

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN



**“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y HEPATOPROTECTORA DEL
ZUMO DE TAPERIBA (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) EN RATAS
CON HEPATOXICIDAD INDUCIDA POR PARACETAMOL”**

Presentada por:

CATHERINE CANDIOTTI GUZMAN

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO MAGISTER
SCIENTIAE EN NUTRICIÓN**

Lima - Perú

2020

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN

**“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y HEPATOPROTECTORA DEL
ZUMO DE TAPERIBA (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) EN RATAS
CON HEPATOXICIDAD INDUCIDA POR PARACETAMOL”**

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO

MAGISTER SCIENTIAE

Presentada por:

CATHERINE CANDIOTTI GUZMAN

Sustentada ante el siguiente jurado:

Ph.D. Víctor Guevara Carrasco

PRESIDENTE

Ph.D. Carlos Vílchez Perales

ASESOR

MSc.DSP Haydee Cárdenas de Jurado

MIEMBRO

Mg.Sc. Alejandrina Sotelo Méndez

MIEMBRO

DEDICATORIA

A Dios por cuidarme y guiar mis pasos

A mi madre Elvira y mi padre Arturo por su amor y apoyo incondicional.

A mi hermana Cynthia y a mi hermanito Diego, por ser parte de mi vida

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor de tesis, el Dr. Carlos Vílchez Perales, por su valiosísimo apoyo, paciencia y tiempo brindando durante todo este proceso.

A mi jurado de tesis y profesores: V. Guevara, H. Cárdenas y A. Sotelo, por su disposición y enseñanzas en esta etapa.

A mi amiga Jhoani Segovia y David Ochoa, por su sincera amistad y apoyo durante la maestría.

Al CONCYTEC-FONDECYT por la oportunidad de realizar la maestría y por el apoyo económico para realizar esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Generalidades del Taperiba.....	3
2.1.1. Origen y distribución	3
2.1.2. Clasificación taxonómica.....	3
2.1.3. Características agronómicas	4
2.1.4. Composición nutricional.....	5
2.1.5. Características fisicoquímicas.....	5
2.1.6. Compuestos bioactivos presentes	6
2.2. Radicales libres	8
2.3. Compuestos antioxidantes	10
2.3.2. Aspectos generales	10
2.3.3. Clasificación	10
2.3.4. Mecanismo de acción	13
2.3.5. Beneficios de los antioxidantes en la salud	15
2.4. Estrés oxidativo.....	17
2.5. Afecciones hepáticas por paracetamol.....	19
2.6. Paracetamol.....	20
2.6.2. Absorción y metabolismo del paracetamol	20
2.6.3. Mecanismo de toxicidad hepática por paracetamol.....	21
2.6.4. Toxicidad hepática por paracetamol en modelos in vivo	23
III. MATERIALES Y METODOS	25
3.1. Lugar de ejecución.....	25
3.2. Animales experimentales	25
3.3. Materia prima.....	25
3.4. Instalaciones y equipos	25
3.5. Reactivos y fármacos	26
3.6. Metodología.....	26
3.6.1. Recolección y preparación del zumo de taperiba	26

3.6.2.	Alimentación	27
3.6.3.	Tratamientos	28
3.6.4.	Manejo de la eutanasia, extracción de sangre y tejido hepático	28
3.7.	Mediciones	29
3.7.1.	Índice Hepático	29
3.7.2.	Determinación de glucosa y perfil lipídico	29
3.7.3.	Determinación de antioxidantes enzimáticos en hígado.....	30
3.7.4.	Determinación de Glutación reducido (GSH).....	30
3.7.5.	Determinación de Lipoperoxidación en tejido hepático (TBARS)	30
3.7.6.	Cuantificación de proteínas	31
3.7.7.	Análisis estadístico	31
3.7.8.	Aspectos éticos	32
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
4.1.	Efecto del zumo de taperiba sobre el índice hepático.....	33
4.2.	Efecto del zumo de taperiba sobre la glucosa y perfil lipídico.....	35
4.3.	Efecto del zumo de taperiba sobre la actividad de enzimas antioxidantes, glutación reducido y TBARS.....	38
4.4.	Efecto del zumo del fruto de taperiba sobre el contenido de proteínas totales en tejido hepático.....	43
4.5.	Relación entre el estrés oxidativo, perfil lipídico e índice hepático	44
V.	CONCLUSIONES	47
VI.	RECOMENDACIONES	48
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
VIII.	ANEXOS	66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Descripción de los diferentes tratamientos.....	28
Tabla 2: Índice hepático en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos	34
Tabla 3: Perfil lipídico y glucosa en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos	36
Tabla 4: Actividad de enzimas antioxidantes, GSH y TBARS en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos	40
Tabla 5: Cuantificación de proteínas totales en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de tratamientos.....	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Metabolismo del paracetamol	22
Figura 2: Diagrama de Flujo para la obtención del zumo de taperiba.....	27
Figura 3: Índice hepático en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos.	35
Figura 4: Niveles de especies reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico (TBARS) en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de tratamientos.	41

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Clasificación taxonómica del fruto por el herbario del Museo de Historia Natural	66
Anexo 2: Características fisicoquímicas de la pulpa de taperiba	67
Anexo 3: Composición de dieta estándar para ratas.....	68
Anexo 4: Índice hepático en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos	69
Anexo 5: Medida final de peso corporal y peso de hígado en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos	70
Anexo 6: Niveles de glucosa en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos	71
Anexo 7: Perfil lipídico en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos	72
Anexo 8: Actividad antioxidante en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos	73
Anexo 9: Niveles de glutatión reducido (GSH) en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos	74
Anexo 10: Niveles de lipoperoxidación en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos	75
Anexo 11: Cuantificación de proteínas totales (PT) de tejido hepático en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos	76

RESUMEN

Las enfermedades hepáticas crónicas presentan una alta carga de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, reportándose que los compuestos bioactivos presentes en las frutas, entre ellos el taperiba (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) poseen efectos protectores contra el estrés oxidativo. Así, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la bioactividad antioxidante y hepatoprotectora, a través de cambios en los marcadores de estrés oxidativo, niveles de glucosa, proteínas totales, perfil lipídico y el índice hepático (hepatomegalia) como marcador morfológico, del zumo del fruto taperiba (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) en ratas *Holtzman* inducidas a hepatotoxicidad por paracetamol. Para ello, se distribuyeron aleatoriamente 25 ratas en 5 tratamientos. Con excepción del tratamiento control, los 4 tratamientos restantes fueron inducidos a hepatotoxicidad y durante 11 días se le administraron los siguientes tratamientos: 1) paracetamol (300 mg/kg P.V.), 2) silimarina (100 mg/kg P.V.) + paracetamol (300 mg/kg P.V.), 3) zumo (1mL/kg P.V.) + paracetamol (300 mg/kg P.V.) 4) zumo (5mL/kg P.V.) + paracetamol (300 mg/kg P.V.). Finalizada la fase experimental, los animales fueron sacrificados y los resultados obtenidos fueron sometidos a ANOVA bajo un DCA y la prueba de comparación de medias se calculó mediante Bonferroni, usando el software estadístico Minitab 18. Se determinó que la administración del zumo del fruto taperiba disminuyó significativamente ($p < 0.05$) los niveles de lipoperoxidación (TBARS). Además, el zumo del fruto logró aumentar los niveles de HDL-c. Asimismo, el zumo del fruto logró disminuir significativamente ($p < 0.05$) el índice hepático. En conclusión, el zumo del fruto taperiba (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) disminuyó los niveles de lipoperoxidación en tejido hepático. Asimismo, logró disminuir el índice hepático en ratas *Holtzman* inducidas a hepatotoxicidad por paracetamol.

Palabras clave: taperiba, actividad antioxidante, protección hepática

ABSTRACT

Chronic liver diseases are a high burden of morbidity and mortality worldwide, reporting that the bioactive compounds present in fruits, including taperiba (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) have protective effects against oxidative stress. Thus, the objective of the present investigation was to evaluate the antioxidant and hepatoprotective bioactivity, through changes in the oxidative stress markers, glucose levels, total proteins, lipid profile and the hepatic index (hepatomegaly) as morphological marker, of taperiba fruit juice (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) in Holtzman rats induced to paracetamol hepatotoxicity. For this, 25 rats were randomly distributed in 5 treatments. With the exception of the control treatment, the remaining 4 treatments were induced to hepatotoxicity and for 11 days the following treatments were administered: 1) paracetamol (300 mg/kg L.W.), 2) silymarin (100 mg/kg L.W.) + paracetamol (300 mg/kg L.W.), 3) juice (1mL/kg L.W.) + paracetamol (300 mg/kg L.W.) 4) juice (5 mL/kg L.W.) + paracetamol (300 mg/kg L.W.). After the experimental phase, the animals were sacrificed and the results obtained were subjected to ANOVA under a DCA and the means comparison test was calculated using Bonferroni, using the statistical software Minitab 18. It was determined that the administration of taperiba fruit juice decreased significantly ($p < 0.05$) lipoperoxidation levels (TBARS). In addition, the fruit juice managed to increase HDL-c levels. Likewise, the fruit juice managed to significantly decrease ($p < 0.05$) the liver index. In conclusion, the juice of the fruit taperiba (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) decreased the levels of lipoperoxidation in liver tissue. Likewise, it was able to decrease the hepatic index in Holtzman rats induced to paracetamol hepatotoxicity.

Keywords: taperiba, antioxidant activity, liver protection

I. INTRODUCCIÓN

El taperiba (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) es una fruta que crece en la Amazonía Peruana, usada por sus pobladores como un fruto comestible y nutritivo. Además, el agradable sabor y olor de esta fruta hace que sea consumido asiduamente por éstos. Asimismo, se ha comprobado que el fruto taperiba; además de poseer una rica composición nutricional, posee diversos compuestos bioactivos tales como ácido ascórbico, compuestos fenólicos, flavonoides, carotenoides, taninos, etc.

La producción de los radicales libres ocurre como un subproducto normal del metabolismo oxidativo celular del organismo y son neutralizados de forma natural por las defensas antioxidantes del cuerpo. Sin embargo, la ingestión de alimentos, tóxicos, medicamentos y otros agentes pueden provocar una sobreproducción de radicales libres, dando lugar a un desequilibrio entre sustancias prooxidantes y los mecanismos antioxidantes, llamado estrés oxidativo. Por lo tanto, el establecimiento del estrés oxidativo afecta a una amplia variedad de funciones fisiológicas y participa en el desarrollo de enfermedades o procesos patológicos tales como el envejecimiento, cáncer, cirrosis, aterosclerosis, etc. Todo esto ha ocasionado un creciente interés por el estudio de plantas y alimentos con propiedades antioxidantes, con la finalidad de demostrar que ciertos compuestos bioactivos poseen un efecto beneficioso para la salud, especialmente un efecto hepatoprotector, como ya lo reportaron estudios anteriores, en las hojas de achiote, boldo, yacón, alcachofa, perejil y diversas frutas.

