



Análisis fitoquímico, actividad antioxidante y hepatoprotectora del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* en lesiones hepáticas inducidas con tetraclorometano en ratas albinas

Piero Canelo-Saldaña^{1*}, Yrani Mendoza-Gardini^{1*}, Jorge Villacrés Vallejo², José Aranda-Ventura², Germán González-Aspajo²

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 03/09/2017

Aprobado: 20/09/2017

Autor correspondiente

Germán González Aspajo
gergonza.a@gmail.com;
german.gonzalez@essalud.gob.pe
+51 988 103 137; +51 65 26 56 69

Contribución de autores

Contribuyeron de igual manera en la ejecución del trabajo

Financiamiento

Este estudio fue financiado por el Instituto de Medicina Tradicional (IMET)

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés en la publicación del artículo.

Citar como

Canelo-Saldaña P, Mendoza-Gardini Y, Villacrés Vallejo J, Aranda-Ventura J, González-Aspajo G. Análisis fitoquímico, actividad antioxidante y hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa* en lesiones hepáticas inducidas con tetraclorometano, en ratas albinas Rev Peru Med Integrativa.2017;2(3):765-72.

Resumen

Objetivos. Realizar un análisis fitoquímico y describir la actividad hepatoprotectora y antioxidante del extracto de rizomas de *Curcuma longa* L. (*C. longa*) en un modelo murino. **Materiales y métodos.** La actividad antioxidante *in vitro* del extracto acuoso liofilizado de rizoma de *C. longa* L. (Fam: Zingiberaceae) se evaluó con el método de DPPH, además, también se realizó el análisis fitoquímico de tres solventes de extracción (ExEt, ExDCM y ExH₂O). El ensayo *in vivo* se realizó en ratas albinas cepa Holtzman. Se formaron cinco grupos de tratamiento: (control normal); (control-CCl₄); (Control positivo); (*C. longa* 100 mg/kg) y (*C. longa* 200 mg/kg), que fueron inducidos con CCl₄ para desarrollar daño hepático. Este modelo permitió medir el efecto protector de los extractos sobre los marcadores bioquímicos (AST, ALT y ALP) en sangre. Posteriormente, se realizó un examen histopatológico de las secciones hepáticas para apoyar la inducción de la hepatotoxicidad y la eficacia hepatoprotectora. **Resultados.** El extracto mostró un poder reductor mucho menor que el ácido ascórbico, en el tamizaje fitoquímico se encontraron compuestos fenólicos, triterpenos, quinonas, cumarinas y flavonoides, además la cantidad de curcumina encontrada fue de 0,4%-0,6%. El extracto liofilizado de *C. longa* mostró un efecto protector significativo ($P < 0,05$), disminuyendo la actividad enzimática de los marcadores hepatoespecíficos. Los niveles elevados de enzimas séricas AST, ALT y ALP, se hallaron restablecidas hacia la normalización, de manera dosis dependiente, con el máximo efecto protector a dosis de 200 mg/kg. Las observaciones histopatológicas soportan las evidencias bioquímicas de hepatoprotección. Estos efectos fueron comparables a la droga estándar, silimarina. **Conclusiones.** Los resultados presentados en este estudio revelan fuertemente el efecto protector del extracto liofilizado de *C. longa*, cultivada en la región Loreto, frente a daño hepático inducido por CCl₄ en experimentación animal.

Palabras clave: Curcuma, Antioxidantes, Curcumina, Tetracloruro de Carbono, Hepatoprotector (Fuente: DeCS).

Phytochemical analysis, antioxidant and hepatoprotective activity of lyophilized aqueous extract of *Curcuma longa* on albino rats liver injury induced by tetrachloromethane

Abstract

Objectives. To develop a phytochemical analysis and describe the hepatoprotective and antioxidant activities of *Curcuma longa* (C. longa) rhizomes extract in a murine model. **Materials and methods.** In vitro antioxidant activity of aqueous lyophilized extract of rhizome of C. longa L. (Fam: Zingiberaceae) was evaluated by DPPH assays, and the phytochemical analysis of three extraction solvents (ExEt, ExDCM and ExH₂O) was also performed. The in vivo assay was made in holtzman albino rats. Five treatment groups were formed: (Normal control); (CCl₄- control); (Positive control); (C. longa 100 mg / kg) and (C. longa 200 mg / kg), which were induced with CCl₄ to develop liver damage. This model allowed measuring the protective effect of the extracts on blood biochemical markers (AST, ALT and ALP). Further histopathological examination of the liver sections was carried out to support the induction of hepatotoxicity and hepatoprotective efficacy. **Results.** The extract showed a reduction power much lower than ascorbic acid. In the phytochemical screening, phenolic compounds, tripterpenes, quinones, coumarins and flavonoids were found. In addition, the amount of curcumin found was 0.4% - 0.6%. The lyophilized extract of C. longa showed a significant protective effect ($P < 0.05$), decreasing the enzymatic activity of the hepato-specific markers. Elevated levels of AST, ALT and ALP serum enzymes were restored to normalization in a dose-dependent manner with the maximum protective effect at doses of 200 mg / kg. Histopathological observations support the biochemical evidence of hepato-protection. These effects were comparable to the standard drug, silymarin. **Conclusions.** The results presented in this study strongly reveal the protective effect of C. longa lyophilized extract grown in the Loreto region against CCl₄ induced liver damage in animal experiments.

