

Efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. "cadillo" en lesiones hepáticas inducidas por etanol en "ratas"

Protective effect of ethanol extract of *Cenchrus echinatus* L. "cadillo" on acute ethanol-induced liver injury in "rats"

Efeito protetor do extrato etanólico de *Cenchrus echinatus* L. "cadillo" na lesão hepática induzida por etanol em "ratos"

César B. Cisneros Hilario¹, Jorge L. Arroyo Acevedo²

Resumen

Se evaluó el efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. (cadillo) sobre las lesiones hepáticas agudas inducidas por etanol en ratas, en el bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Siguiendo el método de Regimbeau (2008), formándose seis grupos de ratas machos (n=06, por cada grupo), se administró etanol por única vez, siguiendo el diseño: G1: Suero fisiológico (SSF); G2: Etanol (E); G3: (E) + Silimarina 5 mg/Kg (S); G4, G5, G6: (E)+extracto 50, 100 y 200 mg/Kg respectivamente. El perfil hepático evidenció un aumento de proteínas totales (31.2%), albúmina (47.2%) y disminución de fosfatasa alcalina (16%) a dosis de 200 mg/kg; aumento de TGO (44.0%), TGP (56.5%) y GGTP (45.8%) a dosis de 100 mg/kg; disminución de la bilirrubina total (61.0%) y bilirrubina directa (75.5%) a dosis de 50 mg/kg (p<0.05), concluyéndose que el extracto etanólico de *C. echinatus* L. ejerce efecto protector sobre las lesiones hepáticas agudas inducidas por etanol en ratas.

Palabras clave: Extracto etanólico, *Cenchrus echinatus* L., lesiones hepáticas, etanol.

Abstract

This study evaluate the protective effect of ethanol extract of *Cenchrus echinatus* L. (cadillo) on acute liver injury induced by ethanol in rats in the vivarium of the Faculty of Medicine of the National University of San Marcos, Lima-Peru. Following the method Regimbeau, 2008, forming six groups of male rats (n=06 per group), ethanol was administered only once, following design: G1: physiological saline (SSF); G2: ethanol (E); G3: (E) Silymarin + 5 mg/Kg (S); G4, G5, G6: (E) + extract 50, 100 and 200 mg/kg respectively. Hepatic profile showed an increased total protein (31.2%), albumin (47.2%) and decreased alkaline phosphatase (16%) to 200 mg / kg; TGO increase (44.0%), TGP (56.5%) and GGTP (45.8%) at doses of 100 mg / kg; also decreased total bilirubin (61.0%) and direct (75.5%) bilirubin at doses of 50 mg / kg (p <0.05), concluding that the ethanolic extract *C. echinatus* L. exerts protective effect on liver injury acute ethanol induced in rats.

Keywords: ethanolic extract, *Cenchrus equinatus* L., liver lesions, ethanol.

Resumo

Este estudo avaliar o efeito protetor do extrato etanólico de *Cenchrus equinatus* L. (cadillo) na lesão hepática aguda induzida por etanol em ratos em biotério da Faculdade de Medicina da Universidade Nacional de San Marcos, Lima-Peru. Seguindo o método Regimbeau, 2008, formando seis grupos de ratos machos (n=06 por grupo), o etanol foi administrada apenas uma vez, na sequência de concepção: G1: solução salina fisiológica (SSF); G2: etanol (E); G3: (E) silimarina + 5 mg/kg de (S); G4, G5, G6: (E) + extrair 50, 100 e 200 mg/kg, respectivamente. perfil hepática mostrou um aumento da proteína total (31,2%), albumina (47,2%) e diminuição da fosfatase alcalina (16%) para 200 mg/kg; aumento TGO (44,0%), TGP (56,5%) e GGTP (45,8%) em doses de 100 mg/kg; também diminuição bilirrubina total (61,0%) e bilirrubina direta (75,5%) em doses de 50 mg / kg (p <0,05), concluindo que o extrato etanólico *C. echinatus* L. exerce efeito protetor sobre a lesão hepática etanol agudo induzido em ratos.

