

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

FACULTAD DE MEDICINA

E. A. P. DE NUTRICIÓN

**“Efecto Hepatoprotector del Zumo de Fruta de  
la Opuntia Ficus Indica (Tuna), variedad  
morada, en Ratas con Intoxicación Hepática  
Inducida por Paracetamol”**

TESIS

Para optar por el Título Profesional de Licenciada en Nutrición

AUTOR

Sánchez Torres, Carlos Alberto  
Sotomayor Ríos, Guillermo Carlos

ASESOR

Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez

**Lima - Perú**

**2015**

## **Dedicatoria:**

**DE GUILLERMO:**

**A MIS PADRES**

Dedico con todo mi cariño y mi amor a mis padres que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, papá gracias por motivarme y darme la mano cuando lo necesite sé que te hubieras sentido orgulloso contigo por siempre mi corazón y mi agradecimiento.

**A MI QUERIDA ESPOSA:**

Tu paciencia y comprensión. Por tu dedicación y sacrificio me inspiraste a ser mejor para ti, ahora puedo decir que esta tesis lleva mucho de ti, gracias por estar siempre a mi lado, Karen Julissa.

**A MIS QUERIDOS AMIGOS:**

Oscar Huamán y Carlos Sánchez gracias por su apoyo y comprensión, por exigir que de lo mejor de mí en esta tesis por apoyarme y alentarme en la culminación de esta tesis.

**DE CARLOS:**

Difícil es el camino, pero grande es la satisfacción de haber logrado una meta, al lado de las personas que te apoyaron y nunca dejaron que te rindieras frente a los obstáculos de la vida, es por eso que dedico este triunfo:

**A MIS PADRES**

Néstor Sánchez y Yolanda Torres quienes siempre  
están a mi lado, brindándome su gran amor.

## **A MI AMIGOHERMANO**

Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez, por su apoyo incondicional, Y que a través de su ejemplo me inspiro a seguir adelante frente a las adversidades de la vida mi eterno agradecimiento por su AMISTAD.

## **Agradecimiento:**

### **De Guillermo y Carlos:**

A Dios, por darnos la fortaleza y la persistencia necesaria para culminar nuestra tesis.

Al Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición que nos permitió ejecutar la tesis.

A la Escuela de Nutrición, por acogernos los 5 años y estudio.

A nuestra *al mater* UNMSM por permitirnos ser parte de esta comunidad universitaria.

A todo aquellos que de forma indirecta y con su pregunta ¿y la tesis? ¿Cuándo..? Nos inculcaban a continuar con esta investigación.

**A todos ellos gracias.**



## Resumen:

**Introducción:** Las enfermedades hepáticas de evolución crónica degenerativa, constituyen una de las causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. **Objetivos:** Determinar el efecto hepatoprotector del zumo de fruta de la *Opuntia ficus indica* (tuna) variedad morada, en ratas con intoxicación hepática inducidas por paracetamol. **Diseño:** analítico –experimental. **Lugar:** Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición. **Participantes y materiales:** se utilizaron 36 ratas machos con un peso de 269 g  $\pm$  22 g. **Intervenciones:** el zumo se obtuvo mediante un extractor casero. La inducción fue realizada con paracetamol a la dosis de 400 mg/kg vía peroral. **Principales medidas de resultados:** alanina aminotransferasa (ALT U/L), aspartato amino transferasa (AST U/L), gamma glutamil transferasa (GGT U/L), bilirrubina directa, indirecta y total (mg/L), albumina sérica (g/dL), proteínas totales séricas (g/dL), especie reactiva al ácido tiobarbitúrico (TBARS suero nmol/mL e hígado nmol/g) e índice hepático (%). **Resultados:** la administración del zumo de *Opuntia ficus indica* “tuna” variedad morada redujo de forma significativa actividad del ALT en los tres grupos tratados, solo en el grupo VI la reducción fue significativa para el AST y GGT, comparados con el grupo II. Los grupos tratados con zumo de tuna V y VI expresaron concentraciones superiores a los encontrados en el grupo II, siendo esto significativo, sin embargo los niveles de proteínas totales no mostraron variaciones significativas entre ellos. Los grupos IV y V expresaron concentraciones menores de bilirrubina total respecto al grupo II, pero sin embargo los niveles de bilirrubina directa en estos grupos fueron del 31,54% y 41,67% respectivamente. Los niveles de TBARS en tejido hepático en los tres grupos tratados con zumo mostraron concentraciones inferiores al grupo II, los mismos resultados se observan en la concentración de TBARS en suero, respecto al grupo II. El índice hepático fue menor en los grupos IV y VI. **Conclusiones:** el zumo de *Opuntia ficus indica* “tuna” variedad morada, presentó efecto hepatoprotector, expresados en varios de los indicadores del daño hepático. **Palabras claves:** Plantas medicinales, *Opuntia ficus indica*, tuna, hepatoprotector, paracetamol.

## Summary:

Introduction: chronic degenerative liver disease evolution, constitute a cause of morbidity and mortality worldwide. Objectives: To determine the hepatoprotective effect of fruit juice *Opuntia ficus indica* (prickly pear) purple variety, in rats with acetaminophen-induced liver toxicity. Design: analytical-experimental. Location: Center Biochemistry and Nutrition Research. Participants and materials: 36 male rats were used with a weight of  $269 \text{ g} \pm 22 \text{ g}$ . Interventions: the juice is obtained by a homemade extractor. Induction was performed with paracetamol at the dose of  $400 \text{ mg / kg}$  perorally. Main outcome measures: alanine aminotransferase (ALT U / L), aspartate aminotransferase (AST U / L), gamma glutamyl transferase (GGT U / L), direct, indirect and total bilirubin (mg / L), serum albumin (g / dL), serum total protein (g / dL), thiobarbituric acid reactive species (TBARS serum nmol / mL and nmol / g) liver and liver index (%). Results: Administration of *Opuntia ficus-indica* juice "tuna" purple variety significantly reduced ALT activity in the three-treated group, only in Group VI the decrease was significant for the AST and GGT, compared to group II. The groups treated with tuna juice V and VI expressed concentrations higher than those found in group II, this being significant, however total protein levels did not vary significantly between them. Groups IV and V expressed decreased total bilirubin respect to group II, but nevertheless direct bilirubin levels in these groups were of 31.54% and 41.67% respectively. TBARS levels in liver tissue in the three treated groups showed juice concentrations less than group II, the same results were observed in TBARS concentration in serum, compared to group II. Liver index was lower in groups IV and VI. Conclusions: the juice of *Opuntia ficus indica* "tuna" purple variety, introduced hepatoprotective effect, expressed in various indicators of liver damage.

Keywords: Medicinal plants, *Opuntia ficus indica*, tuna, hepatoprotective, paracetamol.

## **Tabla de contenidos:**

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. HIPOTEISIS Y OBJETIVOS</b>	
2.1 Hipótesis.....	8
2.2 Objetivos.....	8
2.2.1 Objetivo general.....	8
2.2.2 Objetivos específicos.....	8
<b>III. METODOS</b>	
3.1 Tipo de investigación.....	9
3.2 Materiales.....	9
3.3 Variables.....	10
3.4 Preparación de la muestra	
3.4.1 Recolección y estabilización de la muestra de <i>Opuntia ficus indica</i> .....	12
3.4.2 Obtención del zumo de pulpa de fruta de <i>Opuntia ficus indica</i> .....	12
3.5 Técnica de inducción a la hepatotoxicidad	
3.5.1 Acondicionamiento de los animales de experimentación.....	12
3.5.2 Tratamiento e inducción a la hepatotoxicidad.....	12
3.6 Cuantificación de la actividad de enzimas y metabolitos plasmáticos.....	14
3.6.1 Determinación de la actividad del $\gamma$ -glutamilttransferasa.....	15
3.6.2 Determinación de la bilirrubina directa, indirecta y total.....	15
3.6.3 Determinación de la actividad de las transaminasas.....	17
3.6.4 Determinación de la Albúmina Sérica.....	19
3.6.5 Determinación de las Proteínas totales séricas.....	19
3.6.6 Determinación de la Lipoperoxidación.....	20
3.7 Análisis de datos.....	22
3.8 Aspecto ético.....	22
<b>IV RESULTADOS</b> .....	23
<b>V DISCUSION</b> .....	28
<b>VI CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	
5.1 CONCLUSIONES.....	33
5.2 RECOMENDACIONES.....	33
<b>VII BIBLIOGRAFIA</b> .....	34

## **Índice de cuadros**

Cuadro N° 01: Tratamiento administrado a los grupos experimentales.....	13
Cuadro N° 02: Determinación de la actividad de la $\gamma$ -glutamyltransferasa.....	15
Cuadro N° 03: Determinación de bilirrubina directa, indirecta y total.....	16
Cuadro N° 04: Determinación de actividad de transaminasas.....	18
Cuadro N° 05: Determinación de albumina sérica.....	19
Cuadro N° 06: Determinación de las proteínas totales séricas.....	20
Cuadro N° 07: Determinación de especies reactiva al ácido tiobarbitúrico....	21

## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades hepáticas de evolución crónica degenerativa, constituyen una de las causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, siendo la hepatitis viral de más alta endemecidad en nuestro país y la cirrosis hepática la causa más frecuente de presentación crónica asociada a la mortalidad <sup>(1,2)</sup>. Las enfermedades hepáticas tienen una importante prevalencia en Latinoamérica, de una manera similar a lo que ocurre en el resto del mundo. En el Perú según el análisis de la situación de salud, la cirrosis hepática y ciertas otras enfermedades crónicas del hígado, tienen una tasa de mortalidad de 21,3 por 100 000 habitantes, ocupando el 9º lugar, en orden de magnitud entre las defunciones generales, y es la segunda causa de muerte entre defunciones registradas para el grupo etario de 20 a 65 años <sup>(3)</sup>.

