



Efecto antifibrótico de *Lepidium peruvianum* en un modelo de fibrosis pulmonar inducida con nanosílice en ratas

Romario Junior Ruiz Toledo^{1a, 2;} Melissa Carol Moleros Ingunza^{1a, 2;} Yelicsa Altamirano Lazo^{1a, 3;} Miguel Ángel Pinto Salina^{1a, 2}

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 01/04/2018

Aprobado: 25/05/2018

Autor correspondiente

Romario Junior Ruiz Toledo
Jr. Locumba 400 Mz H, Lote 2 - El
Agustino, Lima-Perú.
990725802
junior.rt.25@gmail.com

Financiamiento

Autofinanciado

Conflictos de interés

Ninguno

Citar como

Ruiz Toledo RJ; Moleros Ingunza MC; Altamirano Lazo Y; Pinto Salina MA Efecto antifibrótico de *Lepidium peruvianum* en un modelo de fibrosis pulmonar inducida con nanosílice en ratas. Rev Peru Med Integrativa.2018;3(2):63-70.

Resumen

Objetivo. Demostrar el efecto antifibrótico de *Lepidium peruvianum* (maca), ecotipo morado, en la fibrosis pulmonar inducida con nanopartículas de sílice en ratas. **Materiales y métodos.** Estudio experimental, descriptivo, analítico, transversal, realizado en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. Se utilizaron ratas de la cepa Sprague Dawley, estos animales fueron divididos aleatoriamente en cinco grupos: Blanco (B), Control (C), Prednisona (P), Dosis 1 (D₁) y Dosis 2 (D₂). En los últimos cuatro grupos, se indujo la fibrosis pulmonar (20 mg de nanosílice/rata). Luego de 7 días se inició el tratamiento, durante 4 semanas se administró el extracto metanólico de *Lepidium peruvianum* ecotipo morado (D₁: 150 mg/kg/d y D₂: 1500 mg/kg/d) y prednisona (P: 6,5 mg/kg/d). El análisis estadístico fue realizado usando la prueba ANOVA seguida de la prueba de comparación múltiple Tukey-Kramer. Los estudios realizados incluyeron el análisis del lavado broncoalveolar (recuento celular y actividad de LDH) y del tejido pulmonar (concentración de malondialdehído y evaluación histopatológica). **Resultados.** El grado de fibrosis en el grupo D₂ fue significativamente menor (P<0,01) al grupo C y P. La concentración de malondialdehído fue significativamente mayor (P<0,01) en el grupo C en comparación a los otros grupos. Además, la concentración en el grupo D₂ fue significativamente menor (P<0,01) que en el grupo P. La actividad de LDH fue significativamente menor (P<0,01) en D₂ en comparación a C y D₁. No hubo diferencias significativas del número de células del lavado broncoalveolar entre el grupo D₂ y B. **Conclusiones.** *Lepidium peruvianum* posee un efecto antifibrótico en la fibrosis pulmonar inducida con nanopartículas de sílice en ratas.

Palabras clave: Fibrosis pulmonar; nanosílice; *Lepidium*.

Antifibrotic effect of *Lepidium peruvianum* on a model of nanosilica-induced lung fibrosis in rats

Abstract

Objective. To demonstrate the antifibrotic effect of *Lepidium peruvianum* (maca), purple ecotype, on lung fibrosis induced with silica nanoparticles in rats. **Materials and methods.** Experimental, descriptive, analytical, cross-sectional study. Done in the Faculty of Medicine, San Marcos University, Lima, Peru. Rats of the Sprague Dawley strain were used, these animals were randomly divided into 5 groups: Blank (B), Control (C), Prednisone (P), Dose 1 (D₁), and Dose 2 (D₂). The pulmonary fibrosis was induced (nanosilica 20 mg/rat) in the last four groups. After 7 days the treatment was started, for 4 weeks the methanol extract of *Lepidium peruvianum* purple ecotype (D₁: 150 mg/kg/d and D₂: 1500 mg/kg/d) was administered and Prednisone (P: 6.5 mg/kg/d). The degree of inflammation and fibrosis was quantified by analysis of bronchoalveolar lavage (cell count and LDH activity) and lung tissue (malondialdehyde concentration and histopathologic evaluation). Statistical analysis was performed using the ANOVA test followed by the Tukey-Kramer multiple comparison test. The main outcome measures were the analysis of bronchoalveolar lavage (cell count and LDH activity) and lung tissue (malondialdehyde concentration and histopathological evaluation). **Results.** The degree of fibrosis in the D₂ group was significantly lower (P <0.01) than group C and P. The malondialdehyde concentration was significantly higher (P <0.01) in group C compared to the others. In addition, the concentration in the D₂ group was significantly lower (P <0.01) than group P. LDH activity was significantly lower (P <0.01) in D₂ compared to C and D₁. There were no significant differences in cell number of BAL between D₂ and B. **Conclusions.** *Lepidium peruvianum* has an antifibrotic effect in pulmonary fibrosis induced by silica nanoparticles in rats.

Keywords: Pulmonary fibrosis; nanosilica; *Lepidium*.

