

Efecto del cedrón (*Aloysia citradora*) sobre la actividad catalítica de la peroxidasa a nivel hepático del pollo (*Gallus gallus domesticus*) y cobayo (*Cavia porcellus*)

Effect of lemon verbena (*Aloysia citradora*) on the catalytic activity of peroxidase in the liver of chickens (*Gallus gallus domesticus*) and guinea pigs (*Cavia porcellus*)

José Salomón Murrugarra Abanto^{1*}, Alex Milton Gaspar Angulo¹

¹Facultad de Educación, Universidad Nacional de Cajamarca, Av. Atahualpa 1050, C.P. 06003, Cajamarca, Perú

*Autor de correspondencia: jmurrugarra@unc.edu.pe

Resumen

El objetivo del trabajo fue evaluar la actividad catalítica de la peroxidasa presente en hígado de pollo y cobayo, mediante la adición de 0,1 mL de homogenizado de cedrón. Se utilizó 1 g para todas las muestras. La actividad peroxidásica en el cedrón varió entre 42,177 y 69,268 mM/min; en el hígado de pollo osciló entre 45,066 y 42,411 mM/min; y en el hígado de cobayo entre 61,083 y 41,259 mM/min, con la adición del extracto de cedrón. Estos resultados indican que el cedrón tiene un efecto antioxidante.

Palabras clave: Actividad catalítica, la hidroquinona, cedrón, hígado de pollo y cobayo, el peróxido de hidrógeno, especies reactivas de oxígeno (ROS), especies reactivas de nitrógeno (RNS)

Abstract

The work was carried out with the purpose of evaluating the catalytic activity of peroxidase, which is present in chicken and guinea pig liver by adding 0.1 mL of lemon verbena homogenate. We worked with 1g for all samples. The peroxidase activity in lemon verbena varies from 42.177 to 69.268 mM/min; for chicken liver from 45.066 to 42.411 mM/min and for guinea pig liver from 61.083 to 41.259 mM/min with the addition of 0.1 mL of lemon verbena extract, which indicates that it has an antioxidant effect.

Key words: Catalytic activity, hydroquinone, lemon verbena, chicken and guinea pig liver, hydrogen peroxide, reactive oxygen species (ROS), reactive nitrogen species (RNS)

Introducción

La organización estructural del hígado, compuesto por elementos vasculares y parenquimales se adapta a las funciones específicas como un guardián presente entre el tracto gastrointestinal y el resto del organismo. Esta localización permite el manejo de gran cantidad de nutrientes, aminoácidos, lípidos, carbohidratos, vitaminas, minerales y xenobioticos polulantes que entran en el cuerpo a través de los alimentos y el agua.

El hígado es un órgano multifuncional que juega un rol importante en muchos aspectos de las actividades de la vida, tal como el metabolismo, biosíntesis, secreción y detoxificación. Es un órgano altamente dependiente de energía y fácilmente afectado por diferentes factores nocivos incluyendo virus, alcohol, ácidos biliares tóxicos, ácidos grasos y fármacos (Maiesc, 2009).

Los radicales libres de oxígeno (ROS), son aniones superóxidos (O_2^-), peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y radicales oxidrilos (OH^-) y los radicales libres de nitrógeno (RNS) comprende radical de óxido nítrico (NO^-) y sus derivados peroxinitrito ($ONOO^-$) o trióxido de nitrógeno (N_2O_3). Fuentes endógenas de O_2^- , la cadena respiratoria, NADPH Oxidasa, xantino oxidasa y NADPH citocromo P450. Derivados intracelulares de O_2^- es rápidamente dismutado a H_2O_2 por el superóxido dismutasa mitocondrial o citosólica (SOD). En presencia de iones metálicos, el H_2O_2 y el O_2^- son convertidos a HO^- , un oxidante altamente potente que induce daño a proteínas celulares, lípidos y ADN. Es bien reconocido que diferentes concentraciones de ROS/RNS median distintas respuestas celulares, mientras altas concentraciones de ROS/RNS inducen daño oxidativo a macromoléculas que guían al estrés oxidativo – nitroso; bajo o moderadas concentraciones son importantes en la señalización celular y regulación de varios procesos biológicos.