La Cirrosis es considerada una presentación asintomática hasta que se manifieste las complicaciones con ictericia, eritema palmar, ascitis, hedor hepático, anorexia, pérdida de peso entre otras y por consecuencia a la muerte <sup>(4)</sup>.

La prevalencia de la enfermedad hepática en nuestro país, ha llevado a la población buscar explicaciones, así como formas de tratarlas, originándose creencias y mitos, por motivo la cultura popular ha creado tratamientos alternativos (medicina tradicional) y/o la automedicación que son compartidas por la población sin diferencia de nivel educativo ni socioeconómico, lo que ha condicionado a la población a un mayor riesgo de enfermedad <sup>(5-7)</sup>.

La unidad histológica del hígado es el lobulillo hepático, el cual es aproximadamente hexagonal, organizado alrededor de las venas hepáticas centrilobulillares con cordones de hepatocitos y sinusoides que se irradian hacía afuera <sup>(8,9)</sup>. Pero, la unidad funcional del hígado por su organización es el acino hepático, el cual es considerado como una pequeña masa parenquimatosa de tamaño y forma irregular, organizada entre dos venas centrilobulillares y cuyo eje consiste de una arteriola hepática, vénula portal, vasos linfáticos y nervios <sup>(8,9)</sup>.

Entre las numerosas funciones desarrolladas por los hepatocitos se encuentran la

síntesis de la mayoría de las proteínas séricas (albúmina, proteínas transportadoras, factores de coagulación, factores hormonales y de crecimiento), así como la producción de bilis con sus transportadores (ácidos biliares, colesterol, lecitina, fosfolípidos). Además se encargan de la regulación de los nutrientes (glucosa, glucógeno, ácidos grasos, aminoácidos), como del metabolismo y conjugación de los compuestos lipofílicos (bilirrubina, cationes, fármacos), para excretarlos por la bilis o la orina; así mismo, del almacenamiento de vitaminas (A, D, B12) y minerales como el hierro en forma de ferritina <sup>(8,10)</sup>.

Los RL generados por el metabolismo de los xenobioticos, no solo quedan en su lugar de origen, sino que circulan por el torrente sanguíneo afectando a otras membranas celulares de nuestro organismo. La albúmina, capta estos RL con lo cual conllevaría a un aclaramiento rápido de la circulación y con ello una disminución de sus niveles <sup>(11)</sup>.

En todos los órganos y tejidos se producen episodios de lesión en respuesta a la acción de diferentes tipos de noxas. En el caso concreto del hígado, estas noxas pueden ser de tipo metabólico, toxico, microbiana, circulatorio y neoplásico, capaces de producir lesiones celulares en el hígado, que conducirá a una alteración funcional, esta disfunción, puede deberse a una alteración aguda, a un proceso crónico o a una exacerbación aguda de un proceso crónico, manifestándose principalmente con la muerte de las células parenquimatosas (hepatocitos) tanto por necrosis como apoptosis independientemente del agente etiológico <sup>(12,13)</sup>.

Como consecuencia a la exposición de estas lesiones el hígado ha desarrollado numerosos mecanismos de defensa que le permiten protegerse y recuperarse de él. Si el daño es limitado (hepatitis aguda), se produce una respuesta regenerativa de los hepatocitos que reemplazará al tejidos afectados, restableciéndose así la arquitectura hepática normal <sup>(14)</sup>. Sin embargo, cuando el agente lesivo persiste y su acción sobrepasa la capacidad defensiva y reparadora hepática, se produce una respuesta caracterizada por una regeneración celular desordenada, inflamación y fibrosis <sup>(13,15)</sup>.

En este escenario, la muerte (apoptosis y/o necrosis) hepatocelular coexiste con los

fenómenos de reparación tisular, inflamación, regeneración y fibrosis, lo que causará una paulatina disminución de la masa hepatocelular y una progresiva distorsión anatómica y funcional del lobulillo hepático <sup>(12)</sup>. El resultado final es la cirrosis, desde el punto de vista anatómico y la insuficiencia hepática crónica, desde el punto de vista funcional <sup>(12)</sup>.

Las pruebas de función hepática que se emplean para el diagnóstico, seguimiento, y pronóstico en pacientes con enfermedad hepática son denominados marcadores de función hepática, que incluye varios parámetros bioquímicos como son: las aspartato aminotransferasas (AST), alanina aminotransferasas (ALT), gamma glutamiltranspeptidasa ( $\gamma$ -GTP), fosfatasa alcalina (FA), bilirrubina, albúmina y actividad de protrombina entre otros. Solo las tres últimas miden la capacidad funcional del hígado, siendo los demás potenciales indicadores de daño hepático <sup>(16,17)</sup>.

Estas pruebas específicas también se pueden agrupar en: a) Marcadores de necrosis hepática, (AST, ALT y la  $\gamma$ -GTP) de todas las transaminasas solamente las AST y ALT se encuentran en circulación. Las AST se encuentran primariamente en las mitocondrias y citoplasma celular del corazón, hígado, músculo esquelético, páncreas, riñón y eritrocitos, las ALT se encuentran primariamente en el citoplasma celular hepático. En lesiones agudas hay elevación con predominio de la ALT sobre las AST, debido a cambios en la permeabilidad de la membrana celular, mientras que el predominio de las AST nos indicará una destrucción mitocondrial, índice de una verdadera lesión celular <sup>(16,18)</sup>.

La determinación de la concentración de la bilirrubina no conjugada (Indirecta) y conjugada (Directa) es un indicador de utilidad para el diagnóstico de ictericia y enfermedades hepática, cuando la concentración promedio de la bilirrubina total se eleva por encima del nivel esperado, es necesario especificar las concentraciones de la bilirrubina conjugada y no conjugada. Cada determinación ayuda a la clasificación general de las hiperbilirrubinemias <sup>(19)</sup>. El incremento de bilirrubina total está relacionada al daño hepatocelular, colestasis intrahepática y obstrucción biliar extrahepática <sup>(20)</sup>.

Las lesiones hepáticas pueden variar según el agente etiológico, pero existe mecanismos comunes implicados en la patogenia y/o desarrollo de estas lesiones destacando las siguientes: la activación de las células de Kupffer y el reclutamiento de células inflamatorias (neutrófilos y monocitos); la aparición de estrés oxidativo debido a la formación de radicales libres; la producción de citocinas, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) y el factor de crecimiento transformante beta (TGF $\beta$ ) y, por último, la liberación de mediadores lipídicos de inflamación derivados del ácido araquidónico, como las prostaglandinas (PG), los leucotrienos (LT) y el factor de activación de las plaquetas (PAF) <sup>(15)</sup>.

Los radicales libres (RL), se puede definir como una especie química, neutra o cargada, cuya capa periférica contiene uno o más electrones desapareados, situación que le confiere gran inestabilidad desde el punto de vista cinético y energético, induciendo a la sustracción de un electrón, de moléculas estables, con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Aunque su vida media es realmente corta, desde milisegundos a nano segundos, en cada reacción de oxidación con otro átomo o molécula, un RL puede generar varias formas de RL con diferente nivel de estabilidad y toxicidad <sup>(21)</sup>.

El mecanismo antioxidante más importante intracelular es el mediado por el glutatión (GSH), este es un tripeptido (GSH,  $\gamma$ -L-glutamil-L-cisteinil-glicina) que protege a la célula de diferentes especies oxidantes. EL contenido hepático del GSH oscila entre 5 y 10 nmol/L y está influenciado por varios factores como: la disponibilidad de aminoácidos precursores, la actividad de gama glutamilcisteín sintetasa (GGCS), el flujo de GHS desde el hígado, el uso intracelular del GHS como agente reductor de peróxidos tóxicos, la conjugación con metabolitos electrofilicos y por la combinación de todos estos factores <sup>(22)</sup>. Así como la interacción sinérgica de su actividad con otros agentes antioxidantes como la vitamina C, E y la SOD <sup>(23)</sup>. Siendo el GSH el mecanismo antioxidante más importante en el hígado <sup>(22)</sup>.

El desbalance de este equilibrio en el organismo, debido a una mayor producción de especies reactiva de oxígeno (EROs), y/o una menor capacidad de los antioxidantes, conduce al estrés oxidativo <sup>(24)</sup>.



El paracetamol es un medicamento analgésico-antipirético que se comercializa libremente sin necesidad de prescripción médica, siendo uno de los medicamentos más usados en niños <sup>(25)</sup>. En condiciones normales es glucoronizado y sulfatado en un 90% y luego eliminado por vía urinaria. A dosis normal, no produce efecto tóxico, pero en caso de sobredosis puede producir daño hepático <sup>(26)</sup>.

Cuando el paracetamol es administrado, el 95% es metabolizado en el hígado y el resto se excretan inalterado por la orina, de la fracción metabolizada por el hígado, el 90% sufre conjugación con ácido glucurónico o sulfatos y el resto es metabolizado por el citocromo P-450, produciéndose un metabolito tóxico: N-acetil-p benzoquinoneimida (NAPQI). Este metabolito es rápidamente detoxificado gracias a la conjugación con glutatión (GSH) <sup>(27)</sup>.

La tendencia actual del cuidado de la salud, tiene como visión y misión dar prioridad a la prevención y la promoción, frente a la curación. Es por ello que la meta principal de las políticas de salud debe estar encaminada a disminuir la incidencia de las principales enfermedades <sup>(25)</sup>.

Numerosos estudios epidemiológicos indican que el consumo de frutas y vegetales está relacionado con la disminución de la morbilidad y mortalidad de enfermedades crónicas degenerativas como aterosclerosis, enfermedades coronarias, envejecimiento y algunos tipos de cánceres <sup>(28-30)</sup>. Este efecto positivo de los alimentos de origen vegetal se debería a la presencia de diversos nutrientes y fitoquímicos con actividad antioxidante <sup>(31,32)</sup>.

