

Efecto del extracto hidroalcohólico de *Zingiber officinale* Roscoe (jengibre) en modelo de hepatotoxicidad en ratas

Effect of hydroalcoholic extract of *Zingiber officinale* Roscoe (Ginger) in the model of hepatotoxicity in rats

Q.F.B. Banely Trinidad Gómez-Rodríguez, MVZ Saúl Cortés Suárez, Dra. Teresa Izquierdo-Sánchez

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, UAM-X México, D.F. México.

RESUMEN

Introducción: el rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe (jengibre) familia Zingiberaceae, presenta actividad antioxidante como atrapador de radicales libres y de protección en lipoperoxidación en modelos *in vivo* e *in vitro*, debido a sus principales compuestos bioactivos.

Objetivo: evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico obtenido de *Zingiber officinalis* en el modelo de hepatotoxicidad por sobredosis de acetaminofén en ratas.

Métodos: se preparó un extracto hidroalcohólico del rizoma fresco de *Zingiber officinalis*. Se utilizaron 42 ratas Wistar, albinas, macho (180-200 g de peso) y se distribuyeron aleatoriamente en 7 grupos (n= 6); 4 grupos fueron administrados con extracto hidroalcohólico vía oral (20,08; 54,58; 148,4 y 244,69 mg/kg) en pretratamiento, durante 8 días consecutivos. En el octavo se administró acetaminofén (750 mg/kg) intraperitoneal. Otro grupo recibió N-acetil-cisteína (1 200 mg/kg) dosis única + acetaminofén, y el grupo control solo sobredosis de acetaminofén. Se obtuvieron muestras séricas para cuantificar las enzimas alanino amino transferasa, y aspartato amino transferasa. Se realizó un estudio histopatológico del hígado en cada uno de los grupos tratados.

Resultados: el extracto etanólico del jengibre redujo los niveles de enzimas hepáticas de manera dosis-dependiente. La reducción observada en la dosis de 244,69 mg/kg resultó de 54,3 % (alanino amino transferasa) y 55,5 % (aspartato amino transferasa), comparable al efecto de reducción por la N-acetil-cisteína (45,5 %), el cual fue significativo ($p < 0,01$) comparado con el grupo de daño hepático inducido por acetaminofén. El estudio histopatológico del tejido hepático dañado mostró diferencias, en comparación con el perfil de protección en los grupos tratados.

Conclusiones: los resultados muestran la actividad hepatoprotectora del extracto de jengibre, en el modelo de hepatotoxicidad por sobredosis de acetaminofén en ratas. El consumo concomitante del jengibre normalizó los niveles de enzimas y limitó el daño hepático, lo cual está asociado a la actividad de desintoxicación y a un mejor estado antioxidante.

Palabras clave: extracto hidroalcohólico, paracetamol, actividad antioxidante, actividad hepatoprotectora, jengibre, *Zingiber officinale*.

ABSTRACT

Introduction: rhizomes of *Zingiber officinale* Roscoe (Ginger) have strong antioxidant activity as free-radical trapper and protection against lipid peroxidation *in vivo* and *in vitro* models, from its main bioactive compounds.

Objectives: to evaluate the effect of a hydroalcoholic extract of *Zingiber officinalis* in the model of hepatotoxicity after acetaminophen overdose in rats.

Methods: a macerated hydroalcoholic extract was prepared (70 % v:v) from the fresh rhizome of *Zingiber officinale*. 42 male Wistar albino rats (180-200 g) of weight were randomly distributed in seven groups (n= 6). Four groups were administrated with hydroalcoholic extract doses orally (20.08, 54.58, 148.4 y 244.69 mg/kg) in a pre-treatment for eight consecutive days. In the eighth group, intraperitoneal acetaminophen (750 mg/kg) was administered. Other treatment group received N-acetyl-cysteine (1 200 mg/kg) as a single dose and acetaminophen, and the control group only received an overdose of acetaminophen. Serum samples were obtained for each group to quantify the alanine amino transferase and aspartate amino transferase enzymes. A histopathological examination of the liver was performed for all groups.

Results: ethanolic ginger extracts reduced serum levels of the hepatic enzymes in a dose-dependent manner. Reduction by 244.6 mg/kg dose of alanine amino transferase (54.3 %) and aspartate amino transferase (55.5 %) was comparable to N-acetyl-cysteine (45.5 %), the effect was significantly ($p < 0.01$) compared with the control group with hepatic damage induced by acetaminophen. Histopathological assessment of liver tissue damage showed differences as compared with the protective profile in the groups.

Conclusions: these findings outline the hepatoprotective activity of ginger extract against hepatotoxicity after acetaminophen overdose, in a dose-dependent manner. Concomitantly, intake of ginger in rats normalized the host liver enzymes related to the detoxificant activity of xenobiotic compounds, providing a better antioxidant-cytoprotector status.

Key words: hydroalcoholic extract, paracetamol overdose, antioxidative activity, hepatoprotective activity, ginger, *Zingiber officinale*.

