



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Académico Profesional de Nutrición

**Efecto hepatoprotector del zumo de *Spondias purpurea*
“ciruela” variedad roja en ratones inducidos a
toxicidad por etanol**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Nutrición

AUTOR

Albino Edder Giordano TORRES MONTAÑEZ

ASESOR

Oscar Gustavo HUAMÁN GUTIÉRREZ

Lima, Perú

2016



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Torres A. Efecto hepatoprotector del zumo de *Spondias purpurea* “ciruela” variedad roja en ratones inducidos a toxicidad por etanol [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Académico Profesional de Nutrición; 2016.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
 (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
 FACULTAD DE MEDICINA
 Escuela Académico Profesional de Nutrición



«Año de la consolidación del Mar de Grau»

ACTA DE EXAMEN DE TITULACIÓN
 MODALIDAD DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

612
 46

Conforme a lo estipulado en el artículo 45 de la Ley Universitaria 30220, el Jurado de Sustentación nombrada por el Comité Asesor y la Dirección de la Escuela Académico Profesional de Nutrición, conformado por las siguientes Docentes:

- Presidente: Mg. Ivonne Isabel Bernui Leo
 Miembros: Mg. Miguel Hernán Sandoval Vegas
 Mg. Gladys Panduro Vásquez
 Asesor: Mg. Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez.

Se reunió en la ciudad de Lima, el día lunes 13 de junio del 2016, para proceder a evaluar la Sustentación de Tesis para Optar el Título Profesional de Licenciado en Nutrición, al Bachiller:

ALBINO EDDER GIORDANO TORRES MONTAÑEZ

Código de Matrícula N° 10010416

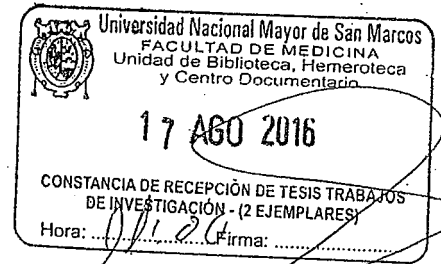
Tesis: «Efecto hepatoprotector del zumo de Spondias Purpurea "ciruela" variedad roja en ratones inducidos a toxicidad por etanol» (Aprobado con RD N°2081-D-FM-2014, inclusión de primer nombre con RD.N°0347-D-FM-2016) el mencionado Bachiller aprueba el Examen, obteniendo la calificación:

Dieciocho

(en letras)

Estando de acuerdo con la presente acta, el Jurado de Sustentación, firma en señal de conformidad.

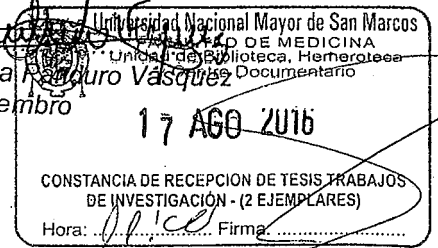
Mg. Ivonne Isabel Bernui Leo
 Presidente



Mg. Miguel Hernán Sandoval Vegas
 Miembro



Mg. Gladys Nerella Panduro Vásquez
 Miembro



AMBY/Glenda

DEDICATORIA

Dedico este gran esfuerzo a mis padres por su incondicional apoyo y confianza a lo largo de estos años, a mi hermana por los buenos momentos que me brindan cada día al estar cada vez más juntos.

AGRADECIMIENTOS:

A Dios:

Por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A mi asesor:

El Mg. Oscar Huamán por su constante apoyo y sus aportes para el desarrollo de este trabajo que ayudó a enriquecer y ampliar.

Al Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición:

Por permitirme ejecutar la tesis.

Al Dr. Jose Ernesto Raez Gonzales:

Por su gran aporte en la lectura de los cortes histológicas.

AGRADECIMIENTOS:

A mi Escuela:

Por la formación profesional que me dio.

A mis profesores:

Por ser verdaderos maestro.

A mis amigos:

Por el apoyo que siempre me brindaron y por los momentos inolvidables que hemos vivido a lo largo de los cinco años.

A los miembros del Jurado:

Por su tiempo revisión y sustentación.

RESUMEN

Objetivos: Determinar el efecto hepatoprotector del zumo de *Spondias purpurea* (ciruela) variedad roja en ratones inducidos a toxicidad por Etanol. **Materiales y métodos:** tipo de estudio analítico, experimental y transversal; ensayo se utilizó 40 ratones machos albinos (*Mus musculus*) cepa Balb/c/ CNPB, con un promedio de peso de 30 ± 5 g. Se empleó el zumo de fruta de *Spondias purpurea* (ciruela) por presión manual y se coló con un tamiz fino. Después el zumo fue colocado en un frasco ámbar para su protección a la luz. Los ratones fueron distribuidos de forma aleatoria en cinco grupos (n=8). Las cuales recibieron los siguientes tratamientos por cinco días, Vía peroral: grupo I y II: suero fisiológico; grupo III: silimarina 100 mg/kg; grupo IV: 1mL/kg y grupo V: 10mL/kg de zumo de *Spondias purpurea* (ciruela). Simultáneamente del grupo II al V recibieron etanol al 5% en solución glucosada 5% en su bebedero para consumo *ad libitum* por cinco días. **Principales medidas de resultados:** índice hepático (IH) , Grupos sulfridrilo no proteico (GS-NP), lipoperoxidacion (TBARS), histopatológico **Resultados:** el zumo de *Spondias purpurea* (ciruela) ejerce un efecto hepatoprotector, esto se evidencia en el IH en un 27,67% y en los GS-NP en un 21,41%, histológicamente, se observó signos de necrosis con la administración de la mayor dosis del zumo **Conclusión:** el zumo de *Spondias purpurea* a dosis de 1mL/kg indujo a una elevación de GSNP y 10mL/kg mostró efecto prooxidante.

Palabras clave: planta medicinal; *Spondias purpurea*; etanol; ciruela; lipoperoxidación

Abstract:

Objectives: To determine the hepatoprotective effect of *Spondias purpurea* juice (plum) red variety in ethanol toxicity induced mice. **Materials and methods:** type of analytical, experimental and cross-sectional study; 40 albino males mice assay (*Mus musculus*) Balb / c / CNPB was used, with an average weight of 30 ± 5 g. fruit juice *Spondias purpurea* (plum) was used by manual pressure and slipped a fine sieve. The juice was placed in an amber bottle for light protection. Mice were randomized into five groups (n = 8). Which they received the following treatments for five days, perorally: group I and II: saline; Group III: silymarin 100 mg / kg; Group IV: 1 mL / kg and group V: 10 mL / kg of juice *Spondias purpurea* (plum). Simultaneously II to V group received 5% ethanol in Dextrose 5% in their water dish for ad libitum consumption for five days. **Main outcome measures:** liver index (HI), nonprotein sulfridrilo Groups (GS-NP), lipid peroxidation (TBARS), histopathology **Results:** juice *Spondias purpurea* (plum) has a hepatoprotective effect, this is evident in the IH in a 27.67% and in a GS-NP 21.41%, histologically, signs of necrosis after administration of the highest dose was observed juice **Conclusion:** *Spondias purpurea* juice at doses of 1 mL / kg induced an elevation of GSNP and 10mL / kg showed prooxidant effect.

Keywords: Medicinal plant; *Spondias purpurea*; ethanol; plum; lipid peroxidation.

Tabla de contenido

I.	INTRODUCCION	1
II.	HIPOTESIS Y OBJETIVOS	11
	2.1 Hipótesis	11
	2.2 Objetivos	11
III.	METODOLOGIA	12
	3.1 Tipo de investigación.....	12
	3.2 Materiales.....	12
	3.3 Variables	13
	3.4 Recolección y preparación de la muestra	14
	3.5 Condicionamiento de la unidad de estudio.....	15
	3.6 Inducción a la hepatotoxicidad	15
	3.7 Diseño estadístico	20
IV.	RESULTADOS.....	21
V.	DISCUSION	25
VI.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	33
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	34

I. INTRODUCCION:

La cirrosis hepática constituye uno de los principales problemas de salud en el mundo, debido a su alta morbilidad y mortalidad, su prevalencia es variable de un país a otro, dependiendo de los factores etiológicos, la cirrosis se presenta con más frecuencia en el sexo masculino, probablemente asociado a la infección por los virus de las hepatitis y el alcoholismo que son más frecuentes en el varón ⁽¹⁾.

En la cirrosis, existen algunos estudios donde la incidencia varía entre el 7% y el 10% de la población general, y muchos pacientes no saben que la padecen, hasta que sufren una descompensación y entonces se hace evidente ⁽²⁾.

A nivel mundial las causas principales de cirrosis hepática son el consumo crónico de alcohol y la enfermedad viral crónica, y las causas menos frecuentes son las enfermedades hepáticas autoinmunes (hepatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria y colangitis esclerosante primaria), las enfermedades metabólicas (deficiencia de alfa-1-antitripsina, enfermedad de Wilson, hemocromatosis, fibrosis quística) así como la esteatosis hepática no alcohólica ⁽³⁾.

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 análisis de la situación de salud del 2010, la cirrosis hepática y ciertas 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, y es la segunda causa de muerte entre defunciones registradas para el grupo etario de 20 a 65 años ⁽⁴⁾.

El hígado es el segundo órgano más grande del cuerpo, después de la piel, y es el mayor órgano interno, el cual tiene un papel vital para el organismo humano, presentando multiplicidad funcional metabólica, digestiva, hemostática, inmunológica y de reserva, con flujo de alrededor de 1 500 mL de sangre por minuto. Cada uno de los dos lóbulos principales contiene unidades más pequeñas llamadas lobulillos⁽⁸⁾.

El lobulillo hepático, considerado como la unidad histológica, es aproximadamente hexagonal, organizado alrededor de las venas hepáticas centrolobulillares con cordones de hepatocitos y sinusoides que se irradian hacia afuera, 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 y vasos linfáticos.^(5,6)

Los hepatocitos convierten gran parte del material nutritivo que se lleva al hígado en productos de almacenamiento, como glucógeno, que se liberan a medida que el cuerpo requiere glucosa, estas células están dispuestas en lobulillos en forma de hexágonos de casi 2 mm de largo y 700 μm de diámetro.⁽⁷⁾

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 (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, vitamina D, vitamina

B12 y minerales como el hierro en forma de ferritina ^(6,8).