Key words: Curcuma, Antioxidants, Curcumin, Carbon Tetrachloride, Hepatoprotector (Source: MeSH).

¹ Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Facultad de Industrias Alimentarias, Escuela de Bromatología y Nutrición Humana. Iquitos, Perú.
² Seguro Social de Salud, Instituto de Medicina Tradicional. Iquitos, Perú.

Introducción

El hígado es un órgano que regula numerosos procesos fisiológicos en el cuerpo humano, cumple una función encomiable en el metabolismo de agentes endógenos y exógenos, y se ve afectado por varios procesos inflamatorios, infecciones víricas, toxicidad por fármacos y sus metabolitos, procesos autoinmunes, defectos genéticos, alcohol, además, el uso de ciertas drogas terapéuticas como los antimaláricos, antituberculosis, anticonceptivos orales, analgésicos y antidepressivos^(1,2), provocando enfermedades como la insuficiencia hepática aguda, la esteatohepatitis alcohólica y no alcohólica, hepatitis crónica, colestasis crónica, hígado congestivo crónico y enfermedades metabólicas.

La búsqueda de extractos, sustancias o moléculas para proteger al hígado de los efectos nocivos de sustancias hepatotóxicas, y/o contrarrestar las alteraciones en los mecanismos de defensa antiantirradicales libres es de suma importancia. El uso popular de productos naturales medicinales en la salud pueden proporcionar pistas para nuevas áreas de investigación, además de considerarlas como fuentes invaluable de productos farmacéuticos⁽³⁾. Los productos naturales son considerados fuentes únicas de fácil disponibilidad y accesible a toda la población para el tratamiento y prevención de diversas enfermedades⁽⁴⁾.

En este sentido, el Perú ocupa el quinto lugar en biodiversidad del mundo y también presenta un alto número de especies de plantas con propiedades medicinales comúnmente utilizados por la población. El uso de la medicina tradicional tiene una larga historia y se ha convertido en una importante fuente de información para los sistemas de atención de la salud tanto en los países desarrollados como en desarrollo⁽⁵⁾. Además del creciente aumento en el uso de productos naturales o sus derivados, que buscan tratamientos complementarios a las enfermedades⁽⁶⁾.

La *Curcuma longa* L. es una planta originaria en sur de Asia y de las Indias Orientales, donde es considerada como una planta mágica dadas sus características organolépticas y propiedades terapéuticas y protectoras, principalmente en el ámbito hepático y cutáneo^(7,8). Se cultiva principalmente en China, India, Indonesia, Jamaica y Perú⁽⁹⁾. Esta planta es conocida comúnmente con el nombre de guisador, palillo y cúrcuma. Es una planta herbácea, perene, rizomatosa de aproximadamente 1 m de alto; rizoma con un cuerpo principal globuloso u ovoide, denominado "bulbo o cúrcuma redonda", de la cual salen uno o varios rizomas

secundarios en forma de dedos largos 5-8 cm denominados "dedos" o "cúrcuma larga". La raíz, tiene cada 3 o 4 cm bandas circulares.

Los información etnobotánica refiere diversos usos de *C. longa* en la medicina popular, en fitoterapia se prepara una infusión de rizoma contra las afecciones hepáticas y vesiculares, los rizomas molidos son usados como cataplasma en contusiones en la espalda, también es empleada para el tratamiento de amenorrea, constipación crónica, diabetes, desórdenes hepáticos, hipotensión arterial y cardiotónico, hemorragia uterina y venas varicosas, entre otros⁽¹⁰⁻¹²⁾.

Los estudios llevados a cabo a nivel mundial para verificar la eficacia del uso de plantas medicinales y los hallazgos productos de estos estudios, han conducido a la producción de medicamentos a base de plantas, bien con fines terapéuticos o de prevención de enfermedades⁽¹³⁾. Sin embargo, aunque las plantas medicinales tienen una larga historia de uso en el tratamiento de enfermedades, su aceptación y aplicación en la medicina moderna necesita tiempo y experimentación para la validación de sus propiedades intrínsecas⁽¹⁴⁾. En virtud de esta importante área de estudio se plantea, analizar el extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa*, en un modelo experimental murino de daño hepático inducido por tetracloruro de carbono (CCl₄), para determinar el efecto protector.