1. Facultad de Medicina San Fernando, Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Lima, Perú.
2. Sociedad Científica de San Fernando (SCSF). Lima, Perú.
3. Asociación para el Desarrollo de la Investigación Estudiantil en Ciencias de la Salud-ADIECS. Lima, Perú.
- a. Estudiante de pregrado de Medicina Humana.
2. Sociedad Científica de San Fernando (SCSF). Lima, Perú
3. Asociación para el Desarrollo de la Investigación Estudiantil en Ciencias de la Salud-ADIECS. Lima, Perú.

Introducción

La fibrosis pulmonar es un proceso crónico, progresivo e irreversible caracterizado por la acumulación excesiva de matriz extracelular en el intersticio pulmonar, que evoluciona hacia la insuficiencia respiratoria, *cor pulmonale* y muerte, con una expectativa de vida aproximada de 3 a 5 años desde su diagnóstico ^[1,2]. Entre las causas de la fibrosis pulmonar se encuentran la exposición a material particulado, drogas, radiación, entre otras; sin embargo, la principal etiología es de causa desconocida ^[1,3,4]. A pesar de ello, se determinó que la exposición a material particulado, sobre todo a sílice, es de especial preocupación debido a que existen dos importantes tipos de fuentes: la contaminación ambiental y la exposición ocupacional ^[5-7].

Se ha evidenciado que las nanopartículas de sílice incrementan la tasa de neumoconiosis ^[5, 6]. Esto ocurre debido a dos propiedades: 1) *el menor tamaño de las partículas*, que les permite atravesar fácilmente la barrera mucociliar e incrementar el área de superficie expuesta para llegar a los alveolos y depositarse ahí eficientemente, y 2) *la mayor biopersistencia*. Ambas propiedades determinan una respuesta inflamatoria precoz, mayor formación de radicales libres y mayor grado de daño celular y tisular ^[8].

La exposición persistente a nanopartículas de sílice estimula la producción de mediadores que activan a los macrófagos para fagocitar las nanopartículas y condicionan la migración de otras células inflamatorias que liberan factores como citocinas profibróticas (IL-1, IL-4, TGF- β), mediadores lipídicos y radicales libres. Estos factores permiten la migración, proliferación y activación de fibroblastos que se transforman a miofibroblastos, los cuales sintetizan los componentes de la matriz extracelular que, ante la persistencia del estímulo nocivo y la inadecuada regulación de la reparación tisular, dan origen a la fibrosis ^[9-11].

Actualmente, el único tratamiento totalmente efectivo contra la fibrosis pulmonar es el trasplante de pulmón; adicionalmente, como apoyo, se pueden acudir a otras opciones farmacológicas ^[1]. Tradicionalmente, se utilizan los corticosteroides en combinación con otros fármacos como tratamiento paliativo debido a su efecto antiinflamatorio, sin embargo, su uso prolongado ha demostrado tener efectos secundarios perjudiciales ^[12-14] also called cryptogenic fibrosing alveolitis (CFA). Además, se ha confirmado que no existe beneficio con ninguna forma de tratamiento usando corticosteroides ^[15,16]. Debido a esto, es necesaria la búsqueda de nuevos enfoques terapéuticos efectivos. En este contexto, el interferón gamma (IFN- γ), una citocina pleiotrópica

producida por células T y NK, podría ser una opción, ya que posee efectos inmunomoduladores y antifibróticos ^[10].

El ecotipo morado de *Lepidium peruvianum*, denominado comúnmente como maca, es una planta nativa de los andes centrales del Perú que posee propiedades inmunomoduladoras, antioxidantes, entre otras ^[17-20]. Se ha evidenciado, como parte de sus propiedades inmunomoduladoras, una producción significativa del IFN- γ en cultivos de linfocito T humanos ^[21,22]. Además, tiene la capacidad de inducir en los macrófagos la producción de óxido nítrico cuando estos son activados por microorganismos o citocinas proinflamatorias ^[17,23]. Se ha demostrado que puede reducir las consecuencias del estrés oxidativo debido a sus componentes antioxidantes ^[19]. Estas propiedades únicas del ecotipo morado podrían mediar un efecto antifibrótico en la fibrosis pulmonar.

Ante la problemática actual que ocasiona la fibrosis pulmonar, la ausencia de tratamiento y la evidencia de posible efecto inmunomodulador y antioxidante de la maca, se propuso demostrar el efecto antifibrótico del extracto metanólico de las raíces de ecotipo morado de *Lepidium peruvianum* en ratas.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se adquirió 2 kg de raíces de *Lepidium peruvianum* (maca), ecotipo morado, (Carhuamayo, Junín-Perú), certificadas por el Museo de Historia Natural de la UNMSM (número de constancia 304-USM-2014).