El término Alimento Funcional fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80 con la publicación de la reglamentación para los "Alimentos para uso específico de salud" ("Foods for specified health use" o FOSHU) y que se refiere a aquellos alimentos procesados los cuales contienen ingredientes que desempeñan una función específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutricional <sup>(33)</sup>.

Según la The International Life Science Institute (ILSI) establece que se puede considerar que un alimento es funcional si logra demostrar satisfactoriamente que posee un efecto benéfico sobre una o varias funciones específicas en el organismo,

que mejora el estado de salud y bienestar, o bien que reduce el riesgo de una enfermedad <sup>(34)</sup>.

Los estudios realizados por Diplock 1991, <sup>(35)</sup> Manach 2004 <sup>(36)</sup> y Gema, <sup>(37)</sup> señalan que la ingesta de alimentos ricos en sustancias antioxidantes como vitamina C, E y compuestos fitoquímicos como los flavonoides, previenen o disminuyen el desarrollo de ciertas enfermedades crónicas degenerativas, señalando que una dieta, con predominio de vegetales, aumenta la defensa antioxidante del organismo, evitando así el daño oxidativo.

La relación entre el estrés oxidativo y las enfermedades crónicas degenerativas, han estimulado investigaciones sobre compuestos, fármacos y alimentos con la finalidad de proteger al organismo de los efectos nocivos de ciertas hepatotoxinas, que el hombre puede ingerir o para contrarrestar las alteraciones en los mecanismos de defensa antirradicalarios en el hígado, siendo estos agentes llamados hepatoprotectores <sup>(37)</sup>.

Son innegables los beneficios que acarrea a la salud humana el mantener una dieta elevada en frutas y verduras, beneficios que se atribuyen principalmente al poder antioxidante de los nutrientes y fitoquímicos (fitonutrientes) presentes en ellos. Ciertos alimentos como el fruto de la *opuntia ficus indica* (tuna), contiene altos niveles de agentes antioxidantes como ácido ascórbico, compuestos fenólicos, carotenoides y pigmentos betalaínicos los cuales podrían ejercer efectos benéficos en aquellas enfermedades que generan o son generadas por estrés oxidativo <sup>(38,39)</sup>.

“Tuna” es el nombre común dado en Perú, Chile, Argentina y México, al fruto de la especie científicamente denominado *Opuntia ficus-indica*, proveniente de la familia *Cactaceae*. El fruto tuna (*Opuntia ficus Indica*) es ovoide compuesta de una parte carnosa llamada pulpa. La pulpa es la parte más densa mucilaginoso, dulce y aromática, que lleva insertadas numerosas semillas. La parte carnosa está protegida por una corteza de mayor dureza (pericarpio o cascara) cubiertos de pequeños grupos de espinas. En general se trata de un fruto de fácil digestión con sabor y aroma agradable <sup>(40)</sup>.

Según ITINTEC 1989 <sup>(41)</sup>, las variedades de tunas existentes en el Perú se

diferencian por la coloración del fruto y por la presencia o ausencia de espinas. Así se tiene la siguiente clasificación según la coloración: blanca, amarilla, colorada y morada.

El objetivo del estudio es determinar si el zumo de *Opuntia ficus indica*, variedad morada, presenta efecto hepatoprotector frente al paracetamol a dosis tóxica.

## II. HIPOTESIS Y OBJETIVOS:

### 2.1 Hipótesis:

El zumo de fruta del *Opuntia ficus indica* (tuna), variedad morada, presenta efecto hepatoprotector en ratas inducida por paracetamol.

### 2.2. Objetivos

#### 2.2.1 Objetivo General:

- Determinar el efecto hepatoprotector del zumo de fruta del *Opuntia ficus indica* (tuna) variedad morada, en ratas con intoxicación hepática inducidas por paracetamol.

#### 2.2.2 Objetivos específicos:

- Determinar el efecto del zumo de fruta de *Opuntia ficus indica*, variedad morada, sobre los niveles de especies reactiva al ácido tiobarbiturico, en ratas inducidas por paracetamol.
- Determinar el efecto del zumo de fruta de *Opuntia ficus indica*, variedad morada, sobre la actividad de las enzimas indicadoras del daño hepático en ratas inducidas por paracetamol.
- Determinar el efecto del zumo de fruta de *Opuntia ficus indica*, variedad morada, de los niveles de metabolitos séricos no enzimáticos indicadores del daño hepático en ratas inducidas por paracetamol.

### III. METODOS

#### 3.1. Tipo de investigación:

Según la finalidad: Analítico

Por la secuencia de estudio: Transversal

Por el control de los factores de estudio: Experimental.

Inicio del estudio en relación a los hechos: Prospectivo

#### 3.2. Materiales

##### Materiales de laboratorio y reactivos

Equipos:

Homogenizador

Espectrofotómetro

Centrífuga

Reactivos y fármacos:

Metanol

Ácido tiobarbitúrico

Tricloroacético

Silimarina

##### Material biológico

Se utilizaron 36 *Rattus norvegicus* var. Holtzman, machos de 2-3 meses de edad cuyos pesos promedio estaban comprendidos entre 200 a 250 g, procedentes del bioterio del centro de Producción de la Universidad Agraria

de la Molina (UNALM).

La fruta de *Opuntia ficus indica* (tuna) variedad morada fueron obtenidas por conveniencia, y se adquirieron en la provincia de Carhuaz de la Región de Ancash.

### **3.3. Variables:**

#### **Variable independiente:**

##### **Zumo de fruta de *Opuntia ficus indica* variedad morada:**

Se entiende al extracto sin fermentar, pulposo, turbio o clarificado, destinado a consumo directo, obtenido por procedimiento mecánico a partir de fruta madura y sana. (CODEX 2005) <sup>(42)</sup>

#### **Variable dependiente:**

##### **Efecto hepatoprotector en ratas:**

Es la protección del hígado frente a la variación de la defensas antirradicalarios del organismo por efectos nocivos de xenobioticos <sup>(43-45)</sup>.

## Operacionalización de variables

Variable: Definición conceptual de la variable	Dimensiones	Indicadores: Definición operacional de los indicadores	Puntos de corte	Escala de medición
<b>Zumo de fruta de <i>Opuntia ficus indica</i> variedad morada:</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dosis del zumo de fruta de <i>Opuntia ficus indica</i> (mL/kg de peso de la rata)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zumo a dosis de 10,00 mL/kg</li> <li>• Zumo a dosis de 5,00 mL/kg</li> <li>• Zumo a dosis de 2,50 mL/kg</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cuantitativa de razón.</li> </ul>
<b>Efecto hepatoprotector en ratas:</b>	Tejido Hepático	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Índice de hepatomegalia</li> <li>• Niveles de especies reactivas al ácido tiobarbiturico.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Comparado con el grupo control (+).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• De razón.</li> </ul>
	Marcadores bioquímicos en Suero	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Actividad de la alanina amino transferasa en suero.</li> <li>• Actividad de la aspartato amino transferasa en suero.</li> <li>• Actividad de la transferasa de <math>\gamma</math>-glutamil.</li> <li>• Niveles de especies reactivas al ácido tiobarbiturico en suero.</li> <li>• Niveles de bilirrubina directa, indirecta y total en suero.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Comparado con el grupo control (+).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• De razón.</li> </ul>

### **3.4. Preparación de la muestra**

**3.4.1. Recolección y estabilización de la muestra de *Opuntia ficus indica*:** La muestra fue recolectada en la provincia de Carhuaz, Región de Ancash, en el mes de noviembre del 2011. Se recolectó la variedad morada en su estado de madures biológica con la cascara integra, la cual fue identificada por el color. La fruta fue almacenada en cajas de madera y envuelta en tela de yute, para su envío a la ciudad de Lima.

**3.4.2. Obtención del zumo de pulpa de fruta de *Opuntia ficus indica*:** el zumo de la pulpa del fruto de *Opuntia ficus indica*, variedad morada, se obtuvo mediante un extractor de fruta marca Moulinex durante 1 minuto, a temprana hora del día, El zumo obtenido se conservó en un frasco de color ámbar. Se preparó dos diluciones, al medio y al cuarto, con suero fisiológico.

### **3.5. Técnica de inducción a la hepatotoxicidad**

**3.5.1. Acondicionamiento de los animales de experimentación:** Las ratas fueron distribuidas de manera aleatoria en seis grupos (n=6). (Ver tabla N° 01), colocándolos en jaulas individuales en un ambiente de temperatura constante de 20°C, con ciclos alternados de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Tuvieron 7 días de aclimatación antes de iniciar propiamente el experimento, recibiendo una alimentación balanceada (Dieta normocalórica y normoproteica) obtenida de UNALM y agua *ad libitum*.

Posteriormente a la semana de aclimatación los animales siguieron recibiendo la misma dieta y agua *ad libitum*, además de los respectivos tratamientos.

**3.5.2. Tratamiento e inducción a la hepatotoxicidad:** Para demostrar el efecto hepatoprotector, se administraron los tratamientos vía peroral durante 10 días y estaban constituidos por Zumo del tuna (*opuntia ficus indica*) variedad morada, Silimarina a dosis, 100 mg/kg.p.c y paracetamol en una dosis 400 mg/kg.p.c se empleó el siguiente protocolo:

Los tratamientos administrados a cada grupo fueron los siguientes:



### Grupos controles:

**Grupo I.-** Se le administró 10 mL/kg de suero fisiológico, vía peroral, durante los 10 días, en el 6° día se le administró una segunda dosis de suero fisiológico con un tiempo de diferencia de una hora, hasta el día 10.