Materiales y métodos

Animales de experimentación

Se emplearon ratas albinas cepa Holtzman, machos (200-250 g) del Instituto Nacional de Salud – INS de Perú, los animales fueron acondicionados y aclimatados, en el bioterio del Instituto de Medicina Tradicional (IMET) de EsSalud, Iquitos-Perú, a una temperatura controlada (22 ± 2 °C) con una humedad relativa (55 ± 10%) y fotoperiodo 12 h luz y 12 h oscuridad, con agua y alimento *ad libitum*.

Certificación de la especie vegetal

El material vegetal (rizomas) de *C. longa* fue cosechado de las parcelas instaladas el caserío Ángel Cárdenas - primera zona, en la ciudad de Iquitos, carretera Iquitos - Nauta km 35,5; distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas del departamento de Loreto. La identificación y certificación de la especie botánica fue realizada por el Herbarium Amazonense-AMAZ - Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Universidad Nacional de Amazonia Peruana, UNAP con número de *voucher* de espécimen 42787.

Preparación del extracto vegetal

Los rizomas fueron lavados en agua corriente para eliminar restos de tierra, y desinfectados en solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 0,3%. Se cortaron los rizomas en rodajas y se secaron en horno a 40 - 50 °C por 6 días. Los rizomas cortados secos, fueron molidos hasta obtener un polvo fino. La materia prima para elaborar el extracto cumplió los criterios de trazabilidad. Cuatro gramos fueron disueltos en 1 L de agua hirviendo por 10 min, la solución obtenida se filtró (papel filtro Whatman 125 mm Ø) y se concentró en un rotava a 40 rpm a una temperatura de 50 °C. Posteriormente, se colocó aproximadamente 200 mL del extracto concentrado en bandejas de liofilización y se congelaron a -10 °C por 24 h. Finalmente, pasado ese tiempo, las bandejas se colocaron en el liofilizador (SCIENTZ-50N, Labotec) bajo las siguientes condiciones: Temperatura -40 °C, presión de 13 pascales por 48 h. El extracto liofilizado fue guardado a 4 °C en frasco de vidrio protegido de la luz hasta su uso. Este procedimiento se realizó en el Laboratorio de Farmacognosia del Instituto de Medicina Tradicional-IMET- EsSalud.

Caracterización y estandarización del extracto de *C. longa*

El extracto de *C. longa* fue sometido a un tamizaje cualitativo para la detección de los principales grupos fitoquímicos empleando métodos establecidos⁽¹⁵⁾, los cuales se realizaron en el Laboratorio de Farmacognosia del IMET-EsSalud. El extracto acuoso liofilizado de *C. longa* para el presente estudio fue estandarizado en base a la curcumina, la cual fue determinada usando el método espectrofotométrico, cuyo principio consiste en extraer los pigmentos de la cúrcuma con etanol caliente, finalmente, se realiza la detección a una longitud de onda de 425 nm⁽¹⁶⁾, este método se realizó en los laboratorios de Calidad Total - UNALM.

Actividad antioxidante *in vitro*

La actividad antioxidante del extracto de *C. longa* fue determinada usando el método de 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Este método es conveniente y preciso para valorar el grupo oxidable de compuestos antioxidantes naturales y sintéticos.

La actividad antioxidante se determinó mediante la capacidad inhibitoria de los radicales libres del DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)(17). El extracto acuoso liofilizado de *C. Longa*, L., fue sometido a diluciones metanólicas a diferentes concentraciones (0,005, 0,5, 2,5, 5, 10, 15, 20 y 25 mg/mL), las cuales se mezclaron con una solución metanólica de DPPH al 0,1 mM; la mezcla se dejó en reposo y en ausencia de luz durante 30 min. Luego, se leyó

la absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro de UV-visible Génesis®, cada absorbancia fue leída a intervalos de 30 s durante 5 min. Las diferentes dosis del extracto se analizaron por triplicado. Se utilizó la solución metanólica de DPPH al 0,1 mM como control, sin adicionar el extracto. Los resultados fueron convertidos a porcentaje de inhibición de radicales libres del DPPH. La capacidad de inhibición de radicales libres del DPPH fue calculada usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{I de C} = (1 - (\text{Abs m} - \text{Abs ctrl neg}) / (\text{Abs ctrl pos} - \text{Abs ctrl neg})) * 100$$

Donde:

- % I del C = Porcentaje de inhibición del compuesto
- Abs m = Absorbancia de la muestra (extracto de *C. longa*)
- Abs ctrl neg = Absorbancia del control negativo (blanco)
- Abs ctrl pos = Absorbancia del control positivo (DPPH)

La IC50 (concentración del extracto que inhibe el 50% de los radicales libres) fue determinada usando el análisis Probit.