INTRODUCCIÓN

El rizoma del jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe, familia Zingiberaceae) es una especie vegetal que se utiliza en la preparación de alimentos, y es apreciado por sus efectos medicinales desde tiempos inmemoriales.¹ Tiene una amplia reputación por sus propiedades medicinales en la medicina ayurvédica y en el sistema de medicina tradicional en China por más de 2 500 años.^{2,3} Se utiliza tanto fresco como seco. El rizoma fresco se prefiere para tratar resfriados, náusea y como desintoxicante; la

forma desecada se emplea como estimulante en trastornos gastrointestinales, tos y reumatismo.⁴ El jengibre es considerado un medicamento herbolario seguro.⁵

La composición de los extractos obtenidos del rizoma seco y fresco, se considera una mezcla compleja de compuestos. Entre ellos se han identificado sustancias activas como los gingeroles (6-8-10-gingerol) diaril-heptanoides y mono-terpenoides con propiedades antioxidantes.⁶ Del rizoma fresco y seco se han caracterizado compuestos antioxidantes con actividad inhibitoria de lipo-peroxidación como gingeroles, de-hidrozingeronas, shogaoles y compuestos fenólicos.⁷

Recientemente se ha destacado la hipótesis que atribuye a sus propiedades curativas el efecto antioxidante. El efecto inhibitorio significativo del ataque de los radicales libres, protección completa de peroxidación de lípidos, y protector parcial de daño de ADN por H₂O₂, ha sido demostrado en células de homogenizado de tejido hepático y cerebral.⁸

Los gingeroles fenólicos son responsables del sabor pungente constituyen un grupo de compuestos activos que participan en un amplio espectro de actividades biológicas benéficas como en artritis reumatoide.⁹ En concentraciones bajas ejercen efecto antioxidante comparable al del ácido ascórbico,¹⁰ y un efecto protector en lipoperoxidación y estrés oxidativo inducido en ratas con malatión, en la dieta en dosis bajas.¹¹

Se ha sugerido que el consumo de aceite de jengibre interacciona con enzimas relacionadas con activación y desintoxicación de compuestos xenobióticos, incluidos agentes carcinógenos y mutagénicos, con el aumento de glutatión y la disminución de los niveles de peróxidos lipídicos.¹¹ En conjunto, las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes de los principales componentes del rizoma de *Z. officinale* sugieren un efecto hepatoprotector de interés en toxicidad por acetaminofén.

El acetaminofén (paracetamol) es un fármaco del grupo de los AINES (antiinflamatorios no esteroideos) ampliamente utilizado en pediatría como antipirético¹² y para modular el dolor. Es un inhibidor selectivo débil de COX-1 y COX-2.¹³ Actúa inhibiendo la síntesis de prostaglandinas, mediadores celulares responsables de la aparición del dolor. En las dosis recomendadas su uso es seguro, sin embargo en sobredosis produce daño hepático, en ocasiones irreversible y muerte. Debido a su popularidad, disponibilidad y uso, es también uno de los medicamentos más asociados con efectos tóxicos accidentales, deliberados o con factores de riesgo como consumo de alcohol, interacciones con fármacos, o enfermedades hepáticas preexistentes.¹⁴

El acetaminofén es metabolizado en diferentes vías. Cerca de 4 a 5 % es bio-transformado a N-acetil-p-benzo-quinona (NAPQI) vía el citocromo P-450, sistema oxidasa de función mixta (CYP).¹⁵ Este metabolito intermediario se conjuga con glutatión reducido (GSH), formando un metabolito no-tóxico con cisteína y ácido mercaptúrico. En sobredosis, se incrementa el metabolito reactivo, el cual depleta al GSH hepático, las vías de sulfatación y glucuronidación con aumento de NAPQI. Este se une de manera covalente a macromoléculas celulares,¹⁶ produce especies reactivas de oxígeno, y estrés oxidativo,¹⁷ y dependiendo de la dosis se produce necrosis centrilobulillar.¹⁸ Debido al proceso metabólico exacerbando la formación de radicales libres y de NAPQI, induce daño hepático irreversible.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la administración concomitante del extracto hidroalcohólico obtenido de la raíz de jengibre en un modelo de hepatotoxicidad en ratas, inducida por una sobredosis de acetaminofén. Para evaluar el daño hepático se cuantificó la concentración de las enzimas marcadoras de la función hepática alanino aminotransferrasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST); así como el estudio histopatológico del hígado de los grupos tratados con diferentes

dosis del extracto hidroalcohólico del rizoma fresco de *Zingiber officinalis* (EHRJ) y se compararon con el grupo control sin tratamiento, y con un grupo tratado con N-acetil cisteína.

MÉTODOS

Animales

Se utilizaron ratas Wistar albinas machos, peso 180-200 g, proporcionadas por la UPEAL (Unidad de Producción Experimental de Animales de Laboratorio) de la Universidad Autónoma Metropolitana Campus Xochimilco (UAM-X). Los procedimientos experimentales se llevaron a cabo atendiendo los lineamientos de la guía NIH,¹⁹ y a la norma oficial mexicana (NOM-062-ZOO, 1996).²⁰ Los animales se ubicaron en espacio apropiado en condiciones controladas con temperatura constante de 21 ± 1 °C, 60-70 % de humedad, con ciclos de 12 horas luz/oscuridad con libre acceso de alimento y agua. Los animales se agruparon de manera aleatoria, en 7 grupos de 6 ratas. Se anestesiaron con una mezcla xilacina:ketamina (Inoketam 1000, Virbac, México y, Clorkétam 1000, Vétoquinol, Francia) 3:1.

Extracto hidroalcohólico

Los rizomas se adquirieron del mercado local (2,0 kg) de la Delegación Tlalpan, ciudad de México, D.F. Se depositó un espécimen del rizoma de *Z. officinale* al Herbario de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, D.F. México para ser autenticado (UAMXOC-13049). Para la extracción por maceración, se pesaron 400 g de rizoma del jengibre, se lavaron y cortaron en pequeños trozos, se añadió 2 L de solución hidroalcohólica (70:30 EtOH:H₂O) v:v, se mantuvieron a temperatura ambiente durante 5 días. Se filtró en un embudo Büchner al vacío utilizando papel Whatman (no.1). El extracto se concentró, el etanol se eliminó bajo presión reducida en rotavapor (Heildoph, Caframo LTD VV 2000) a 150-200 rpm, temperatura de 45 a 50 °C. Del residuo semisólido se obtuvo un rendimiento de 42,12 g (21,06 mg/mL) de materia sólida. Se determinó el peso necesario para preparar 4 diferentes dosis del extracto crudo, estimando el peso de las ratas. Se calcularon dosis equivalentes a 20,08, 54,59, 148,4 y 244,69 mg/kg y se suspendieron en carboxi-metilcelulosa (CMC 0,5 %) en solución salina. Una vez que se prepararon los volúmenes para cada dosis, se colocaron en viales, se sellaron y se congelaron hasta su uso. Las dosis fueron administradas por la vía oral, una vez al día durante 7 días consecutivos. El octavo día los animales fueron anestesiados, el hígado fue expuesto, lavado con solución salina y se colocó en frascos con formol 10 % en solución salina para el estudio histológico.