Palavras-chave: extrato etanólico, *Cenchrus equinatus* L., lesões hepáticas, etanol.

¹Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM. Lima-Perú. cbraulio_cisnerosh@hotmail.com

²Facultad de Medicina, UNMSM. Lima-Perú.

Recibido, 19 de agosto de 2016
Aceptado, 22 de setiembre de 2016

Introducción

La hepatotoxicidad está relacionada al daño ocasionado por una sobredosis de drogas o xenobióticos (Singh, 2011). El daño producido en el hígado es una complicación de casi todos los medicamentos prescritos (Pandit, 2012), siendo el alcoholismo crónico causante de daño hepático, como la hepatitis, hígado graso y cirrosis (Abajo, 2004; Day, 2007; Simpson, 1996). Constituyéndose a las enfermedades hepáticas como un serio problema de salud a nivel mundial (Joanne, 2011).

Existen una serie de medicinas tradicionales que se recomiendan para el tratamiento de enfermedades hepáticas como son: *Silybum marianum* (Flora et al. 1998), *Procumbens Tridax* (Ravikumar et al., 2006), *Strychnos potatorum* (Sanmugapriya, 2006), *Andro graphis paniculata* (Pramyothin et al., 1994) y *Picrorhiza kurroa* (Saraswat et al., 1999), los que contienen diversos tipos de compuestos fenólicos y flavonoides (Khatoon et al, 2006), relacionados con la actividad antioxidante (Kumaran, 2007).

Cenchrus echinatus L., fue descrita por Carlos Linneo y publicado en *Species plantarum* (Linneo, 1753), también conocida como cadillo, carrapicho y ojo de hormiga, es una especie de planta herbácea de la familia *Poaceae* (CONABIO, 2009), de crecimiento anual y originaria de América (Correa, 2004), encontrándose en playas y sitios perturbados, a una altitud de 0-760 msnm. En el siglo XVI, Francisco Hernández de Toledo comenta: "tomada en dosis de un dracma con agua detiene los flujos disentéricos", en Brasil se utiliza el decocto de la planta completa para eliminar los cálculos renales (Davidse, 1994), y en México se consume el fruto o la raíz para combatir problemas diarreicos, afecciones intestinales, alergias y fiebres (Correll, 1970).

Los extractos vegetales han demostrado poseer efectos terapéuticos gracias a los múltiples metabolitos que contienen, sobre todo a los compuestos fenólicos (flavonoides), los que los convierten en candidatos para la prevención de diversas enfermedades inflamatorias, microbianas, alérgicas, cardiovasculares, cancerígenas, neurológicas entre ellos las enfermedades hepáticas (Manthey, 1998; Cisneros, 2013). Siendo el objetivo principal del presente trabajo determinar el efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L., sobre las lesiones hepáticas agudas inducidas por etanol en ratas.

Material y métodos

Las muestra vegetales (planta completa) fue recolectadas en el caserío de San José, distrito de Santiago de Cao, Provincia de Ascope, Departamento de la Libertad, durante el mes de febrero del 2016. La identificación taxonómica fue realizada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Siendo clasificada según el sistema de Cronquist (1988).

Para la obtención del extracto, las muestras vegetales (planta completa) fueron seleccionadas, lavadas y secadas a 40°C, posteriormente se trituró en un molino hasta un polvo fino, el que se maceró con etanol de 96°, a temperatura ambiente, con movimiento constante durante 7 días, posteriormente se filtró, y se desecó a 40°C en estufa hasta peso constante. El residuo obtenido fue refrigerado, manteniéndose en un frasco de color ámbar, hasta su posterior reconstitución con polisorbato de sodio 80 (CYTED, 1995).