Actividad hepatoprotectora *in vivo*

Un total de 25 ratas fueron divididas en cinco grupos cada uno: Grupo I (control normal) recibió solo el vehículo *p.o.*; Grupo II (control CCl₄) recibió el vehículo diariamente *p.o.* por 7 días y CCl₄ (1 mL/kg de peso *i.p.* al 50% v/v con aceite de oliva) en el 6.º y 7.º día; Grupo III (control positivo) recibió silimarina (100 mg/kg de peso *dp.o.*) y CCl₄ (1 mL/kg de peso *i.p.* al 50% v/v con aceite de oliva) en el 6.º y 7.º día; y los grupos de estudio IV y V, a los cuales se les administró el extracto de *C. longa* (100 y 200 mg/kg de peso *d.p.o.*) respectivamente, y CCl₄ (1 mL/kg de peso *i.p.* al 50% v/v con aceite de oliva) en el 6.º y 7.º día.

Al 8.º día todos los animales fueron anestesiados y se les practicó eutanasia por dislocación cervical⁽¹⁸⁾. Antes del sacrificio se colectaron muestras de sangre por punción cardiaca. La sangre colectada fue centrifugada a 3500 rpm por 15 min, para recuperar el suero y realizar los análisis bioquímicos. El hígado fue recuperado y conservado en formalina (10%) para su estudio histopatológico⁽¹⁹⁾. Se intentó, en lo posible, minimizar el dolor y sufrimiento de los animales de experimentación y todos los procedimientos realizados se realizaron de acuerdo con los lineamientos establecidos para el cuidado y uso de animales de laboratorio publicada por el Instituto Nacional de Salud del Perú⁽²⁰⁾ y a la declaración de la AMM sobre el uso de animales en la investigación biomédica⁽²¹⁾.

Análisis bioquímico e histológico

Los marcadores bioquímicos medidos fueron fosfatasa alcalina (ALP), aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT). Los valores se midieron con la ayuda de un espectrofotómetro JENWAY6400 ® a la longitud de onda de 500 nm. Se evaluaron las dimensiones y características morfológicas de los hígados, los cuales luego fueron deshidratados y embebidos en parafina. Se realizaron secciones de 3 mm de espesor que fueron coloreadas con hematoxilina-eosina (HE), lo cual permitió estudiar las características de la organización celular y sus constituyentes ⁽²²⁾.

Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó con la ayuda del programa estadístico STATA v. 12.0; los valores obtenidos fueron expresados como media $\pm$ error estándar. Para evaluar la relación entre el porcentaje de inhibición y la concentración del extracto de *C. longa* en comparación con el ácido ascórbico se utilizó el análisis de regresión lineal simple y las comparaciones de los valores de marcadores bioquímicos resultantes entre los grupos experimentales fueron realizadas por ANOVA de una vía, seguido de la

prueba *post-hoc* de Scheffé. Las medias se consideraron significativamente diferentes cuando se obtuvo un $p < 0,05$.

Resultados

Los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto de *C. longa* fueron quinonas, cumarinas, compuestos fenólicos y flavonoides. Cabe destacar que la cantidad de curcumina determinada en los extractos acuosos liofilizados de *C. longa* fue de 0,4 a 0,6 % (Tabla 01).

Se observó que el poder reductor de los radicales libres se incrementa a medida que aumenta la concentración del extracto (IC50: 11,03 mg/mL); sin embargo, su capacidad reductora fue más baja que del ácido ascórbico (IC50: 0,67 mg/mL) (Tabla 02).

Corroborando lo antes descrito, se encontró que, en el caso del extracto de *C. longa*, se encontró una relación directamente proporcional entre la concentración y el porcentaje de inhibición; a diferencia del ácido ascórbico que mantiene el efecto inhibitorio desde la concentración de 2,5 mg/mL (Gráfico 1).

La administración de CCl_4 resultó en una elevación significativa ($P < 0,05$) de los marcadores hepáticos específicos AST, ALT y ALP en el grupo II, en comparación con

Tabla 1. Tamizaje fitoquímico de las diferentes extracciones de *Curcuma longa*

Nombre	Observación		
	EtEx	DCMEx	H ₂ OEx
Alcaloides	-	-	-
Triterpenos	+++	Nd	Nd
Quinonas	+++	+++	Nd
Cumarinas	+++	+++	Nd
Carotenos	Nd	Nd	Nd
Aceites	+++	Nd	Nd
Azúcares reductoras	Nd	+	+
Compuestos fenólicos	Nd	+++	++
Flavonoides	Nd	+++	++
Glicósidos cardiotónicos	Nd	+++	Nd
Saponinas	Nd	-	-
Aminoácidos - Aminas	Nd	++	Nd
Glicósidos	Nd	Nd	++

(+), (++) y (+++) indican presencia e intensidad; (-) indica ausencia; (Nd) no determinado; (Ex) extracto; (Et) etanol; (DCM) diclorometano y (H₂O) agua.