Las funciones del hígado relacionadas al metabolismo de las grasas son la oxidación de los ácidos grasos, para proveer energía y la síntesis de colesterol. Para extraer la energía de las grasas neutras, primero se escinde la grasa en glicerol y ácidos grasos, luego, estos se rompen por la β -oxidación en radical acetilo de dos carbonos que forma la acetil CoA, está a su vez ingresa al ciclo de Krebs para oxidarse y liberar energía. La β -oxidación puede suceder en toda las células de nuestro cuerpo, pero principalmente sucede en el hígado ⁽⁸⁾.

El hígado, por sí mismo no puede utilizar acetil CoA, en su lugar es transformada en ácido acético, un ácido soluble, que pasa al líquido extracelular y luego transportado a los tejidos, estos tejidos transforman el ácido acético en acetil-CoA y después ingresa al ciclo de Krebs para oxidarse y liberar energía, de esta manera el hígado se responsabiliza del metabolismo de las grasas ⁽⁸⁾

Las hepatopatías pueden ser agudas o crónicas, hereditarias o adquiridas, estas se dividen en: hepatitis vírica aguda, hepatitis fulminante, hepatitis crónica, esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), hepatitis alcohólica y cirrosis, hepatopatías colestáticas, trastornos hereditarios y otras hepatopatías ⁽⁹⁾.

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, tóxico, microbiana, circulatorio y neoplásico, capaces de producir lesiones celulares en el hígado, que conduciría una alteración funcional, que puede pasar de ser un proceso agudo a uno crónico, manifestándose principalmente con la muerte de las células parenquimatosas (hepatocitos) tanto por necrosis como apoptosis independiente del agente etiológico ^(10,11).

La cirrosis es considerada una presentación asintomática hasta que se manifiesta

las complicaciones con ictericia, eritema palmar, ascitis, hedor hepático, anorexia, pérdida de peso entre otras y por consecuencia a la muerte ⁽¹²⁾.

Las características de la cirrosis alcohólica, son variables, los síntomas pueden ser asociados a la hepatitis alcohólica; aunque también son posibles la hemorragia gastrointestinal, la encefalopatía hepática o la hipertensión y otros síntomas asociados a la afectación hepática. Además, los pacientes pueden presentar ascitis, acumulación de líquido, proteínas séricas y electrolitos en la cavidad peritoneal debida al aumento de la presión por hipertensión portal y la disminución de la síntesis de albúmina (responsable de la presión osmótica coloidal en suero). Habitualmente, la biopsia hepática detecta cirrosis micronodular, aunque puede ser macronodular o mixta ⁽⁹⁾.

Los mecanismos más comunes implicados en la patogenia y/o desarrollo de estas lesiones hepáticas destacan los 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 α) y el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) 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)⁽¹³⁾.

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 ⁽¹⁴⁾.

La sustancia antioxidante más importa intracelular es mediano por el glutatión (GSH), este es una tripeptido (GSH, gama-L-glutamyl-Lcisteinil- glicina) que protege a la célula de diferentes especies oxidativas. 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 glutamylcistein sintetasa (GGCH), el flujo de GSH desde el hígado, el uso intracelular del GSH como agente reductor de peróxidos tóxicos, la conjugación con metabolitos electrofilicos y por la combinación de todos estos factores.⁽¹⁵⁾ Así como la interacción sinérgica de su actividad con otros agentes antioxidante como la vitamina C, E y la Superoxido dismutasa (SOD)⁽¹⁶⁾.

El desbalance de este equilibrio en el organismo, debido a una mayor producción de especies reactivas (EROS) y/o una menor capacidad de los antioxidantes, conduce al estrés oxidativo⁽¹⁷⁾.

La determinación de los niveles de grupos sulfhídricos no proteicos (GSNP), es un indicador de protección antioxidante a nivel hepático, siendo el glutatión (GSH) el componente mayoritario de los compuestos con grupo sulfhidrido no proteico (95-98%)⁽⁴¹⁾.

El proceso de peroxidacion lipídica comienza con un ataque del radical libre a un doble enlace asociado a un ácido graso poliinsaturado. Esto resulta en la remoción de un hidrogeno de un grupo metileno (CH₂) lo que determina el proceso de iniciación de la peroxidacion lipídica. El siguiente paso es la propagación, donde se produce un reordenamiento molecular, formando el radical peroxilo. Este finalmente ingresa a la etapa de terminación, donde es capaz de remover átomos de hidrogeno formando hidroperóxidos lipídicos, los cuales darán origen finalmente a la formación de aldehídos de cadena corta. Dentro de los productos de las reacciones de oxidación que se formarían durante la peroxidacion lipídica se encontrarían el malonildialdehido y los 4-hidroxi-alquenos, los cuales servirían

como marcadores de la acción del estrés oxidativo ⁽¹⁸⁾.

El índice de peroxidación lipídica se mide por el test del ácido tiobarbitúrico (TBA), gracias a ser un test rápido y simple. El test de TBA determina entre otros la cantidad de malondialdehído, un producto importante de la peroxidación lipídica en una muestra ⁽³⁷⁾.

La determinación de los niveles de lipoperoxidación, es un indicador de lesión de los tejidos inducido por especies reactivas al oxígeno, que es medido por medio de las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs) ^(38,39).

El alcohol se metaboliza casi exclusivamente por dos vías a nivel hígado la primera por la alcohol deshidrogenasa (ADH) y la segunda el sistema microsomal oxidativo del alcohol (MEOS). Se ha demostrado que ambas vías enzimáticas tienen múltiples e importantes consecuencias nutricionales y metabólicas en los pacientes que ingieren cantidades abusivas de alcohol. ⁽¹⁹⁾

La vía alcohol deshidrogenasa (ADH) convierte el alcohol en acetaldehído, una sustancia potencialmente tóxica. La rapidez de este paso metabólico depende en parte de los factores nutricionales; por ejemplo, la dieta baja en proteínas reduce los niveles hepáticos de ADH y consecuentemente, disminuye la metabolización del alcohol. Este efecto también se ha observado en animales de experimentación sometidos a ayuno prolongado, por tanto, se asume que en un paciente alcohólico con malnutrición se ralentiza la degradación del alcohol y, secundariamente, sus niveles en sangre se mantiene elevados durante más tiempo; esta alcoholemia proporciona un mayor oportunidad de lesiones crónicas en el hígado y otros órganos (páncreas, cerebro, riñones) ⁽¹⁹⁾.

El metabolismo de alcohol por la vía de la ADH genera acetaldehído y átomos de hidrógeno. Estos átomos reaccionan con el NAD^+ y la convierten en un producto (NADH^+). Si la degradación enzimática del alcohol generara mucha NADH^+ , el

desequilibrio $\text{NAD}^+/\text{NADH}^+$ puede causar graves errores metabólicos como una síntesis anormal de ácido láctico y la consecuente reducción de la capacidad excretora de ácido úrico por el riñón por tanto, la ingestión excesiva de alcohol puede causar gota, por otra parte, el aumento de NADH^+ promueve la síntesis de ácidos grasos y reduce su degradación metabólica en el hígado, por lo que contribuye causalmente a la formación de un hígado graso (esteatosis). Otros factores cooperativos son, la excreción disminuida por el hígado de grasas con contenido proteico, la liberación de grasa en otros órganos y transporte al hígado, y la captación aumentada por el hígado de las grasas circulantes en la sangre. El resultado de todos estos procesos es el hígado graso, que constituye la primera forma de lesión hepática causada por el alcohol.⁽¹⁹⁾

En fases avanzadas de la lesión hepatocelular, el NADH^+ induce la síntesis de colágeno y la subsiguiente transformación fibrosa del hígado a través del estímulo de la proliferación, maduración y diferenciación de las células estrelladas hepáticas⁽¹⁹⁾.

En el sistema MEOS, las enzimas en los microsomas hepáticos adquieren relevancia metabólica en los pacientes con ingestión crónica y excesiva de alcohol; este sistema microsomal es asimismo de importancia decisiva en el metabolismo y eliminación de múltiples fármacos. Debido a ambas razones expuestas, la activación del sistema MEOS por el alcohol puede acarrear una alteración en el metabolismo de ciertos fármacos y contribuir a que se produzcan interacciones nocivas que acaben provocando un daño hepatocelular grave, el componente del sistema MEOS decisivo para el metabolismo del alcohol es el citocromo P450 2E1 (CYP2E1), cuyos niveles intrahepáticos aumentan sustancialmente tras la ingestión de etanol. La actividad aumentada del CYP2E1 contribuye al desarrollo de hepatopatía crónica, la cual se manifiesta inicialmente en forma de esteatohepatitis (depósito de grasa más inflamación). Adicionalmente, el metabolismo del alcohol a través del sistema MEOS también puede producir

daño hepático mediante la generación de sustancias tóxicas, como especies reactivos del oxígeno (ROS), o por reducción de los niveles intrahepático de sustancias protectoras como el glutatión reducido (GSH) y la vitamina E (α -tocoferol). Así, los pacientes cirróticos tienen unas concentraciones muy disminuidas de vitamina E en el hígado ⁽²⁰⁾.

En los últimos años se han encontrado algunos alimentos con potencial antioxidante, que ayudan a las personas que sufren esta patología tengan la opción de consumirlos en su dieta.