El acetaminofén se disolvió en el vehículo polietilenglicol (PEG 400) en solución salina (50:50), se mantuvo en baño María a 37 °C con agitación constante. La N-acetil-L-cisteína (NAC) se disolvió en solución salina.

Reactivos

El acetaminofén (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo. USA); N-acetil-L-cisteína (NAC) (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo. USA); xilacina (Procin Equus, Pisa Agropecuaria S. A. de C. V., Hidalgo, México); ketamina (Inoketam 1 000, Virbac, México y, Clorkétam 1 000, Vétoquinol, Francia); parafina (McCormick Scientific Paraplast Tissue Embedding Medium); heparina (Inhepar, Pisa Farmacéutica Mexicana, 1000 UI/mL). Kits de diagnóstico ALT (ALT, EC.2.6.1.1) y (AST) (AST, E.C.2.6.1.2) (Kit Diagnostic Chemicals Lt, Canadá).

Inducción de hepatotoxicidad y tratamientos

Al grupo control (testigo) se le administró el vehículo por vía intraperitoneal (i.p.) durante 8 días consecutivos, entre las 8:00 y 10:00 a.m., en un volumen de 2 mL/kg de peso corporal. Al segundo grupo (ACMF) se le administró el vehículo por vía i.p. durante 7 días consecutivos, en un volumen de 2 mL/kg de peso corporal, y al octavo día se le administró acetaminofén, en una dosis única de 750 mg/kg de peso corporal vía i.p. Los grupos de tratamiento recibieron una de las dosis 4 equivalentes a: 20,08, 54,59, 148,4 y 244,69 mg/kg de peso corporal del EHRJ por vía oral (v.o.) con una cánula metálica, durante 7 días consecutivos. Al octavo día se les administró acetaminofén en una dosis única de 750 mg/kg de peso corporal vía i.p. A otro grupo se le administró acetaminofén en una dosis única de 750 mg/kg de peso corporal vía i.p., 90 min después se les administró vía oral la N-acetil-L-cisteína (NAC) en una dosis única de 1 200 mg/kg. Las ratas se anestesiaron 24 h después de la última administración, vía i.p (2.5 mL/kg mezcla anestésica), para obtener muestras de sangre por punción cardíaca (jeringas estériles de 3 mL heparinizadas).

Cuantificación de enzimas séricas

Se extrajeron de 1 a 3 mL de muestra sanguínea de cada rata, se vertieron en tubos de ensayo previamente heparinizados 0.2 mL_{hepar}/mL_{sangre}. Las muestras sanguíneas se centrifugaron a 3 000 rpm/10 min, para separar el suero, este se colocó en viales *Eppendorf* y se mantuvieron a temperatura de - 2 °C hasta su uso para la cuantificación enzimática.

Para la determinación de ALT, se colocaron 20 µL de muestra de suero en un vial *Eppendorf*, y se añadieron 600 µL del reactivo ALT del kit de diagnóstico, La sensibilidad del método es de 4-800 UI/L. Esta mezcla se incubó a 37 °C durante 3 a 5 min; transcurrido este tiempo se determinó la absorbancia a 340 nm (Beckman, DU 650-Spectrophotometer, USA), y se incubó nuevamente a 37 °C. Se realizaron 2 lecturas más de absorbancia por intervalos de 1 min. Este procedimiento se realizó por triplicado.

Para la cuantificación de AST, se prepararon los reactivos. A 20 µL de muestra del suero se añadieron 350 µL de la mezcla del reactivo AST, se incubó a 37 °C durante 3 a 5 min. Se determinó la absorbancia a 340 nm, se incubó de nuevo a 37 °C. Se realizaron 2 lecturas más de absorbancia por intervalos de 1 min. Este procedimiento se hizo por triplicado.

La actividad de las enzimas ALT y AST se expresa en unidades por litro (U/L), y se calculó con la fórmula siguiente:

$$\text{ALT, AST U/L} = \frac{\Delta A/\text{min} \times \text{vol. total de la reacción (mL)} \times 1\,000}{6,22 \times \text{paso de luz (cm)} \times \text{vol. de la muestra (mL)}}$$

Donde:

$\Delta A/\text{min}$ = cambio de absorbancia por minuto

1 000= conversión de U/mL a U/L

6,22= coeficiente de absorbancia de NADH a 340 nm.

Estudio histopatológico

Después de obtener las muestras sanguíneas, los animales se sacrificaron por dislocación cervical y se expuso el parénquima hepático. El estudio se realizó en el laboratorio de Histopatología, del Departamento de Producción Agrícola y Animal, UAM-X.