Tabla 2. Efecto del extracto de *C. longa* sobre la inhibición del DPPH y valores de IC_{50}

Nombre	Concentración (mg/mL)	% Inhibición	IC_{50} (mg/ml)
<i>Curcuma longa</i>	0,005	3,35	11,03
	0,5	5,57	
	2,5	14,33	
	5,0	26,93	
	10,0	44,65	
	15,0	61,93	
	20,0	70,54	
	25,0	75,00	
Ácido ascórbico	0,005	25,29	0,67
	0,5	27,19	
	2,5	96,42	
	5,0	96,26	
	10,0	96,47	
	15,0	96,67	
	20,0	95,91	
	25,0	96,41	

Los resultados fueron realizados por triplicado y expresados en mg/mL.

el control normal (grupo I). En contraste, la administración de las sustancias de prueba (grupo IV y V) y del control positivo-Silimarina (grupo III), mostró una disminución del nivel de estas enzimas, especialmente en el grupo III y extracto de *C. longa* 200 mg/kg (Tabla 3).

Las observaciones histopatológicas muestran que la arquitectura normal del hígado está alterada en ratas tratadas con CCl_4 , con parénquima hepático con retracción celular e

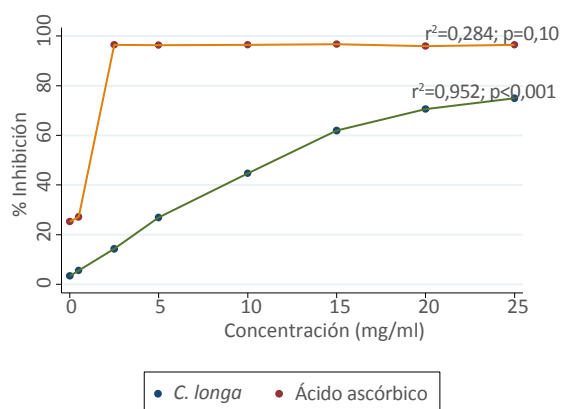


Gráfico 1. Porcentaje de inhibición del extracto de *C. longa* y ácido ascórbico de acuerdo a la concentración.

incremento del flujo sanguíneo del parénquima (Gráfico 2). En el grupo control normal se observa una estructura común del tejido, sin evidencias de daño, con una conformación lobulillar normal: triada portal, constituida por vena porta, conducto biliar y arteria hepática, cordones de hepatocitos separados, con núcleos regulares y citoplasmas granulados homogéneos. En el caso del extracto de *C. longa* 100 mg/kg de peso, se observó un parénquima hepático con presencia de suero en la vénula e incremento del flujo parenquimal. La estructura tisular del hígado en ratas tratadas con el extracto *C. longa* de 200 mg/kg de peso muestra una conformación lobulillar normal: triada hepática con una vénula, arteriola y conducto biliar normal, con un parénquima hepático sin alteración con leve incremento del flujo parenquimal, a diferencia con lo observado en control positivo en donde se muestra un parénquima hepático con una conformación lobulillar (vena porta, conducto biliar y arteria hepática) que presenta una leve infiltración inflamatoria (linfocitos), con cordones hepáticos normales y una leve presencia de eritrocitos en el parénquima.

Tabla 3. Efecto de los extractos de *C. longa* sobre marcadores bioquímicos en un modelo de daño hepático en ratas inducido con CCl_4

Parámetros	Control normal	Control CCl_4	Control positivo	Extracto de <i>C. longa</i> (mg/kg de peso)	
			Silimarina	100	200
AST (UI/L)	108,65±1,88*	1277,00±209,83	265,33±40,27*	439,65±12,28*	331,50±19,18*
ALT (UI/L)	36,33±4,64*	429,00±67,77	102,17±21,38*	66,00±16,39*	65,32±16,74*
ALP (UI/L)	205,33±2,87*	291,7±11,9	125,00±3,74*	173,68±10,5*	152,65±31,20*

Datos expresados como promedio ± DesvEst (n=5). * $P<0,05$ comparado con el grupo control CCl_4