La ciruela de huesito (*Spondias purpurea*), es originario de América tropical, su fruto deriva de un árbol perenne que pertenece al género *Spondias*, a la especie *purpúrea* y de la familia de las Anacardiáceas, posee dos variedades: amarilla y roja; la pulpa es amarilla algo ácida y astringente, jugosa y de agradable aroma. ⁽²¹⁾

Su árbol puede llegar a medir hasta 20 metros, en zona seca es más pequeño y lleno de ramas en forma de espinas solitarias o en grupo. Se le da otros nombres en otros países como: Jocote, jocote iguanero, sismoyo. Posee Hojas imparipinnadas, de 5 a 12 pares de folíolos, glabros, variables en tamaño, opuestos o alternos. Ápice agudo, redondeado. Base aguda, obtusa o asimétrica. Borde entero o levemente aserrado. ⁽²¹⁾

La ciruela de huesito es rica en vitamina C, tiene un sabor agradable que se come natural o en mazamorra, mermelada, helados, natilla, y recientemente se fabrica vino con esta fruta. En la mermelada esta fruta tiene un sabor parecido al de la ciruela común europea. Este tipo de ciruela debe su nombre a la semilla que es una nuez en forma de hueso, de color amarillo igual que la jugosa pulpa, que a su vez está recubierta de una delgada capa más dura que la pulpa que puede ser amarilla o roja y se considera con gran potencial económico ya que puede ser materia prima para la industria de la refresquería, confituras y frutos

deshidratados.⁽²¹⁾

No hay suficientes estudios donde se evidencie el efecto protector de la de *Spondias purpurea* (ciruela).

Los estudios realizados por Diplock 1991, Manach 2004 y Gema 1999, 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.⁽²²⁻²⁴⁾

El estudio realizado por Beserra M. 2011, Gregoris E. 2013 se comparó el contenido de compuestos fenólicos, vitamina C, antocianinas y la actividad antioxidante de frutas, cultivadas en el noreste de Brasil. La ciruela fue la segunda fruta que presentó el mayor contenido total de antocianinas, también contenía cantidades moderadas de ácido ascórbico y por último presentó una moderada capacidad antioxidante^(25,26).

En otro estudio realizado por Engels C. 2012, fueron extraídos ácidos fenólicos y flavonoles O-glucósidos de las cáscaras de frutas jocote (*Spondias purpurea* L., Anacardiaceae) cosechados en Costa Rica y fueron caracterizados usando UPLC. Además de los ácidos fenólicos, se detectaron varios O-glucósidos de quercetina, kaempferol, kaempferide y ramnetina. Este es el primer estudio sobre la composición fenólica de jocote⁽²⁷⁾.

En otro estudio, realizado por Tiburski J. 2011, se evaluó las propiedades nutricionales del jobo (*Spondias mombin* L.) y se concluyó que la pulpa de jobo tiene altos niveles de potasio, magnesio, fósforo y cobre cuando se comparan con otras frutas. También presenta los niveles más altos de compuestos fenólicos, mostrando también un alto contenido de carotenoides⁽²⁸⁾.

En otro estudio realizado por Miranda E. 2012, se evaluó la actividad microbiana de los extractos etanólico de la hoja y corteza de cuatro plantas utilizadas, donde se demostró que la ciruela (*Spondias purpurea* L) presentó actividad antimicrobiana ⁽²⁹⁾.

Un estudio, realizado por Dantas A. 2012, se evaluó a toxicidad aguda y la actividad anti-úlceras de extracto de etanol de *Spondias purpurea* (ciruela) y tuvo como resultados que el extracto de etanol de la *S. purpurea* reduce ulceraciones en todas concentraciones administradas y no promueve cambios en el volumen o el pH gástrico ⁽³⁰⁾.

Teniendo en cuenta todo lo dicho anteriormente se evaluó el efecto hepatoprotector del zumo de ciruela (*Spondias purpurea*) en ratones machos y así entraría en la lista de frutas y plantas que podría consumir una persona que tenga enfermedades hepáticas. Ver anexo 2.

II. Hipótesis y objetivos:

2.1. Hipótesis:

El zumo de fruta de *Spondias purpurea* (ciruela) variedad Roja, presenta efecto hepatoprotector en ratones inducidos a toxicidad por consumo de etanol.

2.2. Objetivos:

2.2.1. Objetivo general:

- Determinar el efecto hepatoprotector del zumo de *Spondias purpurea* (ciruela) variedad roja en ratones inducidos a toxicidad por Etanol.

2.2.2. Objetivos específicos:

- Determinar el efecto del zumo de *Spondias purpurea* (ciruela) variedad roja sobre los marcadores del estrés oxidativo en el tejido hepático en ratones inducidos a toxicidad por etanol.
- Determinar el efecto del zumo de *Spondias purpurea* (ciruela) variedad roja sobre la morfología del tejido hepático en ratones inducidos a toxicidad por etanol.

III. Metodología:

3.1 Tipo de investigación: Argimon⁽³²⁾

Según la finalidad el estudio es analítico

Por la secuencia de estudio es experimental.

Por el inicio del estudio en relación a los hechos es transversal.

3.2 Materiales:

✓ Material biológico:

- Ratones albinos de laboratorio (*Mus musculus*) cepa Balb/c/CNPB,
- Fruto de *Spondias purpurea* (ciruela).

✓ Equipos:

- Homogenizador marca: Ultra-Turrax; modelo: IKA-T10BASIC
- Espectrofotómetro marca: GREETMED; modelo: NV203
- Centrifuga: GREETMED; modelo: GTT119-300
- Balanza analítica modelo: RADWG®; modelo: WTB200.
- Baño María marca: AVALIER; modelo: VL-32.

✓ Reactivos y fármacos:

- Etanol Spectrum
- 2 – Thiorbarbitursäure Acid ; Merck
- Trichloroacetic Acid ; Mallinckrodt AR

- Silimarina Genfar 150mg
- Trizma Base; Sigma
- 5,5 –Dithio -bis (2-nitrobenzoic Acid) Sigma
- 2 – tio-barbituric Acid Merck
- Ethylene dinitrilotetraacetic Acid Disodium Sal dihidratade Merck

3.3. Definición de variables y operacional de variables

3.3.1 Definición de variables

A) Variable independiente: Zumo del fruto de *Spondias purpurea* (ciruela)

Se entiende por zumo al extracto sin fermentar, pulposo, turbio o clarificado, destinado a consumo directo, obtenido por procedimiento mecánico a partir de fruta madura y sana.⁽³³⁾

B) Variable dependiente: Efecto hepatoprotector

Es la protección del hígado frente a la variación de la defensa antirradicalarios del organismo por efectos nocivos de xenobioticos.⁽³⁴⁻³⁶⁾

3.3.2 Operacional de variable:

Variable	Dimensiones	Indicadores	Categorías/Puntos	Escala de medición
Independiente Zumo de fruta de la <i>Spondias purpurea</i>		Administración del zumo de <i>Spondias purpurea</i>	<ul style="list-style-type: none"> • 1mL/kg (grupo IV) • 10mL/kg (grupo V) 	Razón
Dependiente Efecto Hepatoprotector	<ul style="list-style-type: none"> • Marcador del estrés oxidativo 	<ul style="list-style-type: none"> • Grupo sulfidrilo no proteico ($10^2 \mu\text{g/g}$) • Lipoperoxidacion (nmol/g) 	Comparados con el grupo I y II	Razón
				Razón
	<ul style="list-style-type: none"> • Morfológico 	<ul style="list-style-type: none"> • Índice hepático • Cambios citoarquitectura 		Razón
				Nominal

3.4. Métodos:

3.4.1 Recolección y preparación de la muestra:

La ciruela (*Spondias purpurea*), se recolecto en el estado de maduración comercial en el mercado N°3 – Chorrillos, Lima, la cual procede de la provincia de Pisco – Región de Ica. El zumo se obtuvo por presión manual y se coló con un tamiz fino. Después el zumo fue colocado en un frasco ámbar para su protección a la luz, dicho zumo fue preparado nuevamente durante la fase de tratamiento desechándose lo sobrante. Ver Anexo 3

3.4.2 Condicionamiento de la unidad de estudio:

Para el ensayo se utilizaron 40 ratones machos albinos (*Mus musculus*) cepa Balb/c/ CNPB, machos con un peso promedio de 30 ± 5 g, provenientes del Instituto Nacional de Salud (INS), los cuales fueron colocadas en jaulas individuales, a temperatura controlada entre 22 °C los cuales tuvieron un periodo de adaptación de 5 días previo al ensayo, durante este tiempo recibió alimentación balanceada del Centro de Producción de la UNALM y agua *ad libitum*.

3.4.3. Tratamiento e inducción a la hepatotoxicidad:

Se empleó el método propuesto por Sandoval 2008 para inducir la toxicidad por etanol al 5% en solución glucosada 5% colocado en bebedero para consumo *ad libitum* ⁽³⁷⁾.

Para demostrar el efecto hepatoprotector, se administraron los tratamientos vía peroral durante 5 días, los cuales estaban constituidos por zumo de ciruela (*Spondias Purpurea*) variedad roja, Silimarina a dosis 100 mg/kg.

Cuadro N°1 Tratamiento administrado a los grupos

	Bebedero	Tratamiento(Vía Peroral)
Grupo I	S. Glucosada 5%	Suero fisiológico 10 mL/kg
Grupo II	Etanol 5% Glucosa 5%	Suero fisiológico 10 mL/kg
Grupo III	Etanol 5% Glucosa 5%	Silimarina 100 mg/kg
Grupo IV	Etanol 5% Glucosa 5%	zumo 1 mL/kg
Grupo V	Etanol 5% Glucosa 5%	zumo 10 mL/kg

Concluido el período experimental, los animales, fueron sometidos a un ayuno previo de 14 horas y posteriormente fueron anestesiados con Pentobarbital vía intraperitoneal. Inmediatamente se realizó laparotomía abdominal para extraer el hígado. Ver anexo 4

3.4.4 Determinación de los marcadores del estrés oxidativo.

Para la determinación de los marcadores bioquímicos se preparó los siguientes homogenizados de hígado:

- **Homogenizado para lipoperoxidacion**

Se pesó $0,158 \pm 0,016$ g de tejido hepático y se homogenizado a un volumen final de 3 mL con buffer fosfato 0,01M pH 7,4.

- **Homogenizado para GSNP**

Se pasó $0,158 \pm 0,016$ g de tejido hepático en un volumen final de 3 mL con EDTA 0,02 mol/L helado.