Extracto metanólico de *Lepidium peruvianum*

Para la preparación del extracto metanólico (EM) se procedió, en primer lugar, al lavado y macerado de las raíces, las cuales fueron previamente secadas por el proveedor a temperatura ambiente por un periodo de 3 meses. Estas fueron lavadas y se dejaron secar por 12 h; para luego molerlas hasta obtener un producto pulverizado que fue depositado en un frasco ámbar, al que inmediatamente se le añadió alcohol metílico para cumplir la proporción de 2 L por 500 g de planta. Con el fin de eliminar los restos orgánicos presentes, se realizó un prefiltrado utilizando gasas de 40 cm x 60 cm; luego, el líquido obtenido fue sometido a filtrado con papel filtro rápido. La solución filtrada se llevó a estufa a 40 °C en placas de Pyrex para la desecación respectiva por 2 días y así obtener el extracto seco. Posteriormente, se tomó 2,5 g del extracto y se diluyó en 10 mL de agua destilada

para la dosis de 250 mg/kg y 5 g en 10 mL para la dosis de 500 mg/kg.

Animales de experimentación

Se utilizó 35 ratas Sprague Dawley macho (225 ± 25 g) de 8 semanas de edad, adquiridas y certificadas como exentas de patología alguna en el bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Se colocó una rata por jaula, a temperatura ambiente (22 ± 2 °C), humedad relativa ($65 \pm 10\%$), con ciclo de luz/oscuridad de 12 h. Se las alimentó con 25 g diarios de comida balanceada para ratas (Ratina) y agua *ad libitum* durante todo el proceso. Todos los procedimientos que abarcaron a los animales fueron conducidos de acuerdo con el protocolo aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina UNMSM, Lima Perú.

Inducción de fibrosis pulmonar con nanosílice

El polvo de nanosílice (diámetro menor a 100 nm) fue obtenido y certificado por la Facultad de Química e Ingeniería Química de la UNMSM, Lima, Perú. Este polvo se suspendió en solución salina (20 mg en 0,1 mL) y se agitó con un vórtex antes de la administración. Se realizó la técnica de instilación intratraqueal. Las ratas fueron previamente anestesiadas con ketamina y xilacina en dosis de 70 y 10 mg/kg, respectivamente. La dosis de inducción fue de 20 mg por rata y duró siete días.

Aclimatación y aleatorización

La aclimatación se realizó durante 7 días de acuerdo a la *Guide for Care and Use of Laboratory Animals* [24] y al *Manual de Procedimientos para el uso de animales de laboratorio* del Instituto Nacional de Salud [25]. Los animales fueron divididos en cinco grupos de siete ratas por grupo: Grupo Blanco (B), recibió suero fisiológico mediante instilación intratraqueal y agua destilada mediante cánula orogástrica; Grupo Control (C), recibió solución de sílice mediante instilación intratraqueal; Grupo dosis 1 (D_1), recibió solución de sílice mediante instilación intratraqueal y dosis 1 (150 mg/kg/d) del extracto de *Lepidium peruvianum*; Grupo dosis 2 (D_2), recibió solución de sílice mediante instilación intratraqueal y dosis 2 (1500 mg/kg/d) del extracto de *Lepidium peruvianum*; y Grupo prednisona (P), recibió solución de sílice mediante instilación intratraqueal y la dosis de prednisona (Ciatex S.A.C., Lima, Perú) de 6,25 mg/kg/d.

La intervención experimental duró cuatro semanas, en donde se suministró las soluciones correspondientes de

acuerdo con el grupo de estudio (agua destilada, extracto metanólico o prednisona) vía cánula orogástrica.

Sacrificio de animales de experimentación

Todos los procedimientos para la eutanasia de los animales de experimentación fueron de acuerdo con la *AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition* [26]. Se utilizó como método de eutanasia la inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico al 18% (200 mg/kg) y luego de verificar la defunción del animal mediante palpación del pulso carotídeo se procedió a la necropsia y a la disección de los pulmones.

Lavado broncoalveolar (LBA)

Luego de extraer el órgano (pulmón) se colocó una jeringa adaptada en el segundo disco traqueal para la inyección de 0,8 mL de suero fisiológico, inmediatamente se inició un ciclo de aspirado y descargo hasta obtener aproximadamente el 50 % del líquido inyectado. La técnica fue realizada tres veces, recolectándose tres alícuotas de volúmenes similares. La primera muestra fue descartada, la segunda fue almacenada a 4 °C para el posterior análisis de lactato deshidrogenasa (LDH). La tercera muestra se utilizó para el recuento celular [27].

El recuento total y diferencial de células inflamatorias se realizó con la ayuda de una cámara de Neubauer en el Departamento de Laboratorio Clínico del Hospital Nacional Dos de Mayo. Las muestras de LBA fueron centrifugadas y resuspendidas en 100 UL de solución salina, centrifugadas en láminas portaobjetos y teñidas con tinción de Wright-Giemsa. Por otro lado, los niveles de LDH (Valtex S.A., Lima, Perú) fueron medidos en los laboratorios de bioquímica de la Facultad de Medicina, con un espectrofotómetro UV-Vis, Thermo Scientific, modelo Helios Zeta®.

Medición de niveles de malondialdehído (MDA)

Se obtuvieron 50 mg de tejido pulmonar, los cuales fueron homogeneizados en 50 mL de *buffer* fosfato, y luego centrifugados por 5 min a 2000 r.p.m. En un tubo de ensayo se agregó 0,3 mL de sobrenadante y 0,6 mL de ácido tricloracético al 20%; esta solución se puso a baño María por 10 min. Se agregó 0,9 mL de ácido tiobarbitúrico y se repitió el baño María por 20 min. Se dejó enfriar la muestra y se centrifugó nuevamente. Finalmente, se realizó la lectura en espectrofotómetro a 535 nm.