Las enfermedades hepáticas crónicas (EHC) constituyen una de las causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, siendo la causa más común de enfermedad hepática el hígado graso no alcohólico (EHGNA) y la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), caracterizadas por la acumulación de grasa en el hígado, inflamación y lesión de las células hepáticas. En el Perú, las enfermedades hepáticas crónicas ocupan el quinto lugar entre las causas de mortalidad y el segundo lugar entre las enfermedades digestivas y hepatobiliares. La población de nuestro país cada vez más hace uso de gran variedad de plantas con propiedades preventivas y curativas, buscando solucionar sus problemas de salud y alimentación. Por

otro lado, los medicamentos tales como el paracetamol y otros, administrados a dosis superiores de las permitidas o por prologado tiempo podría generar daño hepático como efecto secundario en el organismo.

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la bioactividad antioxidante y hepatoprotectora, a través de cambios en los marcadores de estrés oxidativo, niveles de glucosa, proteínas totales, perfil lipídico e índice hepático (hepatomegalia) como marcador morfológico, tras la administración del zumo de taperiba (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) en ratas *Holtzman* con hepatotoxicidad inducida por paracetamol, con lo que se pretende demostrar la potencialidad de esta fruta en el campo de la prevención de enfermedades y garantizar un consumo seguro y eficaz.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades del Taperiba

2.1.1. Origen y distribución

El taperiba (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) es una fruta exótica que tiene su origen en la isla del Pacífico en la región Indo-Malaya de Tahití, y se encuentra en toda Asia, Australia, América Central y del Sur, el Caribe y partes de África (Bartoo y Badrie 2005, Lira *et al.* 2014). Regionalmente conocido también como tapisho, abunda mucho en la Amazonía peruana. (Brako y Zarucchi 1993). De igual forma, esta fruta se encuentra dispersa en casi todos los territorios, encontrado en el semiárido, subhúmedo y región semihúmeda del noreste de Brasil (Lorenzi *et al.* 2006, Janick y Paull 2008). Asimismo, tiene otros nombres tales como mango ciruelo en el norte del Perú, cajá-mangueira, taperebá-dosertão y cajaraneira en Brasil; además de recibir otras denominaciones como jobo de la india, golden-apple, ambarella, jew-plum, etc (Frankin *et al.* 2005, Daulmerie 1994).

2.1.2. Clasificación taxonómica

Según Cronquist (1988), el taperiba tiene la siguiente posición taxonómica:

División : *Magnoliophyta*

Clase : *Magnoliopsida*

Subclase : *Rosidae*

Orden : *Sapindales*

Familia : *Anacardiaceae*

Género : *Spondias*

Especie : *Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson

2.1.3. Características agronómicas

El fruto se clasifica como drupa elipsoide de unos 6-8 cm de longitud y 4-6 cm de ancho, sus hojas son olorosas al estrujar y están compuestas con muchos folíolos, el árbol es de 20-50 cm de diámetro y 6-18 m de altura total, con fuste recto o irregular. En su estado de plena madurez, la superficie es de color amarillo intenso a anaranjado con lenticelas blanquecinas y manchas pardas, la pulpa carnosa y succulenta, color crema a blanquecino, entremezclada con fibras del endocarpio que es delgado, fibroso a espinoso. El endocarpio llamado "piedra" es grande, blanco, y dotado de fibras rígidas y espinescentes que se sumergen parcialmente en la pulpa. Asimismo, presenta sabor agridulce y ácido similar a la piña o al mango cuando el fruto está maduro (Lorenzi *et al.* 2006, Moura *et al.* 2013).

Esta planta es cultivada en ámbitos con pluviosidad elevada y constante, pero también en zonas con una estación seca marcada, en suelos de textura y acidez variables, con buena fertilidad y buen drenaje. La fructificación se realiza durante la estación de lluvias, entre diciembre – marzo y a partir de abril los frutos maduros caen. En la silvicultura, se emplea como semilla, la pepa leñosa (endocarpio) del fruto, en cuyo interior se hallan incrustadas las semillas, las cuales para no dañarlas se emplea el endocarpio completo que contiene normalmente cinco semillas, como unidad de propagación. La propagación por semillas (sexual) es exitosa en esta especie. En vivero, las plántulas alcanzan 30 cm de altura a los 230 días aproximadamente (Reynel *et al.* 2003). Por otra parte, los frutos almacenados en condiciones ambientales requieren una maduración de 6 a 9 días desde la etapa verde madura hasta la etapa de plena madurez amarillo dorado en comparación con el almacenamiento en condiciones refrigeradas, donde se necesitan 6-10 días adicionales para lograr el mismo objetivo (Mohammed *et al.* 2017).

De acuerdo a la Dirección General de Evaluación y Seguimiento de Políticas - Dirección de Estadística Agraria del Ministerio de Agricultura y Riego, la producción del taperiba en TM fue 7 655, 5 227, 6 477, 6 139, 4 356, 4 070 y 4 424 durante los años 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016 y 2017 respectivamente (INEI 2018). Asimismo, las principales zonas de producción son Ucayali, Loreto, Huánuco y Piura (MINAGRI 2018).

2.1.4. Composición nutricional

Según la Tabla Peruana de Composición de Alimentos (2017), la composición de 100 g de parte comestible del fruto presenta los siguientes valores: energía 56 kcal, agua 84,5 g, proteína 0,6 g, grasa 0,3 g, carbohidratos 14,2 g, fibra 0,6 g y ácido ascórbico 5,9 mg. Por otro lado, Donadio *et al.* (2000) indicaron que la pulpa de taperiba o cajá-manga está compuesta por 72.6-78% de humedad, 0.35-0.53% de grasa, 0.25-1.2% de proteínas, 0.7% de cenizas, 17.8% de carbohidratos, 1.5% de fibra y 1.2% de pectina. Asimismo, Lago-Vanzela *et al.* (2011) determinaron la composición química del fruto taperibá proveniente del estado de Sao Paulo en Brasil, donde encontraron valores promedios de 82,80% de humedad, 0,23% de grasa, 1,01% de proteínas, 0,39% de cenizas, 14,19% de carbohidratos, 1,40% de fibra dietaria total y 0,53% de pectina y la composición química de la piel o cascara presentó valores promedio de 73,74% de humedad, 0,85 % de grasa, 1,47% de proteínas, 0,98% de cenizas, 21,47% de carbohidratos, 1,70% de fibra dietaria total y 2,49 % de pectina.

Un estudio realizado por Tiburski *et al.* (2011) reportaron altos valores de potasio, fósforo y magnesio en comparación con otras frutas (288.276 mg / 100 g, 32.849 mg / 100 g y 15.095 mg / 100 g, respectivamente). Además, reportaron valores de 5.551 mg / 100 g de sodio, 11.038 mg / 100 g de calcio, 0.025 mg / 100 g de manganeso 0.327 mg / 100 g de hierro, 0.118 mg / 100 g de cobre, 0,394 mg / 100 g de aluminio y 0,069 mg / 100 g de bario; asimismo, indicaron valores de 83,66 g/100 g de humedad, 0,62 g/100 g de grasa, 1,06 g/100g de proteína, 0,76 g/100 g de ceniza, 13,90 g/100 g de carbohidratos, 1,87 g/100 g de fibra y 65,42 Kcal/100 g de energía para la pulpa congelada.

2.1.5. Características fisicoquímicas

Neto y De Melo (2019) realizaron la caracterización fisicoquímica del fruto taperiba en estado de madurez comercial provenientes de diferentes microrregiones del estado de Paraíba en la Amazonía de Brasil, donde reportaron valores promedios de PH = 2,28, SS (% sólidos solubles) = 14,61 y AT (acidez titulable / % ácido cítrico) = 0,92. Por otro lado, Lago-Vanzela (2011) reportaron valores promedio de 0,50 % de AT (% ácido cítrico) y 3,32 de pH en frutos provenientes del estado de Sao Paulo. Donadio *et al.* (2000) indicaron valores de 5,0-13,1% de SS y 9,3% de azúcares reductores.

En otro estudio realizado por Franquin *et al.* (2005), determinaron la caracterización fisicoquímica de los frutos taperiba maduros de color verde provenientes de las Antillas Francesas, donde se reportaron valores de 10,0% de SS (% sólidos solubles), altos valores de 1,3 % de AT (% ácido cítrico) y bajos valores 2,6 de pH comparable al limón. Además, el ácido cítrico (0,9%) fue encontrado predominante en la pulpa, seguido del ácido málico (0,2%) y el ácido oxálico (0,03).

Según Mohammed *et al.* (2017), las frutas verdes maduras de taperibá tienen un contenido total de sólidos solubles (TSS) de 4.6-10.9%, acidez titulable total (TTA) de 0.45-1.07% y TSS / TTA de 7.7-19.1. Por otro lado, las frutas completamente maduras tienen 9-16.3% de TSS, 0.53-1.16% de TTA y 8.7-22.4 TSS: TTA. Asimismo, Tiburski *et al.* (2011) reportaron valores promedio de 1,46 % para acidez titulable (% ácido cítrico), 2,83 de pH y 14,9% de sólidos solubles (° brix) para la pulpa congelada.

2.1.6. Compuestos bioactivos presentes

El taperiba no solo es rico en nutrientes, sino que además tiene un gran contenido de fitoquímicos, llamados también compuestos bioactivos, que no son nutrientes y confieren un beneficio a la salud; razón por la cual su consumo es beneficioso para el organismo humano. En un estudio, Oriondo *et al.* (2016) evaluaron la capacidad antioxidante de distintos frutos promisorios amazónicos del Perú frente al jugo de limón, donde determinaron que el zumo de taperiba presentó un porcentaje de actividad antioxidante mayor (353%) a los otros frutos cajú (107%), cajá (201%), arazá (268%) y caimito (302%). Además, la capacidad antioxidante de todos los frutos amazónicos en estudio superó al fruto limón (100%). Franquin *et al.* (2005) realizaron la cuantificación de compuestos antioxidantes de la pulpa de los frutos verdes de taperiba procedente de Martinica (Antillas Francesas), donde reportaron altos valores 52,0 mg·100 g⁻¹ de vitamina C comparable a la naranja y valores 349,5 mg Eq ácido gálico·100 g⁻¹ de compuestos fenólicos más altos que los contenidos en manzanas y uvas rojas.

Silva *et al.* (2018) evaluaron el potencial antioxidante del extracto acuoso de taperiba, conocido también como caja-manga, cuyos resultados reportaron valores promedio de 57.66 mg GAE g⁻¹ de compuestos fenólicos totales mayores que los valores encontrados para la guayaba (10.81 mg GAE g⁻¹), valores promedio de taninos hidrolizables y condensados

(0.07 mg de ácido gálico g^{-1} y 3.4 catequina mg g^{-1} , respectivamente), valores promedio de 50.92 mg 100 g^{-1} de ácido ascórbico mayores que los valores hallados para el copoazú (7.05 mg 100g^{-1} mg), valores de 55,31 mM TE g^{-1} para el ensayo ABTS, valores de $\text{IC}_{50} = 36,1$ para el ensayo DPPH y 92,0 sulfato ferroso mM g^{-1} para el ensayo FRAP.