- **Determinación de los niveles de lipoperoxidacion (TBARS)**

Se empleó el método de Buege y Ust (1978)⁽³⁸⁾ y modificado por Suarez (1995)⁽⁴¹⁾

Fundamento

Mediante la reacción de dos moles de ácido 2-tiobarbiturico con una mol de malondialdehído, aldehído más significativo en dicha reacción, que es producto de la lipoperoxidacion de los ácidos grasos, principalmente de membranas, y que al reaccionar con el ácido tiobarbiturico, forma un complejo coloreado (color rosado) con una absorción máxima a los 535 nm, la intensidad de esta coloración será proporcional al grado de lipoperoxidacion de los ácidos grasos.

Protocolo

Para esta técnica se tomó 0,4 mL de homogenizado del hígado y se agregó 0,8 mL de ácido tricloroacetico al 20% en un tubo con tapa, el cual fue sometido a

ebullición por 10 minutos en baño María, luego se retiró y enfrió con agua. Posteriormente se le agregó 1,2 mL de ácido 2- tiobarbiturico al 0,67% en HCl 0,25 N, y se llevó a baño María hirviendo por 20 minutos, luego se retiró y centrifugó 3500 RPM por 15 minutos.

La absorbancia del sobrenadante se midió en el espectrofotómetro a 535 nm.

Para los cálculos se utilizó el coeficiente de extinción molar $1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ L}$ del complejo coloreado formado por el malondialdehído-tiobarbiturico.

Los resultados se expresaron como nmol/g de peso de tejido húmedo y porcentaje de inhibición, mediante la siguiente formula:

$$= \frac{[\quad / \quad] (P -) x \quad x \quad x}{100 \quad \epsilon x \quad x \quad x}$$

VBX: volumen de la reacción 1,8 mL

E: Coeficiente de extinción molar $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

V: volumen del homogenizado para reacción 0,3 mL

L: longitud e la cubeta 1 cm.

VH: volumen del homogenizado 5 mL

W: peso del tejido para el homogenizado, aproximadamente 0,5 g.

$$\% = \frac{\quad - \quad}{\quad} \times 100$$

GII: Grupo control positivo

Gtto: Grupo en tratamiento

- **Determinación de grupos sulfhidrilo no proteico (GSNP)**

Se aplicó el método de Sedlak y Lindsay 1968⁽⁴⁰⁾

Fundamento

La oxidación de los grupos sulfhidrilos por el ácido 5,5-ditiobis (2-nitrobenzoico) (DTNB), produce la formación de un mol de ácido 2-nitro-5-tiobenzoico (TNB), que fue leído a 412 nm.

Protocolo

Para esta técnica se tomó 0,5 mL del homogenizado en un tubo de centrifuga, 1mL de ácido tricloroacético al 50% (TCA) y 0,4 mL de agua, se mezcla y se reposo por 15 minutos, luego se centrifugó a 5000 rpm por 5 minutos. Se tomó 0,5 mL del sobrenadante y se agregó 2 mL de buffer TRIS 0,4 mol/L, pH 8,9 luego se añadió 0,025 mL de DTNB 0,01 mol/L y mezcló.

Luego fue leído a 412 nm antes de los 5 minutos, y se procede a registrar las absorbancias, se expresa los resultados como ug-GSH/mL/g de tejido y porcentaje de incrementó, el cual fue determinado por la siguiente formula:

$$- P \mu / = \frac{\times (\quad - \quad) \times \quad \times \quad x \quad \times}{\times}$$

FC: 65,676 μ mol%

ABS_(MP-BI): absorbancia de la muestra problema restado del blanco reactivo.

VH: Volumen del homogenizado (2 mL)

Vrxp: volumen de la reacción precipitante (2,2 mL)

VRf: volumen de la reacción final (2,525 mL)

Wc: peso del tejido hepático

Vsn: volumen del sobrenadante (0,5mL)

$$\% = \frac{\text{---}}{\text{---}} \times 100$$

Gtto: Grupo en tratamiento.

GII: grupo control positivo.

3.4.5 Determinación de los marcadores morfológicos

A) Índice hepático

Una vez extraído el hígado fue lavado en solución fisiológica y se secó en papel adsorbente, posteriormente, se pesó todo el órgano en una balanza analítica para determinar el índice hepático mediante la siguiente formula:

$$i = \frac{W_{\text{Hígado}}}{W_{\text{Animal}}} \times 100$$

$W_{\text{Hígado}}$: peso del hígado

W_{Animal} : peso del animal

B) Histológico:

Del lóbulo mayor se secciono una porción el cual fue conservado en formol al 10% tamponado con NaCl 0,9%, las muestras fueron procesadas en el Instituto de Patología de la UNMSM sede Hospital Arzobispo Loayza. Las láminas fueron leídas por el Dr. Ernesto Raez, se consideró los aspectos: estructura, espacio portal de Kiev, células de Kupffer, conductos biliares y los hepatocitos.

4.5 Análisis de datos

Los datos fueron procesados en el paquete estadístico SPSS versión 19, aplicando la prueba de normalidad de Shapiro Wilks para determinar si presentan distribución simétrica los datos de cada indicador. Los indicadores con distribución simétrica se aplicó la prueba de ANOVA, en caso contrario (asimétrica) se aplicó la prueba de Kruskal - Wallis con un p valor 0,01 y p valor 0,05.

4.6 Aspectos éticos.

Todo experimento, investigación y docencia con animales solo puede tener lugar en centros de educación superior y centros especializados públicos y privados, las medidas de bienestar de animales utilizados en actos de experimentación, investigación y docencia están basadas en las buenas prácticas de manejo, bioseguridad y bioética de acuerdo con la especie animal, las cuales deben especificarse por el Ministerio de Agricultura y Riego⁽⁴²⁾.

IV. RESULTADOS:

Al aplicar la prueba de normalidad de Shapiro Will se encontró que los indicadores índice hepático, lipoperoxidación y grupos sulfhídricos no proteicos presentaron una distribución simétrica, por consecuencia se le aplicó la prueba de ANOVA y comparaciones múltiples.

4.1 Niveles de lipoperoxidación en tejido hepático

Tabla 1: Promedio y desviación estándar Lipoperoxidación en homogenizado de hígado de ratones según grupo de tratamiento

Grupo de tratamiento	Tratamiento	TBARS nmol/g	% de incremento
Grupo I	Control negativo	19,49±3.25 ^a	--
Grupo II	Control positivo	25,52±1.23	30,93
Grupo III	Silimarina 100 mg/kg	26.52±3.53	36,07
Grupo IV	Dosis 1 mL/kg	29,69±3.42	51,87
Grupo V	Dosis 10 mL/kg	28,98±2.27	48,69

Media ± de (n=8)

(a) p < 0,01 comparado con el grupo II ANOVA (p < 0,001). Tukey HSDa

La administración de etanol al 5% del grupo II (control positivo) incrementó los niveles de lipoperoxidación expresado en TBARS, respecto al grupo I (Control negativo).

El tratamiento con silimarina y el zumo a diferentes dosis, incrementó los niveles de este indicador, mostrando valores mayores al grupo II (control positivo).

4.2 Niveles de los grupos sulfhídricos no proteicos:

Tabla 2: Promedio y desviación estándar de los Grupos sulfhidrilo no proteico (GS-NP) en homogenizado de hígado de ratones según grupo de tratamiento

Grupo de tratamiento	Tratamiento	GSNP 10 ² µg/g	% de incremento
Grupo I	Control negativo	34,50±3.99	--
Grupo II	Control positivo	30,87±6.72	--
Grupo III	Silimarina 100mg/kg	33,03±4,82	7,00
Grupo IV	Dosis 1 mL/kg	37,48±5,11	21,41
Grupo V	Dosis 10 mL/kg	32,19±7,69	4,28

Media ± de (n=8)
ANOVA (p<0,001). Tukey HSDa

La ingesta de etanol al 5% del grupo II (control positivo) redujo los niveles de GS-NP en el tejido hepático comparado con el grupo I (control negativo), sin llegar a ser significativo.

La administración de silimarina (grupo III) a la dosis 100 mg/kg mostró valores similares al grupo I, sin embargo no presentó diferencia significativa con el grupo II.

El tratamiento con 1 mL/kg de zumo de ciruela (grupo IV) incrementó los niveles de GS-NP, sin embargo a la dosis más alta 10 mL/kg (grupo V), este indicador mostró niveles más bajos, sin llegar a ser significativo.

4.3 Índice hepático:

Tabla 3: Promedio y desviación estándar del Índice de crecimiento del tejido hepático

Grupos	Tratamiento	%hepático	% de incremento
Grupo I	Control negativo	4,75±0,65 ^a	--
Grupo II	Control positivo	6,40±0,89	34,74
Grupo III	Silimarina 100mg/kg	5,01±0,70 ^a	5,47
Grupo IV	Dosis 1 mL/kg	6,39±0,48	34,52
Grupo V	Dosis 10 mL/kg	6.05±0,34	27,67

Media ± de (n=8)

(a) $p < 0,01$ comparado con el grupo II
ANOVA ($p < 0,001$). Tukey HSDa

Se observa que tras la ingestión de etanol al 5% *ad libitum*, el grupo II (control positivo) tuvo un incremento de la masa del tejido hepático tal como se observa al comparar con el grupo I, $p < 0,01$

El tratamiento con silimarina 100 mg/kg + etanol redujo el incremento del hígado (5,47%) comparando con el grupo II (control positivo), esta diferencia alcanzo a ser significativa, $p < 0,01$.

El tratamiento con el zumo de ciruela a la dosis de 10 mL/kg (grupo V) causó un incremento menor en comparación al grupo II, sin llegar a ser significativo.

4.4 Histológico:

Grupo I: Los cortes histológicos presentaron una estructura moderadamente alterada, los vasos sanguíneos (arterias y venas) con apariencia normal, conductos biliares semiobstruidos y los hepatocitos con núcleos pulverulentos, con algunos núcleos pignóticos. Con un diagnóstico final de inflamación hepática leve.

Grupos II: Algunos cortes presentaron congestión de espacios intersticiales con glóbulos rojos, algunos cortes presentan espacio portal de Kiev, conductos biliares casi obstruidos, presentaron algunas arterias y venas congestivas y presencia de hepatocitos de núcleos pignóticos pulverulentos y algunos en vía de coagulación, con diagnóstico final de hepatitis tóxica inicial.