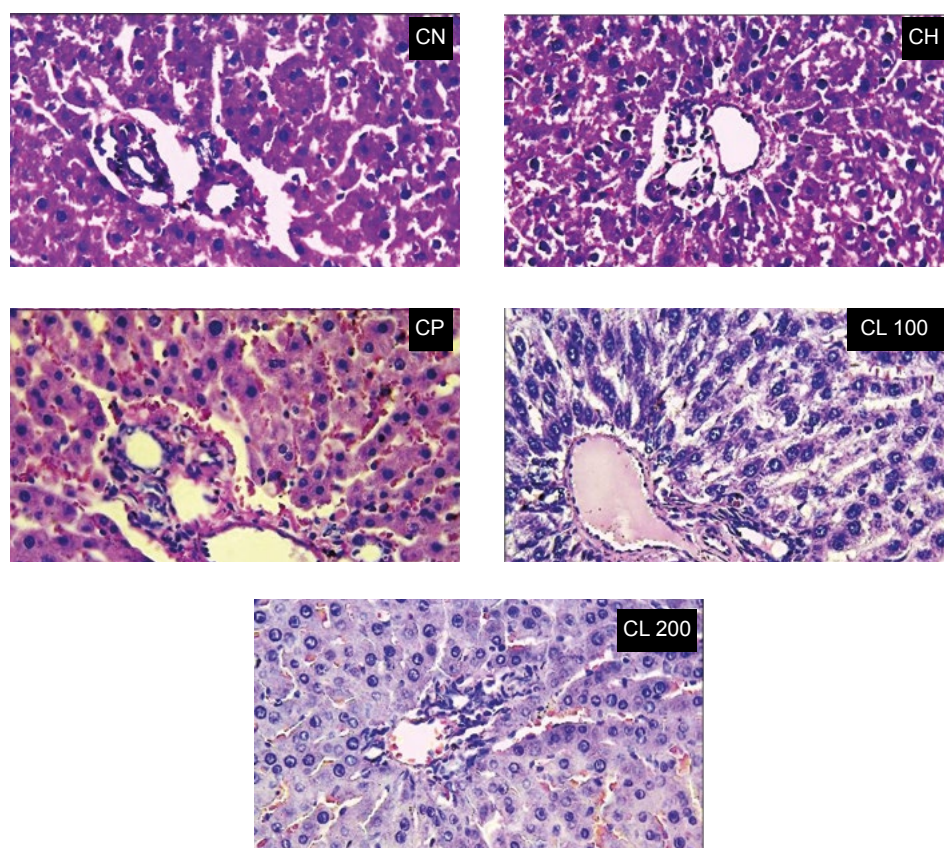


Gráfico 2. Examen histopatológico del tejido hepático al final del periodo experimental. CN, control normal; CH, control CCl_4 ; CP, control positivo (silimarina); CL100, extracto de *C. longa* 100 mg; CL200, extracto de *C. longa* 200 mg (Magnificación: 40x, Coloración: Hematoxilina Eosina -H&E-).

Discusión

En el presente estudio se demostró que la administración del extracto acuoso liofilizado de *C. longa* con su principio activo “curcumina”, inhibe significativamente el daño hepático agudo en un modelo inducido con CCl_4 en ratas albinas. El CCl_4 produce estrés oxidativo a nivel hepático, principalmente por la formación del radical triclorometilo – CCl_3 ⁽²³⁾, que se une a otras macromoléculas, las cuales son capaces de inducir peroxidación lipídica y causar daño celular⁽²⁴⁾, esto se evidenció en el incremento en los niveles de los marcadores bioquímicos hepatoespecíficos de las enzimas: ALT, AST y ALP. Estas enzimas citosólicas en altas concentraciones sirven como marcadores de hepatotoxicidad⁽²²⁾.

En el caso de los grupos experimentales de *C. longa* 100 mg y 200 mg/kg/día, se observó una disminución significativa

de la actividad enzimática de AST, ALT y ALP. Similares resultados fueron encontrados en estudios previos donde *C. longa* disminuye el aumento de las enzimas de AST, ALT y APL en hepatotoxicidad inducida con CCl_4 ^(25–29). Además, los resultados obtenidos en la determinación del efecto antioxidante *in vitro* del extracto de *C. longa*, explicarían, en parte, la efectividad hepatoprotectora del extracto contra el estrés hepático agudo causado por el CCl_4 , puesto que, el poder reductor de un compuesto sirve como potencial indicador de su capacidad antioxidante⁽³⁰⁾. La cuantificación antioxidante del extracto total fue realizada calculando el valor de IC_{50} , donde se observó el poder reductor del extracto, el cual fue similar al encontrado en estudios previos^(31,32) usando extractos etanólicos y acuosos de *C. longa*.

Dado que el hígado es el principal órgano involucrado en el metabolismo de nutrientes, fármacos y otros xenobióticos potencialmente tóxicos, que deben atravesarlo

previamente; el número de sustancias ajenas al organismo con actividad biológica capaces de inducir enfermedad hepática es muy amplio, en la actualidad son más de 1100 fármacos reportados⁽¹⁾. En medicina, una reacción adversa medicamentosa hepática se considera cuando se evidencia al menos una de las siguientes alteraciones en los marcadores bioquímicos hepatoespecíficos: 1) aumento de ALT superior a 2X el límite del valor normal; 2) aumento de la bilirrubina directa sérica más de 2X del límite del valor normal y 3) aumento de la AST, ALP y la bilirrubina total, siempre y cuando uno de ellos supere más de 2X el límite del valor normal⁽¹⁾. En esta investigación se logró que la AST y ALT alcancen valores dos veces superior al límite normal, sin embargo, la ALP no superó dicho límite, empero, mostró un aumento importante. Se considera que el aumento de la ALT es un indicador de una lesión hepática de tipo hepatocelular, mientras que el aumento de la ALP indica una lesión de tipo colestasis, en nuestro estudio se pudo evidenciar ambas, por lo que nuestro modelo mostró una contundente lesión hepática aguda de tipo mixta (hepatocelular y colestasis)⁽¹⁾, la cual fue controlada, en gran medida, por el extracto de *C. longa*.