Tiburski *et al.* (2011) reportaron el contenido de compuestos fenoles totales, la actividad antioxidante y caracterizaron los carotenoides de la pulpa congelada del fruto taperibá, donde hallaron valores promedio de 17.5 mmol de TEAC g^{-1} de actividad antioxidante superior a otras frutas típicas del noreste de Brasil como *umbu* (1.07 mmol TEAC / g), guanábana (6.09 mmol TEAC / g), zapote (0.99 mmol TEAC / g), papaya (7.6 mmol TEAC / g) y piña (3.78 mmol TEAC / g); 260 mg de ácido gálico / 100 g de compuestos fenólicos totales mayor que los valores encontrados en *açaí* (136.8 mg GAE / 100 g), guayaba (83.1 mg GAE / 100 g), fresa (132.1 mg GAE / 100 g), piña (21.7 mg de GAE / 100 g), guanábana (84.3 mg de GAE / 100 g) y granadilla (20.2 mg de GAE / 100 g), asimismo, cuantificaron 4869,5 $\mu\text{g} / 100 \text{ g}$ de carotenoides totales e identificaron cinco carotenoides: β -criptoxantina, luteína, zeinoxantina, α y β caroteno, siendo la β -criptoxantina la principal con un 48% del total, razón por la que adjudicaron al alto nivel de actividad pro-vitamina A (223 RE / 100 g) en la pulpa. Asimismo, indicaron que 100 g de pulpa puede proporcionar más del 37% de la cantidad diaria recomendada de vitamina A.

Islam *et al.* (2013) hallaron valores de 659.74 GAE / g de peso seco de compuestos fenólicos, 225.60 mg equivalentes de quercetina / g de peso seco de flavonoides totales, $\text{CI}_{50} = 1.91 \mu\text{g} / \text{ml}$ para el ensayo DPPH, y 118,46 mg equivalentes de GAE / g de peso seco de capacidad antioxidante total en extracto metanolito del fruto que resulto mayor que el extracto de la hoja; determinaron los metabolitos secundarios por cribado fitoquímico del extracto crudo, revelando la presencia de saponinas, esteroides, alcaloides, taninos, flavonoides, terpenoides y la ausencia de antraquinona y azúcares reductores; detectaron las correlaciones más altas entre el contenido fenólico total y la actividad antioxidante total para todos los extractos de fruta; además, demostraron actividad antimicrobiana moderada contra las cepas bacterianas y actividad trombolítica significativa de todos los extractos del fruto.

Por otro lado, Oliveira (2011) identificó picos relativos al ácido clorogénico y rutina en el extracto obtenido de la pulpa del fruto de taperiba, confirmando la presencia de compuestos fenólicos (un ácido fenólico y un flavonoide, respectivamente). Así también, determinó por

cribado fitoquímico la presencia de los metabolitos secundarios flavonoides, taninos y saponinas y la ausencia de antraquinonas. En otro estudio realizado por Satpathy *et al.* (2011), determinaron los compuestos antioxidantes del fruto verde *Spondias pinnata* K, donde reportaron los contenidos totales de compuestos fenólicos, flavonoide y flavonol (210 mg GAE, 28.0 mg CE y 9.97 mg RE respectivamente en 100 mg de extracto de solvente mixto); asimismo, revelaron la presencia de ácido gálico, ácido salicílico, ácido clorogénico, ácido elágico, ácido p-cumárico, ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, quercetina, catequina, miricetina y rutina.

En un estudio realizado en ratas por Brito *et al.* (2018), determinaron la caracterización fitoquímica y evaluaron la actividad gastroprotectora y curativa del jugo de mombin amarillo (YMJ) (*Spondias mombin* L), fruto de la misma familia del taperiba (*Spondias*), en ratas Wistar inducidas por etanol y ácido acético; donde reportaron presencia de epicatequina ($7.1 \pm 1,6 \mu\text{g} / \text{ml}$) y quercetina ($17.3 \pm 2.5 \mu\text{g} / \text{ml}$) en YMJ; asimismo, indicaron que su actividad gastroprotectora y de curación de úlceras estaría relacionada con su acción antisecretora.

2.2. Radicales libres

Los radicales libres (RL) son especies químicas, neutras o cargadas, cuya capa más externa contiene uno o más electrones desapareados, situación que le confiere gran inestabilidad desde el punto de vista cinético y energético, por lo que son altamente reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables adyacentes con la finalidad de estabilizarse (Halliwell y Gutterioge 1989, Nimse y Pal 2015).

Asimismo, la bicapa lipídica de las membranas biológicas macromoleculares, ricas en ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), son vulnerables al ataque de radicales libres que traen como consecuencia la peroxidación lipídica, produciéndose hidroperóxidos que se transforman en una variedad de productos cuantificables, uno de ellos es el malodialdehído, éste constituye un indicador directo del daño celular y de la peroxidación lipídica (Ayala *et al.* 2014, Avello y Suwalsky 2006, Halliwell 1990). Este ataque es generalmente inducido por un radical hidroxilo que sustrae un hidrógeno a la cadena lateral de un ácido graso formando un radical carbonado, lo que genera una cadena de reacciones oxidativas que podría incluso llevar a la muerte de la célula (Halliwell 1990, Avello y Suwalsky 2006).

Entre las especies reactivas de oxígeno (EROs) se encuentran los radicales libres (RL) como el ion superóxido (O_2^-), radical hidroxilo (OH), alcoxilo (ROO.) y óxido de nitrógeno. Por otro lado, lo constituyen los no radicales tales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), oxígeno singlete (1O_2) y peroxinitrito (ONOO-). Asimismo, Todos estos compuestos son reactivos solo en presencia de metales de transición como el Fe o Cu u otros EROS generando más RL. Asimismo, según su toxicidad, las tres especies con mayor capacidad de difusión son: $O_2^- < H_2O_2 < OH$, siendo capaces de reaccionar con moléculas que se encuentran alejadas del lugar de origen incluso con capacidad de atravesar membranas celulares. Entre ellos, el radical hidroxilo (OH.), una de las EROs más reactivas presentes en el organismo, posee una vida muy corta y su electrón desapareado puede reaccionar de manera inespecífica con casi toda molécula, DNA, proteínas, enzimas, siendo el responsable de la propagación del daño oxidativo entre fracciones subcelulares, ya que puede atravesar membranas celulares y producir reacciones en cadena (San-Miguel y Martín-Gil 2009).

Las reacciones de óxido reducción ocurren como parte normal del metabolismo celular, sin embargo, durante estas reacciones se producen también otras moléculas residuales como los EROs o radicales libres, cuya producción es un fenómeno natural y continuo, en un equilibrio con los sistemas antioxidantes que protegen a las células de nuestro organismo (San-Miguel y Martín-Gil 2009, Corrales y Ariza 2012). Las propiedades benéficas de las EROs en el organismo se presentan a bajas concentraciones, siendo parte de diferentes funciones fisiológicas celulares; así como defensa contra agentes infecciosos y sistemas de señalización celular (Valko *et al.* 2007). Por otro lado, se ha reportado la intervención de los radicales libres en los mecanismos de inflamación, cirrosis, entre otras lesiones del hígado, a través de la peroxidación lipídica a nivel celular y la disminución de enzimas antioxidantes (Rodríguez *et al.* 2008).

Endógenamente los radicales libres (RL) se pueden generar a través de la cadena de transporte de electrones mitocondrial o por las células fagocitarias (neutrófilos, monolitos o macrófagos), que utilizan el sistema de la NADPH oxidada generando directamente O_2^- y óxido nítrico (NO). La unión de estos últimos puede generar peroxinitrito (ONOO-), capaz de inducir peroxidación lipídica de las lipoproteínas. La autooxidación de aminoácidos, proteínas, lípidos, glúcidos y ácidos nucleicos, dan lugar también a la formación de RL (Lobo *et al.* 2010).

Otra vía se da a través de la activación catalítica de diversas enzimas del metabolismo intermediario celular tales como la hipoxantina, xantina oxidasa, aldehído oxidasa, monoaminoxidasa, cliclooxigenasa y lipoxigenasa, que originan también RL (Corrales y Ariza 2012, San-Miguel y Martín-Gil 2009). Por otro lado, los agentes exógenos tales como el humo del tabaco, radiación electromagnética, la luz solar, el ozono, contaminantes del aire, productos químicos y ciertos medicamentos que producen RL durante su detoxificación por el citocromo p450, agentes contaminantes y aditivos pueden contribuir al incremento de RL (Lobo *et al.* 2010, Lachance *et al.* 2001).

2.3. Compuestos antioxidantes

2.3.2. Aspectos generales

Los antioxidantes presentes a bajas concentraciones, en relación al sustrato oxidable, son definidos como sustancias capaces de inhibir dicho sustrato o retardar el estrés oxidativo, sacrificando su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas (lípidos, proteínas, ADN, etc) (Sánchez-Valle y Méndez-Sánchez 2018, Avello y Suwalsky 2006). El oxígeno (O_2) es necesario para la producción de energía y diversas reacciones Redox. Sin embargo, el exceso de O_2 en las células es nocivo debido a la formación de especies reactivas generadas durante su oxidación. De esta manera, los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar e interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes (Venereo 2002).

2.3.3. Clasificación

De acuerdo a su estructura y función biológica, los antioxidantes se clasifican en antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos:

A) Antioxidantes enzimáticos

Los antioxidantes enzimáticos se encargan de descomponer y eliminar a los radicales libres (Quintanar y Calderón 2009). De esta manera, las enzimas antioxidantes convierten productos oxidativos peligrosos a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y luego al agua, en un proceso de múltiples pasos en presencia de cofactores tales como cobre, zinc, manganeso y hierro. Estas constituyen la primera línea de defensa celular frente al daño oxidativo, las cuales eliminan el O_2^- y el H_2O_2 (Ighodaro y Akinloye 2018). La actividad de estas enzimas

debe estar en equilibrio para mantener el equilibrio REDOX intracelular (Sánchez-Valle y Méndez-Sánchez 2018). Entre ellas tenemos:

- Superóxido dismutasa (SOD):

El superóxido dismutasa es la metaloenzima principal de desintoxicación, ya que usa como cofactor un ion metálico, y también es considerado el antioxidante más poderoso a nivel celular (Benítez 2006). Cataliza la dismutación de dos moléculas de anión superóxido (O_2^-) en peróxido de hidrógeno (H_2O_2), lo que hace que el anión superóxido potencialmente dañino sea menos peligroso y pueda ser degradado por otras enzimas como la catalasa o el glutatión a peroxidasa. Sobre la base del tipo de ion metálico requerido como cofactor por SOD, existen varias formas de la enzima, estas se clasifican en tres formas e incluyen: Fe-SOD encontrado comúnmente en procariotas y cloroplastos de algunas plantas, Mn-SOD presente en procariotas y mitocondrias de eucariotas y Cu / Zn-SOD en eucariotas, siendo el último el más distribuido y localizado en el citosol, pero también es posible encontrarlos en cloroplastos y peroxisomas (Ighodaro y Akinloye 2018, Borella y Varella 2004).