**Grupo II.-** Se le administró 10 mL/kg de suero fisiológico, vía peroral, durante los 10 días, en el 6° día se le administró paracetamol 400 mg/kg, vía peroral, con un tiempo de diferencia de una hora, hasta el día 10.

**Grupo III.-** Se administró silimarina a dosis 100 mg/kg, vía peroral, durante 10 días., en el 6° día se administró paracetamol 400mg/kg, vía peroral, se continuó el procedimiento hasta el día 10.

### Grupos Experimentales:

**Grupo IV, V y VI.-** Se administró el zumo de tuna (puro o diluido) por vía peroral por 10 días, a partir del 6° día, se administró paracetamol 400mg/kg, vía peroral, hasta el día 10. (Ver tabla N° 01)

**Cuadro N° 01: Tratamiento administrado a los grupos experimentales**

	<b>Pre-tratamiento vía peroral 5 días</b>	<b>Tratamiento vía peroral 5 días</b>
<b>Grupo I</b>	Suero fisiológico 10 mL/kg	Suero fisiológico + suero fisiológico
<b>Grupo II</b>	Suero fisiológico 10 mL/kg	Suero fisiológico + Paracetamol 400 mg/kg
<b>Grupo III</b>	Silimarina 100 mg/kg	Silimarina + Paracetamol 400 mg/kg
<b>Grupo IV</b>	Zumo 2,5 mL/kg	Zumo de fruta + Paracetamol 400 mg/kg
<b>Grupo V</b>	Zumo 5 mL/kg	Zumo de fruta + Paracetamol 400 mg/kg
<b>Grupo VI</b>	Zumo 10 mL/kg	Zumo de fruta + Paracetamol 400 mg/kg

Concluido el período experimental, los animales de experimentación, fueron sometidos a un ayuno previo de 14 horas, posteriormente fueron anestesiados por inhalación de vapores de éter en una campana de vidrio.

Se extrajo sangre por punción cardíaca, en tubos sin aditivos anticoagulante, el cual fue centrifugado a 4 000 rpm y protegido de la luz solar, hasta el momento del análisis. Los animales de experimentación fueron sacrificados por dislocación cervical, cumpliendo las normas éticas para estos animales <sup>(46)</sup>.

Inmediatamente se realizó laparotomía abdominal para extraer el hígado, el cual fue lavado en solución fisiológica de NaCl al 0,9% y se secó en papel adsorbente. Posteriormente, se pesó todo el órgano en una balanza analítica para determinar el índice hepático y % de inhibición. Del lóbulo mayor se secciono aproximadamente un 0,5 g conservándolo a una temperatura de 4°C para su posterior análisis.

$$\text{Índice hepático} = \frac{\text{W Hígado}}{\text{W animal}} \times 100$$

W: Peso

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{\text{IH}_{G2} - \text{IH}_{GTO}}{\text{IH}_{G2}} \times 100$$

$\text{IH}_{G2}$  : Índice hepático del grupo II

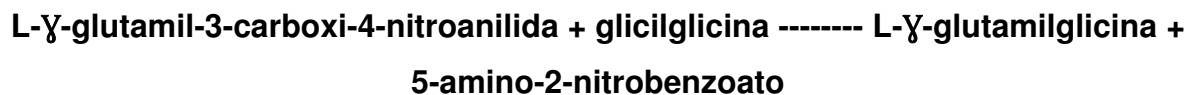
$\text{IH}_{GTO}$  : Índice hepático del tratamiento

### 3.6. Cuantificación de la actividad de enzimas y metabolitos plasmáticos:

Se cuantifico las siguientes enzimas y metabolitos en sangre por duplicado:

**3.6.1. Determinación de la actividad del  $\gamma$ -glutamyltransferasa:** Según el método de Szasz, G <sup>(19)</sup>.

**Fundamento:** La  $\gamma$ -glutamyltransferasa es una carboxipeptidasa que cataliza la siguiente reacción:



**Reactivo:** el reactivo reconstituido presenta la siguiente composición:

Buffer Tris (100 mmol/L) pH 8,25; L- $\gamma$ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida (2,9 mmol/L), glicilglicina (100 mmol/L)

**Protocolo:** Se empleó el siguiente protocolo

**Cuadro Nº 02: Determinación de la actividad de la  $\gamma$ -glutamyltransferasa**

mL Reactivo reconstituido	1
Pre incubar unos minutos a 37°C	
$\mu$ L suero	1000

Mezclar rápidamente y proseguir de inmediato la incubación, encender el cronómetro.

Registrar la absorbancia a los 1, 2 y 3 minutos. Determinar la diferencia promedio de absorbancia ( $\Delta A/\text{min}$ ) restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

La actividad de la enzima fue determinado por la siguiente formula:

$$\gamma\text{-glutamyl transferasa (U/l)} = \Delta A/\text{min} \times 1\ 158$$

**3.6.2. Determinación de bilirrubina, directa indirecta y total:** Según el método de Jendrassik-Grof <sup>(19)</sup>.

**Fundamento:** La bilirrubina reacciona específicamente con el ácido sulfanílico

diazotado produciendo un pigmento color rojo-violáceo (azobilirrubina) que se mide fotocolorimétricamente a 530 nm.

Si bien la bilirrubina conjugada (directa) reacciona directamente con el diazorreactivo, la bilirrubina no conjugada (indirecta) requiere la presencia de un desarrollador acuoso benzoato de cafeína que posibilita su reacción.

#### **Reactivos:**

- Reactivo A: Solución acuosa de benzoato de cafeína 0,13 mol/L, tamponada y estabilizada.
- Reactivo B: Solución de ácido sulfanílico 29 mmol/L y ácido clorhídrico 0,17 mol/L.
- Reactivo C: Solución de nitrito de sodio 0,07 mol/L.
- Diazorreactivo: Mezclar 1 parte de Reactivo C con 21 partes de Reactivo B.
- Estándar de Bilirubina.

**Protocolo:** se empleó el siguiente protocolo.

#### **Cuadro Nº 03: Determinación de bilirrubina, directa indirecta y total**

	<b>Bilirrubina</b>		
	<b>Blanco</b>	<b>Directa</b>	<b>Total</b>
µL Suero	200	200	200
mL Agua destilada	2,5	2,5	
mL Reactivo A	--	--	2,5
µL Reactivo B	200	--	--
µL diazorreactivo	--	200	200

Mezclar de inmediato cada tubo por inversión. Luego de 5 minutos, leer en espectrofotómetro a 530 nm, llevando el aparato a cero con agua destilada.

Se preparó el estándar de bilirrubina, siguiendo el protocolo anterior.

La concentración de bilirrubina se determinó mediante la siguiente fórmula.

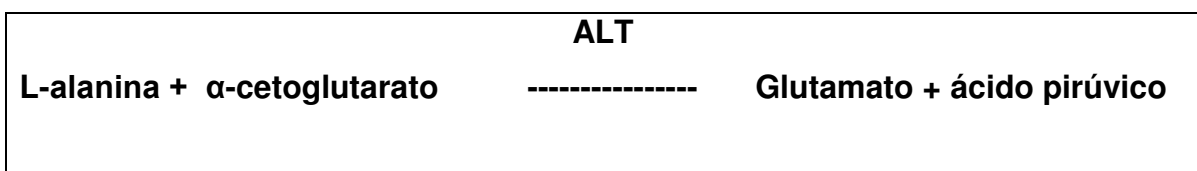
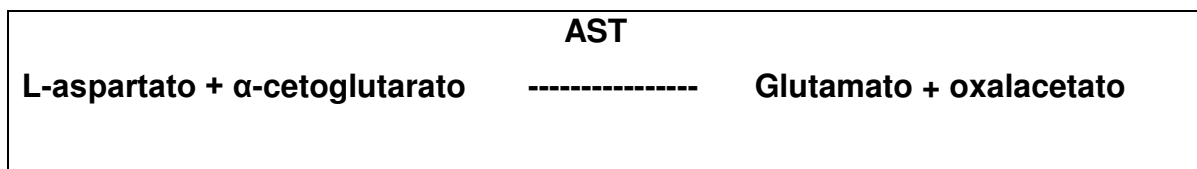
$$\text{[Bilirrubina total mg/L]} = \frac{\text{[ST]}}{\text{ABS}_{(\text{ST-B})}} \times \text{ABS}_{(\text{T-B})}$$

$$\text{[Bilirrubina Directa mg/L]} = \frac{\text{[ST]}}{\text{ABS}_{(\text{ST-B})}} \times \text{ABS}_{(\text{D-B})}$$

$$\text{[Bilirrubina Indirecta]} = \text{Bilirrubina Total} - \text{Bilirrubina Directa}$$

**3.6.3. Determinación de la actividad de las Transaminasas:** Según el (método Reitman y Frankel) <sup>(19)</sup>

**Fundamento:** Las transaminasas son aminotransferasa que cataliza la siguiente reacción:



El piruvato formado (el oxalacetato es inestable y se transforma en piruvato), reacciona con la 2,4-dinitrofenilhidracina produciéndose, en medio alcalino, un compuesto coloreado que se mide a 505 nm.

**Reactivos:**

- Reactivo A (ALT): solución de L-alanina 200 mmol/L y  $\alpha$ -cetoglutarato 2 mmol/L de en buffer fosfatos 100 mmol/L, pH 7,4.
- Reactivo A (AST): solución de L-aspartato 100 mmol/L y  $\alpha$ -cetoglutarato 2 mmol/L en buffer fosfatos 100 mmol/L, pH 7,4.
- Reactivo B: solución de 2,4-dinitrofenilhidracina (2,4-DNFH) 1 mmol/ en  $\text{HCl}_{(\text{ac})}$  1 mol/L.
- Reactivo C: solución de NaOH 0,4 N.