El balance de daño y beneficio considerado por ROS/RN, se logra a través de las reacciones de regulación REDOX, referido a las reacciones enzimáticas con roles específicos en el mantenimiento de la homeostasis REDOX de proteínas diana que son esenciales para las función celular y supervivencia. Los efectos citotóxicos de ROS/RN son amortiguados por mecanismos antioxidantes intracelulares que mantienen el balance de las especies reducidas y oxidadas (Maiesc, 2009).

Una variedad de fuentes de radicales libres se encuentran en el hígado y pueden ser clasificados, como mitocondriales principalmente de los complejos I y III y extramitocondriales tales como Citocromo P450, Xantina oxidasa, óxido nítrico sintetasa, NADPH Oxidasa. Mientras los neutrofilos y células kupffer son los productores primarios de radicales libres, el mayor sitio de liberación de ROS en los hepatocitos es el sistema del citocromo P450 y la mitocrondia.

Aunque estas fuentes múltiples de ROS son estrictamente controladas en los hepatocitos normales, en enfermedades hepáticas una sobreproducción de radicales libres vence las defensas antioxidantes pueden ocurrir e inducir injuria hepática o hepatotoxicidad. En este escenario muestra una estrecha relación entre las enfermedades hepáticas y la producción de ROS (Muriel, 2014).

Cedrón (*Aloysia citradora*) es un arbusto miembro de la familia de las verbenáceas que se cultiva en los jardines y huertos de Cajamarca, Perú y en Sudamérica. Es una planta aromática que se utiliza en nuestra alimentación en forma de infusiones por sus propiedades antifatulentas y conservantes porque es rica en compuestos antioxidantes; tales como polifenoles, ácido ascórbico y carotenoides (Athanasiadis et al., 2024).

En medicina tradicional sus infusiones son utilizadas en el tratamiento de problemas digestivos, flatulencias, indigestión, y acidez, y en la industria alimentaria como conservante y antimicrobiano (Rodrigue, 2023).

Materiales y métodos

Materiales

Se utilizaron como material biológico hígado de pollo (*Gallus gallus domesticus*), hígado de cobayo (*Cavia porcellus*) y cedrón (*Aloysia citriodora*). En cuanto a los reactivos, se emplearon hidroquinona q.p. 0,01 mM, buffer fosfato pH 7,20, peróxido de hidrógeno 10 vol., acetona q.p. y agua destilada. Los equipos utilizados fueron una centrífuga Hermle 2230A, un espectrofotómetro, una balanza analítica Toledo, una balanza Mettler 200, un baño maría y una estufa de esterilización.

Preparación de extractos enzimáticos

Se pesó un gramo de hígado de pollo, corazón de cobayo y hojas de cedrón se pesó 1,2,4,6 y 8 gramos por separado se trituro con 2 mL de alcohol etílico de 95 grados más 10 mL de buffer fosfato pH 7.2, en un mortero hasta obtener una suspensión homogénea, la cual se transfiere a tubos de centrifuga para completar a 15 mL; los que fueron centrifugados a 3000 g por 30 minutos y se separa el sobrenadante, el cual se utiliza como preparado enzimático para determinar la actividad peroxidásica en cada uno de los sobrenadantes.

Se prepararon los siguientes sistemas para hígado (H) de pollo y cobayo, respectivamente, para la determinación de la peroxidásica basal. Para el sistema de hígado de pollo y cobayo, se utilizó un buffer fosfato pH 7,2 (6,0 mL), agua destilada (1,3 mL en el control, 1,0 mL en M1, 0,8 mL en M2 y 0,6 mL en M3), preparado enzimático de hígado (0 mL en el control y 0,3 mL en M1, M2 y M3), hidroquinona 0,01 M (0,2 mL en el control, 0,2 mL en M1, 0,4 mL en M2 y 0,6 mL en M3), y peróxido de hidrógeno 10 Vol. (0,5 mL en todos los sistemas). Después de preparar los sistemas, se incubaron a temperatura ambiente por 30 minutos y luego se midió la absorbancia a 480 nm en un espectrofotómetro Modelo 390 SpectroPhotometer.