El estudio fitoquímico del extracto se realizó en el bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, realizándose reacciones de Gelatina, tricloruro férrico, Dragendorff, Molisch, NaOH 10%, Vainillin sulfúrico, Liebermann, Shinoda y Ninhidrina (Lock de Ugaz, 1994).

La determinación del efecto hepatoprotector agudo, siguió el modelo de Regimbeau, 2008, donde se utilizaron 36 ratas machos cepa Holtzman de 190 ± 10 g de peso corporal. obtenidas del bioterio del Instituto Nacional de Salud (Lima-Chorrillos), las que fueron aclimatadas 7 días antes de la experimentación, siendo alojadas en jaulas metálicas con alimento balanceado y agua *ad libitum*, el ambiente de experimentación se mantuvo a temperaturas 25 ± 1 °C, con un ciclo de luz/oscuridad 12:12 y humedad relativa (40 ± 2)%, las cuales se dividieron en seis grupos de 6 ratas cada una, donde: El primer grupo fue el control y recibió solución salina fisiológica 4 ml/kg, el segundo etanol 5 g/Kg (E), el tercero (E) + Silimarina 5 mg/Kg, mientras que los grupos 4,5 y 6 recibieron (E) además de extracto a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg respectivamente, los tratamientos fueron recibidos por vía oral y por única vez y después de 8 horas las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico 30 mg/Kg vía intraperitoneal para extraerles sangre por punción cardíaca, y así obtener el perfil hepático consistente en pruebas de: Proteínas totales, albúmina, Glutámico oxalacético transaminasa (TGO), Glutámico Pirúvico transaminasa (TGP), Gamma Glutamyl transpeptidasa (GGTP), fosfatasa alcalina, bilirrubina total, bilirrubina directa. Los resultados fueron evaluados mediante la prueba de chi cuadrado de Pearson, y expresados en valores medios, con una $p < 0.05$

Resultados

Tabla 1. Marcha fitoquímica del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. (cadillo).

Reacción de identificación	Metabolito Secundario	Cantidad
Gelatina	Taninos	+++
Tricloruro férrico	Compuestos Fenólicos	+++
Dragendorff	Alcaloides	+++
Mayer	Alcaloides	+++
Hidróxido de sodio	Quinonas	++
Alfa naftol	Glicósidos	++
Liebermann	Esteroides y triterpenos	-
Shinoda	Flavonoides	+++
Ninhidrina	Aminoácidos libres	+++

Leyenda: (+++) = Abundante cantidad; (++)=Regular cantidad o positivo, (+)= Poca cantidad o trazas; (-)=Ausencia.

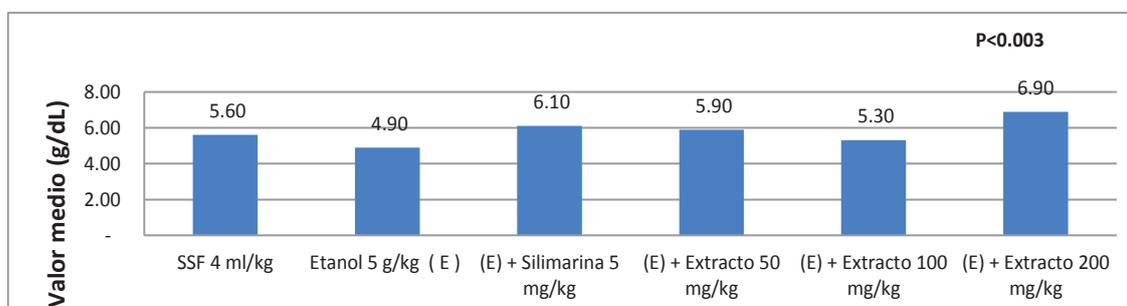


Figura 1. Niveles promedio de proteínas totales al evaluar el efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. en daño hepático agudo inducido con etanol en ratas.