Evaluación histopatológica

Las muestras de tejido pulmonar fueron fijadas en una solución de formol neutro al 10% para la posterior evaluación

histológica. Las tinciones utilizadas fueron hematoxilina-eosina y tinción tricrómico de Masson. La preparación de láminas fue realizada en el Hospital Nacional 2 de Mayo y la lectura en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN). Las muestras fueron examinadas por un patólogo certificado con experiencia en el tema y fueron leídas en orden aleatorio. Las alteraciones estructurales de los tejidos se evaluaron basados en el grado de proliferación celular, engrosamiento de la pared alveolar, inflamación, lesión y la deposición de colágeno o fibrosis. Estos cambios se clasificaron en términos de gravedad utilizando la escala de Ashcroft^[28] con valores que oscilan de 0 (no fibrosis) a 8 (fibrosis masiva en todos los campos).

Análisis estadístico

Los resultados son presentados como media $\pm$ error estándar de media (S.E.M). El análisis estadístico fue realizado usando la prueba ANOVA seguida de la prueba de comparación múltiple Tukey-Kramer. Un valor $p < 0,05$ fue considerado como estadísticamente significativo.

Resultados

Lavado broncoalveolar (LBA)

El grupo tratado con la dosis de 150 mg/kg/d mostró un incremento significativo ($p=0,0011$) en el conteo total de células (neutrófilos, linfocitos y macrófagos) en comparación al resto de grupos. Por otro lado, la administración de la dosis de 1500 mg/kg/d indujo una disminución significativa ($P=0,0003$) en el recuento total de células en comparación al grupo control (Figura 1).

En el recuento diferencial se aprecia que el grupo que recibió *Lepidium peruvianum* 150 mg/kg/d tuvo un aumento significativo del número de linfocitos y una disminución del número de macrófagos y neutrófilos en comparación al grupo blanco ($p=0,0017$). Mientras que los animales de experimentación que recibieron *Lepidium peruvianum* 1500 mg/kg/d mostraron un aumento de neutrófilos y linfocitos en comparación al grupo blanco ($p < 0,0015$) (Tabla 1).

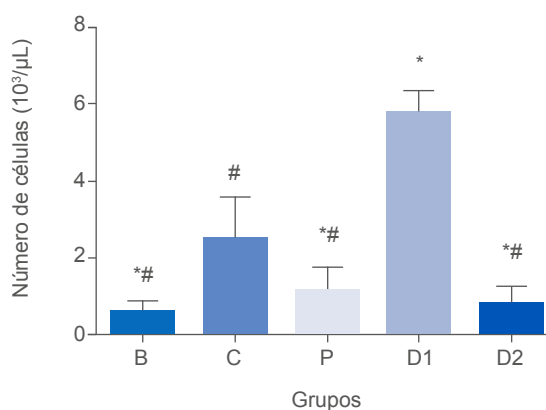


Figura 1. Recuento celular total en lavado broncoalveolar. Grupo B: Blanco; Grupo C: Control; Grupo P: Prednisona (control positivo); D1: Extracto de *Lepidium peruvianum* (150 mg/kg/d); D2: Extracto de *Lepidium peruvianum* (1500 mg/kg/d).

(*) $p < 0,01$ significativamente diferente comparado al grupo control (ANOVA seguido por la prueba de comparación múltiple Tukey-Kramer); (#) $p < 0,01$ significativamente diferente comparado al grupo D1 (ANOVA seguido por la prueba de comparación múltiple Tukey-Kramer).

Los valores representados son la media $\pm$ SEM de siete ratas por grupo. (*) $p < 0,01$ significativamente diferente comparado al grupo blanco. (#) $p < 0,01$ significativamente diferente comparado al grupo *Lepidium peruvianum* 150 mg/kg/d.

La actividad de LDH en el grupo control fue mayor ($p=0,0007$) en comparación a los grupos blanco, prednisona y *Lepidium peruvianum* 1500 mg/kg/d. No hubo diferencias significativas entre el grupo control y *Lepidium peruvianum* 150 mg/kg/d (Figura 2).

Niveles de malondialdehído (MDA)

En el grupo control la concentración de MDA aumentó de manera significativa ($p=0,0001$) en comparación al resto de grupos. El grupo tratado con *Lepidium peruvianum* 1500 mg/kg/d evidenció niveles de MDA significativamente menores ($p=0,0024$) que los del grupo tratado con prednisona (Figura 3).