El estudio histopatológico, el grupo control CCl₄ mostró un incremento del flujo sanguíneo y en la continuidad de la membrana limitante en comparación con el grupo control normal. Este efecto es producido por el metabolismo del

CCl₄ que causa la peroxidación lipídica y la producción de los radicales libres⁽³³⁾, conduciendo a la disfunción de los mismos, la liberación de ROS, y mediadores fibrogénicos e inflamatorios. Tras la lesión en el hígado, las células hepáticas producen colágeno fibrilar dentro del tejido dañado⁽³⁴⁾, induciendo la inflamación, promoviendo la progresión de la fibrogénesis hepática y causando la necrosis de los hepatocitos⁽³⁵⁾. El extracto acuoso liofilizado de *C. longa* 200 mg, mejoró los cambios patológicos producidos por CCl₄, mostrando un parénquima hepático normal hacia la normalización de las funciones celulares y restauración de los niveles séricos de AST, ALT y ALP. en comparación con el grupo control CCl₄.

El presente estudio refleja que el extracto de *C. longa* tiene efecto hepatoprotector, disminuyendo los niveles de AST, ALT y ALP y restaurando la arquitectura normal del tejido hepático lo que puede ser un promisorio medicamento herbario para el tratamiento de enfermedades hepáticas, cuya fisiopatología tienen como base la hepatotoxicidad.

Agradecimientos

A la MV Nofre Sánchez Perea del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura - IVITA, por su importante colaboración y asesoría en el manejo de animales de experimentación en este estudio.

Referencias bibliográficas

1. Tejada Cifuentes F. Hepatotoxicidad por fármacos. Vol. 3, Rev Clin Med Fam. 2010.
2. Asqui Lalón MDJ. Tesis de grado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2012.
3. Ji H-F, Li X-J, Zhang H-Y. Natural products and drug discovery. Can thousands of years of ancient medical knowledge lead us to new and powerful drug combinations in the fight against cancer and dementia? EMBO Rep. 2009;10(3):194–200.
4. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 1999;12(4):564–82.
5. Pan SY, Litscher G, Gao SH, Zhou SF, Yu ZL, Chen HQ, et al. Historical perspective of traditional indigenous medical practices: The current renaissance and conservation of herbal resources. Vol. 2014, Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. 2014.
6. Rezaei A, Farzadfard A, Amirahmadi A, Alemi M, Khademi M. Diabetes mellitus and its management with medicinal plants: A perspective based on Iranian research. Vol. 175, Journal of Ethnopharmacology. 2015. p. 567–616.
7. Mesa C M et al. Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los cucuminoides Pharmacological and nutritional effects of *Curcuma longa* L. extracts and curcuminoids. Ars Pharm. 2000;413:307–21.
8. Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la amazonía colombiana. Agencia española de Cooperación Internacional. 2000. 286 p.
9. Alvis A, Arrazola G, Martinez W. Evaluación de la actividad y el potencial antioxidante de extractos hidroalcohólicos de *Cúrcuma (Cúrcuma longa)*. Inf Tecnol. 2012;23(2):11–8.
10. Al-Henhena N, Khalifa SAM, Poh R, Ying Y, Hassandarvish P, Rouhollahi E, et al. Chemopreventive effects of *Strobilanthes crispus* leaf extract on azoxymethane-