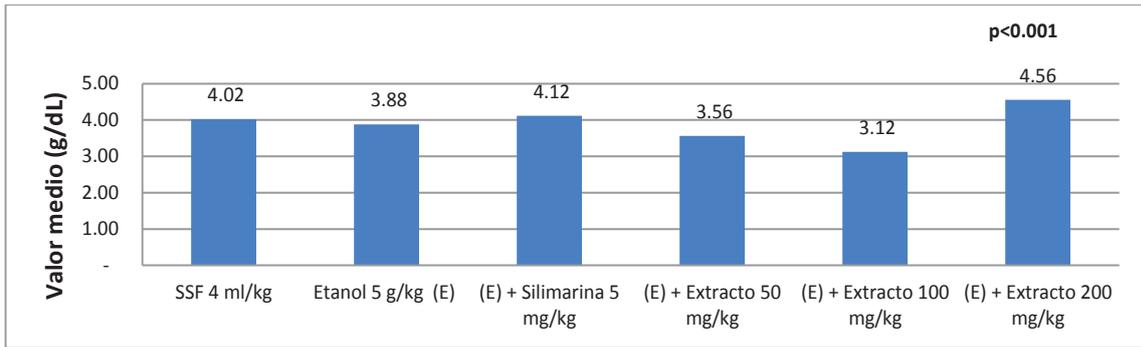


Figura 2. Niveles promedio de albúmina al evaluar el efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. en daño hepático agudo inducido con etanol en ratas.

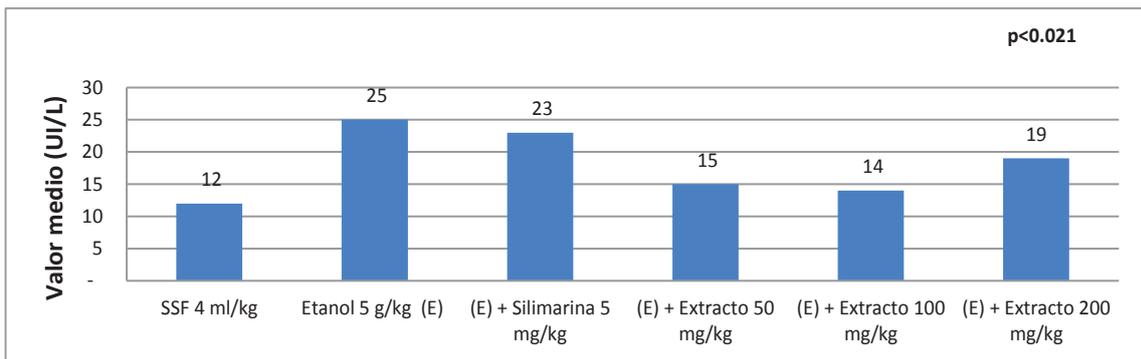


Figura 3. Niveles promedio de Glutámico oxalacético transaminasa (TGO) al evaluar el efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. en daño hepático agudo inducido con etanol en ratas.

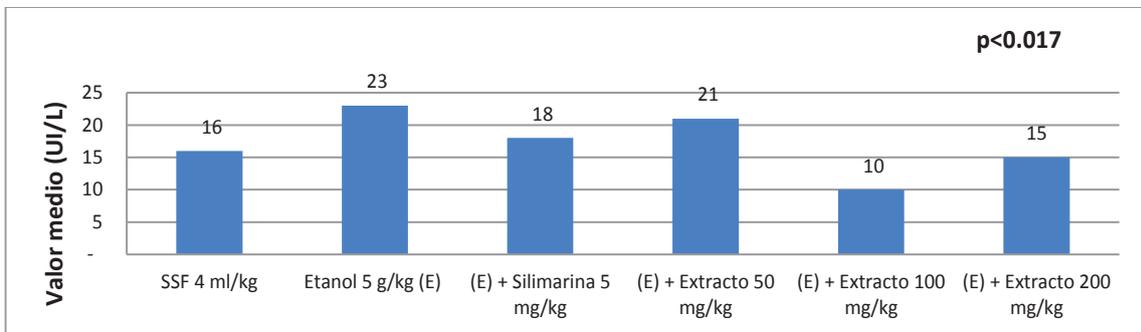


Figura 4. Niveles promedio de Glutámico Pirúvico transaminasa (TGP) al evaluar el efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. en daño hepático agudo inducido con etanol en ratas.