Posteriormente, se prepararon los sistemas para cedrón siguiendo una metodología similar. Se utilizó el mismo buffer fosfato pH 7,2 (6,0 mL), agua destilada (1,3 mL en el control, 1,0 mL en M1, 0,8 mL en M2 y 0,6 mL en M3), preparado enzimático de cedrón (0 mL en el control y 0,3 mL en M1, M2 y M3), hidroquinona 0,01 M (0,2 mL en el control, 0,2 mL en M1, 0,4 mL en M2 y 0,6 mL en M3), y peróxido de hidrógeno 10 Vol. (0,5 mL en todos los sistemas). Los sistemas fueron incubados a temperatura ambiente por 30 minutos y luego se procedió a medir la absorbancia a 480 nm en el espectrofotómetro Modelo 390 SpectroPhotometer.

Finalmente, se modificó el sistema anterior variando el volumen del preparado enzimático, utilizando 0,1 mL de homogeneizado de cedrón para hígado de cobayo y pollo. Se prepararon los sistemas con buffer fosfato pH 7,2 (6,0 mL), agua destilada (1,3 mL en el control, 1,0 mL en M1, 0,8 mL en M2 y 0,6 mL en M3), preparado enzimático de hígado (0 mL en el control, 0,2 mL en M1, M2 y M3), preparado enzimático de cedrón (0 mL en el control y 0,1

mL en M1, M2 y M3), hidroquinona 0,01 M (0,2 mL en el control, 0,2 mL en M1, 0,4 mL en M2 y 0,6 mL en M3), y peróxido de hidrógeno 10 Vol. (0,5 mL en todos los sistemas). Después de la incubación a temperatura ambiente por 30 minutos, se midió la absorbancia a 480 nm en el espectrofotómetro Modelo 390 SpectroPhotometer. Se trabajaron con 5 muestras del homogenizado de hígado de cobayo, pollo y cedrón respectivamente.

Resultados y discusión

La actividad catalítica de la peroxidasa se puede cuantificar en una variedad de formas en los sistemas biológicos. En el presente estudio hemos considerado la oxidación de la hidroquinona en presencia del peróxido de hidrógeno.

Determinación de la absorbancia a 480 nm

Tabla 1. Absorbancia del hígado de cobayo a 480 nm

Hígado Basal Cobayo			
SISTEMAS			
	M1	M2	M3
	0,077	0,159	0,229
	0,101	0,150	0,196
	0,029	0,067	0,082
	0,055	0,058	0,059
	0,036	0,060	0,087
	0,054	0,113	0,146
	0,042	0,115	0,143
Promedio	0,056	0,103	0,135
Cedrón Basal 0,3 mL			
	0,121	0,108	0,099
	0,126	0,12	0,175
	0,112	0,132	0,138
	0,062	0,550	0,041
	0,066	0,102	0,092
Promedio	0,097	0,202	0,109
Hígado 0,2 mL + Cedrón 0,1 mL			
	0,087	0,114	0,218
	0,096	0,128	0,146
	0,092	0,096	0,107
	0,078	0,098	0,099
	0,060	0,077	0,083
	0,065	0,092	0,116
	0,094	0,103	0,137
Promedio	0,082	0,101	0,129

Tabla 2. Absorbancia de hígado de pollo a 480 nm

Hígado Basal Pollo			
SISTEMAS			
	M1	M2	M3
	0,234	0,300	0,270
	0,148	0,238	0,253
	0,143	0,195	0,260
	0,155	0,138	0,156
	0,130	0,210	0,403
	0,156	0,225	0,411
Promedio	0,161	0,218	0,292
Cedrón Basal 0,3 mL			
	0,115	0,113	0,110
	0,067	0,112	0,112
	0,230	0,229	0,230
	0,245	0,334	0,297
	0,225	0,328	0,255
Promedio	0,176	0,223	0,201
Hígado 0,2 ml + Cedrón 0,1 mL			
	0,157	0,190	0,247
	0,104	0,123	0,116
	0,103	0,089	0,120
	0,192	0,232	0,395
	0,198	0,253	0,363
	0,196	0,272	0,378
	0,159	0,252	0,369
Promedio	0,158	0,202	0,284

La Tabla 2 muestra las absorbancias de las muestras del homogenizado del hígado basal de pollo (M1, M2 y M3) más cedrón.