Grupos III: Se evidenció una estructura alterada y muy irregular, Congestión y microabcesos, algunos cortes presentaron espacio portal de Kiev, con una ligera presencia de células de Kiuffer, conductos biliares de aspecto normal y presencia de hepatocitos con núcleos pulverulentos y pignóticos, con diagnóstico final de hepatitis tóxica moderada.

Grupo IV: Se evidenció una estructura muy alterada en algunos casos ya en hígado graso, con presencia de algunos conductos biliares, Hepatocitos con núcleos pignóticos y puntiformes y en algunos casos gran cantidad de células grasas, con diagnóstico final de hígado graso inicial.

Grupo V: Se evidenció una estructura con un desorden total, en algunos casos va a necrosis por partes, hepatocitos pulverulentos con gran cantidad de células espumosas, ausencia de núcleos, en algunos casos con áreas de apoptosis, con un diagnóstico final de hígado graso total.

V. DISCUSIÓN:

En los últimos años la comunidad científica ha puesto mayor énfasis en los estudios de plantas y/o alimentos 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 ⁽⁴³⁾. En la presente investigación se ha evaluado la actividad hepatoprotector del zumo del fruto de la *Spondias purpurea* (Ciruela) en ratones machos inducidos a toxicidad por etanol al 5% *ad libitum*.

En el grupo II (control positivo) se ha observado un incremento del índice hepático, una disminución del GSNP, un incremento del TBARS y un diagnóstico histológico de hepatitis toxico inicial.

Estos resultados observados en el grupo II están relacionados con el metabolismo del etanol, que es principalmente metabolizado por tres sistemas enzimáticos, la alcohol deshidrogenasa (ADH), el sistema microsomal de oxidación del etanol (MEOS) principalmente por el citocromo P450 (CYP) 2E1 y las catalasas (CAT); estos sistemas generan acetaldehído como metabolito primario, pero solo el MEOS produce ROS, las cuales conducen a la oxidación de diversas sustancias como DNA, proteínas y ácidos grasos poliinsaturados ⁽⁴⁴⁾.

Se sabe que el acetaldehído provoca una gran cantidad de efectos altamente perjudiciales y es catabolizada por el acetaldehído deshidrogenasa (ALDH) la cual se encuentra distribuida en todos los órganos, ya que, a diferencia de la ADH, que se localiza principalmente en el hígado. Otra de las diferencias fundamentales entre la ALDH y la ADH es que la primera se sitúa en los microsomas, mitocondrias y no solo en el citosol como la ADH. La ALDH cataliza de forma irreversible el acetato, junto con el incremento de la relación $NADH^+/NAD^+$ producido en mitocondria que permite un elevado metabolismo del etanol ⁽⁴⁵⁾.

Cuando aumenta la razón $NADH^+/NAD^+$, la beta oxidación se detiene, por lo tanto el hígado no lo puede oxidar y se llena de grasa (lipogenesis), a través de la

inhibición del receptor α (PPAR- α), AMP quinasa y la estimulación de un esteroide vinculado a una proteína de transcripción unida a la membrana, la combinación de estos efectos dan lugar al almacenamiento de grasa en el hígado ⁽⁴⁶⁾.

Uno de los principales mecanismos involucrados en el desarrollo y en la progresión de la hepatopatía alcohólica es el estrés oxidativo ocasionando una depleción de los sistemas antioxidantes del hepatocito, especialmente, el glutatión mitocondrial, alterando el balance entre s-adenosil metionina y s-adenosil homocisteína y produciendo peroxidación lipídica. Los productos resultantes de la peroxidación lipídica junto al acetaldehído y diversas proteínas dan lugar a la formación de neoantígenos que intervienen en la respuesta inmune ⁽⁴⁷⁾.

El estrés oxidativo también estimula la liberación de citocinas (IL-6 y 8, TNF- α , factor transformante de crecimiento beta y factor de crecimiento derivado de las plaquetas) por parte de las células de Kupffer y hepatocitos originando una actividad proinflamatoria y fibrogénica que también favorecen el daño hepático ⁽⁴⁷⁾.

Algunos de estos resultados obtenidos en el grupo II ha sido reportado por Sandoval 2008 en donde los ratones tras ingerir etanol al 5% mostraron un mayor incremento del tamaño del hígado y de los niveles de lipoperoxidación, demostrando hepatomegalia tras la ingesta de etanol *ad libitum* por tres días ⁽³⁷⁾. Zhenyuan Song 2006 reportó que ratones tratados con etanol a una dosis de (200 mg/kg) vía oral, mostraron una disminución significativa concentración de GSH hepático y un incremento de la lipoperoxidación (TBRAS), en comparación con el control ⁽⁴⁸⁾. Similares resultados encontró Alikunjhi 2011 en donde las ratas tras ingerir etanol al 20% vía oral, mostraron una disminución de los niveles de GSH, a nivel histológico presentó una fibrosis proliferativa ⁽⁴⁹⁾. En otro estudio realizado por Abdulahad Dogan 2011 reportó que las ratas tras ingerir alcohol al 20% vía oral, los niveles lipoperoxidación expresado en malondialdehído (MDA) en el grupo etanol se incrementó, los niveles de GSH hepático mostró un incremento en este mismo grupo ⁽⁵⁰⁾.

A nivel histológico, estudios reportan que los ratones que solo recibieron el tratamiento con etanol mostraron mayor daño celular que el grupo sano, congestión de la vena centrolobulillar por glóbulos rojos, núcleos pignóticos y pulverulentos, una alteración alterada de la estructura con congestión de espacios intersticiales en algunos casos edemas, estos resultados concuerdan con los estudios histológicos realizados por Subhashree Base 2013⁽⁵¹⁾, resultados similares encontramos en un estudio realizado por Daye Cheng 2011⁽⁵²⁾.

Con respecto al tratamiento con silimarina + etanol (grupo III), se observó un menor índice hepático, un aumento de niveles de GSNP y el diagnóstico histológico de hepatitis toxica moderada.

La silimarina es un compuesto de cuatro isómeros flavonolignanos, conocidos como silibina, isosilibina, silidianina y silicristina, el isómero silibina es el mayor componente y más activo, representando entre 60 y 70% del compuesto⁽⁵³⁾, la silimarina actúa de varias maneras, como antioxidante, regulador del glutatión intracelular, estabilizador y regulador de la permeabilidad de la membrana celular, que impide la entrada de sustancias toxicas a los hepatocitos, es promotor de la síntesis de ARN ribosómico y la activación del ARN polimerasa I⁽⁵⁴⁾.

Las interacciones de los compuestos flavonoides con los fosfolípidos en interface de membrana, contribuyen en la proteccion contra la peroxidacion lipídica, debido al sistema antioxidante de las células, así como la estimulación de la regeneración del hígado e inhibidor de la trasformación de las células hepáticas en miofibroblastos⁽⁵⁵⁾.

Por otra parte, la silimarina disminuye la actividad de las células de Kupffer (reduciendo la producción de radicales superóxido, de óxido nítrico y de leucotrienos) y la producción de glutatión, disminuyendo además su oxidación⁽³⁷⁾

El glutatión reducido (GSH) es el mayor componente de los grupos sulfidrilos no proteicos (GSNP) aproximadamente del 95 -98%⁽⁴¹⁾.

Algunos de estos resultados obtenidos en el grupo silimarina han sido reportado

en Chia-Hsin Huang 2010 en donde tras ingerir alcohol al 20% combinado con silimarina a una dosis de (0,25 g/kg) redujo el tamaño del hígado ⁽⁵⁶⁾, disminuyó el malondialdehído (MDA) y aumento del GSH, similares resultados fue encontrado por Sandoval 2008, en donde tras ingerir alcohol al 5% combinado con silimarina a dosis de 50 mg/100g disminuyó el índice hepático ⁽³⁷⁾, un estudio realizado por Imran Khan 2012 en ratas donde tras la ingesta de alcohol al 25% combinado con silimarina a una dosis de 100 mg/kg reportó un incremento de los niveles de GSH, una disminución del MDA y una mejora en la necrosis, amplia infiltración de linfocitos y en la pérdida celular⁽⁵⁷⁾.

Con respecto a los grupos que se administró la dosis del zumo de ciruela con etanol, se observó un menor incremento del tejido hepático, un aumento de los niveles de TBARS, GS-NP y un diagnóstico histológico para la dosis de 1 mL/kg y 10 mL/kg de hígado graso parcial y total respectivamente.

Según algunos estudios sobre la composición del fruto *Spondias purpurea* (ciruela), presenta compuestos fenólicos totales 249,5 mg/kg, vitamina C 29,6 mg/100g, antocianinas 1,35 mg/100g, taninos hidrolizables y β -carotenos (1,3 mg/100g) ^(25, 58,59). Otros estudios concluyeron que la pulpa de la *Spondias mombin* tiene altos niveles de potasio, magnesio, fósforo y cobre cuando se comparan con otras frutas, mostró efecto antioxidante, mientras que en la cascara se encontraron ácidos fenólicos y flavonoles O-glucósidos, entre ellos se detectaron varios O-glucósidos de quercetina, kaempferol, kaempferide y ramnetina, con ello se demostró su potencial antioxidante de este fruto ⁽²⁸⁾.

La quercetina es un flavonoide con actividad antioxidante, elimina los radicales e inhibe la liberación de diversas moléculas, tales como citoquinas proinflamatorias (interleucina-1 β , IL-1, IL-8 e IL-6), la administración de quercetina inhibe la elevación de la IL-10 que es una citocina antiinflamatoria potente, que de forma endógena controla la síntesis de varios mediadores proinflamatorios, esta interleucina en suero se incrementa en el tratamiento con etanol, la quercetina

también es responsable de la acción anti-inflamatoria y el alivio de la lesión hepática en ratas⁽⁶⁰⁾.