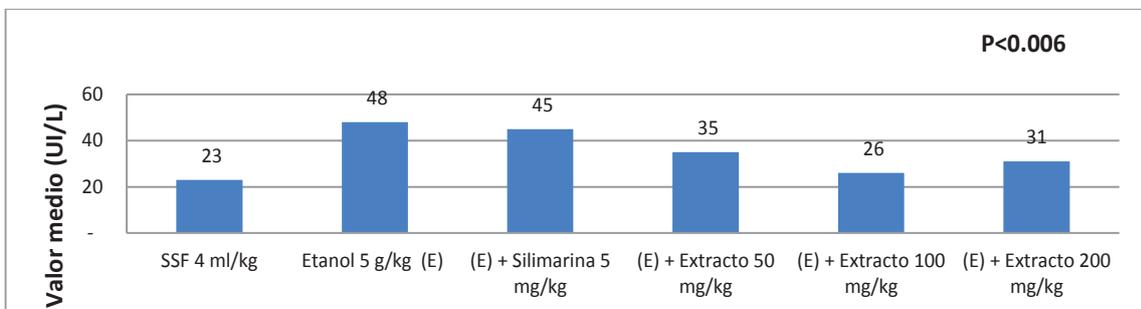


Figura 5. Niveles promedio de Gamma Glutamyl Transpeptidasa (GGTP) al evaluar el efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. en daño hepático agudo inducido con etanol en ratas.

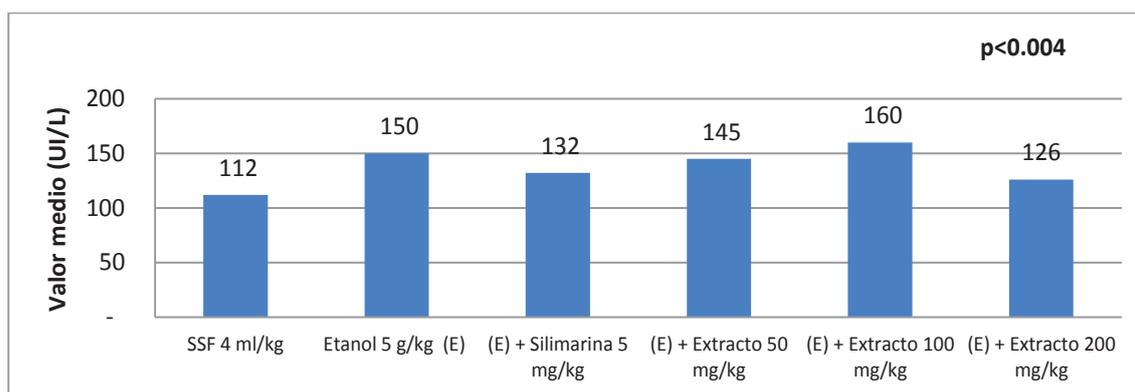


Figura 6. Niveles promedio de Fosfatasa alcalina al evaluar el efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. en daño hepático agudo inducido con etanol en ratas.