Cada órgano se observó macroscópicamente, para identificar petequias, cambio de coloración, o señales de daño. Se realizaron cortes de tejido de 1 cm. Cada corte se colocó en el *histoquinete* para lograr la deshidratación del tejido; inmersión durante 1 h en cada uno de los medios siguientes: alcohol (30, 50, 60, 70, 80 al 90 %, alcohol absoluto, xilol), xilol-parafina y parafina. Posteriormente se colocaron hasta el fondo en una base cuadrada de metal, la parafina ya caliente se vació en esta base, se enfrió por refrigeración para solidificar y formar los cubos o bloques de parafina. Una vez formados se colocaron en el micrótopo (*American Optical Corporation*) para realizar cortes de 4 a 5 μm . El corte se pasó a un recipiente con agua a una temperatura de 40 a 45 °C, lo que permite la máxima extensión del tejido sin desintegración. Una vez extendido el tejido de manera correcta, se utilizó un portaobjetos esmerilado para obtener al menos 3 muestras de tejido del mismo hígado, después se dejó en una plancha de teflón para que fijar el tejido y adherir al portaobjetos, y enfriar. El portaobjetos con el tejido se colocó en una canastilla para tinción (xilol: alcohol: alcohol/70 %/60 %/30 %:hematoxilina:eosina:alcohol 30 %/60 %/70 %:alcohol/xilol).

Finalizada la tinción se le colocó al portaobjetos 1 o 2 gotas de resina y se colocó un cubreobjetos, se dejó secar. La valoración microscópica de los tejidos se hizo con un microscopio óptico en 10, 40 y 100 \times (Olympus Optical Co, LTD, Modelo CHS, Japón). Los criterios para evaluar el daño hepático fueron: no daño (0), mínimo (1-25 %); medio (26-50 %); moderado (51-75 %); severo (>75 %).

Tratamiento estadístico

Los datos obtenidos de experimentos por triplicado se expresan como la media \pm el error estándar de la media de grupos de 6 ratas. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa estadístico de SPSS. El diseño estadístico fue un análisis de varianza de una vía, seguida por una prueba de comparaciones múltiples (Tukey), con un nivel de significación de $p < 0,01$.

RESULTADOS

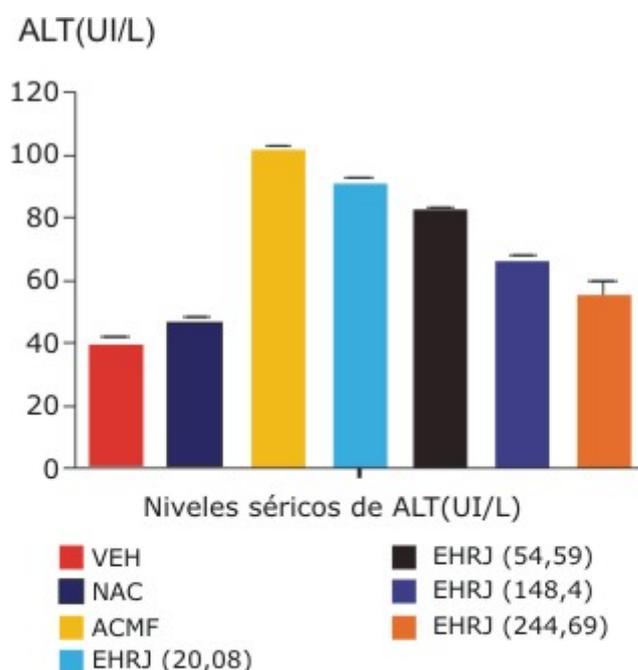
Cuantificación de enzimas

El efecto de diferentes dosis del EHRJ en los niveles de ALT y AST comparados con el grupo sin tratamiento (ACMF) y con NAC, en el modelo de hepatotoxicidad por acetaminofén en ratas Wistar se presenta en la tabla. En el grupo de ratas no tratadas, los niveles enzimáticos se elevaron a más del doble en respuesta a la sobredosis de acetaminofén. La reducción de los niveles enzimáticos en los grupos bajo tratamiento con el extracto son dosis dependiente. Los niveles séricos de ALT y AST en el grupo tratado con NAC comparados con el control (vehículo) no mostraron diferencia, y los niveles de enzimas del grupo de ratas tratadas con la dosis de 244,69 mg/kg del extracto del rizoma del jengibre, no mostraron diferencia comparado con el grupo tratado con dosis única de NAC.

Tabla. Efecto de diferentes dosis del extracto hidroalcohólico del rizoma de *Zingiber officinalis* (p.o.) y N-acetil-cisteína (p.o) en la concentración sérica de alanino aminotransferasa y aspartato aminotransferasa en ratas con sobredosis de acetaminofén

Grupos	Alanino aminotransferasa (UI/L)	% de reducción	Aspartato aminotransferasa (UI/L)	% de reducción
Control	38,18 ± 1,41	-	39,31 ± 3,04	-
Acetaminofén	106,80 ± 2,95	0	102,12 ± 1,15	0
EHRJ 20,08 mg/kg	95,40 ± 1,20	89,3	91,19 ± 2,08	89,3
EHRJ 54,59 mg/kg	77,73 ± 1,64	72,7	82,61 ± 0,85	80,9
EHRJ 148,4 mg/kg	68,79 ± 0,47	64,4	66,58 ± 0,58	65,2
EHRJ 244,69 mg/kg	57,98 ± 2,15 ^(*)	54,3	55,49 ± 1,67	54,3
N-acetil-cisteína	48,67 ± 4,87 ^(*)	45,5	46,12 ± 2,4	45,2

EHRJ: extracto hidroalcohólico del rizoma de *Zingiber officinalis*.