Se ha demostrado que la administración con quercetina reduce los niveles de óxido nítrico y TNF- α , la cual está relacionada con la actividad anti-inflamatoria tras la ingesta de etanol, esto fortalece el efecto hepatoprotector de la quercetina, este flavonoide quercetina reduce los niveles de los marcadores enzimáticos del daño hepático (ALT y AST) causado por la ingesta de etanol. También se ha observado un menor nivel de MDA y un mayor nivel de GSH en el hígado de ratas tratadas con etanol.⁽⁶⁰⁾

Se ha demostrado que las antocianinas Inhiben la formación de radicales libres en el proceso de repercusión; reduce los niveles de MDA, también aumenta los niveles de GSH y protegen las células cardiacas después de un proceso isquémico; las antocianinas son capaces de disminuir la actividad del óxido nítrico sintasa y los niveles de óxido nítrico^(61,62).

Los taninos pueden comportarse como antioxidantes y pro-oxidantes, dependiendo de la concentración y fuente de radicales libres, Los taninos hidrolizables se clasifican en ácido gálico y ácido elágico, en donde el ácido elágico ha sido relacionado como anticancerígeno mediante la inhibición del citocromo P450, se ha demostrado que el ácido elágico inhibe el metabolismo de hidrocarburos aromáticos policíclicos y carcinogenicidad en ratones carcinógenos, además induce a un aumento de la actividad de glutatión-S-transferasa (GST) en el hígado. El ácido elágico administrado en la dieta aumento la glutatión reductasa en el hígado, el ácido gálico también ha demostrado su efecto quimioprotector⁽⁶³⁾.

Diversos hallazgos muestran que los β -carotenos presentaron un efecto antioxidante en la reducción del estrés oxidativo, disminuyendo los niveles de MDA en un estado de estrés por hipoxia, además de un incremento de los niveles de GSH comparado con el grupo etanol⁽⁶⁴⁾.

Las plantas que poseen estos metabolitos secundarios (fitonutrientes) también expresan efecto hepatoprotector como lo reportan por Yanghee You 2010, en donde tras ingerir alcohol, se observó un incremento de GSH y una disminución del MDA, en el extracto de *Taraxacum officinale* (diente de león) se encontraron muchos flavonoides entre ellos la quercetina como protector del daño hepático⁽⁶⁵⁾. Yen-Hung Yeh 2013, reporta que tras ingesta de (CCl₄) y la *Dioscorea alata* (Yam peel), incremento del GSH y disminuyó el TBARS y a nivel histológico ofrece un efecto protector contra la necrosis lobular y litogénesis, el autor lo atribuye este efecto a los encontrados compuestos fenólicos como la quercetina, hesperidina y fenetil⁽⁶⁶⁾.

Sin embargo, Yakup Yayalacı 2014, que tras el tratamiento de etanol y la infusión de *Illia platyphyllos* (tilo de hoja ancha), disminuyó el TBARS, sin embargo los GSH no mostraron variación con respecto al grupo tratado con alcohol, esto podría deberse al estrés oxidativo que puede afectar la función de protección de los antioxidantes enzimáticos en los organismos expuestos a alcohol y esto se debería a una adaptación, se detectaron compuestos fenólicos en la *Illia platyphyllos* (tilo de hoja ancha), principalmente la quercetina, kaempferol y ácidos fenólicos (cafeico)⁽⁶⁷⁾, estos resultados concuerdan con lo hallado en nuestro estudio donde los niveles de GSNP en la mayor dosis (grupo V), fueron bajos comparando con el de menor dosis (grupo IV).

Algunos estudios hacen mención que la capacidad antioxidante de los flavonoides podría ser debido a la presencia de dobles enlaces en el anillo C, lo que aumenta el poder nucleofílico, mientras que la actividad antioxidante de los ácidos fenólicos depende del número de grupos hidroxilo en la molécula⁽⁶⁸⁾.

Las plantas que también presentaron este metabolito, expresan efecto hepatoprotector como lo reporta Chang-Chien Tang 2013, que observó un incremento de GSH y una disminución del TBARS en el mullberry (mora) donde se encontraron principalmente antocianinas como principal flavonoide⁽⁶⁹⁾.

Coincidiendo con los resultados encontramos en Hañari-Quispe. R 2015, que presento una reducción del índice hepático, una disminución del MDA y en el corte histológico observó el reemplazo de células hepáticas por adipocitos y congestión en venas centrolobulillares, en donde se administró (CCl₄), en la *Zea mays* L (maíz morado) se identificó la presencia de metabolitos secundarios, tales como aminoácidos libres, taninos y flavonoides, entre ellos destacan las antocianinas que son los elementos más reconocido del grupo de los flavonoides⁽⁷⁰⁾.

La disminución de los valores del GS-NP del grupo que recibió solo etanol refirió una alteración del tejido hepático, sin embargo la administración del zumo de *Spondias Purpurea* (ciruela) + etanol mostró un efecto protector aumentando los niveles de GS-NP, sin llegar a ser significativo pero sobrepasando los niveles del tratamiento con silimarina, en nuestro estudio, este efecto protector sobre el GS-NP puede ser respaldado por los flavonoides como quercetina, kamferol y antocianinas con capacidad antioxidante que presenta el zumo de fruta *Spondias Purpurea* (ciruela).

En otro estudio reportado por Hazem M.M. Hassan 2012, se observó una disminución de los niveles de MDA, en donde las proantocianidinas o taninos podrían ser responsables del efecto hepatoprotector, debido a su potencial antioxidante⁽⁷¹⁾. Dahiru, D 2008 reporta el aumento de los niveles de glutatión reducido (GR), donde la acción antioxidante de los taninos es por medio de una formación polifenol-proteína impermeable o una capa de polisacárido bajo las cuales ocurre la acción protectora⁽⁷²⁾.

María Anna Leo 1992, reporta que los β -carotenos es un buen antioxidante a dosis bajas pero a mayores dosis puede mostrar un efecto prooxidante y si este efecto prooxidante es combinado con una ingesta elevada de etanol potenciaría la hepatotoxicidad a nivel enzimático y a nivel histológico presentaría gran cantidad de vacuolas⁽⁷³⁾.

Esto podría explicar porque en nuestro estudio la administración con la dosis más

alta (10 mL/kg) del zumo de *Spondias Purpurea* (ciruela) disminuyó los niveles de GS-NP comparado con la dosis más baja (1 mL/kg) y también se observó un aumento del TBRAS en las dos dosis de tratamiento y con respecto al histológico se ve un mejor pronóstico de la dosis más baja.

La administración de la dosis más alta del zumo de fruta *Spondias purpurea* (ciruela) y etanol presento una reducción del índice hepático comparado con el grupo etanol, sin llegar a ser significativo y sin llegar a alcanzar los valores del grupos silimarina, esto se debe al efecto protector de los flavonoides presentes en el zumo de *Spondias purpurea* (ciruela), como quercetina, antocianinas y taninos.

Algunos de los mecanismos a través de los cuales los flavonoides ejercen sus acciones prooxidantes, es la generación de EROS que puede afectar las funciones de los componentes del sistema de defensa antioxidante: glutatión y glutatión-S transferasa. En un estudio reporta que la formación de quelatos de Cu y OH[°] aumenta la oxidación de flavonoides (quercetina y kamferol), esto ocasionaría un efecto prooxidante y además está determinado por las condiciones del ensayo, la concentración efectiva que se alcance en el sitio donde las EROS son formados, la estabilidad del radical flavonoide formado al donar un átomo de hidrógeno al radical atacante, la lipofilicidad para ser captados por la membrana y el pH del medio ⁽⁷⁴⁾. Coincidiendo con nuestro estudio los niveles de los GS-NP en la mayor dosis mostraron bajos niveles comparándolo con el de menor dosis, esto podría deberse al efecto prooxidante por una sobrecarga de flavonoides y β-carotenos.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- La administración del zumo de fruta *Spondias Purpurea* (ciruela), en la dosis de 1 mL/kg mostro una protección en GS-NP sin ser significativo.
- La administración del zumo de fruta *Spondias Purpurea* (ciruela), disminuyó el índice hepático en el grupo V (Dosis 10 mL/kg).
- De lo observado en el presente estudio de investigación, se infiere que no hay suficiente evidencia de que el zumo de fruta *Spondias purpurea* (ciruela) ejerce un efecto hepatoprotector en los indicadores anteriormente mencionados bajo las mismas condiciones del trabajo.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar cuantificación de la actividad enzimática de: SOD, CAT y de las ALT Y AST, Albumina.
- Estudiar los aspectos técnicos y productivos del zumo de fruta *Spondias purpurea* (ciruela) para su potencial uso terapéutico.
- Evaluar la toxicidad del zumo de *Spondias purpurea* (ciruela) a dosis altas.
- Evaluar a dosis más baja, con las mismas condiciones del estudio.
- Identificación de los compuestos bioactivos de la *Spondias purpurea* (ciruela) para futuras investigaciones.
- La cantidad máxima recomendada de *Spondias purpurea* (ciruela) es de 10 unidades diarias para evitar un efecto pro oxidante.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Lefton HB, Rosa A, Cohen M. Diagnosis and epidemiology of cirrhosis. Med Clin North Am. 2009;93:787-99
2. Narro Bobles J, Gutiérrez Ávila J. La mortalidad por cirrosis hepática en México I. Características epidemiológicas relevantes. Rev Salud Mex. 2013; 34(4):378-87.
3. Bustíos C, Dávalos M, Román, R, Zumaeta E .Características Epidemiológicas y Clínicas de la Cirrosis Hepática en la Unidad de Hígado del HNERM Es-Salud.2007.
4. Ministerio de Salud. Análisis de la situación de salud del Perú. Dirección general de epidemiología;2010.Disponible en:<http://www.slideshare.net/consultoriauniversidad/analisis-de-situacion-de-salud-del-peru-ao-2010>.
5. Braunwld E, Ghany M, Hoofnagle J, Berk P, Wolkoff A Dienstag J et al. Harrison. Principios de medicina interna. 15° ed, Madrid: Ediciones Mc Granw-Hill interamericana de España; 2002
6. Otero W, sierra F, et al. El hígado en cirugía. Rev Colomb. Gastroenterol 2003; 18(4): 230 – 238.
7. Leslie P. Gartner, James L. Hiartt, Texto Atlas de Histología.Mc Granw Hill, 2010; 423-426.
8. Guyton & Hall; Tratado de fisiología medica; 11ra edición; 2006.
9. Mahan K, Escott-Stump S, Raymond J.Krausse Dietoterapia 12 Edicion,

España 2009. Capítulo 28. Pag. 707-711.