- induced aberrant crypt foci in rat colon. Nat Publ Group. 2015;
11. Rahmani S, Asgary S, Askari G, Keshvari M, Hatamipour M, Feizi A, et al. Treatment of Non-alcoholic Fatty Liver Disease with Curcumin: A Randomized Placebo-controlled Trial. *Phytother Res*. 2016;(June):1540–8.
 12. Bosland MC, Prinsen MK. Induction of Dorsolateral Prostate Adenocarcinomas and Other Accessory Sex Gland Lesions in Male Wistar Rats by a Single Administration of N -Methyl- N -nitrosourea , 7 , 12-Dimethylbenz (a Sequential Treatment with Cyproterone Acetate and Testosterone P. *Cancer Res*. 1990;50:691–9.
 13. Sofowora A, Ogunbodede E, Onayade A. The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. Vol. 10, *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM / African Networks on Ethnomedicines*. 2013. p. 210–29.
 14. Kooti W, Hasanazadeh-Noohi Z, Sharafi-Ahvazi N, Asadi-Samani M, Ashtary-Larky D. Phytochemistry, pharmacology, and therapeutic uses of black seed (*Nigella sativa*). *Chin J Nat Med*. 2016;14(10):732–45.
 15. Corral Salvado A, De La Paz Naranjo J, Concepción Evseeva E, Hernández Royero R, López Rodríguez DL. Tamizaje, tecnología, control de calidad y farmacología del extracto fluido de *Bougainvillea spectabilis* Willd. *Rev Cuba Plantas Med*. 1997;2(2):19–25.
 16. INACAL. Norma Técnica Peruana, Especies y condimentos: Cúrcuma (palillo). 2015 p. R.N°006—2015-INACAL/DN, 2015:7. Lima.
 17. Lebeau J, Furman C, Bernier JL, Duriez P, Teissier E, Cotelle N. Antioxidant properties of di-tert-butylhydroxylated flavonoids. *Free Radic Biol Med*. 2000;29(9):900–12.
 18. Canadian Council on Animal Care. CCAC guidelines on: euthanasia of animals used in science. Ottawa: Canadian Council on Animal Care; 2010. 36 p.
 19. Arka G, Anindita K, Ankit S, Kumar SA, Kumar MS. Preliminary evaluation of hepatoprotective potential of the polyherbal formulation. *J Intercult Ethnopharmacol*. 4(2):118–24.
 20. Fuentes Paredes FdM, Mendoza Yanavilca RA, Rosales Fernández AL, Cisneros Tarmeño RA. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. Lima: Instituto Nacional de Salud; 2008. 52 p.
 21. The World Medical Association. Declaración de la AMM sobre el Uso de Animales en la Investigación Biomédica [Internet]. 2016 [citado 2 de marzo de 2017]. Disponible en: <https://www.wma.net/es/policies-post/declaracion-de-la-amm-sobre-el-uso-de-animales-en-la-investigacion-biomedica/>
 22. ALAnazi AS, Anwar MJ, Ahmad MA. Hepatoprotective and antioxidant activity of *Tragia involucrata* root extracts against CCl₄ induced hepatotoxicity in rats. *Pharm Lett*. 2015;7(5):146–52.
 23. Srivastava SP, Chen N, Holtzman JL. The in vitro NADPH-dependent inhibition by CCl₄ of the ATP-dependent calcium uptake of hepatic microsomes from male rats: Studies on the mechanism of the inactivation of the hepatic microsomal calcium pump by the CCL₃. radical. *J Biol Chem*. 1990;265(15):8392–9.
 24. Mujeeb M, Aeri V, Bagri P, Khan S. Hepatoprotective activity of the methanolic extract of *Tylophora indica* (Burm. f.) Merrill. leaves. *Int J Green Pharm*. 2009;3(2):125–7.
 25. Baxla SL, Gora RH, Kerketta P, Kumar N, Roy BK, Patra PH. Hepatoprotective effect of *Curcuma longa* against lead induced toxicity in Wistar rats. *Vet World*. 2013;6(9):664–7.
 26. Yaashini A. Hepatoprotective Activity of Aqueous Extract of. 2012;3(3):226–33.
 27. Lee HS, Li L, Kim HK, Bilehal D, Li W, Lee DS, et al. The protective effects of *Curcuma longa* Linn. extract on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats via upregulation of Nrf2. *J Microbiol Biotechnol*. 2010;20(9):1331–8.
 28. Lee H-Y, Kim S-W, Lee G-H, Choi M-K, Jung H-W, Kim Y-J, et al. Turmeric extract and its active compound, curcumin, protect against chronic CCl₄-induced liver damage by enhancing antioxidation. *BMC Complement Altern Med*. 2016;16(1):316.
 29. Lee G-H, Lee H-Y, Choi M-K, Chung H-W, Kim S-W, Chae H-J. Protective effect of *Curcuma longa* L. extract on CCl₄-induced acute hepatic stress. *BMC Res Notes*. 2017;10(1):77.
 30. Meir S, Kanner J, Akiri B, Philosoph-Hadas S. Determination and Involvement of Aqueous Reducing Compounds in Oxidative Defense Systems of Various Senescing Leaves. *J Agric Food Chem*. 1995;43(7):1813–9.
 31. Margină D, Olaru OT, Ilie M, Grădinaru D, Guțu C, Voicu S, k Assessment of the potential health benefits of certain total extracts from *Vitis vinifera*, *Aesculus hypocastanum* and *Curcuma longa*. *Exp Ther Med*. noviembre de 2015;10(5):1681–8.
 32. Singh G, Kapoor IPS, Singh P, de Heluani CS, de Lampasona MP, Catalan CAN. Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fresh and dry rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* Linn.). *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc*. abril de 2010;48(4):1026–31.
 33. Mehendale HM. Tissue Repair: AN Important Determinant of Final Outcome of Toxicant-Induced Injury. *Toxicol Pathol*. 2005;33(1):41–51.
 34. Gaedeke J, Noble NA, Border WA. Curcumin blocks multiple sites of the TGF- β signaling cascade in renal cells. *Kidney Int*. 2004;66(1):112–20.
 35. Fu Y, Zheng S, Lin J, Ryerse J, Chen A. Curcumin Protects the Rat Liver from CCl₄-Caused Injury and Fibrogenesis by Attenuating Oxidative Stress and Suppressing Inflammation. *Mol Pharmacol*. 2007.