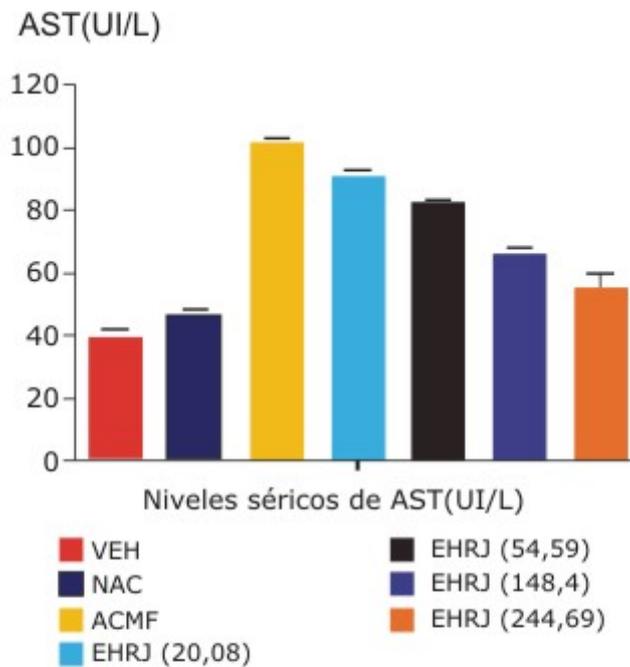


VEH: grupo control, NAC: N-acetil-cisteína, ACMF: acetaminofén, EHRJ: extracto hidroalcohólico del rizoma de *Zingiber officinalis*, ALT: alanino amino transferasa.

Fig. 1. Concentración sérica de ALT (UI/L) en muestras de ratas tratadas y no tratadas con diferentes dosis del EHRJ (representa la media n= 6 y EE). ANDEVA seguida por una prueba de Tukey (p< 0,01).

La reducción de la enzima ALT fue gradual en los grupos tratados con el EHRJ con tendencia a la normalización. El efecto máximo se observó con la dosis de 244,69 mg/kg, que equivale a 54,3 % de reducción con respecto al grupo sin tratamiento, lo cual refleja el efecto del ACMF en los niveles de enzimas en suero (Fig. 1).

En la figura 2 se aprecian los niveles de enzima AST en ratas tratadas concomitantemente por 8 días con el EHRJ, en respuesta a diferentes dosis, del grupo control (vehículo) y del grupo tratado con NAC.



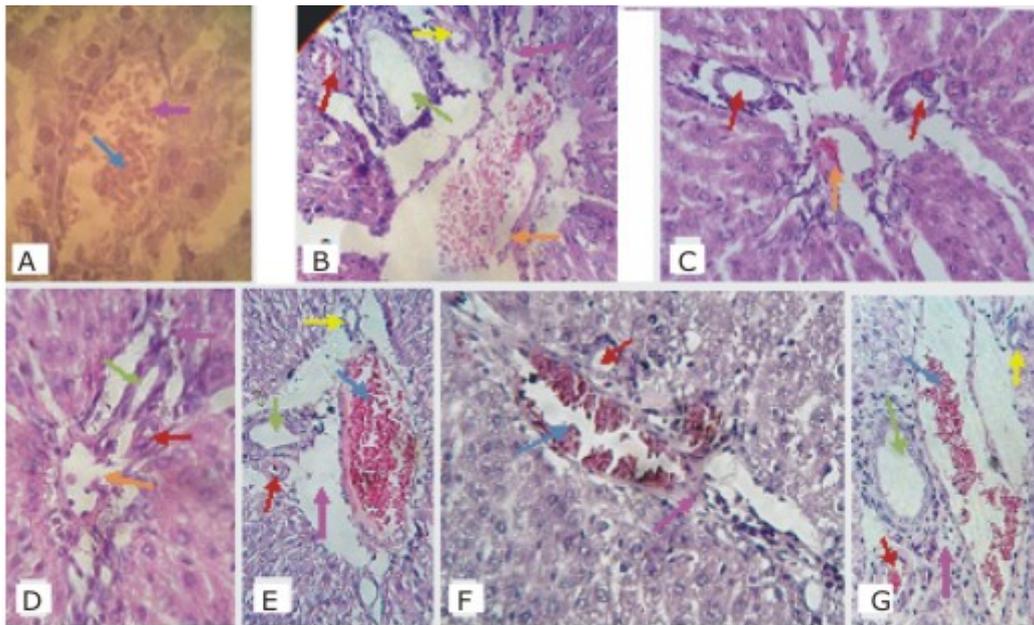
VEH: grupo control, NAC: N-acetil-cisteína, ACMF: acetaminofén, EHRJ: extracto hidroalcohólico del rizoma de *Zingiber officinalis*, AST: aspartato aminotransferasa.

Fig. 2. Concentración sérica de AST (UI/L) en muestras de ratas tratadas y no tratadas con diferentes dosis del EHRJ (representa la media n= 6 y EE). ANDEVA seguida por una prueba de Tukey ($p < 0,01$).

Estudio histopatológico

El daño del parénquima hepático por sobredosis del paracetamol (asociado con el metabolito hiperreactivo NAPQI), se evaluó, determinando la presencia de eritrocitos, la integridad de los espacios sinusoides, integridad de la región portal, presencia de células Kupffer, uniformidad de las trabéculas y variabilidad en el tamaño de los hepatocitos.

En respuesta a la carga de acetaminofén, en el grupo sin tratamiento, se observó un perfil que describe el daño en tejido hepático (Fig. 3).



A: control; B: ACMF (+); C: EHRJ Dosis 1; D: EHRJ Dosis 2; E: EHRJ Dosis 3; F: EHRJ Dosis 4; G: NAC (tinción H-E, x40).
NAC: N-acetil-cisteína, ACMF: acetaminofén, EHRJ: extracto hidroalcohólico del rizoma de *Zingiber officinalis*.

Fig. 3. Tríada portal.

En el grupo control (testigo), en el del EHRJ dosis 3, dosis 4 y de NAC, se observa la vena portal congestionada por eritrocitos pero bien definida por su membrana (!). En el grupo control, dosis 1 y dosis 2 de EHRJ, se observa la vena portal con presencia de eritrocitos y su membrana fraccionada (!). El tejido conectivo del espacio de Kiernan no se distingue con claridad en la mayoría de las muestras hepáticas (desintegración del tejido) (!), en el único grupo donde se apreció mejor fue en el del NAC. Los vasos linfáticos (!) se observan de forma clara en el control (C), dosis 3 y NAC, El conducto biliar (!) se conserva en el control (testigo), dosis 2, dosis 3 y NAC, con morfología uniforme.