10. Contran R, Kamur V, Collins T. Robbins, et al. Patología estructural y funcional. España Editorial. Mc Graw – Hilla Interamericana. S.A.U. 6 Ed Madrid 2000.
11. Malhi H, Gores G, ET al. Cellular and molecular mechanisms of liver injury. *Gastroenterology*. 2008; 134:1641 – 1654.
12. Schuppan D, Afdhal N, et al. Cirrosis. *Lancet* 2008; 371(9615):838-851
13. Claria J, Horrillo R, Marinez Morna E, Titos E, Gonzales A, et al. Mecanismos básicos de lesión hepatocelular. Papel de los mediadores lipídicos de inflamación. 2008; 31 (10): 582 – 592.
14. Halliwell B, Gutteridge J. Free radical in biology and medicine. Oxford: Caredon, 1989;1:142
15. Meister A, Anderson M, et al. Glutathione. *Ann Rev Biochem*; 1983;52:711 – 760
16. Shan X, Aw T, Jones D. Glutathione – dependent protection against oxidative injury. *Pharmacol Ther* 1990; 47: 61 – 71.
17. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exptl Physiol*. 1997; 82:291 – 295.
18. Kharb S. Ghalaut V. plasma lipoperoxides : a preliminary reference range , *indian journal Medicine Science* 57:105-107
19. Moreno R, Cortés J.R, Nutrición y alcoholismo crónico, Servicio de Digestivo. Hospital Universitario de La Princesa. Universidad Autónoma de Madrid. España. *Nutr Hosp* 2008; 23(Supl. 2):3-7.
20. Tuma DJ. Dangerous Byproducts of Alcohol Breakdown – Focus on adducts. *Alcohol Health Res World*. 2003; 27: 285 – 289.
21. Gobierno regional de la libertad. Gerencia regional de agricultura [acceso en el 2012]. Disponible en: <http://www.agrolalibertad.gob.pe/?q=node/99>.

22. Diplock A. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53:189-193.
23. Manach C. Scalbert A. Morand C. Rémésy C. Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am j clin Nutr* 2004; 79:727-747.
24. 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
25. Beserra M, Machado P, Campos A, Do Prado G, De Carvalho C, Arraes G, Gomes T et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International* 44 (2011) 2155–2159.
26. Gregoris E, Pereira G, Pereira G, Fabris S, Bertelle M, Sicari M, Stevanato R et al. Antioxidant Properties of Brazilian Tropical Fruits by Correlation between Different Assays. *BioMed Research International* Volume 2013, Article ID 132759.
27. Engels C, Gräter D, Esquivel P, Jiménez V, Gänzle M, Schieber A, et al. Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra-high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. Elsevier Ltd 2012 .May 2012, Pages 557–562.
28. Hauck J, Rosenthal A, Deliza R, De Oliveira R, Pacheco S. Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. *Food Research International* 44 (2011) 2326–2331.
29. Miranda E, Espinosa J. Actividad antimicrobiana de extractos de *Psidium friedrichsthalianum* L, *Pterocarpus hayesii* L, *Tynanthus guatemalensis* L y *Spondias purpurea* L. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 2012. 11(4): 354 – 361
30. Dantas A. Avaliação da toxicidade e atividade antiulcerogênica das folhas de

- Spondias purpurea* L. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia). Brasil, 2012.
31. Runes-Morales, Jimenez-Osorio, Etnobotánica de *Spondias purpurea* L. En la península de yucatan, APR 2010, VOL. 35 N° 4
32. Argimon Pallas and Josep jimenez villa, Metodos de investigación clínica y epidemiológica, tercera edición, 2004
33. Norma general del CODEX para zumos (jugos) y néctares de frutas Lima – Perú 2005
34. Freeman B, Crapo J, et al. Free radical and tissue injury. Lab invest 1982; 47: 412 – 415.
35. Okuba 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): 3666-375.
36. Miñana J, Gomez L, Pallardo F, Del – olmo J, Escuder A. et al. Mitochondrial oxidative stress and CD95 ligand: A dual mechanism for hepatocyte apoptosis in chronic alcoholism. Hepatology. 2002; 35:1205 – 1214.
37. Sandoval M, Lazarte K, Arnao I. Hepatoprotección antioxidante de la cáscara y semilla de *Vitis vinifera* L. (uva): Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición Alberto Guzmán Barrón. An Fac med. 2008; 69(4):250-9.
38. Gajardo O, Sustancias reactivas al ácido Tiobarbiturico “TBARS” como marcadores de riesgo de estrés oxidativo, 2006, pag 20.
39. Buege y Aust. Determination of tissue lipid peroxidation. 1978; 49: 247-259.
40. Sedlak J, Lindsay RH, Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. 1968 Oct 24; 25(1):192-205.
41. Suarez CS. Detoxificación y defensa antioxidante por defectos de

- xenobióticos alimentarios. Fac Med UNMSM.1995.
42. Ley N°30407, Ley de protección y bienestar animal, Capítulo V, Artículo 19.
43. Caballero Calampa J. Efecto hepatoprotector de la almendra de semillas de cucurbita máxima (zapallo macre) en ratas, Lima, Perú 2014.
44. Palestino M, Clavijo D, el factor de crecimiento de hepatocitos y su receptor c-met en la protección contra el daño hepático inducido por el alcohol, Laboratorio de Fisiología Celular, Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, 2012. REB 31(4): 118-126.
45. J.Caballería, J. Altamirano, Enfermedad hepática inducida por el alcohol, Unidad de Hepatología. Hospital Clínic. Barcelona. España, Medicine. 2012; 11(10):581-9.
46. Michael R. Lucey, M.D. Alcoholic Hepatitis, review article, The new england journal of medicine, 2009;360:2758-69
47. Leighton F, Urquiaga I. Polifenoles del vino y salud humana. Antioxidantes y calidad de vida. 2000;7(27):5-13
48. Zhenyuan Song, Ion Deaciuc, Silymarin Protects Against Acute Ethanol-Induced Hepatotoxicity in Mice, Alcohol Clin Exp Res, Vol 30, No 3, 2006: pp 407-413
49. Alikunjhi Firdous, Edakkadath R Sindhu, Hepato-protective potential of carotenoid meso-zeaxanthin against paracetamol, CCl4 and ethanol induced toxicity, Indian Journal of Experimental Biology 2011 (IJEB), IJEB Vol.49.
50. Abdulahad Dogan, Ismail Celik, Hepatoprotective and antioxidant activities of grapeseeds against ethanol-induced oxidative stress in rats, Department of Biology, Science Faculty, Turkey, British Journal of Nutrition (2012), 107, 45–51.
51. Subhashree Basu, Moumita Das, Protective activity of ethanolic extract of *amorphophallus campanulatus* against ethanol induced hepatotoxicity in rats,

- International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2013, Vol 5, Suppl 2.
52. Daye Cheng, and Hong Kong, The Effect of *Lycium Barbarum* Polysaccharide on Alcohol-Induced Oxidative Stress in Rats, *Molecules* 2011 Magdalena Labieniec
53. Pradhan & C. Girish, Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine, *Indian J Med Res* 124, November 2006, pp 491 – 504
54. Pilat L, Mihali C, Pharmacology of *silybum marianum* and its active constituents, therapeutic activity – part 1. *J. Med. Aradean.* 14 (2):25-33, 2011.
55. Machicao F, Sonnenbichler J, Mechanism of the stimulation of RNA synthesis in rat liver nuclei by silybin. *Hoppe Seylers Z.* 1997. *Physiol. Chem.* 358 (2):141-147.
56. Chia-Hsin Huang, Yuan-Yen Chang, Fruiting Body of *Niuchangchih* (*Antrodia camphorata*) Protects Livers against Chronic Alcohol Consumption Damage, *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 3859–3866
57. Imran Khan, Vandana Singh, Hepatoprotective activity of *Pinus roxburghii* Sarg. wood oil against carbon tetrachloride and ethanol induced hepatotoxicity, *A Journal of the Bangladesh Pharmacological Society (BDPS)*, *Bangladesh J Pharmacol* 2012; 7: 94-99.
58. Schulze-Kaysers, Phenolic compounds in edible species of the *Anacardiaceae* family – a review, *RSC Adv.*, 2015, 5, 73301–73314.
59. Ferreira A, Avila S, Ito V, Nogueira A, Wosiacki G, Windson Ch. The Association between Chromaticity, Phenolics, Carotenoids, and In Vitro Antioxidant Activity of Frozen Fruit Pulp in Brazil: An Application of Chemometrics, Institute of Food Technologists. *Journal of Food Science.* 2014. Vol. 00, Nr. 0.
60. Chen X. Protective effects of quercetin on liver injury induced by ethanol, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical

Sciences, Pharmacognosy Magazine, April 2010, Vol 6, and Issue 22.

61. Jong Wang Ch, Ming Wang J, Lung Lin W, Yih Chu Ch, Pi Chou F, Hwa Tsen T. Protective Effect of Hibiscus Anthocyanins Against tert-butyl Hydroperoxide-induced Hepatic Toxicity in Rats, Food and Chemical Toxicology 38 (2000) 411±416.
62. Ramos F, Muñoz A, Alvarado C, Yáñez J. antocianinas, polifenoles, actividad anti-oxidante de sachapapa morada (*dioscorea trifida* L.) y evaluación de lipoperoxidación en suero humano, Rev Soc Quím Perú. 2010. 76 (1).
63. Nepka Ch, Asprodini E, Kouretasi D. Tannins, xenobiotic metabolism and cancer chemoprevention in experimental animals, European journal of drug metabolism and pharmacokinetics 1999, Vol. 24, No.2, pp.183-189.
64. Sarada. S, Dipti P, Anju B, Pauline T, Kain A, Sairam M, Sharma S, Ilavazhagan G, Kumar D, Selvamurthy W, et al, Antioxidant effect of beta-carotene on hypoxia induced oxidative stress in male albino rats, Journal of Ethnopharmacology 79 (2002) 149–153.
65. Yanghee You a , Soonam Yoo, In vitro and in vivo hepatoprotective effects of the aqueous extract from *Taraxacum officinale* (dandelion) root against alcohol-induced oxidative stress, Food and Chemical Toxicology 48 (2010) 1632–1637.
66. Yen-Hung Yeh, Effects of Yam Peel Extract against Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in Rats, Agric. Food Chem. 2013, 61, 7387–7396.
67. Yakup Yayalaci, Hepatoprotective and Antioxidant Activity of Linden (*Tilia platyphyllos* L.) Infusion Against Ethanol-Induced Oxidative Stress in Rats, J Membrane Biol (2014) 247:181–188. 1.
68. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Bio Med 20:933–56.