**Protocolo:** Se empleó el siguiente protocolo.

**Cuadro N° 04: Determinación de la actividad de las transaminasas**

	<b>Blanco</b>	<b>Muestra</b>
mL Reactivo A (AST o ALT)	0,5	0,5
Colocar en baño de agua a 37° C 5 minutos.		
$\mu\text{L}$ suero	--	100
$\mu\text{L}$ agua destilada	100	--
Mezclar por agitación suave e incubar exactamente 30 minutos y agregar:		
mL Reactivo B	0,5	0,5
Mezclar. Dejar 10 minutos a 37° C. Luego agregar:		
mL Reactivo C	5	5

Mezclar por inversión y retirar del baño. Después de 2 minutos leer la absorbancia en espectrofotómetro a 505 nm, llevando el aparato a cero D.O. con agua destilada.

Se preparó una curva para la determinación de la actividad enzimática.

#### 3.6.4. Determinación de Albúmina sérica: según método de bromo cresol <sup>(47)</sup>

**Fundamento:** La albúmina reacciona específicamente (sin separación previa) con la forma aniónica de la 3,3',5,5'-tetrabromo cresolsulfonaftaleína (BCG). El aumento de absorbancia a 625 nm respecto del Blanco de reactivo, es proporcional a la cantidad de albúmina presente en la muestra.

**Reactivo:** solución de BCG 0,3 mmol/L, buffer acetato 0,1 mol/L y polioxietilén lauril éter 0,9 g/L.

**Protocolo:** Se empleó el siguiente protocolo:

**Cuadro Nº 05: Determinación de la albumina sérica**

	Blanco	Estándar	Muestra
µL Estándar de albúmina 3 g/dL		10	
µL Suero			10
mL Reactivo	2,5	2,5	2,5

Mezclar con varilla. Mantener los tubos entre 15 y 28°C durante 10 minutos. Leer en espectrofotómetro a 625 nm, llevando a cero con el Blanco de Reactivo.

Se empleó la siguiente fórmula para determinar la concentración:

$$[\text{Albumina g/dL}] = \frac{[\text{ST}]_{\text{g/dL}}}{\text{ABS}_{\text{ST}}} \times \text{ABS}_{\text{MP}}$$

#### 3.6.5. Determinación de Proteínas totales sérica: Según método de Biuret <sup>(47)</sup>

**Fundamento:** Los enlaces peptídicos de las proteínas reaccionan con el ión cúprico en medio alcalino, para dar un complejo color violeta con máximo de absorción a 540 nm, cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteínas totales en

la muestra.

**Reactivo:** Complejo EDTA/Cu<sup>+2</sup> 13 mmol/L en NaOH 875 mmol/L y alquil aril poliéter (AAP).

**Protocolo:** Se empleó el siguiente protocolo:

**Cuadro Nº 06: Determinación de las proteínas totales séricas**

	Blanco	Estándar	Muestra
µL Estándar de proteína 8 g/dL		10	
µL Suero			10
mL Reactivo	1	1	1

Mezclar con varilla. Incubar durante 15 minutos a 37° C.

Leer en espectrofotómetro a 540 nm, llevando a cero con el Blanco de Reactivo.

La concentración se determinó con la siguiente formula:

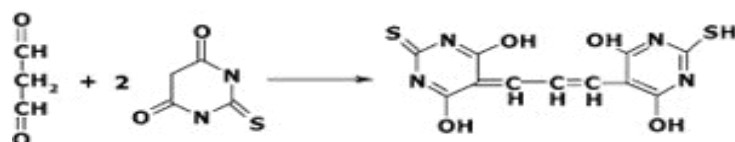
$$[\text{Proteína g/dL}] = \frac{[\text{ST}]}{\text{ABS}_{\text{ST}}} \times \text{ABS}_{\text{MP}}$$

**3.6.6. Determinación de la Lipoperoxidación:** Según el método de Buege y Aust) <sup>(48)</sup>.

**Homogenizado de hígado:** Se pesó 0,5 g de tejido hepático del lóbulo mayor y se homogenizo con buffer fosfato 0,1 mol/L pH 7,4

**Fundamento:** La reacción de dos mol de ácido tiobarbitúrico con una mol de malonaldehído, que es producto de la lipoperoxidación de los ácidos grasos, dando un color rosado con una absorción máxima a los 532 - 535 nm.





### Formación del complejo malonaldehído. Analytical Methods for Resolving Data From TBA<sub>2</sub>-MDA Reaction Mixtures

Para esta técnica se utilizó el sobrenadante del homogenizado de hígado preparado en puntos anteriores o suero, se le agregó TCA al 20% para desproteinizar.

#### Reactivos:

Ácido tricloroacético 20%

Ácido tiobarbitúrico 0,67% en HCl 0,25N

**Protocolo:** Se siguió el siguiente protocolo.

#### Cuadro Nº 07: Determinación de Especies reactiva al ácido tiobarbitúrico

	Blanco	Homogenizado	Suero
mL Buffer fosfato	0,3	--	--
mL Suero	--	--	03
mL Homogenizado de hígado		0,3	
mL TCA 20%	0,6	0,6	0,6
Hervir por 10 minutos			
TBA 0,67/HCl 0,25 N	0,9	0,9	0,9
Hervir por 20 minutos			

Se centrifugó a 3 500 RPM y se separó el sobrenadante, para luego ser leído a 535 nm.

Los cálculos de concentración se determinaron mediante la fórmula:

$$\text{Absorbancia} = \xi \cdot l \cdot c$$

$$\xi = 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ (coeficiente de extinción molar)}$$

$$l = 1 \text{ cm (ancho de la cubeta)}$$

c = concentración de la muestra.

**3.7. Análisis de datos:** Se le realizó la prueba de normalidad de Shapiro–Wilk, para luego realizar la prueba de análisis de varianza.

### **3.8. Aspecto ético**

Los animales fueron tratados según las normas éticas de experimentación animal<sup>(46)</sup>.

#### IV. RESULTADOS

**Actividad enzimática de ALT, AST y  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa en suero:** En la Tabla N° 08 se puede observar que la actividad sérica de ALT, AST y  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa se incrementaron de manera significativa en el grupo II, que recibió paracetamol a 400 mg/kg, comparado con el grupo I.

**Cuadro N° 08: Actividad sérica de ALT, AST y  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa**

	Sustancia administrada	ALT U/L	AST U/L	AST/ALT	$\gamma$ -glutamyl transpeptidasa U/L
Grupo I	Suero fisiológico	10,90 $\pm$ 0,83 <sup>a</sup>	9,93 $\pm$ 0,66 <sup>a</sup>	0,91	3,67 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>
Grupo II	Suero fisiológico + Paracetamol	55,36 $\pm$ 3,65	36,71 $\pm$ 2,81	0,66	5,02 $\pm$ 0,27
Grupo III	Silimarina + paracetamol	15,64 $\pm$ 1,49 <sup>a</sup>	12,31 $\pm$ 1,45 <sup>a</sup>	0,79	2,89 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>
Grupo IV	Zumo 2,5 mL/kg + paracetamol	37,86 $\pm$ 3,46 <sup>a,c</sup>	35,21 $\pm$ 3,21 <sup>c</sup>	0,93	4,71 $\pm$ 0,40 <sup>c</sup>
Grupo V	Zumo 5 mL/kg + paracetamol	48,50 $\pm$ 4,70 <sup>b,c</sup>	39,50 $\pm$ 2,36 <sup>c</sup>	0,81	4,55 $\pm$ 0,62 <sup>c</sup>
Grupo VI	Zumo 10 mL/kg + paracetamol	46,43 $\pm$ 2,42 <sup>a,c</sup>	28,50 $\pm$ 3,43 <sup>a,c</sup>	0,61	4,47 $\pm$ 0,44 <sup>b,c</sup>

(a)  $p < 0,01$  comparado con el grupo II

(c)  $p < 0,01$  comparado con el grupo III

(b)  $p < 0,05$  comparado con el grupo II

El grupo que recibió el tratamiento con silimarina + paracetamol redujo de forma significativa la actividad de las tres enzimas marcadoras del daño hepático respecto a la grupo II ( $p < 0,01$ ).

Se puede observar que el tratamiento con zumo a 2,5 mL/kg + paracetamol, redujo las actividades de las tres enzimas, pero solo en la ALT la reducción fue significativa ( $p < 0,01$ ), de igual forma se observa en el grupo que recibió la dosis de 5 mL/kg + paracetamol ( $p < 0,05$ ).

El tratamiento con 10 mL/kg + paracetamol presentó una reducción de la actividad

de la ALT y AST a un  $p < 0,01$  y de la  $\gamma$ -glutamiltanspeptidasa de  $p < 0,05$ .

El tratamiento con el zumo a diferentes dosis + paracetamol presentaron niveles superiores a los grupos tratados con silimarina + paracetamol.

**Proteínas Totales y albúmina sérica:** En la Tabla N<sup>a</sup> 09 se puede observar que el grupo que recibió el paracetamol sin ningún tipo de protección presentó los niveles más bajos de albúmina sérica (45,32%) y la relación albúmina y globulina fue menor que el grupo I ( $p < 0,01$ ).

El tratamiento con silimarina + paracetamol incrementó los niveles de albúmina representando el 51,12% de total de proteínas, y la relación albumina/globulina fue mayor  $p < 0,01$ .