Tabla 1. Recuento celular diferencial en lavado broncoalveolar (x103 células/μL)

Línea celular	Blanco (n=7)	Control (n=7)	Prednisona (n=7)	LP 150 mg/kg/día (n=7)	LP 1500 mg/kg/día (n=7)
Neutrófilos	17,46 $\pm$ 1,43 [#]	27,24 $\pm$ 1,3 ^{*#}	26,86 $\pm$ 0,57 ^{*#}	8,8 $\pm$ 1,22 [*]	25,76 $\pm$ 1,18 ^{*#}
Linfocitos	11,06 $\pm$ 0,72 [#]	16,66 $\pm$ 0,79 ^{*#}	21,5 $\pm$ 0,71 ^{*#}	83,94 $\pm$ 0,89 [*]	15,97 $\pm$ 1,35 ^{*#}
Macrófagos	57,47 $\pm$ 1,19 [#]	42,5 $\pm$ 1,42 ^{*#}	60,89 $\pm$ 1,09 [#]	16,73 $\pm$ 0,56 [*]	54,97 $\pm$ 0,63 [#]

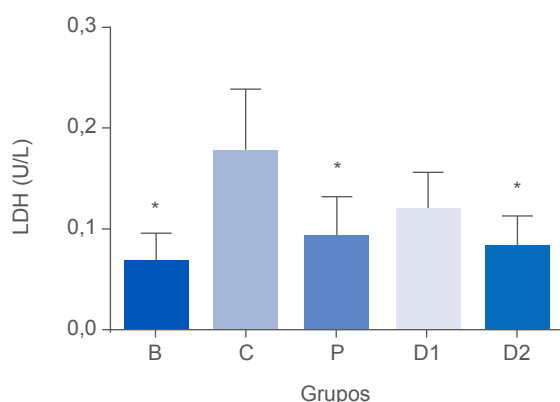


Figura 2. Actividad promedio de LDH (U/L). Grupo B: Blanco; Grupo C: Control; Grupo P: Prednisona (control positivo); D1: Extracto de *Lepidium peruvianum* (150 mg/kg/d); D2: Extracto de *Lepidium peruvianum* (1500 mg/kg/d).

(*) $p < 0,01$ significativamente diferente comparado al grupo control (ANOVA seguido por la prueba de comparación múltiple Tukey-Kramer).

Evaluación histopatológica

El tejido pulmonar del grupo Blanco no mostró alteraciones, mientras que en el grupo Control se observó un aumento de fibrosis definitiva (bandas fibrosas o pequeñas masas fibrosas) con daño de la arquitectura pulmonar. Por otro lado, en los grupos intervenidos con extracto metanólico de *Lepidium peruvianum* se encontró moderado engrosamiento de las paredes sin daños evidentes de la arquitectura del pulmón (Figura 4).

El grupo Control y los grupos tratados con prednisona, *Lepidium peruvianum* 150 mg/kg/d y *Lepidium peruvianum* 1500 mg/kg/d mostraron valores mayores en la escala de Ashcroft en comparación con el grupo blanco; sin embargo, en el caso de los grupos experimentales con *Lepidium peruvianum* se encontraron diferencias significativas en comparación al grupo control ($p=0,0001$) (Tabla 2).

Tabla 2. Puntajes de la escala de Ashcroft en los distintos grupos de estudio

Grupo	X $\pm$ SEM	Valor p
Blanco	0 $\pm$ 0	NA
Control	4,8 $\pm$ 0,4	NA
Prednisona	4,0 $\pm$ 0,3	0,144
<i>Lepidium peruvianum</i> 150 mg/kg/día	3,6 $\pm$ 0,2	0,009
<i>Lepidium peruvianum</i> 1500 mg/kg/día	3,1 $\pm$ 0,1	<0,001

Los valores representan la media (X) $\pm$ desviación estándar de la media (SEM) de 7 ratas/grupo. Los valores p son producto de las comparaciones con el grupo control.

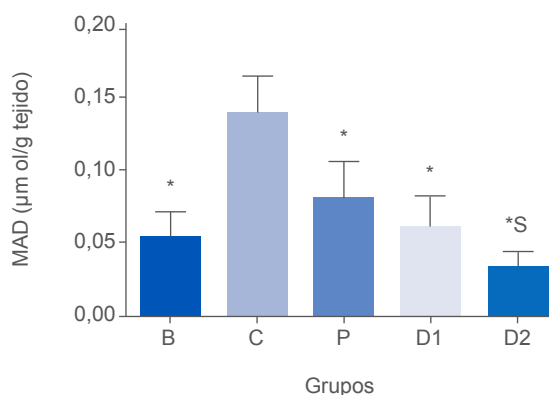


Figura 3. Niveles promedio de Malondialdehído (MAD). Grupo B: Blanco; Grupo C: Control; Grupo P: Prednisona (control positivo); D1: Extracto de *Lepidium peruvianum* (150 mg/kg/d); D2: Extracto de *Lepidium peruvianum* (1500 mg/kg/d).

(*) $p < 0,01$ significativamente diferente comparado al grupo control (ANOVA seguido por la prueba de comparación múltiple Tukey-Kramer). (S) $p < 0,01$ significativamente diferente comparado al grupo P (ANOVA seguido por el test de comparación múltiple Tukey-Kramer).