- Catalasa (CAT):

CAT es una hemoproteína tetramérica y es considerada una enzima antioxidante ampliamente distribuida en casi todos los tejidos vivos que utilizan oxígeno (Venereo 2002, San-Miguel y Martin-Gil 2009). Asimismo, esta enzima utiliza hierro o manganeso como cofactor y cataliza la degradación o reducción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno, completando el proceso de desintoxicación iniciado por SOD. La enzima se encuentra principalmente en los peroxisomas de hepatocitos y eritrocitos, pero ausente en las mitocondrias de las células de mamíferos (Yu 1994).

Por otra parte, el peróxido de hidrógeno en pequeñas cantidades regula algunos procesos fisiológicos como la señalización en la proliferación celular, muerte celular, metabolismo de carbohidratos, función mitocondrial y activación plaquetaria y mantenimiento del equilibrio redox de tiol normal, sin embargo, a altas concentraciones resulta ser perjudicial para las células. Por lo tanto, la capacidad de CAT es vital en los sistemas biológicos (Ighodaro y Akinloye 2018)

- Glutación peroxidasa (GPx):

GPx, distribuída en el citosol y en las mitocondrias, cataliza la reducción de lipoperóxidos (L-OOH) a sus correspondientes alcoholes y del H₂O₂ al agua, con ayuda de un sustrato aceptor de hidrógeno, en este caso el glutati3n reducido GSH, que actúa como reductor y que posteriormente es regenerado por el glutati3n reductasa. Su actividad depende del selenio como cofactor y esta modulada principalmente por la relación GSH/GSSG que responde al “estado redox” celular (San-Miguel y Martin-Gil 2009, Reed y Fariss 1984). Esta enzima juega un papel importante en la inhibici3n del proceso de peroxidaci3n lipídica y, por lo tanto, protege a las células del estrés oxidativo. Por otro lado, hay al menos ocho enzimas GPx en humanos, GPx1-GPx8, siendo la selenoperoxidasa GPx₁ la más abundante y presente casi en todas las células (Ighodaro y Akinloye 2018, Chaudoére y Ferrari 1999).

B) Antioxidantes no enzimáticos

Los antioxidantes no enzimáticos actúan interrumpiendo las reacciones en cadena de los radicales libres, los cuales son considerados una segunda línea de defensa que actúan sobre los EROs (Nimse y Pal 2015, Elejalde 2001). Entre ellos tenemos a los antioxidantes exógenos y antioxidantes endógenos:

- Antioxidantes exógenos

Los antioxidantes exógenos o nutricionales obtenidos de la dieta, donde varios metales (Cu, Zn, Se, Mn y Fe) participan como componentes o cofactores de enzimas AOX; al igual que las vitaminas como el ácido ascórbico, α -tocoferol, β -caroteno, polifenoles, ácido fólico, los cuales actúan como agentes reductores capaces de neutralizar el potencial oxidativo de los radicales libres (Fusco *et al.* 2007, KONIGSBERG 2008, Bonnefoy *et al.* 2002, Sánchez-Valle y Méndez-Sánchez 2018). Estos antioxidantes actúan como moléculas suicidas, ya que se oxidan al neutralizar al radical libre, por lo que la reposici3n de ellos debe ser continua, mediante la dieta (Venereo 2002).

- Antioxidantes endógenos

Dentro de los antioxidantes endógenos, el glutati3n (GSH), tripéptido de gamma-glutamil-cisteinilglicina es definido como el principal tiol celular no proteico más abundante y distribuido, el cual está presente a nivel celular a altas concentraciones mayormente en su

forma reducida (GSH). El GSH puede actuar como antioxidante en reacciones enzimáticas (sustrato de la glutatión peroxidasa) o no enzimáticas protegiendo de la oxidación a grupos -SH esenciales de las proteínas, reaccionado con radicales libres o actuando en la regeneración de otros antioxidantes como el alfa-tocoferol, o ácido ascórbico. De esta forma, al reaccionar con oxidantes, el GSH se oxida a una molécula tóxica, llamada glutatión oxidada (GSSG). Por lo tanto, las células tienden a mantener una razón GSSG/GSH baja mediante la acción de la enzima glutatión reductasa, o exportando activamente el GSSG al exterior celular (San-Miguel y Martin-Gil 2009, Corrales y Ariza 2012).

2.3.4. Mecanismo de acción

Los antioxidantes de tipo no enzimáticos son un conjunto de moléculas tanto hidrófobas como hidrofílicas que tienen como función; capturar RL y generar moléculas menos nocivas para la célula, mediante la adición de un electrón al RL con el objetivo de estabilizarlo (Corrales y Ariza 2012). Dentro de ellas, tenemos a la vitamina C o ácido ascórbico presente a nivel intra y extracelular en la forma de ascorbato, actúa directamente sobre los radicales superóxidos, hidroxilo y algunos hidroperóxidos lipídicos, además de actuar sobre el tocoferoxilo, transformándolo a vitamina E (Bandyopadhyay *et al.* 1999).

Los carotenoides y la vitamina E son los antioxidantes principales de las membranas biológicas, y en los animales se obtienen también a partir de la dieta. Tiene una gran capacidad para dar lugar a reacciones de extinción como la del oxígeno singlete y también puede interactuar con RL a presiones parciales bajas de oxígeno como las existentes en los tejidos. La vitamina E o alfa-tocoferol está considerada como el principal antioxidante secuestrador de radicales lipofílicos *in vivo*. Su actividad antioxidante se debe al carácter reductor del grupo hidroxilo de su anillo cromanol. Asimismo, previenen el daño oxidativo a las membranas, impidiendo las reacciones de propagación, que es la principal causante de la peroxidación lipídica, amortigua los efectos prooxidantes del ión superóxido, modula la cascada metabólica del ácido araquidónico y controla la fluidez de la membrana, ordenando su estructura (San-Miguel y Martin-Gil 2009, Nimse y Pal 2015).

Algunas moléculas actúan como quelantes de metales prooxidantes, como son el hierro y el cobre (Pérez 2003). Estos metales no pueden ser metabolizados por el organismo, donde persisten y pueden ejercer efectos tóxicos, por lo tanto, inducen daño oxidativo por

reacciones catalizadoras, las cuales generan excesivos radicales libres. Por otro parte, los quelantes se unen a los metales dando lugar a una molécula más estable, lo que evitará la formación de radicales libres. Dentro de los flavonoides polifenólicos se encuentran un amplio grupo de compuestos fenólicos (catequinas, cianidinas, quercetinas) que actúan como quelantes de metales y atrapadores, *in vitro*, de ERO y ERN (Corrales y Ariza 2012).

La ceruloplasmina y la ferritina representan un papel importante como antioxidantes *in vivo* al unir metales de transición y evitar autooxidaciones y reacciones que conllevan a la formación de radical hidroxilo. La ceruloplasmina transporta y almacena Cobre (Cu), posee actividad ferrosidasa, actividad ascorbato-oxidasa. La ferritina, proteína que une hierro y buen indicador de la cantidad de hierro disponible, como antioxidante además de impedir la reacción de Fenton, elimina el radical superóxido e inhibe la peroxidación lipídica. Dentro de este grupo se encuentran la vitamina E, la vitamina A, la ubiquinona (coenzima Q), la albúmina, el ácido lipoico, el fibrinógeno, la bilirrubina y la glucosa (Corrales y Ariza 2012, San-Miguel y Martín-Gil 2009).

La actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelatantes de hierro y secuestradoras de radicales libres (RL). Otros estudios se refieren además a la inhibición de oxidasas, como la lipoxigenasa (LO), la ciclooxigenasa (CO), la mieloperoxidasa (MPO), la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa (XO), evitando la generación de especies reactivas del oxígeno (ERO) *in vivo*, así como de hidroperóxidos orgánicos. Por otra parte, se ha podido conocer que también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A₂ (FLA₂), al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, la catalasa (CAT) y el superóxido dismutasa (SOD). De esta forma, los flavonoides interfieren en las reacciones de propagación de RL y en la formación del radical en sí (Pérez 2003).

Los flavonoides y otras moléculas actúan como estimulantes de enzimas con propiedades antioxidantes tales como la catalasa, el glutatión peroxidasa y el superóxido dismutasa. Asimismo, el componente de tipo enzimático es considerado como la primera línea de defensa primaria, y está encargado de evitar el acúmulo de EROS, como el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno, catalizando la transferencia de electrones de un sustrato hacia los RL (Ighodaro y Akinloye 2018, Quintanar y Calderón 2009).

2.3.5. Beneficios de los antioxidantes en la salud

La vitamina C o ácido ascórbico es una molécula hidrosoluble que elimina radicales libres y regenera la capacidad de enzimas AOX y vitamina E (Nagao *et al.* 2000). Asimismo, es considerada un inhibidor de la nitrosación con importante énfasis como eliminador de nitritos *in vivo*. Además de reducir la concentración de nitrosaminas procedentes de alimentos industrializados, se le ha atribuido a esta vitamina un efecto anti-carcinógeno con capacidad quimio-protectora ya que aumenta la función inmunitaria al aumentar las células killer naturales y la función de los linfocitos T y B (Norman *et al.* 2003, Pineda *et al.* 1999).

Asimismo, inhibe el crecimiento de distintas células de melanoma humano e induce apoptosis celular. Estos estudios sugieren que su efecto contra el estrés oxidativo de la mucosa gástrica puede deberse a que es un potente antioxidante soluble en agua que atrapa y neutraliza una variedad de especies reactivas de oxígeno tales como hidroxilo, alcoxilo, peroxilo, anión superóxido, radicales hidroperoxilo y radicales reactivos del nitrógeno a concentraciones menores (Zhang y Farthing 2005).

La vitamina E, antioxidante liposoluble más concentrado en las lipoproteínas de baja densidad (LDL), protege de los radicales libres a los lípidos de las membranas (Vega *et al.* 2005). Por otro lado, las LDL oxidadas contribuyen al desarrollo de la placa aterosclerótica y pueden inducir la apoptosis. En un estudio *in vitro*, se demostró que la vitamina E (vit E) inhibe la oxidación de las LDL y su acción es superior si la suplementación combina la vit E con la vit C y el betacaroteno (Jialal y Grundy 1993). En el caso de la estenosis valvular aórtica (EVA), se ha encontrado que la combinación de la vit C y la vit E produce un moderado efecto antiinflamatorio en los sujetos con EVA. Su importancia consiste en que la vitamina E reduce los valores del factor nuclear K-B ($\text{NF}_{\kappa}\text{-B}$) que también participan en los procesos inflamatorios y promueve el aumento de la expresión de las moléculas de adhesión y por su parte la vit C reconstituye a la vit E oxidada (Tahir *et al.* 2005).