Determinación de la actividad peroxidásica

Tabla 3. Actividad peroxidásica promedio de las muestras basales del cedrón para el pollo

	Sistemas			Actividad peroxidásica
	M1	M2	M3	mM/min
Cedrón Basal				
0,3 mL	0,176	0,223	0,201	42,177

Tabla 4. Actividad peroxidásica promedio de las muestras basales del cedrón para el cobayo

	Sistemas			Actividad peroxidásica
	M1	M2	M3	mM/min
Cedrón Basal				
0,3 mL	0,097	0,202	0,527	69,268

Tabla 5. Actividad peroxidásica del pollo (*Gallus gallus domesticus*)

	SISTEMAS			Actividad peroxidásica
	M1	M2	M3	mM/min
Hígado Basal	0,161	0,218	0,292	45,066
Cedrón Basal	0,176	0,223	0,201	42,177
Hígado + 0,1 mL Cedrón	0,158	0,202	0,284	42,411

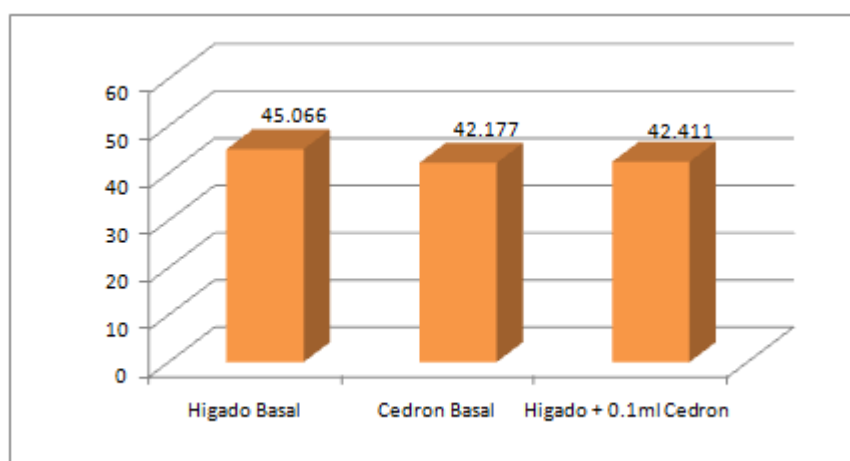


Figura 1. Actividad peroxidásica del homogenizado de hígado de pollo (*Gallus gallus domesticus*) con cedrón

Tabla 6. Actividad peroxidásica de cobayo (*Cavia porcellus*)

	SISTEMAS			Actividad peroxidásica
	M1	M2	M3	mM/min
Hígado Basal	0,056	0,103	0,135	61,083
Cedrón Basal	0,097	0,202	0,109	69,268
Hígado + 0,1 mL Cedrón	0,082	0,101	0,129	41,259

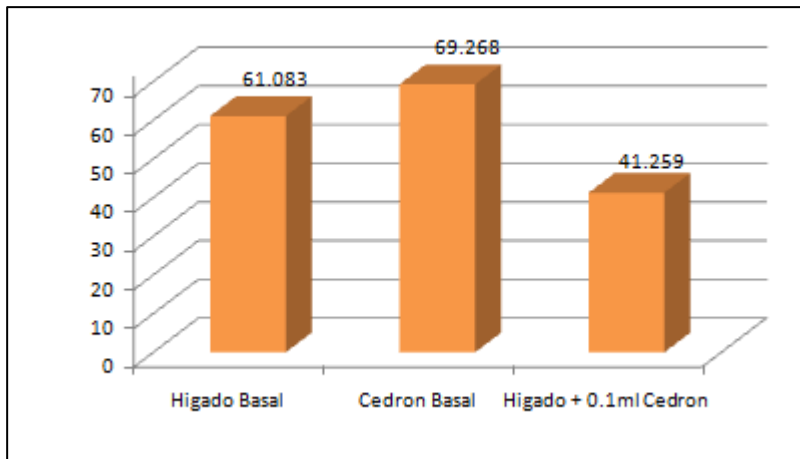


Figura 2. Actividad peroxidásica del homogenizado de corazón de cobayo (*Cavia porcellus*) con cedrón