**Cuadro N<sup>a</sup> 09: Niveles séricos de albúmina y proteínas totales.**

	Sustancia administrada	Albúmina g/dL	Proteínas totales g/dL	Albumina/globulina	% de albúmina de proteínas totales
Grupo I	Suero fisiológico	3,70 ±0,03 <sup>a</sup>	7,10 ±0,11	1,09 <sup>a</sup>	52,16 ±1,14 <sup>a</sup>
Grupo II	Suero fisiológico + Paracetamol	3,23 ±0,16	7,13 ±0,10	0,83	45,32 ± 2,02
Grupo III	Silimarina + paracetamol	3,57 ±0,14 <sup>a</sup>	6,99 ±0,14	1,04 <sup>a</sup>	51,12 ± 2,13 <sup>a</sup>
Grupo IV	Zumo 2,5 mL/kg + paracetamol	3,43 ±0,25	7,01 ±0,09 <sup>b</sup>	0,96 <sup>b</sup>	48,94 ± 3,04 <sup>b</sup>
Grupo V	Zumo 5 mL/kg + paracetamol	3,82 ±0,09 <sup>a,c</sup>	7,05 ±0,13	1,18 <sup>a,c</sup>	54,26 ± 1,69 <sup>a</sup>
Grupo VI	Zumo 10 mL/kg + paracetamol	3,60 ±0,17 <sup>a</sup>	6,87 ±0,36	1,10 <sup>a</sup>	52,60 ± 3,83 <sup>a</sup>

(a)  $p < 0,01$  comparado con el grupo II

(c)  $p < 0,01$  comparado con el grupo III

(b)  $p < 0,05$  comparado con el grupo II

El tratamiento con los zumos de *Opuntia ficus indica* (variedad morada) incrementó los niveles de albúmina respecto al grupo II, siendo solo significativo en los grupos V (54,94%) y VI (52,60%); ( $p < 0,01$ ). El tratamiento con 5 mL/kg de zumo presentó niveles más alto de albúmina que el grupo III (silimarina + paracetamol)  $p < 0,01$ . Respecto a la relación de albúmina/globulina fue mayor en los grupos que recibieron



paracetamol) el cual se refleja en el incremento de los niveles de TBARS, respecto al grupo I tanto en suero como en tejido hepático ( $p < 0,01$ ).

El grupo III evidencio uno niveles de valores inferiores de TBARS en ambas muestras ( $p < 0,01$ ), comparado con el grupo II y de los grupos tratados con el zumo a diferentes dosis.

**Cuadro N° 11: Especie reactiva al ácido tiobarbitúrico**

Sustancia administrada	Niveles de especie reactiva al ácido Tiobarbitúrico			
	Hígado nmol/g	% de inhibición	Suero nmol/mL	% de Inhibición
Grupo I Suero fisiológico	14,90 ±1,34 <sup>a</sup>	---	3,53 ±0,76 <sup>a</sup>	---
Grupo II Suero fisiológico + Paracetamol	20,35 ±1,31	---	6,36 ±1,03	---
Grupo III Silimarina + paracetamol	14,56 ±1,91 <sup>a</sup>	28,45	3,20 ±0,49 <sup>a</sup>	49,69
Grupo IV Zumo 2,5 mL/kg + paracetamol	18,93 ±1,31 <sup>c</sup>	6,98	5,41 ±0,93 <sup>c</sup>	14,94
Grupo V Zumo 5 mL/kg + paracetamol	16,91 ±1,53 <sup>ad</sup>	16,90	4,69 ±0,23 <sup>ac</sup>	26,26
Grupo VI Zumo 10 mL/kg + paracetamol	16,45 ±0,67 <sup>ad</sup>	19,16	4,22 ±0,45 <sup>ac</sup>	33,65

(a)  $p < 0,01$  comparado con el grupo II

(c)  $p < 0,01$  comparado con el grupo III

(b)  $p < 0,05$  comparado con el grupo II

(d)  $p < 0,05$  comparado con el grupo III

El tratamiento con el zumo a las dos altas dosis demostraron una disminución de la Lipoperoxidación ( $p < 0,01$ ).

**Índice e incremento del tejido hepático:** La administración de paracetamol en el grupo II no produjo aumento del tejido hepático.

**Cuadro N° 12: Índice e incremento del tejido hepático**

Sustancia administrada		Índice hepático %	% de Inhibición*
Grupo I	Suero fisiológico	3,70±0,23	---
Grupo II	Suero fisiológico + Paracetamol	3,66±0,29	---
Grupo III	Silimarina + paracetamol	3,91±0,18	-6,83
Grupo IV	Zumo 2,5 mL/kg + paracetamol	3,35±0,12 <sup>ab</sup>	8,47
Grupo V	Zumo 5 mL/kg + paracetamol	3,68±0,19 <sup>c</sup>	-0,55
Grupo VI	Zumo 10 mL/kg + paracetamol	3,42±0,14 <sup>b</sup>	6,56

(a) p<0,05 comparado con el grupo II

(b) p<0,01 comparado con el grupo III

\* Comparado el incremento con el grupo I

(c) p<0,05 comparado con el grupo III

El tratamiento con silimarina + paracetamol mostró un mayor índice del tejido en comparación con los grupos I, II y los grupos tratados con el zumo a las tres dosis.

El tratamiento con los extractos más paracetamol (grupo IV) presento niveles de índice hepático menor al grupo II, p<0,05.

## V. DISCUSION

El empleo de plantas medicinales es una práctica tan antigua como la humanidad, es así que desde tiempo inmemoriales el hombre ha utilizado los recursos naturales, entre ellos las plantas, para solucionar algún tipo de dolencia, mucha de estas prácticas se ha transmitido de manera oral de generación en generación o quedando registrado en documentos, sin embargo en nuestra cultura, parte de esta información se ha perdido con el transcurrir de los siglos debido a la falta de un tipo de lenguaje gráfico.

En los últimos años la comunidad científica ha puesto mayor énfasis en los estudios de plantas con potencial terapéutico, con la finalidad de prevenir o coadyuvar en el tratamiento de las enfermedades, principalmente de índole crónica degenerativa, siendo estas propiedades atribuidas a sus componentes químicos.

La *Opuntia ficus indica* es una planta originaria de los andes de Sudamérica, el cual presenta en el fruto sustancias químicas de mucho interés, tales como: azúcares, aminoácidos libres, flavonoides (kaempferol, quercetina), esteroides (campesterol,  $\beta$ -sitosterol), vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$  tocoferol,  $\gamma$  tocoferol y  $\delta$  tocoferol) <sup>(49-53)</sup>, betalainas <sup>(54)</sup> entre otros. Muchos de estos compuestos se han comprobado su capacidad antioxidante <sup>(20)</sup> y hepatoprotector <sup>(55)</sup>.

En nuestro estudio se evidencia que el tratamiento con paracetamol a la dosis de 400 mg/kg (grupo II) indujo un incremento significativo de los niveles de bilirrubina (directa, indirecta, total), lipoperoxidación (hígado y suero),  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa, ALT y AST. Los niveles de ALT se incrementaron más que el AST siendo la relación de AST/ALT de 0,66 <sup>(16,17)</sup>.

La elevación de los marcadores enzimáticos también han sido evidenciado por otros estudios, tal como reporta Troncoso en 2007, <sup>(31)</sup> en donde empleó paracetamol 200 mg/kg, Arnao <sup>(56)</sup> en el 2012 (paracetamol 250 mg/kg) y Ochoa <sup>(57)</sup> en el 2008 (paracetamol 200 mg/kg).

La bilirrubina está asociada con mayor frecuencia al metabolismo del hígado, este es



el único órgano que tiene la capacidad de liberar al cuerpo de los productos de desechos. Aproximadamente el 80% de la bilirrubina proviene del catabolismo de la hemoglobina (grupo heme) y el 20% restante de las proteínas y/o enzimas que contiene heme.

En nuestro estudio se observó que el grupo II (paracetamol 400mg/kg) los niveles de bilirrubina directa fue de 1,25mg/L y el total 5,08mg/L, siendo estos valores superiores y estadísticamente significativo, respecto al grupo I. El incremento de esta fracción de bilirrubina y el total, también lo reporto Arnao con un incremento del 122% respecto al control empleando paracetamol a 250 mg/kg <sup>(56)</sup>.

La determinación de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) es utilizado como un marcador de lipoperoxidación, debido a que los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares son los más susceptibles de ser atacados por RL <sup>(58)</sup>.

Como se puede observar en la Tabla N° 11, el grupo II (paracetamol 400 mg/kg) presentó niveles de TBARS en tejido hepático y suero mayores que el grupo I, este incremento de TBARS es producto de la generación de radicales libres provenientes de la biotransformación del paracetamol y el agotamiento del GSH en el tejido hepático <sup>(59)</sup>, estos resultados también fueron encontrados en el estudio realizado por Troncoso <sup>(31)</sup> en donde se incrementó en el tejido hepático, sin embargo otro estudio se reportó una disminución de TBARS en suero tras la administración de paracetamol 250 mg/kg <sup>(56)</sup>.

La silimarina es un flavonoide que ha sido utilizado en padecimientos hepáticos por su efecto regenerador, inhibidor y antioxidante <sup>(60-61)</sup>, esta sustancia se une a los receptores de la membrana del hepatocito, compitiendo con las sustancias tóxicas, produciendo un efecto estabilizador de membrana y de esta forma neutraliza a los radicales libres, estimula la regeneración de glutatión reducido (GSH), también estimula el metabolismo de las células hepáticas, activando la formación de ribosoma maduros y por consiguiente la síntesis de proteínas, aumentando la replicación de ADN y los procesos mitóticos <sup>(62)</sup>.

El tratamiento con silimarina + paracetamol redujo el incremento de los marcadores

enzimáticos de la hepatotoxicidad (ALT, AST,  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa) de forma significativa ( $p < 0,01$ ) respecto al grupo que solo recibió paracetamol 400 mg/kg (grupo II), este efecto protector también se observa en los niveles de bilirrubina indirecta y total ( $p < 0,05$ ), los niveles de TBARS tanto en tejido hepático y suero el porcentaje de inhibición 28,45% y 49,69% respectivamente. Estos resultados también fueron encontrados en otros estudios publicados por Arnao 2012 <sup>(56)</sup> en donde empleó silimarina 50 mg/kg + paracetamol 250 mg/kg, demostrando una disminución de la actividades de las ALT y AST, sin embargo la actividad de la  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa se incrementó, también en dicho estudio reporta que los niveles de bilirrubina total se mantuvo igual al grupo control.