Entre los carotenoides, se ha demostrado que el licopeno disminuye la expresión de citoquinas (factor de crecimiento tipo insulínico I e interleucina 6), implicadas en el desarrollo del cáncer (Pollak 2001, Giri *et al.* 2001). Asimismo, disminuye la expresión de las enzimas óxido nítrico sintetasa y NADPH oxidasa, ambas generadoras de radicales libres, consideradas especies reactivas de oxígeno (ROS) (Hadley *et al.* 2003, Kucuk *et al.* 2001,

Matlaga *et al.* 2001). La acción del licopeno consiste en neutralizar radicales (óxidos y peróxidos) atenuando sus daños oxidativos, sobre los tejidos (Marchena *et al.* 2009). Algunos estudios han reportado que el licopeno puede proteger a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) del estrés oxidativo, lo cual puede ser de gran importancia en la disminución del riesgo de enfermedad coronaria (Hadley *et al.* 2003, Agarwal y Rao 1998, Sharma 2003).

En modelos animales, los carotenoides estimulan la función inmunológica de los linfocitos T y B, así como inhiben del crecimiento tumoral, también disminuyen la formación de radicales libres de oxígeno que influyen en las células responsables de la formación de la placa de ateroma de las enfermedades cardiovasculares (Marchena *et al.* 2009). Los subgrupos de carotenoides menos conocidos, como son la luteína y zeaxantina, encontrados principalmente en las verduras de hojas verde oscuro también han sido investigados por su posible papel en prevenir la degeneración macular (Landrum *et al.* 1997).

Los polifenoles o compuestos fenólicos están divididos en varios subgrupos atendiendo a su estructura básica, siendo clasificados de diversas maneras (Zhang *et al.* 2015). De manera general, los polifenoles han sido clasificados en dos grandes grupos: flavonoides y no flavonoides (Karasawa y Mohan 2018, Goncalves *et al.* 2013). Sólo de flavonoides se conocen más de 5.000 compuestos diferentes en la naturaleza, siendo los flavonoles los más ubicuos en los alimentos, y los principales representantes son la quercetina y el kaempferol más comunes que se encuentran en alimentos como glucósidos (Tomás-Barberán 2003, Hertog *et al.* 1992). En cuanto a sus propiedades en los alimentos, los flavonoles presentan actividad antioxidante, anti-inflamatoria, antígenotóxica y antihiper glucémica (Tarko *et al.* 2017, Assefa *et al.* 2017, Li *et al.* 2017). Por un lado, disminuyen los niveles de colesterol y de LDL oxidada mediante sus propiedades antioxidantes como fuertes quelantes de metales y como donadores de hidrógeno (Gimeno 2004). Asimismo, el consumo de las antocianinas y antocianidinas se ha asociado con la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, como la enfermedad cardíaca coronaria y el cáncer (Liu 2004, Aguilera *et al.* 2016).

Las catequinas son flavonoles que se encuentran en muchos tipos de frutas y su consumo se ha asociado con la inhibición de la trombosis arterial, la actividad anti-inflamatoria, la reducción del colesterol total y lipoproteína de baja densidad en vivo como parte de su capacidad antioxidante (Charepalli *et al.* 2016). Por otro lado, se ha encontrado que la

taxifolina inhibe la síntesis y secreción de una serie de lípidos en células humanas de carcinoma hepático hepatocelular (HepG2), mientras que flavononas incluyendo naringenina mostraron propiedades anti-inflamatorias (Porto *et al.* 2009).

Por otra parte, los ácidos hidroxibenzóicos tal como el ácido protocatéquico presentes en frutas, verduras y cereales han mostrado actividad protectora frente a lesiones hepáticas (Peñarrieta *et al.* 2014, Liu *et al.* 2002). Así mismo, los ácidos hidroxicinámicos encontrados en las uvas, manzanas, arándanos, espinacas, brócoli, col rizada, el café y los cereales; han demostrado capacidad antioxidante, actividad antígenotóxica y antiproliferativa en células (Gualdani *et al.* 2016, Wu *et al.* 2016). Panth *et al.* (2017) indicaron el efecto anticancerígeno de la fruta *Punica granatum* mostrando resultados *in vivo* e *in vitro* obtenidos para carcinoma hepatocelular obtenido en animales y humanos. Se observó que el extracto metanólico de *Osmanthus matsumuranusse* actúa sobre el carcinoma hepatocelular, el carcinoma de colon y pulmón al suprimir la proliferación celular, inducir la apoptosis y la detención del ciclo celular de la fase G2 / M (Jin *et al.* 2015). De la misma forma, diversos estudios reportan que los extractos de frutas tienen un efecto hepatoprotector (Folasade *et al.* 2016).

Por otro lado, la lipoproteína de alta densidad (HDL-c) previene la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) (Quesada y Llanos 2010). El HDL-c posee además propiedades antiinflamatorias, antioxidativas, antiagregatorias, anticoagulantes y profibrinolíticas *in vitro* (Pérez-Méndez 2004). Su principal actividad antiinflamatoria la ejercen las apolipoproteínas (apo) y enzimas asociadas, las cuales actúan coordinadamente para así transferir los peróxidos lipídicos, potentes agentes oxidantes, desde las LDL oxidadas hasta las HDL, captarlos y degradarlos generando productos no inflamatorios (Quesada y Llanos 2010). Estudios apoyan la relación entre el consumo de alimentos ricos en compuestos fenólicos de las frutas y una baja incidencia de enfermedad cardiaca coronaria, aterosclerosis y ciertas formas de infarto y cáncer (Cooke *et al.* 2005, Knekt 1996). Así, se ha reportado que estos alimentos tienen actividad antioxidante y pueden mejorar los perfiles lipídicos en modelos experimentales (Xia *et al.* 2006, Viram *et al.* 2004).

2.4. Estrés oxidativo

En el organismo existe un equilibrio entre las especies reactivas de oxígeno (ERO) y los sistemas de defensa antioxidante; cuándo éste se descompensa a favor de las ERO se

establece el estrés oxidativo en la célula, el cual está relacionado con múltiples enfermedades de carácter inflamatorio y/o degenerativo (Cerdá *et al.* 2009, Zafrilla *et al.* 2004, Montier *et al.* 2015). La producción no controlada de estas especies produce daño celular y trastornos fisiológicos (Sotero *et al.* 2004). De esta forma, el estrés oxidativo (EO) ha sido definido como el desequilibrio entre factores prooxidantes y antioxidantes en los sistemas vivos con capacidad de oxidar biomoléculas (lípidos, proteínas, ADN) e inhibir su estructura y función normal generado por un incremento exagerado de la producción de ERO y deficiencia de antioxidantes (Droge 2002).

Las ERO y el establecimiento de EO afectan a una amplia variedad de funciones fisiológicas y participan en el desarrollo de enfermedades humanas de tipo crónico degenerativas con impacto epidemiológico. Estas enfermedades pueden clasificarse en las generadas por prooxidantes que modifican el estado redox y alteran la tolerancia a la glucosa, favoreciendo el EO mitocondrial en enfermedades como el cáncer y la diabetes mellitus; el segundo grupo incluye EO de tipo inflamatorio y una mayor actividad de la enzima nicotinamida adenina dinucleótido fosfato-oxidasa (NADPH-ox) que conducen a la aterosclerosis e inflamación crónica; y el tercer grupo deriva del sistema xantina-oxidasa, generando ERO implicados en la lesión isquémica por reperfusión. Por otra parte, el proceso de envejecimiento está ligado al efecto dañino de los radicales libres a través de la oxidación de biomoléculas como lípidos, ADN y proteínas, repercutiendo directamente en el proceso de envejecimiento (San-Miguel y Martín-Gil 2009).

En la mayoría de patologías, las alteraciones celulares incluyen reclutamiento de macrófagos, daño mitocondrial, interferencia con defensas antioxidantes, aumento del calcio intracelular y conversión de la xantina deshidrogenasa a xantina oxidasa, lo cual puede llevar al organismo a un aumento de la actividad de los sistemas de defensa antioxidante, que protege a la célula frente a daños futuros; daño en tejidos tales como lípidos, proteínas y carbohidratos; y/o muerte celular por necrosis o apoptosis (Corrales y Ariza 2012). Asimismo, la hepatomegalia definida como un aumento del tamaño del hígado, por sobre los límites estimados como normales para cada grupo de edad participa de muchos procesos inflamatorios generados por el estrés oxidativo tales como la enfermedad hepática o a una enfermedad generalizada. Los mecanismos etiopatogénicos implicados son: la inflamación, el depósito, la infiltración, la congestión vascular y la obstrucción (Muñoz 2015). De la

misma manera, los efectos del paracetamol en la salud humana pueden ser asintomáticos o se puede presentar hepatotoxicidad, hepatomegalia dolorosa e ictericia (Barrios *et al.* 2017).

2.5. Afecciones hepáticas por paracetamol

La toxicidad hepática representa un problema sanitario importante que en las últimas décadas ha aumentado dramáticamente, dado que es una de las principales causas de muerte secundaria a fármacos y supone la principal causa del retiro, suspensión de comercialización y restricción de las indicaciones de productos farmacológicos del mercado farmacéutico en Europa y en Estados Unidos (Temple y Himmel 2002). La hepatotoxicidad se define como la lesión o daño en hígado a consecuencia de una exposición a un medicamento u otros agentes no farmacológicos (Tejada 2010). La ingestión de estos compuestos químicos u orgánicos generan daños funcionales y/o estructurales al hígado provocando enfermedad hepática tóxica inducida (Farrel 2004).

Entre las afecciones hepáticas, la esteatosis se caracteriza por el acúmulo excesivo de grasa en los hepatocitos, ya que el 5% del peso total del hígado corresponde a lípidos, más allá de esta proporción es considerada una patología de esteatosis o hígado graso. Entre las causas de esteatosis se encuentra el consumo excesivo de alcohol, obesidad, malnutrición proteica, pérdida de peso rápida, nutrición parenteral total, diabetes mellitus tipo 2, anorexia, toxinas, procedimientos quirúrgicos como derivación intestinal, resección extensa del intestino delgado, gastroplastía por obesidad mórbida y el uso de medicamentos hepatotóxicos (Martínez-López *et al.* 2005, Clemente-Ricote *et al.* 2003).

Asimismo, la esteatohepatitis se define como la complicación necroinflamatoria de una infiltración grasa persistente, constituyendo así la principal vía por la cual la esteatosis hepática puede progresar a cirrosis. Al principio, se creyó que la esteatohepatitis era provocada por el abuso crónico de alcohol, pero en 1980 reportaron una considerable cantidad de pacientes que no tomaban alcohol y presentaban enfermedad hepática caracterizada por la presencia de esteatosis en alcohólicos (González-Pérez y Salas-Flores 2008).