69. Chang-Chieh Tang, Hepatoprotective effect of mulberry water extracts on ethanol-induced liver injury via anti-inflammation and inhibition of lipogenesis in C57BL/6J mice, Institute of Biochemistry and Biotechnology, Copyright 2013 Published by Elsevier.
70. Hañari-Quispe.R, Efecto hepatoprotector del extracto hidroetanólico atomizado del maíz morado (*Zea mays* L.) en lesiones hepáticas inducidas en ratas, An Fac med. 2015; 76(2):123-28.
71. Hazem M.M. Hassan, Hepatoprotective Effect of Red Grape Seed Extracts Against Ethanol-Induced Cytotoxicity, Global Journal of Biotechnology & Biochemistry 2012, 7 (2): 30-37.
72. Dahiru, D1. and Obidoa, O, evaluation of the antioxidant effects of *Ziziphus mauritiana* lam. leaf extracts against chronic ethanol-induced hepatotoxicity in rat liver, Department of Biochemistry, Federal University of Technology, Yola, Afr. J. Trad. CAM (2008) 5 (1): 39 – 45.
73. Leo. M, Interaction of Ethanol with p-Carotene: Delayed Blood Clearance and Enhanced Hepatotoxicity, Section of Liver Disease and Nutrition and Alcohol Research.1992. Vol. 15, No. 5.
74. Perez, Gilberto, los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes, centro de investigaciones biomédicas, Rev cubana Invest Biomed 2003:22(1):48-5.

ANEXOS

ANEXOS

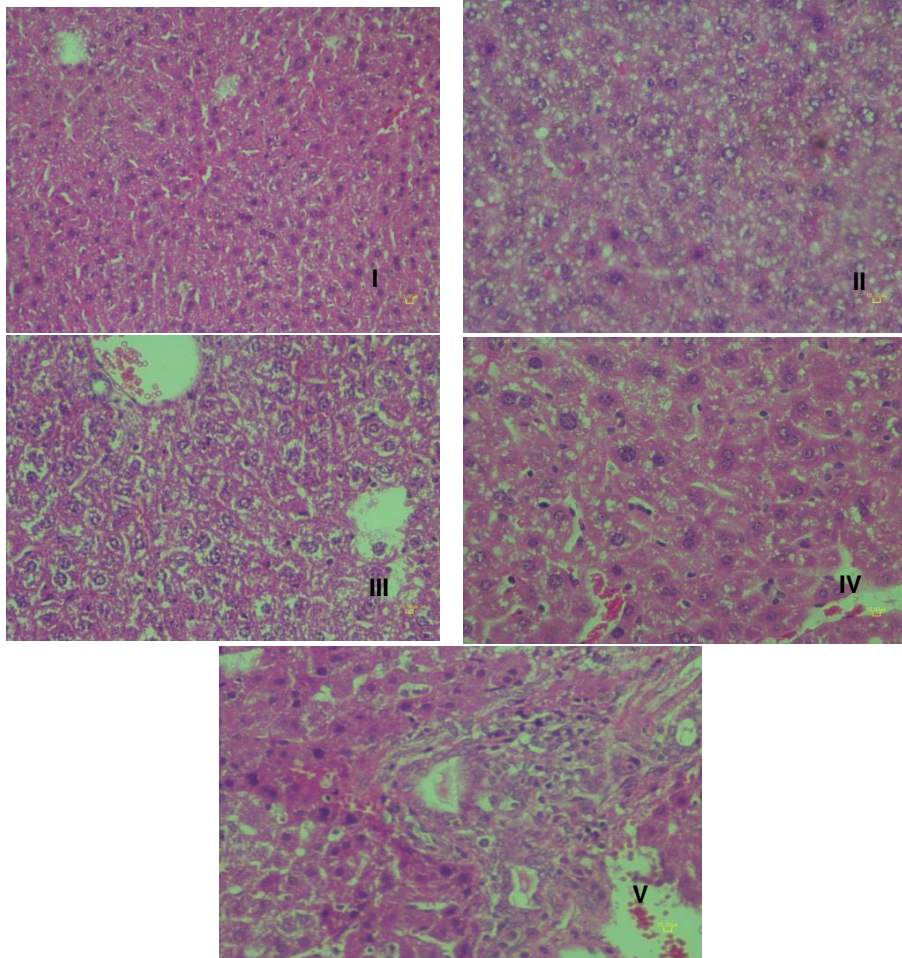


Figura N° 1: (I) Estructura moderadamente alterada, vasos sanguíneos con apariencia normal, hepatocitos con algunos núcleos pignóticos. (II) espacio de Kiev y conductos biliares casi obstruidos, presentan venas y arterias congestivas, núcleos pignóticos y pulverulentos y algunos en vía de coagulación. (III) Estructura alterada y muy irregular, congestión y microabscesos, con una ligera presencia de células de kupffer, conductos bibliares de aspecto normal, hepatocitos con núcleos pulverulentos y pignóticos. (IV) Estructura muy alterada en algunos casos ya en hígado graso, con presencia de algunos conductos biliares. (V) Estructura con un desorden total, en algunas partes va a necrosis, hepatocitos pulverulentos con gran cantidad de células espumosas, ausencia de núcleos.

Figura 2. Ciruela (*Spondias purpurea*)



Figura 3: Flujograma de la obtención del zumo de *Spondias purpurea*

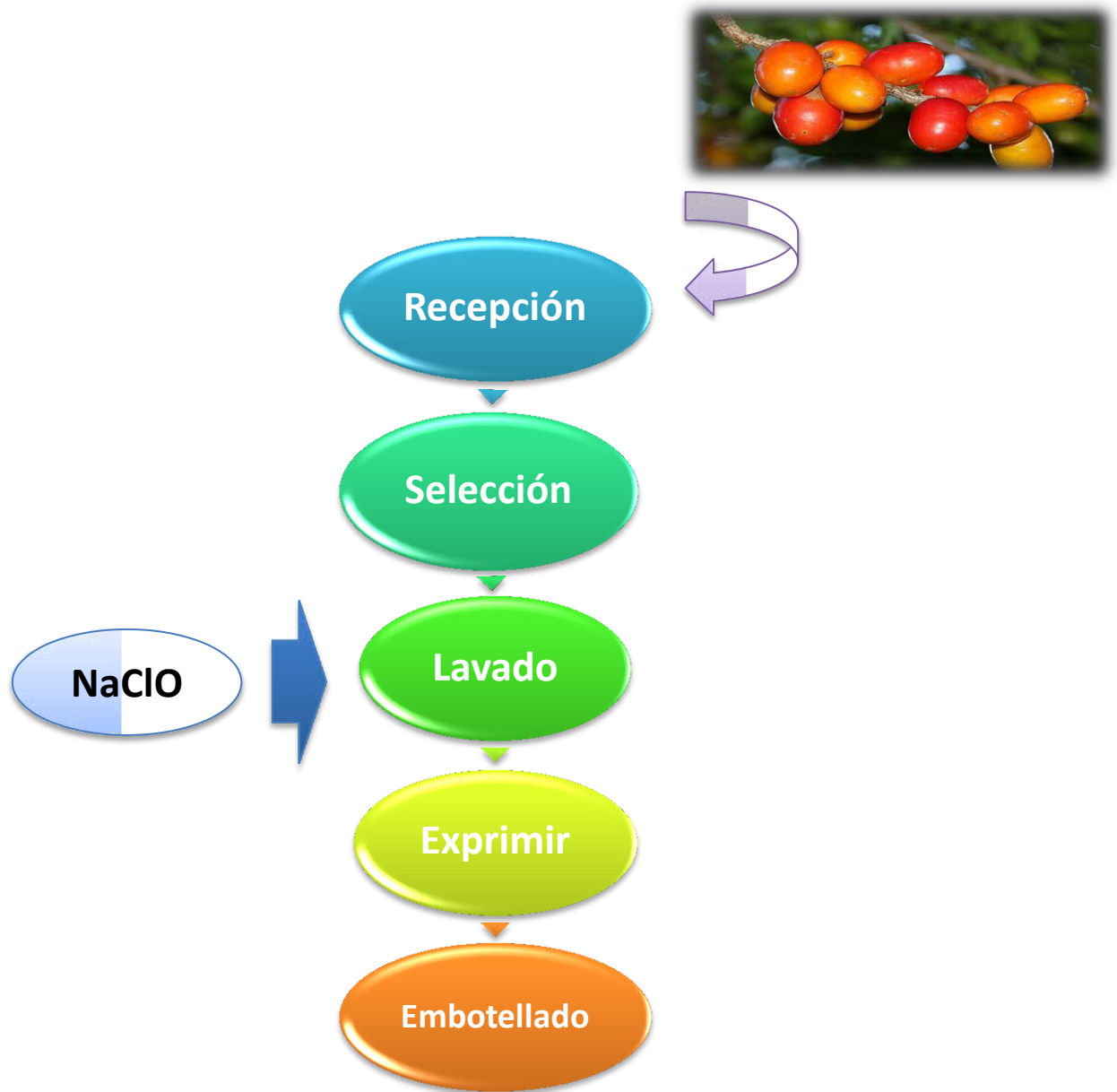


Figura 4: Distribución de los grupos y tratamiento.