El efecto hepatoprotector de la silimarina también se observa frente a otras sustancias tóxicas, en estudio publicado por Arroyo 2012 <sup>(61)</sup> evidencia el efecto protector contra la administración de tetracloruro de carbono ( $CCl_4$ ) + silimarina 25 mg/kg, y Sandoval 2008 <sup>(63)</sup> en donde la silimarina + etanol 5% redujo de los niveles sin ser significativo.

La administración del zumo de fruto de *Opuntia ficus indica*, variedad morada, inhibió significativamente la actividad del ALT, en las tres dosis empleada, mientras que la actividad de la AST y  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa solo disminuyó en la dosis de 10 mL/kg + paracetamol (Grupo IV).

Los niveles de bilirrubina directa se redujo en el grupo IV de forma significativa, la indirecta disminuyó en todas los grupos que recibieron el zumo de forma significativa, y la total solo en el grupo IV y V.

Los niveles de TBARS se inhibieron significativamente en los grupos V y VI, tanto en tejido hepático como en suero.

Los resultados obtenidos en los grupos que recibieron zumo + paracetamol, pueden explicarse por sus componentes citados en líneas anteriores. El zumo de *Opuntia ficus indica* (Tuna), presenta componentes con actividad antioxidante como la betalaína, ácido ascórbico y fenoles <sup>(64)</sup>. Es así que en un estudio realizado por Sumaya 2011 se evaluó las propiedades antioxidantes de tres variedades de tuna (amarilla, blanca, roja y morada) en donde demostró que la variedad morada

presentaba los niveles más altos de betalaínas y betaxantina. La variedad roja presenta mayor contenido de fenoles, vitamina C seguido de la variedad morada. La capacidad antioxidante fue evaluada por la reducción del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), en donde fue mayor en la variedad roja, seguido de la variedad morada, siendo la actividad quelante igual en las cuatro variedades <sup>(64)</sup>.

En otro estudio, Figueroa 2010 <sup>(50)</sup> demuestra que la variedad morada presenta el mayor contenido de betalaína en comparación de otras variedades. En otro estudio publicado por Tesoreire 2004 evidencia que la suplementación con fruto de tuna, comparado con la suplementación de vitamina C, disminuyó la 8-epiprostaglandina F2 en un 30% y malondialdehído en un 75% comparado con el grupo que recibió el suplemento de vitamina C <sup>(65)</sup>.

Los niveles de albúmina obtenidos en el grupo II, expresaron niveles más bajos en comparación de grupo I, sin embargo las proteínas totales no tuvieron diferencia significativa respecto al grupo I. Respecto a la masa del tejido hepático el grupo II presentó en promedio valores similares al grupo I.

Los resultados de proteínas totales y albúminas también se evidencia en lo reportado por Troncoso <sup>(31)</sup>, sin embargo Dash D 2007 <sup>(66)</sup> presenta, que el tratamiento con paracetamol disminuyó los niveles de proteínas totales tras la administración del paracetamol 750 mg/kg, sin embargo Troncoso 2007 <sup>(49)</sup> empleando paracetamol 200 mg/kg no encontrando diferencia significativa con respecto a su grupo control.

El tratamiento con silimarina + paracetamol (grupo III), elevó los niveles de albúmina a un 51,12%, siendo esto significativo comparado con el grupo II y similares a los encontrados en el grupo I, la masa del tejido hepático en este grupo se incrementó, pero no fue significativo, expresando una inhibición de -5,67%, respecto al grupo II.

La capacidad hepatoprotectora de la silimarina se corroboran con otros estudios, Arroyo 2012 <sup>(61)</sup>, empleando silimarina 25 mg/kg + tetracloruro de carbono, en donde evidencia que el tratamiento con este fármaco incrementa los niveles de albúmina y según lo hallado por Arnao 2012 <sup>(56)</sup> en donde empleó silimarina 50 mg/kg + paracetamol 250 mg/kg, promueven el incremento de proteínas totales respecto al

control, sin ser significativo. El mecanismo de acción de la silimarina ya fue descrito en líneas anteriores en donde resalta la capacidad regenerativa y antioxidante <sup>(67)</sup> estas características justificarían la no disminución de los niveles de albúmina en el grupo III. Otros fármacos hepatoprotectores también expresan efectos favorables sobre la albúmina y proteínas totales tal como lo reporta Troncoso 2007 <sup>(31)</sup> en donde empleó purinor + paracetamol 200 mg/kg.

En nuestro estudio encontramos que el tratamiento del zumo de *Opuntia ficus indica* a 5 y 10 mL/kg + paracetamol, produjo un incremento de los niveles de albúmina, 3,82 g/dL (54,26%) y 3,6 g/dL (52,6%) respectivamente, sin embargo los niveles de proteínas totales en los grupos experimentales mostraron niveles similares a los grupos I y II. El índice albúmina/gammaglobulina presentó valores más alto que el grupo II. En el grupo V se observa un incremento de los niveles de albúmina y la relación albúmina/gammaglobulina en comparación al grupo III.

Los valores de índice albúmina/gammaglobulina observados en el grupo I fueron observados en los grupos controles en el estudio realizado por Morris 2002 <sup>(68)</sup>, valores por debajo de 1,00 indica enfermedades hepáticas, tal como lo muestra en el grupo II (0,83).

El tratamiento con zumo de *Opuntia ficus indica* variedad morada a diferentes dosis + paracetamol, expresó valores de menores de índice hepático, siendo el grupo que recibió el zumo 10 mL/kg + paracetamol el que presentó diferencia significativa respecto al grupo II.

Este efecto protector sobre la albúmina, proteínas totales e índice hepático puede ser respaldada por los componentes fitoquímicos con capacidad antioxidante y regenerativa que presenta el fruto de *Opuntia ficus indica* (tuna), variedad morada, que en líneas anteriores fue ampliamente descrita.

De todo lo observado en el presente estudio de investigación, se infiere que el zumo de *Opuntia ficus indica* variedad morada ejerce un efecto hepatoprotector, y esto se evidencia en los indicadores enzimáticos (ALT y AST) Albumina, TBARS en suero e hígado.

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 CONCLUSIONES

1. El zumo de tuna (*Opuntia ficus indica*) variedad morada redujo los niveles de especies reactivas al ácido tiobarbiturico tanto en el tejido hepático y suero a las dosis de 5 y 10 mL/kg, sin llegar alcanzar los niveles de la silimarina.
2. La administración del zumo de tuna (*Opuntia ficus indica*) variedad morada, redujo los niveles de la actividad de los marcadores enzimáticos a la dosis de 10 mL/kg, sin llegar alcanzar la efectividad de la silimarina.
3. La administración del zumo de tuna (*Opuntia ficus indica*) variedad morada, aumentó los niveles de albúmina, y disminuyó la bilirrubina indirecta y total, siendo estos resultados similares a los encontrados en el grupo con silimarina.
4. El zumo de tuna (*Opuntia ficus indica*) variedad morada, presentó efecto hepatoprotector expresados en varios de los indicadores del daño hepático.

### 5.2 RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar estudios histopatológico del tejido hepático.
2. Realizar pruebas de capacidad antioxidante en *in vitro* al zumo de *Opuntia ficus indica*, variedad morada.
3. Se recomienda relajar la cuantificación de la actividad enzimática de: SOD, CAT, GPx, GSH y GSSG.

## VII. BIBLIOGRAFIA

1. Farfán G, Cabezas C. Mortalidad por enfermedades digestivas y hepatobiliares en el Perú, 1995-2000. *Rev. Gastroenterol* 2002; 22(4):310-323.
2. Bustíos C, Dávalos M, Román R. Características epidemiológicas y clínicas de la cirrosis hepática en la unidad de hígado del HNERM Es-Salud. *Rev. Gastroenterol* 2007; 27(3); 238-245.
3. Perú, Ministerio de Salud. Análisis de la situación de salud del Perú. Ministerio de Salud Dirección general de epidemiología; 2010. Disponible en <http://www.slideshare.net/consultoriauniversidad/analisis-de-situacion-de-salud-del-peru-ao-2010>.
4. Schuppan D, Afdhal N. Cirrosis. *Lancet* 2008; 371(9615):838-851.
5. Osorio L, Patiño T, Tagle M, Huayanay L. Percepciones, conocimientos y actitudes sobre enfermedades hepáticas en adultos sanos que acuden a instituciones de salud de estrato A, B y C. *Rev gastroenterol* 2010; 30(21):126-132.
6. Llanos L, Contreras C, Velásquez J, Mayca J, Lecca L, Reyes R, et al. Automedicación en cinco provincias de Cajamarca. *Rev. Med Her* 2001; 12(4):127-133.
7. López J, Dennis R, Moscoso S. Estudio sobre la automedicación en una localidad de Bogotá. *Rev. Salud publica* 2009; 11(3):432-442.
8. Braunwld E, Ghany M, Hoofnagle J, Berk P, Wolkoff A, Dienstag J et al. Harrison. Principios de Medicina Interna. 15ª ed. Madrid: Ediciones Mc Graw-Hill Interamericana de España; 2002.
9. Otero W, Sierra F. El hígado en cirugía. *Rev. Colomb. Gastroenterol* 2003; 18(4):230-238.