Se encontraron cambios morfológicos en la región portal y en los espacios sinusoides, hemorragias, exceso de células Kupffer y variabilidad en el tamaño de los hepatocitos. Se apreciaron espacios abiertos en el tejido (disgregación). En los espacios sinusoides se observa acumulación de eritrocitos (51-75 %) lo cual sugiere hemorragias, y disgregados. Presencia abundante de células Kupffer (50-75 %) en los lobulillos. No se observó necrosis centrolobulillar.

En el grupo tratado con la dosis baja (20,08 mg/kg), se observó daño comparable al del grupo sin tratamiento (ACMF). Daño intralobulillar en casi todo el tejido. Espacios abiertos en el tejido (disgregación). Los espacios sinusoides muy disgregados con acumulación de eritrocitos (51-75 %), además de cambios morfológicos en las regiones portales (> 75 %). Presencia de células Kupffer (50-75 %). Moderada uniformidad de las trabéculas.

En el grupo de tratamiento dosis 54,59 mg/kg, se observó moderada integridad de los espacios sinusoides, así como de la región portal. Moderada presencia de células de Kupffer, y uniformidad de las trabéculas.

En el grupo tratado con la dosis de 148,4 mg/kg del EHRJ se observó daño moderado del parénquima hepático; moderada integridad de los espacios sinusoides y de la región de la tríada portal; moderada presencia de eritrocitos en los espacios sinusoides (25-50 %), y de células Kupffer (25-50 %); moderada uniformidad de las trabéculas.

Tanto en el grupo no tratado (ACMF), como en los grupos de tratamiento con las 3 dosis: 20,08; 54,59; 148,4 mg/kg del EHRJ, se observaron zonas de alteración en la morfología de las trabéculas de Remak; los hepatocitos presentaron una estructura morfológica alterada de deformación, alargamiento, pequeños o muy hinchados, así como hepatocitos bifusionados. Sin embargo, los núcleos de la mayoría se observaron regulares.

En respuesta al tratamiento con EHRJ en la dosis de 244,69 mg/kg, el daño por acetaminofén fue menor, porque se observó: mínima presencia de eritrocitos (1-24 %), moderada integridad en los espacios sinusoides e integridad de la región portal y de la tríada portal con morfología homogénea. Mínima presencia de células Kupffer (1-24 %). Las trabéculas de Remak con morfología uniforme y los hepatocitos se observaron con núcleo redondo y regular.

En el grupo de tratamiento con NAC se observó morfología regular, no se apreció daño en el parénquima hepático ni en la vena central. Integridad de los espacios sinusoides e integridad de la región portal y de la tríada portal. Mínima presencia de eritrocitos y de células Kupffer (1-24 %). Las trabéculas de Remak con morfología uniforme, y los hepatocitos se observaron con núcleo redondo y regular.

DISCUSIÓN

El extracto preparado del rizoma fresco de *Z. officinale* administrado por vía oral, durante 8 días consecutivos en ratas con daño hepático agudo inducido por sobredosis de acetaminofén, ejerció reducción de los bio-marcadores de la lesión hepática. El efecto fue dosis dependiente, produciendo la reducción de la concentración sérica de las enzimas ALT y AST.

La normalización de las enzimas se obtuvo con la dosis más alta de 244,69 mg/kg, con la cual el nivel sérico fue equivalente al de NAC. La ALT ha sido una de las enzimas de referencia como marcadores biológicos de daño hepático en estudios clínicos de toxicidad por acetaminofén.²¹ En nuestro estudio se observó equivalencia entre las concentraciones de ALT y AST. El efecto hepatoprotector observado por el EHRJ puede reflejar el aumento del balance de antioxidantes de origen exógeno, que modulan la respuesta a acetaminofén en las células hepáticas murinas. La disposición de fármacos de venta libre o por prescripción como el acetaminofén para el tratamiento de fiebre o dolor, hace que este sea uno de los de mayor demanda y con frecuencia usado clínicamente. Esto a su vez conlleva la generación de riesgos asociados con dosis múltiples y sobredosificación accidental, debido al proceso metabólico que exacerba la formación de radicales libres, y de NAPQI, lo cual induce daño hepático irreversible, y como consecuencia de ello una alteración en el proceso homeostático normal. La relevancia de los sistemas antioxidantes endógenos se basa en que actúan reduciendo la formación de radicales libres y atrapándolos, bloquean su propagación o interaccionan directamente con estos; esos sistemas actúan como

adyuvantes para mantener la homeostasis. Algunos de estos sistemas son la catalasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa, ácido úrico, proteínas, y otros.

El estado antioxidativo tiene un fuerte soporte en los componentes de la dieta diaria, porque el consumo de compuestos naturales con capacidad antioxidante como los flavonoides, polifenoles, β -caroteno, -tocoferol, vitamina C, tiene un impacto benéfico en el balance redox protector de daño celular.²²

En nuestro estudio, la NAC presentó eficacia como agente hepatoprotector, al disminuir los niveles enzimáticos de ALT y AST comparables al grupo control (vehículo), y mostrar integridad del tejido hepático en la dosis administrada por la vía oral en el grupo de ratas tratadas.

