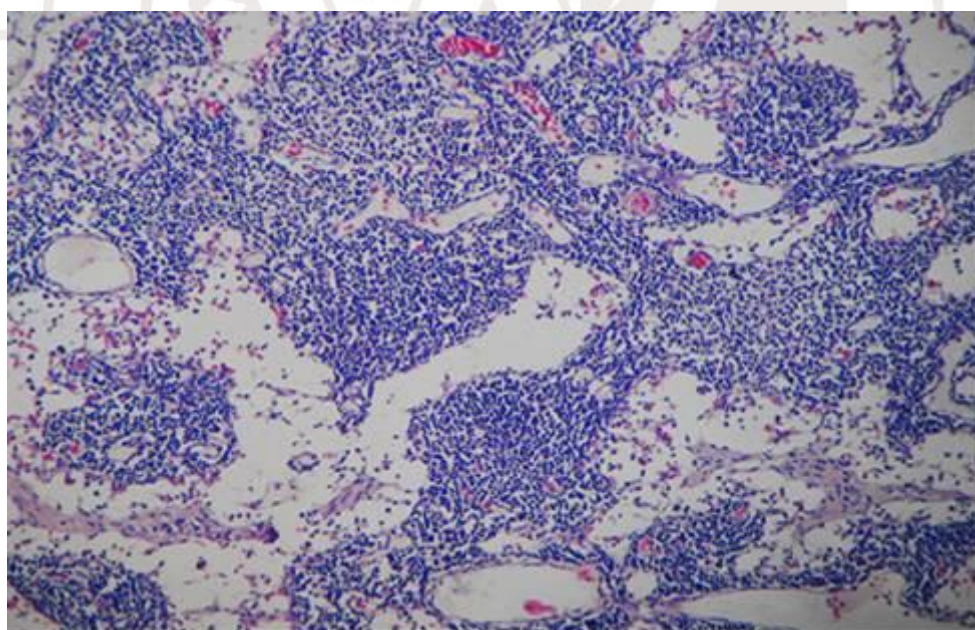


Figura 24. Ganglio, imagen histológica, coloración, kumpia-eosina.  
Observación microscópica a 10x.

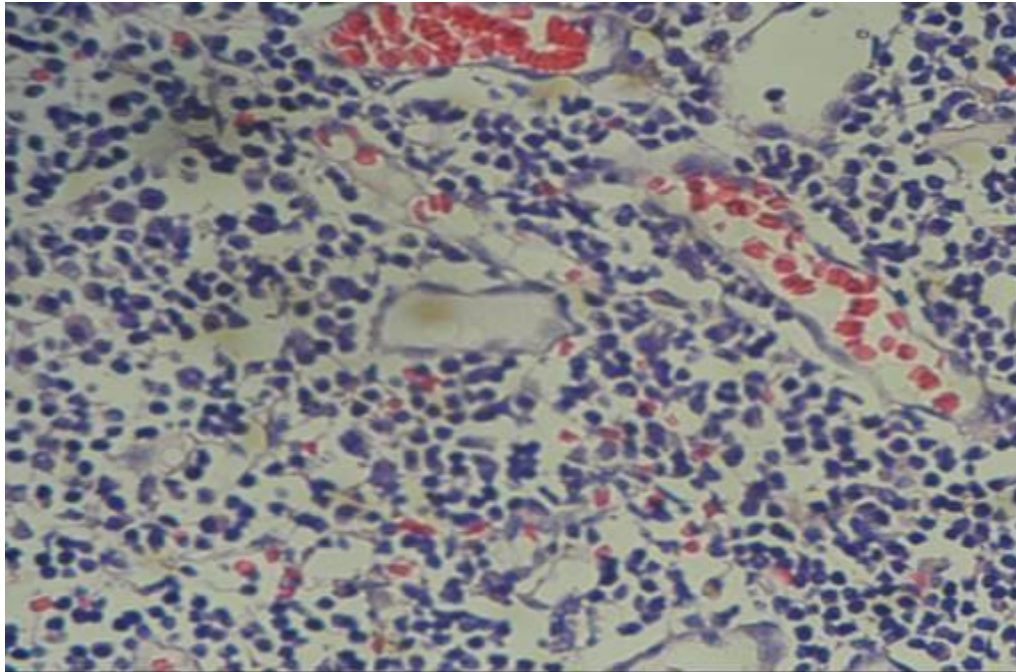


Figura 25. Ganglio, tinción nuclear, y diferenciación núcleo-citoplasma coloración, Hematoxilina-Eosina. Observación microscópica a 40x.

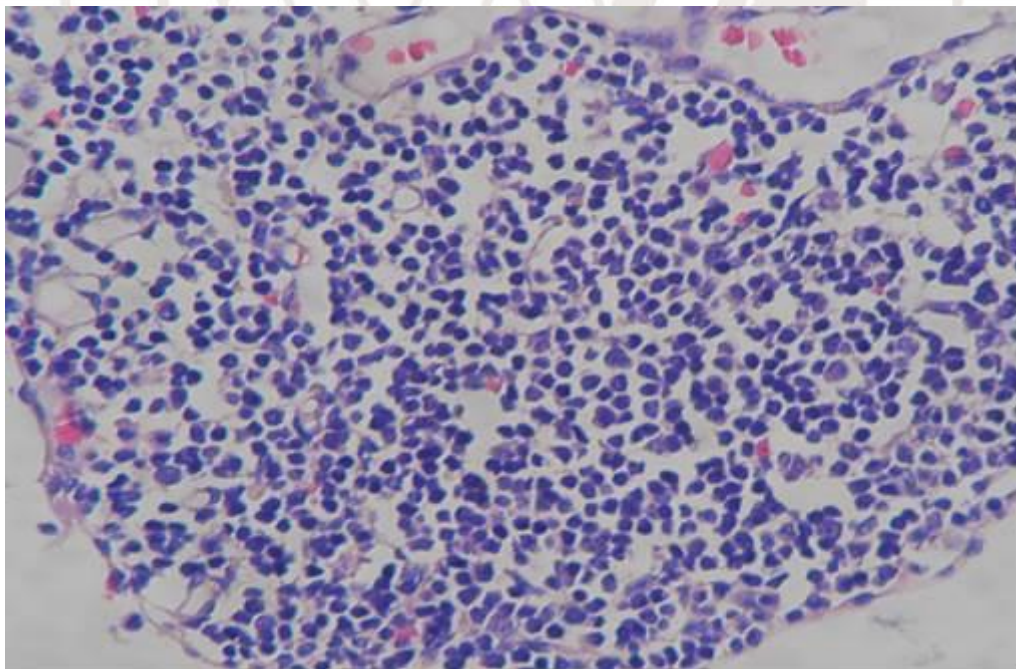


Figura 26. Ganglio, tinción nuclear, y diferenciación núcleo-citoplasma coloración, kumpia-Eosina. Observación microscópica a 40x.