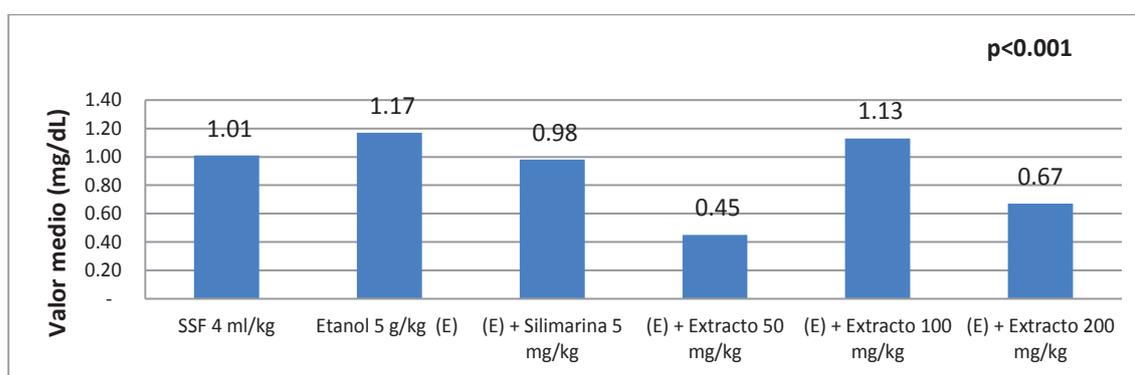


Figura 7. Niveles promedio de Bilirrubina total al evaluar el efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. en daño hepático agudo inducido con etanol en ratas.

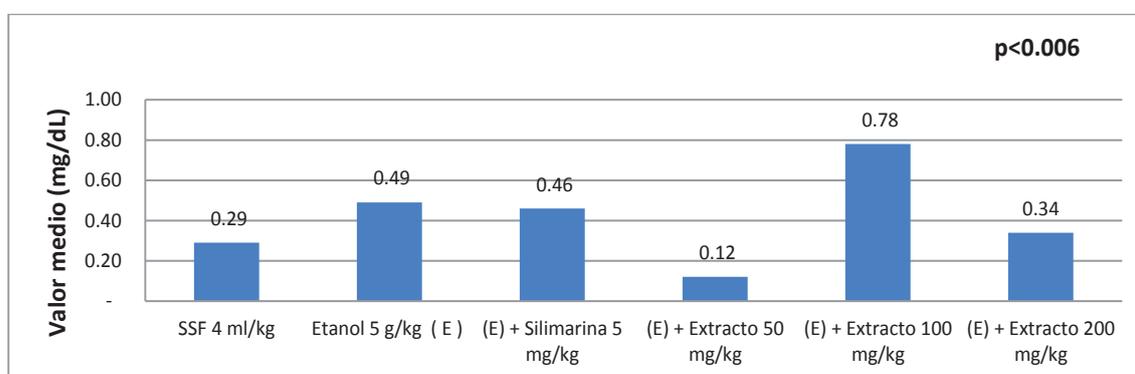


Figura 8. Niveles promedio de Bilirrubina directa al evaluar el efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. en daño hepático agudo inducido con etanol en ratas.

Discusión

Dentro de los componentes fitoquímicos del extracto etanólico de *C. echinatus* L. se ha reportado la presencia de taninos, compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides y aminoácidos libres en mayor proporción (tabla 1), los cuales tendrían implicancias sobre la protección hepática en ratas, que fueron inducidas por etanol.

Las figuras 1-8 muestran los cambios sobre los niveles de proteínas totales, albúmina, TGO, TGP, GGTP, fosfatasa, bilirrubina total y directa producidos por el

tóxico inductor (etanol); y los grupos que recibieron tratamientos con silimarina y extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. (cadillo) mejoraron estos desniveles.

Se ha evidenciado un aumento de proteínas totales (31.2%), albúmina (47.2%) y disminución de fosfatasa alcalina (16%) a una dosis de 200 mg/kg; aumento de TGO (44.0%), TGP (56.5%) y GGTP (45.8%) a dosis de 100 mg/kg; asimismo disminución de la bilirrubina total (61.0%) y bilirrubina directa (75.5%) a dosis de 50 mg/kg, siendo estos valores significativos ($p < 0.05$).