Se ha documentado el riesgo de desarrollar hepatotoxicidad en niños que reciben tratamiento antipirético en enfermedades febriles, después de recibir dosis entre 60 y 420 mg/kg/día.²³ En la terapéutica clínica los casos de hepato-toxicidad por acetaminofén son tratados con NAC, como uno de los tratamientos pioneros desde finales de los años ochenta. Prescott y otros²⁴ mostraron la eficacia de la N-acetilcisteína, en casos de intoxicación por acetaminofén en humanos. Es un sistema que modula a metabolitos altamente reactivos, porque actúa proporcionando grupos sulfidrilo que reaccionan con el metabolito tóxico (NAPQI),²⁵ lo cual previene el daño a los hepatocitos. La eficacia de la NAC es tiempo y dosis dependiente, porque depende de si se administra en las primeras 8 h, y 24 h posteriores a la intoxicación.²⁶

La administración posterior compromete la eficacia, porque se produce la cascada de reacciones tóxicas en el hígado, y el riesgo de necrosis hepática aumenta de manera considerable. Siendo un tratamiento estandarizado no está exento de efectos adversos como hipernatremia e hipervolemia en niños,²⁷ reacciones anafilácticas (vía intravenosa) asociadas con sobredosis de NAC. Se han identificado síntomas como prurito, *rash* cutáneo, angioedema, broncoespasmo, taquicardia, hipotensión, náusea y vómito, con una alta incidencia de 48 %.²⁸ En el caso de broncoespasmo se limita su uso en pacientes asmáticos.²⁹ Además, que la NAC tiene un olor pútrido, el cual es difícil de enmascarar su sabor. Existe controversia en cuanto a la vía de administración más eficaz y segura: oral vs. intravenosa, porque la vía oral ejerce un efecto de primer paso, lo cual produce dosis elevadas con riesgo de mayor daño hepático.³⁰

El rizoma de jengibre es muy común en la dieta humana entre una diversidad de culturas en los diversos continentes. El beneficio de su consumo se ha asociado al mecanismo de acción antioxidante/antiinflamatorio.³¹ El [6]-gingerol es uno de los principales polifenoles del *Z. officinale* que presenta importante actividad antioxidante: reduce la elevación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y de atrapar peróxidos intracelulares *in vitro* en células hepáticas (hepatoma ascítico de ratas).³²

Se ha mostrado el efecto citoprotector de extractos obtenidos del rizoma de jengibre y de fracciones obtenidas de extractos, en modelos *in vivo*. Yemitan e Izebu³³ reportaron un menor daño hepático en ratas pretratadas con extracto hidroalcohólico del aceite del rizoma. En otro estudio, se observó efecto antioxidante/hepatoprotector dosis-dependiente, al evaluar compuestos tipo fenólicos como gingeroles, zingeronas y shogaoles, obtenidos de un extracto hidroalcohólico 95 % del rizoma fresco en estudio *in vitro*, en células hepáticas de rata, con daño oxidativo inducido por H₂O₂. Presentaron efecto significativo en diferentes bioensayos, 3 compuestos: 6-shogaol, 10-gingerol y un enona-diaril-heptanoide.⁷

En el modelo en ratas de este estudio, el jengibre fue bien tolerado por la vía oral en las dosis evaluadas, lo cual es comparable a estudios publicados tanto en animales como en humanos. Aquí se provee evidencia de que el estado antioxidante protege de

daño hepático en ratas, frente al reto con sobredosis de acetaminofén. Confirma los usos etnomédicos del jengibre como desintoxicante, previniendo hepatotoxicidad quizá por un mecanismo que previene la cascada de radicales libres y modula el proceso hepatotóxico.

El jengibre es parte de la dieta humana en países asiáticos. En tratamientos de corto plazo en humanos es bien tolerado. En dosis diarias de 510 mg del rizoma seco en polvo, durante 6 semanas, se observan trastornos menores frecuentes de tipo gastrointestinales (eructos, dispepsia y náusea).^{34,35} El conjunto de reportes en la literatura confirma baja toxicidad, sin embargo, se recomienda conducir más estudios en humanos para determinar el perfil de eficacia y seguridad en preparaciones habituales durante períodos prolongados.⁸

En conclusión, en este estudio el EHRJ ejerció un efecto protector dosis-dependiente al normalizar los niveles de las enzimas ALT y AST, minimizando los signos de toxicidad generada por acetaminofén. Dado que los principios activos más importantes identificados en el rizoma (gingeroles, shogaoles y diaril-heptanoides) ejercen una fuerte actividad antioxidante, se considera que estarían implicados en favorecer procesos de modulación de toxicidad por acetaminofén y favorecer la homeostasis.

AGRADECIMIENTOS

A la MSc. *Beatriz González Hidalgo*, Coordinadora del Herbario de la UAM-Xochimilco, por su asistencia al autenticar la muestra en depósito. A la Mtra. *Edith Zarco Vite*, Coordinadora del Taller de Lenguas Extranjeras, por su valiosa asistencia técnica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kapoor LD. Handbook of Ayurvedic medicinal plants. USA: CRC Press, Boca Ratón; 1990. p. 341-2.
2. Keys JD. Chinese Herbs. Japan: Ch E Tuttle Co. Inc. Tokyo; 1991. p. 77-8.
3. Funk JL, Frye JB, Oyaso JN, Trimmerman BN. Comparative effects of two gingerol-containing *Zingiber officinale* extracts on experimental rheumatoid arthritis. J Nat Prod. 2009;72(3):403-7.
4. Blumenthal M, Busse WR, Goldberg A, Gruenwald J, Hall T, Riggins W, et al. Eds. German Commission E Monographs. Austin (TX): American Botanical Council; 1998. p. 135-6.
5. Weider MS, Sigwart K. Investigation of the teratogenic potential of a *Zingiber officinale* extract in the rat. Reprod Toxicol. 2001;15(1):75-80.
6. Tao QF, Xu Y, Lam RY, Schneider B, Dou H, Leung PS, et al. Diarylheptanoids and a monoterpenoid from the rhizomes of *Zingiber officinale*: antioxidant and cytoprotective properties. J Nat Prod. 2008;71(1):12-7.
7. Peng F, Tao Q, Wu X, Dou H, Spencer S, Mang Ch, et al. Cytotoxic, cytoprotective and antioxidant effects of isolated phenolic compounds from fresh ginger. Fitoterapia. 2012;83(3):568-85.