10. Guyton A. Tratado de fisiología médica, Madrid: Ediciones McGraw Hill Interamericana de España; 1992.
11. Oetti K, Stadlbauer V, Petter F, Grelberger J, Pulz C, Hallstrom S et al. Oxidative damage of albumin in advanced liver disease. *Biochim Biophys Acta*. 2008; 1782:469-473.
12. Cotran R., Kamur V, Collins T. ROBBINS. Patología estructural y funcional. España Editorial. Mc Graw-Hill interamericana .S.A.U.6ª Ed. Madrid. 2000.
13. Malhi H, Gores G. Cellular and molecular mechanisms of liver injury. *Gastroenterology*. 2008; 134:1641-1654.
14. Schoemaker m, Mosshage H. Defying death: the hepatocyte`s survival kit. *Clin Sci*. 2004; 107:13-25.
15. Clária J, Horrillo R, Martínez M, Moran E, Titos E, Gonzales A, et al. Mecanismos básicos de lesión hepatocelular. Papel de los mediadores lipídicos de inflamación. 2008; 31(10):582-592.
16. Dufour R. Guías del laboratorio para screening, diagnóstico y monitoreo de la lesión hepática *acta Bioquím Clín latatinoam* 2005; 39(3):359-376.
17. Moreno A, Gonzalez L, Mendoza J, Gracia L, Moreno R. Utilidad de los parámetros analíticos en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas. *An. Med. Interna* 2007; 24(1):38-46.
18. Larrea D. Drug induces liver diseases. *J Hepatol* 200; 32:77-78.
19. Anderson S, Cockayne S. QUIMICA Clínica, Mexico DF; Ediciones Interamericana-MacGraww Hill; 1996.
20. Mcphee S., Lingappa B, Ganong W. Fisiología Clínica: Una introducción a la fisiología clínica. 4ª ed. Mexico: Ediciones El Manual Moderno; 2003
21. Halliwell B, Gutteridge J. Free radical in biology and medicine. Oxford: Carendon, 1989;1:142.

22. Meister A, Anderson M. Glutathione. *Ann Rev Biochem*; 1983; 52: 711-760
23. Shan X, Aw T, Jones D. Glutathione – dependent protection against oxidative injury. *Pharmacol Ther* 1990; 47: 61 – 71.
24. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exptl Physiol*. 1997; 82:291-295.
25. Elejalde J. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *An Med Interna* 2001; 18(1):326-335.
26. William M. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* 2003; 349:474-485.
27. Corcoran G, Michell J, Vaishnav Y, Horning E. Evidence that acetaminophen and N-hydroxy-acetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinoneimine. *Mol Pharmacol*. 1980; 18(3):536-542.
28. Prior R. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *Am J Clin Nutr*. 2003; 78:570-578.
29. Hung H, Joshipura K, Jiang R, Hu F, Hunter D, Smith W, , et al. fruit and vegetable intake risk of major chronic disease. *J Natl cancer Inst*. 2004; 96:1577-1584.
30. Giovannucci E. Tomatoes, tomato-based products, Lycopene, and cancer. Review of the epidemiologic literature. *J Natl Canc Inst*. 1999; 91:317-331.
31. Troncoso L, Guija E. Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* (perejil) en ratas, con intoxicación hepática inducida por paracetamol.. *An fac med*. 2007; 68(4):333-343.
32. Guo C, Yang J. Progress in the study of antioxidant capacity of fruit and vegetables. *China public health*. 2001; 17:87-88.
33. Hardy G. Nutraceutical and functional foods: introduction and meaning. *Nutrition* 2000; 16:688-689.
34. Chasquibol N, Lengua L, Delmás I, Rivera D, Bazán D, Aguirre R, et al. Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia. *Per Quim Ing. Quim* 2003;



- 5(2): 9-20.
35. Diplock A. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53:189-193.
36. Manach C. Scalbert A. Morand C. Rémésy C. Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am j clin Nutr* 2004; 79:727-747.
37. Gema S, Martínez J. Efecto hepatoprotector inducido por el flavonoide astilvina frente a un modelo animal tratado con tetracloruro de carbono. *Rev Cubana Plant Med* 1999; 1(4):36-39.
38. Coria Y, Ochoa M, Nazareno M. Health-promoting substances and antioxidant properties of *Opuntia* Sp. Fruits. Changes in bioactive-compound content during ripening process. *Food Chemistry* 2011; 126(2): 514-519.
39. Butera D, Tesoriere L, Di Gaudio F, Bongiorno A, Allegra M, Pintaudi A, Kohen R, Livrea M. Antioxidant activities of sicilian pickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extractus and reducing properties of its betalains: betanin and indicathin. *J. Agric Food Chem.* 2002; 50(23): 6895-6901.
40. Esquivel P, Los frutos de las cactáceas y su potencial como materia prima. *Agronomía Mesoamericana* 2004; 15:215-219.
41. ITINTEC, El manso de la tuna y de la cochinilla. Lima,.1989
42. Norma general del COREX para zumo (jugos) y néctares de frutas. Lima-Perú 2005.
43. Freeman B, Crapo J, Free radical and tissue injury. *Lab invest* 1982; 47:412-415.
44. Okuda M, Li K, Beard M, Showalter L, Scholle F, Lemon S, et al. Mitochondrial injury, oxidative stress, and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein. *Gastroenterol* 2002;122(2):366-375.
45. Miñana J, Gómez L, Pallardo F, Del-olmo J, Escuder A. et al. Mitochondrial oxidative stress and CD95 ligang: A dual mechanism for hepatocyte apoptosis in

- chronic alcoholism. *Hepatology*. 2002; 35:1205-1214.
46. Pardo C. *Ética de la Experimentación Animal. Directrices Legales y Éticas Contemporáneas*: Departamento de Humanidades Biomédicas. Ediciones 3<sup>a</sup>. Universidad de Navarra; 2005.
47. Wiener lab Group. *Vademecum. Reagents for Clinical laboratories*. Ed 2000. Rosario, Argentina; 2000.
48. Buege J, Aust S. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymology* 1978; 52; 302-306.
49. Tesoriere L, Butera D, Pintaudi A, Allegra M, Livrea M. Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004; 80(2):391-395.
50. Figueroa I, Martínez M, Rodríguez E, Colinas M, Valle S, Ramírez S, et al. Contenido de pigmentos, otros compuestos y capacidad antioxidante en 12 cultivares de Tuna (*Opuntia* spp). *De Mexico. Agrociencia* 2010; 44(7):763-771.
51. Chiteva R, Wairagu N. Chemical and nutritional content of *Opuntia Ficus indica*. *AcademicJournals*. 2013;12(21): 3309-3312.
52. Stintzing F, Schieber R, Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *Eur Food Res Technol*. 2001; 212: 396-407.
53. Magloire J, Konarski P, Zou D, Conrad F, Zou Ch. Nutritional and medicine use of cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Frontiers in Bioscience* 2006; 11:2574-2589.
54. García L, Salinas Y, Valle S. Betalaínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en pitaya de mayo (*Stenocereus griseus* H). *Rev. Fitotec. Mex* 2012; 35:(5):1-5.
55. Ncibi S, Othman MB, Akacha A, Krifi MN, Zorgio L. *Opuntia ficus indica* extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver. *Food and Chemical*

- Toxicology. 2008; 46: 797 – 802.
56. Arnao A, Suárez S, Trabuco J, Cisneros R, Rodrigo M. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en un modelo de intoxicación con acetaminofén An Fac Med. 2012; 73(3):238-244.
57. Ochoa C, Granda C, Chapoñan M, Borjas P, Ortiz J, Ugaz G, et al Efecto protector de *Peumus Bolddus* en ratas con toxicidad hepática inducida por paracetamol. CIMEL 2008; 13(1):20-25.
58. Sánchez M, Santiago E, Vargas L. Mendoza V. Propuesta de un constructo para evaluar íntegramente el estrés oxidativo .Bioquímica 2004; 29(3):81-90.
59. Garcia M, Andrades R, Lucena M, Gonzales R, Camargo R, Fernandez E, et al. Hepatotoxicidad secundaria a fármacos de uso común. Gastroenterol Hepatol. 2005; 28(8): 461-472.
60. Arroyo J, Almora Y, Quino M, Raez E, Martinez J, Buendia J, et al. Efecto protector en Cirrosis Hepatica inducida en ratas del extracto etanolico de las hojas de *Piper aduncum* comparado con Silimarina. An. Fac. Med. 2012; 73(2): 85-91.
61. Saller R, Brignoli R, Melzer J, Meier R. An updated systematic review with meta-analysis for the clinical evidence of silymarin. Forsch Komplementmed 2008; 15(1): 9-20.
62. Pradhan S, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. Indian J Med 2006; 124:491-504.
63. Sandoval M, Lazarte K, Arnao I. Hepatoprotección antioxidante de la cascara y semilla de *Vitis vinífera L.* (uva). An Fac med.2008; 69(4):250-259.
64. Sumaya M, Cruz S, Madrigal E, García J, Cariño R, Cruz N , et al. Betalain, acid ascorbic, phenolic contents and antioxidants properties of purple, red yellow and White cactus pears. Int. J. Mol. Sci. 2011;12:6452-6468.
65. Tesorieri L, Butera D, Allegra M, Fazarri M, Livrea M. Distribution of betalain

pigments in red blob cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cell to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. *J Agric Food chem.* 2005;53,1266-1270.

66. Dash D, Yeligar C, Nayak S, Ghosh T, Rajalingam D, Sengupta P, et al. Evaluation of hepatoprotective and antioxidant activity of *Ichnocarpus frutescens* (Linn.) R.Br. on paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Trop J Pharm Res* 2007;6(3): 755-765.
67. Ramellini G, Meldolesi J, Liver protection by silymarin: in vitro effect on dissociated rat hepatocytes. *Arzneimittelforschung* 1976; 26:69-73.
68. Morris H, Borges L, Martínez C, Carrillo O. Aspectos bioquímicos de la recuperación de ratones balb/c malnutridos con un hidrolizado proteico de *Chlorella vulgaris*, *Revista Cubana Aliment Nutr* 2002;16(1):5-12