El etanol tiene la capacidad para formar aductos entre las proteínas de los hepatocitos (Bouneva et al., 2003), el aumento de la reducción de forma de nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) que causa la acumulación de grasa (Zimmerman, 1999), mientras que los radicales libres estimulan la oxidación, el estrés oxidativo que conducen a la respuesta inflamatoria y la peroxidación, así mismo el etanol induce la elevación de las endotoxinas que pasan al hígado, y estas estimulan a las células de Kupffer para producir los radicales libres y citoquinas proinflamatorias como el TNF y IL-1, que son los dos importantes mediadores de la inflamación y de la muerte celular (Boelsterli, 2003).

Un signo evidente de lesión hepática es la fuga de enzimas celulares en el plasma debido a la perturbación causada en el transporte funciones de los hepatocitos (Zimmerman, 1970). La estimación de las enzimas en el suero es un marcador bioquímico cuantitativamente útil para determinar daño hepatocelular. La bilirrubina es uno de los indicios clínicos más útiles a la gravedad de la necrosis y su acumulación es una medida de unión, la conjugación y la capacidad excretora de los hepatocitos. La disminución de la bilirrubina total y directa (figura 7 y 8) a dosis de 50 mg/kg, indicó la eficacia del extracto al evidenciarse el normal funcionamiento del hígado.

Mientras que el alcohol induce disminución de proteínas totales, albúmina, e incremento de TGO, TGP, GGTP, fosfatasa alcalina, bilirrubina total y directa frente al grupo normal que recibió SSF 4mL/Kg, la silimarina ha ratificado su efecto protector sobre el daño inducido en el hígado, (figura 1-8), al corregir estos desbalances, posiblemente al proteger la membrana celular del hepatocito (Pradhan, 2006).

En este estudio, el extracto de cadillo se comparó con la silimarina, que es un flavonoide antioxidante aislado del cardo mariano (*Silybum marianum* L.) (Khatoon et al, 2006); y se utiliza clínicamente como un desintoxicante del hígado, hepatoprotector, anticancerígeno (Polyak, 2010) y antioxidante (Kumaran, 2007). Los compuestos fenólicos, entre ellos los flavonoides presentes en el extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. (cadillo), demostró un mejor efecto que la silimarina al inhibir la formación de leucotrieno B₄, potenciadores de la formación de prostaglandina E₂ e inhibidores de la liberación de óxido nítrico. Así como, actividad hepatoprotectora relacionada con la capacidad de estos de disminuir el estrés oxidativo y atrapar radicales libres, además de poseer capacidad antioxidante del hígado para atrapar radicales peroxilo (Pérez, 2011).

Conclusión

En condiciones experimentales, el extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. (cadillo) ejerce efecto protector frente a las lesiones hepáticas inducida por etanol en ratas.