Discusión

Se observó que todos los grupos instilados con solución de sílice mostraron una elevación en el recuento total de células inflamatorias en el LBA, sin embargo, el grupo que recibió el extracto metanólico de *Lepidium peruvianum* a una dosis de 150 mg/kg/d evidenció un recuento mayor al resto, de hasta cinco veces más que los hallados en el grupo blanco. En contraposición, se encontró una disminución en el recuento total del grupo que recibió el extracto metanólico de *Lepidium peruvianum* a una dosis de 1500 mg/kg/d y el blanco, con diferencias significativas en los recuentos de neutrófilos y linfocitos. Es decir, esta dosis muestra una disminución de células sin alterar las proporciones de un infiltrado inflamatorio. Estos hallazgos son consistentes con estudios previos que evalúan el efecto de otras plantas medicinales en modelos de fibrosis pulmonar^[29] o en otras enfermedades que involucran hipersensibilidad, como el asma^[30].

De forma similar, ambos grupos tratados con maca mostraron una disminución en los niveles de LDH en comparación al grupo control. Este menor daño ocasionado, probablemente se deba a que en estos grupos la cantidad presente de antioxidantes es suficiente para reducir de manera semejante el daño celular, lo que es evidenciado por las diferencias en la concentración de malondialdehído.

Un estudio previo ha demostrado que especies de maca como *Lepidium mayenii* Walpers (maca) y *Lupinus mutabilis* Sweet (chocho), además de poseer una gran cantidad de

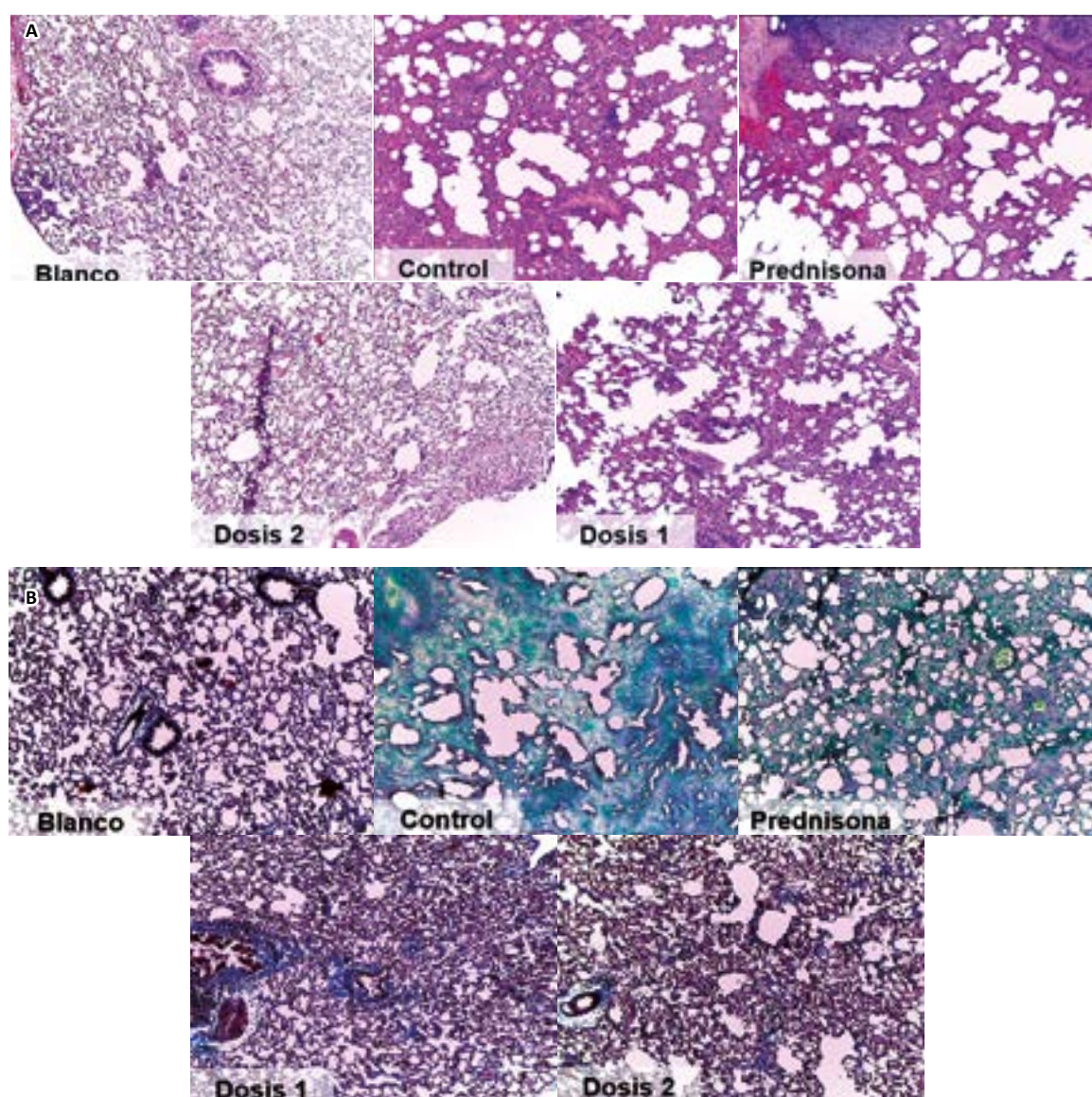


Figura 4. (A) Efecto de *Lepidium peruvianum* en el examen histopatológico de los cortes de pulmón de ratas con tinción hematoxilina eosina (100x). (B) Efecto de *Lepidium peruvianum* en la examinación histopatológica de los cortes de pulmón de ratas con tinción tricrómica de Masson (100x).

flavonoides, contienen aminoácidos como la cisteína y sus precursores (metionina y fenilalanina) los que, junto al selenio pueden ser la causa del efecto antioxidante que muestran sus extractos ^[31]. Por otro lado, Alzamora *et al.* encontraron que los extractos metanólicos de diferentes ecotipos de esta especie también mostraban actividad antioxidante inhibiendo la producción de óxido nítrico ^[17].