En la actualidad, numerosas publicaciones sugieren que las reacciones adversas a fármacos son responsables de una gran proporción de casos de lesión hepática, siendo designada la

reacción medicamentosa adversa como la aparición de efectos deletéreos no intencionales que se producen con dosis farmacológicas utilizadas con fines profilácticos y terapéuticos (Farrel 2004, Tejada 2010).

2.6. Paracetamol

El paracetamol, también conocido como acetaminofén, actúa inhibiendo la síntesis de prostaglandinas, mediadores celulares responsables de la aparición del dolor (Gómez-Rodríguez *et al.* 2013). Este es uno de los medicamentos de amplio uso a nivel mundial por sus propiedades analgésicas y antipiréticas, además de su bajo costo, efectividad y amplia disponibilidad, lo que ha conllevado a frecuentes casos de sobreuso y por consiguiente de hepatotoxicidad, siendo la principal causa de insuficiencia hepática en USA y Europa (Bermúdez *et al.* 2019, Arundel y Lewis 2007). Esta incidencia viene en aumento desde 1990 con una ocurrencia de 30 000 hospitalizaciones anuales atribuidas a su intoxicación (Lancaster *et al.* 2014).

Aproximadamente la mitad de todos los casos de hepatotoxicidad secundaria por consumo de acetaminofén son debido a una sobredosis no intencional y 63 % de estos casos involucran consumo de productos en la que se le combina con opioides. Esto ha generado gran preocupación en la FDA, la cual desde el 2011 dispuso que los productos combinados que contengan acetaminofén no sobrepasen los 325 mg por tableta y también limitó a no suscribir más de 4 gramos/diarios (Lancaster *et al.* 2014, Yan *et al.* 2018). Por su amplia disponibilidad, las personas suelen subestimar la toxicidad del acetaminofén debido a una incomprensión de la dosis terapéutica o por no informarse que este fármaco está presente en otras formulaciones (Bermúdez *et al.* 2019, Castro 2016).

2.6.2. Absorción y metabolismo del paracetamol

El hígado, además de participar en la síntesis proteica y el metabolismo energético, es el principal órgano que se encarga de la biotransformación de nutrientes, fármacos y otros agentes potencialmente tóxicos que deben atravesarlo antes de alcanzar el torrente sanguíneo y otros tejidos, por lo tanto, este órgano es vulnerable a fenómenos de toxicidad química. Asimismo, el hígado es un órgano afectado por numerosos procesos inflamatorios tales como

infecciones víricas, toxicidad por fármacos y sus metabolitos, metabolopatías, procesos autoinmunes y distintos defectos genéticos (Tejada 2010, Wilches 2017).

Su absorción ocurre rápidamente por el tubo digestivo, alcanzando concentraciones máximas después de 30 a 60 minutos de su administración oral; su vida media es de 2 horas y se distribuye uniformemente en los líquidos corporales del organismo. Un 85-90% del acetaminofén es metabolizado por la UDP glucuroniltransferasa (UGT) y la sulfotransferasa (SULT) para ser excretado en la orina. Otro 2% es excretado sin cambios en la orina y menos de un 10% es metabolizado por el sistema del citocromo P450 (CYP2E1) hasta formar el metabolito activo N-acetil-pbenzoquinoneimina (NAPQ1) que interacciona con los grupos sulfhidrilos del glutatión. (Lancaster *et al.* 2014, Sisamón 2003) (**Figura 1**).

2.6.3. Mecanismo de toxicidad hepática por paracetamol

El desarrollo de las lesiones hepáticas está mediado por la conversión de una pequeña fracción de la dosis al metabolito altamente reactivo (NAPQI), producto de una reacción catalizada por el citocromo P-450, el cual se une covalentemente a las proteínas hepáticas causando necrosis del tejido (Snawder *et al.* 1994, Thacher *et al.* 2000). En condiciones normales, el metabolito activo NAPQ1 es inactivado por conjugación con el glutatión reducido (GSH) para formar cisteína no tóxica y metabolitos de ácido mercaptúrico que son excretados en la orina. (Bunchorntavakul y Reddy 2018).

La sobredosis o prolongado uso depletan las reservas de glutatión hepático y saturan las vías de biotransformación glucuronidación y sulfatación, ocasionando mayor cantidad del metabolito activo, el cual se va a unir de forma covalente con el grupo sulfhidrilo de las proteínas celulares, especialmente las de la mitocondria expresado por un aumento de la vida media del fármaco; resultando en estrés oxidativo, modulación del sistema innato del hígado y disfunción mitocondrial proporcional a la necrosis hepática (Prescott y Wright 1973); sin embargo, una dosis terapéutica de acetaminofén, podría causar graves lesiones hepáticas y renales en individuos desnutridos, quienes se caracterizan por presentar cambios en los niveles séricos de proteínas, ácidos grasos, derivados glucosídicos, minerales y vitaminas;

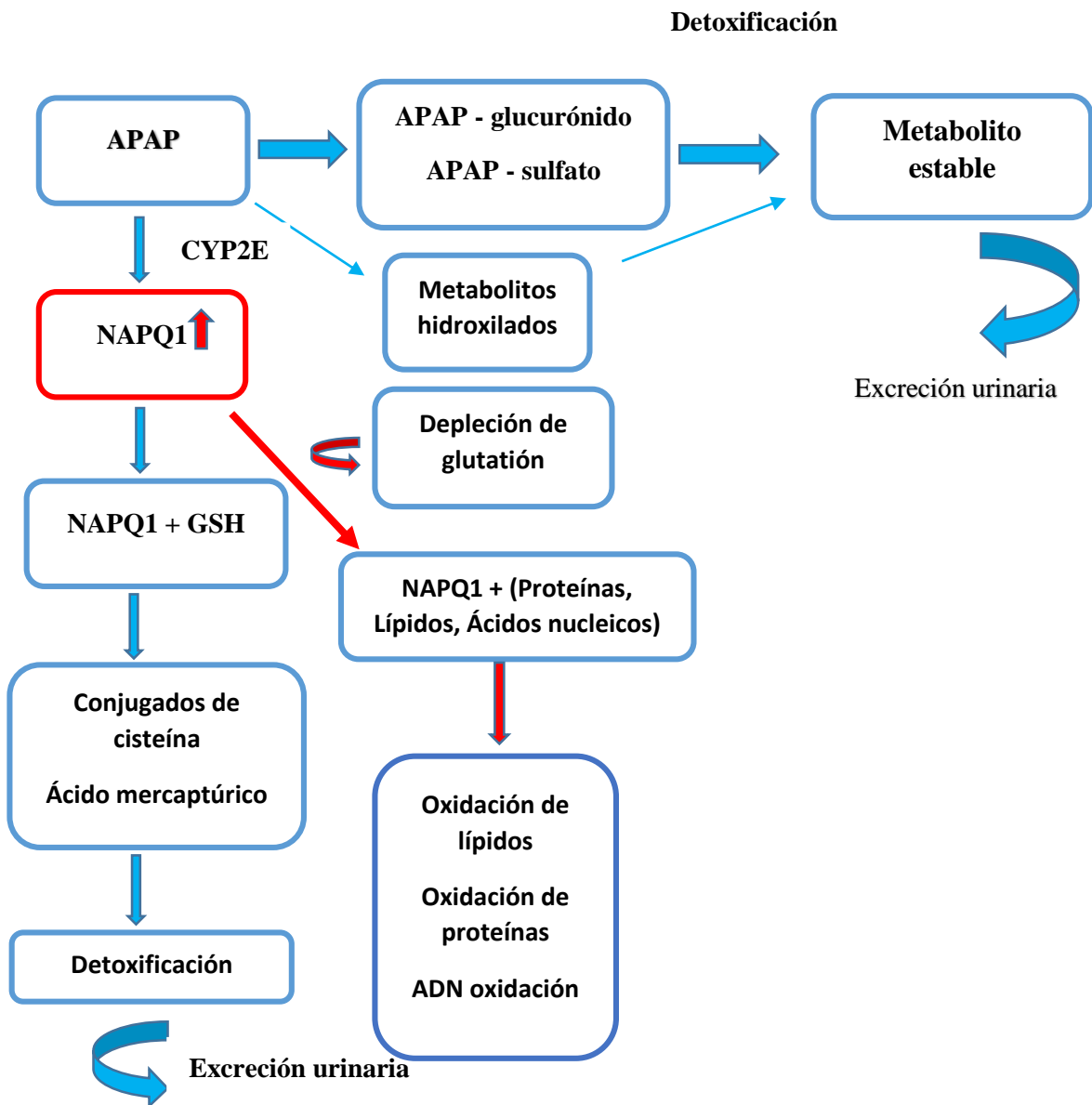


Figura 1: Metabolismo del paracetamol

FUENTE: Adaptado de Wang *et al.* 2017

nutrientes involucrados en los procesos de detoxificación de sustancias químicas, como los medicamentos (González-Mendoza y Vicuña-Fernández 2003).

Asimismo, el hígado posee una amplia cantidad de enzimas que cumplen funciones oxidativas y reductivas, participantes en la biotransformación de las sustancias tóxicas, entre las cuales se encuentran las del sistema del citocromo de la proteína 450 (P-450), flavin-

monooxigenasas, peroxidasas, hidroxilasas, esterasas, amidasas, glucuroniltransferasas, sulfotransferasas, metilasas, acetiltransferasas y tioltransferasas. El potencial daño hepático provocado por mecanismos complejos que implican formación de radicales libres que inducen estrés oxidativo con posible peroxidación, daño de ADN e inflamación sería generado por el posible detrimento de estas enzimas (Wilches 2017).

2.6.4. Toxicidad hepática por paracetamol en modelos in vivo

Los resultados de un estudio mostraron un efecto oxidativo, con alteración significativa de varios marcadores, como superóxido dismutasa y de la relación de glutatión reducido/oxidado (GSH/GSSG) (Correia *et al.* 2016, Hamza y Al-Harbi 2015). En otro estudio realizado en ratas, se observó que el tratamiento con paracetamol a la dosis de 400 mg/kg P.V. indujo un incremento significativo de los niveles de lipoperoxidación en hígado y suero (Huamán *et al.* 2013). Asimismo, el tratamiento con paracetamol a dosis 400 mg/kg P.V. indujo a un incremento de las transaminasas, especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), índice hepático (IH) y causó una disminución de los niveles de albúmina y proteína total sérica (Sánchez y Sotomayor 2015). Por lo tanto, la determinación de 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 los radicales libres (Clapés *et al.* 2001).