Referencias bibliográficas

- Abajo, F., Montero, D., Modurga, M., Rodríguez, L. (2004). Acute and clinically relevant drug-induced liver injury: a population based case-control study. *Br J Clin Pharmacol*, 58:71-80.
- Boelsterli, U. A. (2003). *Mechanistic Toxicology: The Molecular Basis of How Chemical Disrupts Biological Targets*. Taylor & Francis, London.
- Bouneva, I., Abou-Assi, S., Heuman, D.M., Mihás, A.A. (2003). Alcohol liver disease. *Hospital Physician*, 31–38.
- Cisneros, C., Arroyo, J., Fernández, A., Silva, P. (2013). Efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. “cadillo” sobre la cirrosis hepática inducida en rata. *Rev. Conocimiento para el desarrollo*, 4(1):45-52. Universidad San Pedro. Chimbote-Perú
- CONABIO. (2009). Catálogo taxonómico de especies de México.1. In Capital Nat. México. CONABIO, Mexico City.
- Correa, M., Galdames, C., Stapf, M. (2004). *Cat. Pl. Vasc. Panamá* 1–599. Smithsonian Tropical Research Institute, Panama.
- Correll, D., Johnston, M. (1970). *Man. Vasc. Pl. Texas* i–xv, 1–1881. The University of Texas at Dallas, Richardson.
- Cronquist, A. (1988). *The evolution and classification of flowering plants*. New York: The New York Botanical Garden, 555.
- CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. (1995). Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. *Manual de técnicas de investigación*; 220.
- Day C (2007). Alcohol and the liver. *Medicine*, 35:22-25.
- Davidse, G., Sousa, M., Chater, A. (1994). *Alismataceae a Cyperaceae*. 6: i–xvi, 1–543. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Flora, K., Hahn, M., Rosen, H., Benner, K. (1998). Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 93, 139–143.
- Joanne, L., Thanavaro, A. (2011). An overview of drug-induced liver injury. *J Nat Prod*. 2011; 7(10): 819-826.
- Khatoon, S., Rai, V., Rawat, A., Mehrotra, S. (2006). Comparative Pharmacognostic studies of three *Phyllanthus* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 104, 79–86.
- Kumaran, A., Karunnakaran, R.J. (2007). *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Swiss Society of Food Science and Technology*, 40, 344–352.
- Linneo, Carlos. (1753). *Species Plantarum*. 2:1050.
- Lock de Ugaz, O. (1994). *Investigación Fitoquímica. Métodos de estudios de productos naturales*. 2º Edición. Lima: Fondo Editorial PUCP.
- Manthey, J., Grohmann, K., Guthrie, N. (2001). *Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation*. *Curr Med Chem*, 8:135-53.
- Pandit, A., Sachdeva, T., Bafna, P. (2012). Drug-induced hepatotoxicity: a review. *J Appl Pharm Sci*, 2(5):233-43.

- Perez, R., Anaya, I., Hoyo, C., Victoria, T. (2011). Effect of flavonoids from *Prosthechea michuacana* on carbon tetrachloride induced acute hepatotoxicity in mice. *Pharm Biol.* 49(11):1121-7.
- Polyak, S., Morishima, C., Lohmann, V., Pal, S., Lee, D., Liu, Y., Graf, T., Oberlies, N. (2010). Identification of hepatoprotective flavonolignans from silymarin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 107(13):5995-9.
- Pradhan, S., Girish, C. (2006). Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J Med Res.* 124(5):491- 504.
- Pramyothin, P., Chirdchupunsare, H., Rungsipipat, A., Chaichantipyuth, C. (2005). Hepatoprotective activity of *Thunbergia laurifolia* Linn. extract in rats treated with ethanol: *in vitro* and *in vivo* studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 102, 408–411.
- Ravikumar, V., Shivashangari, K., Devaki, T., (2006). Hepatoprotective activity of *Tridax procumbens* against d-galactosamine/lipopolysaccharide-induced hepatitis in rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 2006: 101, 55–60.
- Regimbeau, J., Fuks, D., Kohneh-Shahri, N., Terris, B. (2008). Soubrane O.Restrictive model of compensated carbon tetrachloride-induced cirrhosis in rats. *World J Gastroenterol*, 14(45):6943-6947.
- Sanmugapriya, E., Venkataraman, S. (2006). Studies on hepatoprotective and oxidant actions of *Strychnos potatorum* Linn. seed on CCl₄induced acute hepatic injury in experimental rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 105,154–160.
- Saraswat, B., Visen, P., Patnaik, G., Dhawan, B.. (1999). Ex vivo and in vivo investigations of *Picrorhiza kurroa* in an alcohol intoxication model in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 66, 263–269.
- Simpson, K. (1996). Pathogenesis of alcoholic steatosis. *Add Biol*, 1:363-70.
- Singh A, Bhat TK, Sharma OP. Clinical biochemistry of hepatotoxicity. *J Clinic Toxicol.* 2011;S4:001.
- Zimmerman, H, Seeff, L. (1970) Enzymes in hepatic disease. In: Goodly, E.L. (Ed.). *Diagnostic Enzymology*, Lea and Febiger, Philadelphia, USA: 1– 38.
- Zimmerman, H.. (1999). *Hepatotoxicity: the adverse effects of drug and other chemicals on the liver.* Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 147–175.