El efecto de sustancias antioxidantes, como los extractos metanólicos de *Lepidium peruvianum* en la progresión de fibrosis pulmonar, puede ser explicado por dos argumentos.

En primer lugar, se ha visto que el uso de moléculas antioxidantes en combinación con otro tipo de fármacos tiene un efecto favorable en el tratamiento de fibrosis pulmonar ^[16]. Por ejemplo, la N-acetil cisteína (NAC), derivado de la cisteína, es una molécula precursora del glutatión que participa activamente en la captación de radicales libres que ha demostrado atenuar la fibrosis pulmonar inducida con sílice en ratas ^[32]. Por otro lado, las propias sustancias antioxidantes podrían actuar también como antiinflamatorias, reduciendo la infiltración celular y el daño tisular provocado por el proceso de fibrosis. Un estudio con ratones Knockout

(n/i/eNOS-/-) en el que se indujo la fibrosis con bleomicina, demostró que el grupo suprimido del sistema NOS desarrolló un mayor grado de inflamación y fibrosis en comparación a los demás grupos^[23]. Adicionalmente, la producción de otras moléculas como el IFN- γ , que ha demostrado promover mejoría clínica en pacientes con fibrosis pulmonar^[15] debido a la inhibición directa de la proliferación de fibroblastos y citocinas proinflamatorias (TGF- β 1 e IL-4)^[10], puede ser estimulada por los alcaloides provistos por el consumo de ciertos ecotipos de esta variedad de maca^[22].

Por otro lado, los hallazgos histopatológicos son comparables con otros estudios que evalúan efectos potenciales de plantas medicinales. Por ejemplo, Zhang *et al.* al evaluar el efecto antifibrótico del extracto etanólico de *Rhodiola rosea* L. encontraron una disminución discreta de los cambios histopatológicos mostrados y de las fibras de colágeno alrededor de los vasos pulmonares en comparación a lo mostrado por el control (inducido con bleomicina)^[33]; mientras que M. Iraz *et al.*,

encontraron que la administración de una solución acuosa de *Ginkgo biloba*, podía prevenir el incremento del índice de Ashcroft en los ratones a los que se les induce fibrosis con bleomicina^[34].

Una de las limitaciones del presente estudio es la dificultad para la inducción de fibrosis con nanosílice en comparación con bleomicina, ya que la administración de esta sustancia requiere el entrenamiento del personal encargado y un ambiente adecuado para ello. Esta hipótesis podría ser la causante de los resultados obtenidos con la dosis de 150 mg/kg/d que no son coherentes con los efectos observados en la dosis de 1500 mg/kg/d, futuros estudios deberán evaluar la reproducibilidad de los resultados obtenidos en esta investigación.

En conclusión, se encontró evidencia de efecto antifibrótico del extracto metanólico de *Lepidium peruvianum* (ecotipo morado) a dosis de 1500 mg/kg/d en la fibrosis pulmonar inducida por nanopartículas de sílice en ratas Sprague Dawley.