Procesamiento de la actividad peroxidásica

Tabla 7. Resumen de la actividad peroxidásica promedio

	Pollo	Cobayo
Hígado Basal	45,066	61,083
Cedrón 0,1 mL	42,411	41,259

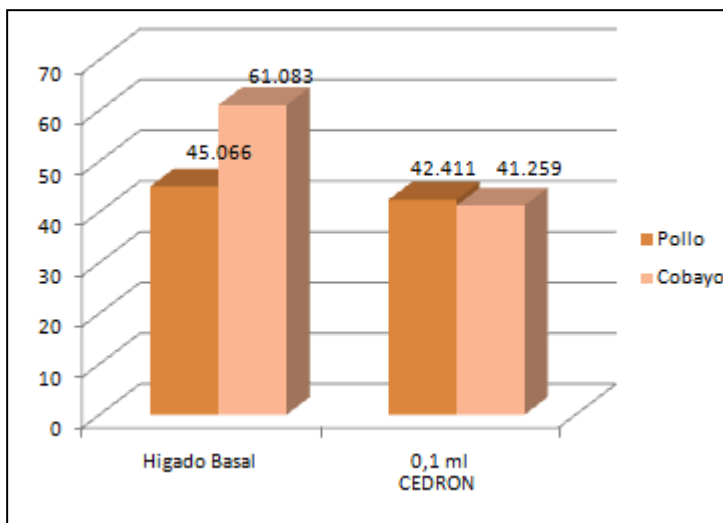


Figura 3. Resúmenes de actividad peroxidásica promedio para hígado de pollo y cobayo

La actividad peroxidásica va de 45,066 mM/min A 42,411 mM/min y para el hígado de cobayo de 61,083 mM/min a 41,259 mM/min, con el agregado de 0,1 mL del homogenizado de cedrón, como observamos hay una disminución en ambos, esto nos demuestra que las hojas de cedrón tienen antioxidantes que pueden ser importantes en la salud hepática y en la preservación de alimentos.

Los polifenoles como antioxidantes son efectivos limpiadores de ROS y RNS debido a sus habilidades para donar hidrogeno (H) y evitar la peroxidación lipídica a nivel celular (Andrescu & Hepel, 2011).

Teniendo esto en cuenta, y lo relacionamos la estructura química de quercitina y verbascoide para proponer la siguiente reacción.

Conclusiones

La actividad peroxidásica en el hígado de pollo es de 45,066 a 42,411 mM/min y la actividad peroxidásica en el hígado de cobayo es de 61,083 a 41,256 mM/min con el agregado de 0,1 mL del homogenizado de cedrón (*Aloysia citrodora*), lo que nos indica que disminuye la actividad peroxidásica en el hígado de ambos animales.

Referencias

Andreescu, S., & Hepel, M. (2011). *Oxidative stress: Diagnostics, prevention, and therapy*. Oxford University Press.

Athanasiadis, V., et al. (2024). Antioxidant-rich extracts from Leon Verbena (*Aloysia citrodora* L.) leaves through response surface methodology. *Oxygen*, 4, 1-19. <https://www.mdpi.com/journal/oxygen>

Bahramsoltani, R., et al. (2018). *Aloysia citrodora* Palau (Lemon verbena): A review of phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. Elsevier.

Maiese, K. (2009). *Neurovascular medicine* (pp. 473-507). Oxford University Press.

Muriel, P. (2014). *Liver pathophysiology* (pp. 605-620). Academic Press.

Rashid, H. M., et al. (2022). Antioxidant and antiproliferation activities on lemon verbena (*Aloysia citrodora*): An in vitro and in vivo study. *MDPI Plants*.

Rodabeh, B., et al. (2018). *Aloysia citrodora* Palau (lemon verbena): A review of phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 222, 34-51.

Rodrigue, T., et al. (2023). *Essential oils as natural antioxidants for the control of food preservation*. Elsevier.

Vieitez, I., et al. (2017). Antioxidant and antibacterial activity of different extracts from herbs obtained by maceration or supercritical technology. *Journal of Supercritical Fluids*.

Zamorano-Ponce, E., et al. (2005). Anti-genotoxic effect of *Aloysia triphylla* infusion against acrylamide-induced DNA damage as shown by the comet assay technique.