8. Ajith TA. Ameliorating reactive oxygen species-induced *in vitro* lipid peroxidation in brain, liver mitochondria and DNA damage by *Zingiber officinale* Roscoe. *Ind J Clin Biochem.* 2010;25(1):67-73.
9. Funk JL, Frye JB, Oyarzo JN, Timmermann BN. Comparative effects of two gingerol-containing *Zingiber officinale* extracts on experimental rheumatoid arthritis. *J Nat Prod.* 2009;72(3):403-7.
10. Ahmed RS, Seth V, Banerjee BD. Influence of dietary ginger (*Zingiber officinale* Rose) on antioxidant defense system in rat: comparison with ascorbic acid. *Indian J Exp Biol.* 2000;38(6):604-6.
11. Ahmed RS, Seth V, Pasha ST, Banerjee BD. Influence of dietary ginger (*Zingiber officinales* Rose) on oxidative stress induced by malathion in rats. *Food Chem Toxicol.* 2000;38(5):443-50.
12. Russell FM, Shann F, Curtis N, Muljolland K. Evidence on the use of paracetamol in febrile children. *Bull World Health Org.* 2003;81(5):367-72.
13. Warner TD, Giuliano F, Vojnovic I, Bukasa A, Mitchell JA, Vane JR. Non-steroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full *in vitro* analysis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999;96(13):7563-8.
14. Sumioka I, Matura T, Yamada K. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: Still an important issue. *Yonago Acta Med.* 2004;47(2):18-28.
15. Corcoran GB, Mitchell JR, Vaishnav YN, Horning EC. Evidence that acetaminophen and N-hydroxy-acetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinoneimine. *Mol Pharmacol.* 1980;18(3):536-42.
16. Jollow DJ, Mitchell JR, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. II Role of covalent binding *in vivo*. *J Pharmacol Exp Ther.* 1973;187(1):195-202.
17. Lores Arnaiz S, Llesuy S, Cutrin JC, Boveris A. Oxidative stress by acute acetaminophen administration in mouse liver. *Free Radic Biol Med.* 1995;19(3):303-10.
18. Lauterburg BH, Corcoran GB, Mitchell JR. Mechanism of action of N-acetyl-cysteine in the protection against the hepatotoxicity of acetaminophen in rats *in vivo*. *J Clin Invest.* 1983;71:980-91.
19. NIH. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington, DC. USA: National Academy Press; 1996. p. 19.
20. Norma Oficial Mexicana. NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones Técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de Laboratorio. México: Diario Oficial de la Federación; 1999.
21. Woo OF, Mueller PD, Olson KR, Anderson IB, Kim SY. Shorter duration of oral N-acetylcysteine therapy for acute acetaminophen over-dose. *Ann Emerg Med.* 2000;35(4):363-8.
22. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod.* 2000;63(7):1035-42.

23. Kozler E, Koren G, Management of paracetamol overdose. Drug Safety. 2001;24(7):503-12.
24. Prescott LF, Park J, Ballantyne A, Adriaenssens P, Proudfoot AT. Treatment of paracetamol (acetaminophen) poisoning with N-acetylcysteine. Lancet. 1977;2(8035):432-4.
25. Manyike PT, Kharasch ED, Kalhorn TF. Contribution of CYP2E1 and CYP3A to acetaminophen reactive metabolite formation. Clin Pharmacol Ther. 2000;67(3):275-82.
26. Smilkstein MJ, Knapp GL, Kulig KW, Rumack BH. Efficacy of oral N-acetyl-cysteine in the treatment of acetaminophen overdose. Analysis of the national multicenter study (1976 to 1985) N Engl J Med. 1988;319(24):1557-62.
27. Sung L, Simons JA, Dayneka NL. Dilution of intravenous N-acetyl-cysteine as a cause of hyponatremia. Pediatrics. 1997;100(3 Pt 1):389-91.
28. Lynch RM, Robertson R. Anaphylactoid reactions to intravenous N-acetyl-cysteine: a prospective case controlled study. Accident Emerg Nurs. 2004;12(1):10-5.
29. Appelboam AV, Dargan PI, Knighton J. Fatal anaphylactoid reaction to N-acetyl-cysteine: caution in patients with asthma. Emerg Med J. 2002;19(6):594-5.
30. Kanter MZ. Comparison of oral and i.v. acetylcysteine in the treatment of acetaminophen poisoning. Am J Health-SystPharm. 2006;63(19):1821-7.
31. Surh YJ. Antitumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and antiinflammatory activities: a short review. Food Chem Toxicol. 2002;40(8):1091-7.
32. Yagihashi S, Miura Y, Yagasaki K. Inhibitory effect of gingerol on the proliferation and invasion hepatoma cells in culture. Cytotechnology. 2008;57(2):129-36.
33. Yemitan OK, Izegbu MC. Protective effects of *Zingiber officinale* (Zingiberaceae) against carbon tetrachloride and acetaminophen induced hepatotoxicity in rats. Phytother Res. 2006;20(11):997-1002.
34. Altman RD, Marcussen KC. Effects of a ginger extract on knee pain in patients with osteoarthritis. Arthritis Rheum. 2001;44(11):2531-8.
35. Zakeri Z, Izadi S, Bari Z, Soltani F, Narouie B, Ghasemi-Rad M. Evaluating the effects of ginger extract on knee pain, stiffness and difficulty in patients with knee osteoarthritis. J Med Plants Res. 2011;5(15):3375-9.

Recibido: 8 de marzo de 2013.

Aprobado: 13 de mayo de 2013.

Teresa Izquierdo Sánchez. Laboratorio de Fitofarmacología. Departamento de Sistemas Biológicos. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. UAM-X. México, D.F.: México. Correo electrónico: tizquier@correo.xoc.uam.mx