Referencias bibliográficas

- Wynn TA. Integrating mechanisms of pulmonary fibrosis. *J Exp Med* 2011;208(7):1339–50.
- Altube Urrengoetxea L, Salinas Solano C, Aburto Barrenechea M, Cortés M, Javier F, Ballaz Quincoces A, *et al.* Fase acelerada de la fibrosis pulmonar idiopática. *Arch Bronconeumol* 2007;43(9):516–8.
- Talbert JL, Schwartz DA. Pulmonary Fibrosis, Familial [Internet]. En: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Stephens K, *et al.*, editores. GeneReviews®. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [citado 2018 sep 24]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1230/>
- Kropski JA, Lawson WE, Young LR, Blackwell TS. Genetic studies provide clues on the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Dis Model Mech* 2013;6(1):9–17.
- Fujimura N. Pathology and pathophysiology of pneumoconiosis. *Curr Opin Pulm Med* 2000;6(2):140–4.
- Delgado García DD. Silicosis: Controversy in detection. *Med Segur Trab (Internet)* 2014;60(234):4–8.
- Bhagia LJ. Non-Occupational exposure to silica dust. *Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine* 2012;16(3):95.
- Byrne JD, Baugh JA. The significance of nanoparticles in particle-induced pulmonary fibrosis. *McGill J Med* 2008;11(1):43–50.
- Sharawy MH, El-Agamy DS, Shalaby AA, Ammar E-SM. Protective effects of methyl palmitate against silica-induced pulmonary fibrosis in rats. *Int Immunopharmacol* 2013;16(2):191–8.
- Chen Y, Chen J, Dong J, Liu W. Antifibrotic effect of interferon gamma in silicosis model of rat. *Toxicol Lett* 2005;155(3):353–60.
- Luzina IG, Todd NW, Sundararajan S, Atamas SP. The cytokines of pulmonary fibrosis: Much learned, much more to learn. *Cytokine* 2015;74(1):88–100.
- Richeldi L, Davies HR, Ferrara G, Franco F. Corticosteroids for idiopathic pulmonary fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;(3):CD002880.
- Liu D, Ahmet A, Ward L, Krishnamoorthy P, Mandelcorn ED, Leigh R, *et al.* A practical guide to the monitoring and management of the complications of systemic corticosteroid therapy. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2013;9(1):30.
- Gupta P, Bhatia V. Corticosteroid physiology and principles of therapy. *Indian J Pediatr* 2008;75(10):1039–44.
- Xaubet A, Ancochea J, Bollo E, Fernández-Fabrellas E, Franquet T, Molina-Molina M, *et al.* Normativa sobre el diagnóstico y tratamiento de la fibrosis pulmonar idiopática. *Arch Bronconeumol* 2013;49(8):343–53.
- Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Diagnosis and Treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(2):646–64.
- Alzamora L, Alvarez E, Torres D, Solís H, Colona E, Quispe J, *et al.* Efecto de cuatro ecotipos de *Lepidium peruvianum* Chacón sobre la producción de óxido nítrico *in vitro*. *Revista peruana de Biología* 2013;13(3):215–7.
- Alvarez Salazar EK. Estudio comparativo de la actividad moduladora del extracto metanólico de cuatro ecotipos de *Lepidium peruvianum* Chacón (maca) sobre la respuesta inmune humoral y celular en ratones [Internet]. 2008 [citado 2018 sep 24]; Available from: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/919>
- Corredor MPC. Maca (*Lepidium peruvianum* Chacón): composición química y propiedades farmacológicas. *Revista de fitoterapia* 2008;8(1):21–8.

20. Obregón LE. Maca. Planta medicinal y nutritiva del Perú. *Natura Medicatrix* 1999;(55):26–7.
21. Torres Gonzales D. Efecto modulador de la respuesta inmune humoral de extractos de *Lepidium peruvianum* Chacón (Maca) en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida. Universidad Nacional Mayor de San Marcos [Internet] 2008 [citado 2018 sep 24]; Available from: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/916>
22. Alzamora L, Galván P, Alvarez E, Torres D, Colona E, Aliaga M, et al. Producción de IFN-gamma en cultivos de linfocitos humanos por efecto de los extractos metanólicos de cuatro ecotipos de *Lepidium peruvianum* Chacón (Brassicaceae). *Revista peruana de Biología* 2013;13(3):207–9.
23. Noguchi S, Yatera K, Wang K-Y, Oda K, Akata K, Yamasaki K, et al. Nitric oxide exerts protective effects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Respir Res* 2014;15:92.
24. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. [Internet]. 8ª ed. Washington DC: The National Academies Press; 2011. Available from: <http://nap.edu/12910>
25. 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.
26. American Veterinary Medical Association. AVMA Guidelines for the Humane Slaughter of Animals. American Veterinary Medical Association; 2016.
27. Song J-A, Yang H-S, Lee J, Kwon S, Jung KJ, Heo J-D, et al. Standardization of Bronchoalveolar Lavage Method Based on Suction Frequency Number and Lavage Fraction Number Using Rats. *Toxicol Res* 2010;26(3):203–8.
28. Ashcroft T, Simpson JM, Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale. *J Clin Pathol* 1988;41(4):467–70.
29. Abidi A, Robbe A, Kourda N, Ben Khamsa S, Legrand A. Nigella sativa, a traditional Tunisian herbal medicine, attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in a rat model. *Bio-medicine & Pharmacotherapy* 2017;90:626–37.
30. Goyal BR, Goyal RK, Mehta AA. Beneficial Effect of *Achyranthes aspera* Linn. In Toluene-Di-Isocyanate Induced Occupational Asthma in Rats. *The Open Natural Products Journal* [Internet] 2008 [citado 2018 sep 25];1(1). Available from: <https://benthamopen.com/ABSTRACT/TONPJ-1-44>
31. Castañeda B, Mata C de la MC de la, Manrique R, Ibañez L. Efectos metabólicos de *Lepidium meyenii* Walpers, “maca” y *Lupinus mutabilis* Sweet, “chocho” en ratas. *Horizonte Médico* 2007;7(1):32–8.
32. Zhang H, Yin G, Jiang H, Zhang C. High-dose N-acetylcysteine decreases silica-induced lung fibrosis in the rat. *J Int Med Res* 2013;41(4):1179–86.
33. Zhang K, Si X-P, Huang J, Han J, Liang X, Xu X-B, et al. Preventive Effects of *Rhodiola rosea* L. on Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis in Rats. *Int J Mol Sci* 2016;17(6).
34. Iraz M, Erdogan H, Kotuk M, Yağmurca M, Kilic T, Ermis H, et al. *Ginkgo biloba* inhibits bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *Pharmacol Res* 2006;53(3):310–6.