Por otro lado, un estudio realizado evidenció que la administración del paracetamol ocasionó necrosis severa a nivel histopatológico y mayores niveles de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico en tejido hepático (Troncoso y Guija 2007). Carbonel (2017) reportó una disminución de superóxido dismutasa (SOD) y menores niveles de glutatión reducido (GSH) en tejido hepático. Arnao-Salas *et al.* (2012) evidenciaron un aumento de transaminasas y una disminución de proteínas séricas. Así mismo, Ochoa *et al.* (2008) reportaron un aumento de transaminasas (TGP) en suero y se evidenciaron, a nivel histopatológico, signos de lesión hepática, degeneración grasa, congestión sinusoidal y centrolobulillar, y necrosis celular. De esta forma, dosis mayores a 200 mg/kg de peso corporal pueden producir necrosis centrolobulillar hepática, cambios en las transaminasas y fosfatasa alcalina, aumento de la concentración de bilirrubina y del tiempo de protrombina. (Voishm *et al.* 1993, Roach-Stacey 1997).

Asimismo, se observó que el extracto de perejil (*Petroselinum sativum*) ejerce un efecto hepatoprotector en ratas con intoxicación inducida por una dosis de 200 mg/kg P.V. de paracetamol, al evaluar alanina aminotransferasa (ALT), gamma glutamil transferasa (GGT), glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico (TBARS) y estudio histopatológico hepático (Troncoso y Guija 2007). En otro estudio en ratas, los extractos acuoso e hidroetanólico de hojas de achiote (*Bixa orellana*) presentaron efecto hepatoprotector frente al daño hepático inducido por una dosis de 400 mg/kg de paracetamol, a través de la determinación de bilirrubina total (BT), directa (BD) e indirecta (BI), hepatomegalia, especies reactivas al ácido tiobarbiturico (TBARS) en hígado y suero. Asimismo, la administración del extracto acuoso de hojas de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) tuvo un efecto hepatoprotector comparable a la silimarina (Huamán *et al.* 2013).

Otro estudio realizado reportó que la administración de la harina de camu camu (*Myrciaria dubia*) en ratones, disminuyó los valores de índice hepático y mostró un mayor nivel del sistema GSH. Asimismo, la descripción histológica detalló protección en la mayoría de las muestras tratadas con la planta (Santa-Cruz 2019). Estos resultados también coincidieron en ratas administradas con zumo de tuna morada (*Opuntia ficus-indica*), donde se observó una disminución de la concentración hepática de TBARS y del IH (Sánchez y Sotomayor 2015).

Por otro lado, la administración de extracto hidroetanólico de maíz morado (*Zea mays* L), extracto acuoso de diente de león (*T. officinale*), zumo de sanky (*Corryocactus brevistylus*), ciruela roja (*Spondias purpurea*), semillas de zapallo macre (*Cucúrbita máxima*), noni (*Morinda citrifolia*), pulpa de piña (*Ananas comusus*) y mango (*Mangifera indica* L) evidenciaron un efecto hepatoprotector en ratas contra el estrés oxidativo generado por otros agentes hepatotóxicos (Hañari-Quispe *et al.* 2015, Favari *et al.* 2013, Lipe 2016, Montañez y Giordano 2016, Caballero 2014, Jiménez *et al.* 2015, Rey 2017, Bazalar 2018).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo se llevó a cabo en el Bioterio del Departamento Académico de Nutrición de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

3.2. Animales experimentales

Se utilizaron 25 ratas albinas machos variedad *Holtzman* de dos meses de edad procedentes del Laboratorio de Análisis Biológico Bioterio de la Facultad de Zootecnia de la UNALM.

3.3. Materia prima

- Taperiba procedente del Departamento de San Martín.
- Dieta estándar comercial para ratas elaborada por la Planta piloto de alimentos balanceados de la UNALM.

3.4. Instalaciones y equipos

Durante el desarrollo de la parte experimental se utilizaron jaulas individuales, implementadas cada una con su comedero y bebedero y una bandeja individual para recoger sus excretas. Con 12 horas luz y 12 horas oscuridad; el agua suministrada fue agua de mesa tratada y se le brindó ad libitum, la temperatura del ambiente fue de 23-25°C. Para la evaluación del perfil lipídico en sangre se empleó el equipo ACON® modelo Mission® Cholesterol Monitoring System; mientras que para la medición del nivel de glucosa en sangre se utilizó el equipo ACON®, modelo On Call® Advanced Blood Glucose Monitoring System.

3.5. Reactivos y fármacos

Los reactivos necesarios para desarrollar el ensayo fueron: cloruro de sodio 0.9%, formaldehído, alcohol y como fármaco se utilizó Acetaminophen BioXtra, $\geq 99.0\%$ de Merck.

Se utilizaron artículos de limpieza como jabón, desinfectantes, papel toalla, mascarilla, guantes de nitrilo y guardapolvo. Además, se utilizaron jeringas hipodérmicas de 1 mL y 3 mL y una cánula de acero inoxidable para suministrarle, vía oral, los tratamientos a las ratas.

3.6. Metodología

3.6.1. Recolección y preparación del zumo de taperiba

El material botánico fue adquirido en estado de maduración comercial en el Mercado Mayorista de Frutas de Lima, procedente del Departamento de Ucayali. Posteriormente la fruta fue clasificada taxonómicamente en el Museo de Historia Natural (**Anexo 1**). Asimismo, se realizó el análisis proximal, caracterización fisicoquímica, determinación de compuestos bioactivos y marcha fitoquímica. de la pulpa (**Anexo 2**).

Las frutas fueron lavadas con agua de corriente y luego se procedió a quitarle el exceso de agua con la ayuda de un secador de tela, enseguida se procedió a pelar y deshuesar las frutas con un cuchillo, finalmente se obtuvo la pulpa. La pulpa de los frutos fue sometida a presión manual y se filtró con un tamiz fino, de donde se obtuvo el zumo. Después el zumo fue colocado en un frasco ámbar para su protección a la luz, asimismo, fue preparado diariamente durante toda la fase de tratamiento, desechándose lo sobrante. Para la elaboración de este zumo se utilizaron 5 kg de taperiba. Las muestras fueron diluidas con agua destilada para obtener las siguientes dosis: 1mL/kg P.V. y 5 mL/kg P.V. de zumo. A continuación, se describen los pasos de la **Figura 2**:

- a. Recepción: Las frutas seleccionadas fueron de textura firme, color anaranjado brillante con manchas pardas y otras con manchas verdes.
- b. Lavado manual: Se realizó el lavado con agua corriente y se desinfectó con hipoclorito de sodio.
- c. Pelado y deshuesado: Se peló cuidadosamente la cascara con un cuchillo pelador
- d. Triturado: Con ayuda de un mortero y un plato de madera, se procedió a triturar la fruta.

- e. Filtrado: Con ayuda de un tamiz fino, se separó todas las partículas gruesas.
- f. Envasado: Finalmente, se colocó el zumo en un frasco ámbar y fue administrado rápidamente a las ratas.

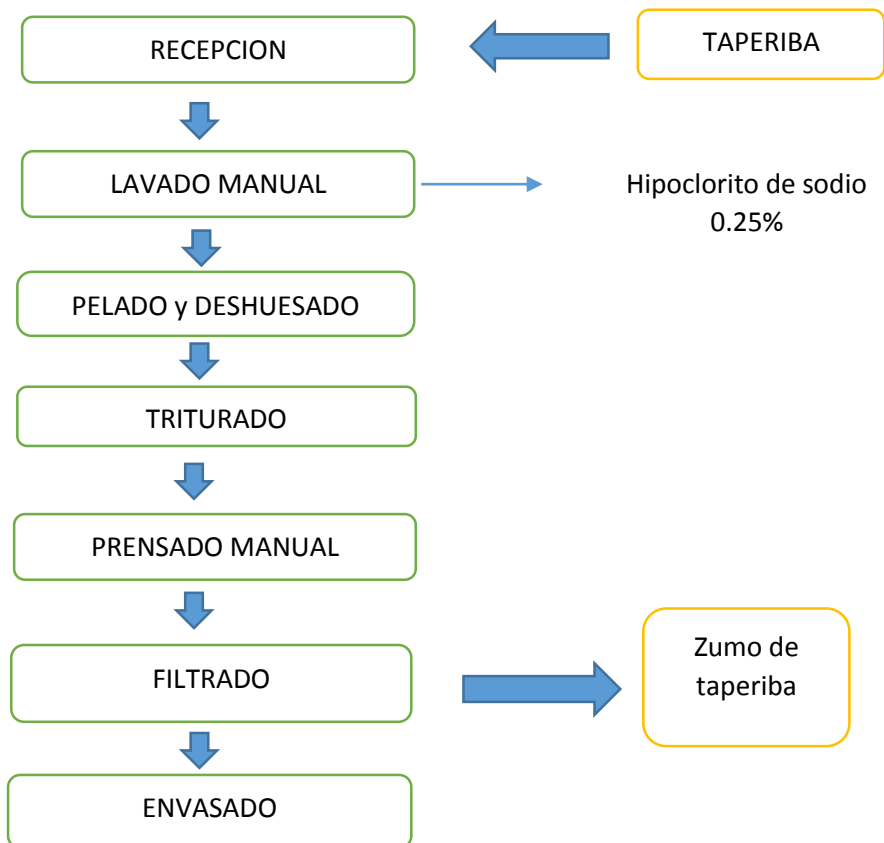


Figura 2: Diagrama de Flujo para la obtención del zumo de taperiba

3.6.2. Alimentación

Se les suministró a los animales de experimentación diariamente 20 g de un mismo alimento exclusivo para ratas de la Universidad Nacional Agraria la Molina y agua ad libitum, con un período de acostumbramiento de una semana, seleccionadas aleatoriamente para formar los grupos experimentales. Posteriormente a todos los tratamientos experimentales se les continuó alimentando con la misma dieta estándar (**Anexo 3**).

3.6.3. Tratamientos

Para demostrar la actividad antioxidante y hepatoprotectora, se administraron los diferentes tratamientos durante 11 días. Se empleó la técnica de inducción a hepatotoxicidad por paracetamol propuesta por Gibson et al. 1996. Al sexto día fue administrada la dosis de paracetamol hasta la finalización del experimento. Se usó la vía orogástrica para la administración de los cinco tratamientos y se emplearon 5 tratamientos con 6 repeticiones (**Tabla 1**). Concluido el período experimental, las ratas fueron sometidos a un ayuno previo de 8 horas, posteriormente fueron anestesiados y luego sacrificadas siguiendo las normas éticas para el uso de animales de laboratorio.

Tabla 1: Descripción de los diferentes tratamientos

Tratamiento	Descripción
T1	Control
T2	Suero fisiológico + Paracetamol (300 mg/kg P.V.)
T3	Silimarina (100 mg/kg P.V.) + Paracetamol (300 mg/kg P.V.)
T4	Zumo de taperiba (1mL/kg P.V.) + Paracetamol (300 mg/kg P.V.)
T5	Zumo de taperiba (5mL/kg P.V.) + Paracetamol (300 mg/kg P.V.)

3.6.4. Manejo de la eutanasia, extracción de sangre y tejido hepático

Después que los animales experimentales fueron anestesiados con ketanina y xilacina para extraer la sangre para la determinación de glucosa y perfil lipídico, los animales fueron sacrificados por dislocación cervical, cumpliendo las normas éticas para estos animales, el cual fue llevado a cabo por el especialista veterinario, siguiendo las normas éticas para animales de laboratorio. Luego del sacrificio se realizó la laparotomía abdominal a cada animal para extraer el hígado el cual fue lavado con suero fisiológico y pesado en una balanza analítica, posteriormente se separó el lóbulo mayor, del cual se seleccionó una porción de 1g aproximadamente y se guardó en criotubos de ensayo 2 mL con tapa rosca, los cuales fueron almacenados en un tanque de nitrógeno líquido a -80°C, conservados y protegidos de la luz, hasta el momento de la preparación del homogenizado con buffer fosfato pH 7,4 a 0,01 mol/L.

3.7. Mediciones

Durante el desarrollo del ensayo biológico en ratas inducidas a la hepatotoxicidad se realizaron las siguientes mediciones y registros:

3.7.1. Índice Hepático

Una vez extraído el hígado 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 (IH) mediante la siguiente fórmula:

$$IH = \frac{W_{Higado}}{W_{Animal}} \times 100$$

W_{Higado} : peso del hígado

W_{Animal} : peso del animal

Además, se determinó el porcentaje de incremento del IH de los tratamientos, en relación al IH del Tratamiento 1 (T1) con la siguiente fórmula:

$$\%Incremento = \frac{IH_{tto} - IH_1}{IH_1} \times 100$$

IH_{tto} : Índice hepático del tratamiento

IH_1 : Índice hepático del Tratamiento 1 (control negativo)

3.7.2. Determinación de glucosa y perfil lipídico

Los animales experimentales fueron anestesiados por un especialista veterinario antes de la toma de datos. Para la recolección de muestra sanguínea de cada animal al final del experimento, se realizó rápidamente un corte en el extremo de la cola de la rata y con un capilar se recolectó una gota de sangre, la cual se colocó en una tira reactiva unida al dispositivo de control y luego fueron leídos inmediatamente al pasar unos segundos. Por otro lado, para la determinación del perfil lipídico (TG y HDL-c) se empleó el kit ACON® modelo Mission® Cholesterol Monitoring System y ACON®, modelo On Call® Advanced Blood Glucose Monitoring System para determinar el índice glicémico. Para todas las muestras se utilizaron capilares y tiras reactivas diferentes.

3.7.3. Determinación de antioxidantes enzimáticos en hígado

Se realizó la evaluación de actividad de dos enzimas antioxidantes: Superóxido dismutasa (SOD) y Catalasa (CAT):

a. Actividad enzimática de Superóxido dismutasa (SOD)

Se empleó la técnica propuesta por Marklund y Marklund (1974), la cual se basa en la capacidad de la SOD para inhibir la autooxidación del pirogalol a pH alcalino (pH 8,2) con formación del radical superóxido. Este método es una reacción que sigue una cinética lineal, evaluada a una longitud de onda de 420 nm y que a su vez es inhibida por SOD.

Unidad SOD: Se define como la cantidad de enzima requerida para inhibir la autooxidación del pirogalol en un 50%. Los resultados se expresaron en USOD/mg proteína.

b. Actividad enzimática de Catalasa (CAT)

Se empleó el método de Aebi (1984), el cual consiste en la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno ante la presencia de la enzima CAT. La disminución de la absorbancia se evaluó a una longitud de onda de 240 nm en un minuto. La diferencia de absorbancia por unidad de tiempo es la medida de la actividad de catalasa.

Unidad CAT: $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ consumido en un minuto bajo las condiciones de ensayo. Los resultados se expresaron en U/mg proteína.

3.7.4. Determinación de Glutación reducido (GSH)

El homogenizado de hígado anteriormente mencionado se usó para la determinación de glutación reducido (GSH) y demás análisis realizados. Se aplicó el método de Boyne y Ellman (1972), el cual consiste en la oxidación de los grupos sulfhidrilos (GSH) por el ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) con formación de ácido 2-nitro-5-tiobenzoico (TNB), el cual es leído a 412 nm. Los resultados fueron expresados en U/mg de proteína.

3.7.5. Determinación de Lipoperoxidación en tejido hepático (TBARS)

La lipoperoxidación genera una serie de derivados tóxicos como los hidroperóxidos (ROOH), dienos conjugados (DC), malonildialdehído (MDA), 4-hidroxi alquenes (4-HA),

isoprostanos y los oxisteroles (Niki 2009). La peroxidación lipídica de hígado se determinó mediante el análisis de especies reactivas al ácido 2-tiobarbiturico TBARS, según Buege y Aust (1978), la cual se basa en medir el contenido de malondialdehído (MDA) que al reaccionar con forma un complejo coloreado que se lee a 535 nm. La concentración de MDA, es proporcional a los ácidos grasos poliinsaturados oxidados y por lo tanto es un buen indicador de peroxidación lipídica que mide la lesión de los tejidos inducido por especies reactivas al oxígeno, el color de la reacción es rosado. La intensidad de esta coloración será proporcional al grado de lipoperoxidación de los ácidos grasos. Las muestras fueron analizadas por triplicado y los resultados se expresaron como nmol MDA/g proteína.

3.7.6. Cuantificación de proteínas

Se realizó con el método de Lowry *et al.* (1951), el cual consiste en la reacción de los iones de cobre con los enlaces peptídicos a pH alcalino, formándose enlaces de coordinación en este nuevo complejo, los grupos OH reducen el reactivo de Folin generando un color azulado. El complejo coloreado se leyó a 700 nm y la proteína se expresó en mg/mL.

3.7.7. Análisis estadístico

Todos los datos fueron expresados como la media +/- error estándar de la media (SEM). Se realizó la prueba de normalidad de Ryan-Joiner para los datos de cada indicador. Al tener la muestra una distribución normal ($p > 0,05$), se aplicaron las pruebas de análisis de varianza. Para los indicadores con distribución normal se aplicó la prueba de ANOVA, asimismo, se realizó la prueba de Bonferrini, en caso de resultar significativo. Al no presentar los resultados una distribución normal, se aplicó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis y como prueba pos hoc Mann Whitney. Fueron considerados estadísticamente significativos, los valores con $p < 0,05$. Los datos fueron procesados en el paquete estadístico Minitab versión 18.

El Modelo Aditivo Lineal fue:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Observación: El i -ésimo tratamiento en la j -ésima repetición, $j=1,2,3 \dots n$ repeticiones

μ = Media poblacional

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento, $i=1,2,3\dots k$ tratamientos

e_{ij} = Error experimental asociado a la observación Y_{ij}

3.7.8. Aspectos éticos

Para el presente estudio se tuvieron en cuenta las normas y procedimientos éticos para el manejo de animales de laboratorio establecidos según la Ley Peruana N° 27265 de la protección a los animales domésticos y a los animales silvestres mantenidos en cautiverio.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto del zumo de taperiba sobre el índice hepático

Los resultados referidos al índice hepático obtenidos al finalizar el periodo de tratamientos se detallan en la **Tabla 2, Figura 3, Anexo 4 y Anexo 5**. El peso relativo del hígado con respecto al peso corporal final, también llamado índice hepático (IH), expresado en porcentaje (%), mostró diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos ($p < 0.05$). La administración de T2 incrementó en 28% el índice hepático (IH), respecto al tratamiento control, resultando estadísticamente significativo. Estos resultados evidenciarían un estado de inflamación y hepatomegalia debido al proceso de estrés en las ratas a causa del paracetamol. Por otro lado, el tratamiento con silimarina mostró un incremento de 17,74% en el IH, respecto a T1, siendo significativo. Estos resultados muestran una muy baja protección hepática contra el paracetamol por parte de la silimarina administrada a T3.

Por otra parte, el zumo a diferentes dosis mejoró el índice hepático, ya que a la dosis más alta 5 mL/kg p.v. (T5), este indicador mostró los valores más bajos, respecto a los otros tratamientos, con un incremento de 4,69%, que inclusive casi llegó a los valores de T1, mostrando diferencias estadísticamente significativas al compararlo con T2. Por otra parte, el tratamiento a la dosis más baja 1 mL/kg p.v. del zumo incrementó en 18,93% el índice hepático, siendo estadísticamente significativo al compararlo con T1. Según estos resultados, la disminución del índice hepático del tratamiento que recibió la dosis más alta 5 mL/kg p.v. del zumo, guardaría cierta relación con una mayor concentración de los compuestos fitoquímicos con capacidad antioxidante del fruto taperiba (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson), necesarios proteger al hígado del aumento del estrés oxidativo causado por el fármaco paracetamol. Asimismo, estos resultados evidenciarían que el tratamiento a la dosis más alta 5 mL/kg p.v. del zumo ejerce una mayor protección hepática, inclusive más efectiva que el tratamiento con silimarina.

El incremento hepático en ratas inducidas a toxicidad hepática coincide con un estudio realizado en ratas por Huamán *et al.* (2013) cuyos tratamientos incluyeron T1: control, T2:

paracetamol (400 mg/kg p.v.), T3: silimarina (300 mg/kg p.v.) + paracetamol (400 mg/kg p.v.), T4: extracto acuoso de *Bixa orellana* (500 mg/kg p.v.) + paracetamol (400 mg/kg p.v.) y T5: extracto hidroetanólico *Bixa orellana* (500 mg/kg p.v.) + paracetamol (400 mg/kg p.v.); donde se reportó que el tratamiento paracetamol (T2) aumentó numéricamente el índice hepático, el tratamiento con extracto acuoso *Bixa orellana* disminuyó significativamente el índice hepático y el tratamiento que recibió el extracto hidroetanólico *Bixa Orellana* mostró una reducción significativa del índice hepático.

En cambio, los resultados reportados por Troncoso y Guija (2007) en ratas cuyos tratamientos incluyeron T1: control, T2: paracetamol (200 mg/kg p.v.), T3: FHP (50 mg/kg p.v.) + paracetamol (200 mg/kg p.v.), T4: extracto acuoso de perejil (150 mg/kg p.v.) + paracetamol (200 mg/kg p.v.), manifestaron que a dosis de 200 mg/kg p.v. de paracetamol no se produjo un aumento significativo del índice hepático en ninguno de los tratamientos, respecto al control. Estos resultados pueden ser explicados por la menor dosis de paracetamol empleada en este último estudio.

Tabla 2: Índice hepático en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos

Tratamiento	Índice Hepático (%)	Incremento (%)
T1	3.45 ^a ± 0.24	-
T2	4.41 ^b ± 0.26	28.00
T3	4.06 ^{bc} ± 0.10	17.74
T4	4.10 ^{bc} ± 0.28	18.93
T5	3.61 ^{ac} ± 0.2	4.69

*Promedio de tres repeticiones ± DS. Los valores medios con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas (p<0.05). *T1: Control; T2: SF + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T3: Silimarina (100 mg/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T4: Zumo de taperiba (1mL/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T5: Zumo de taperiba (5mL/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.).

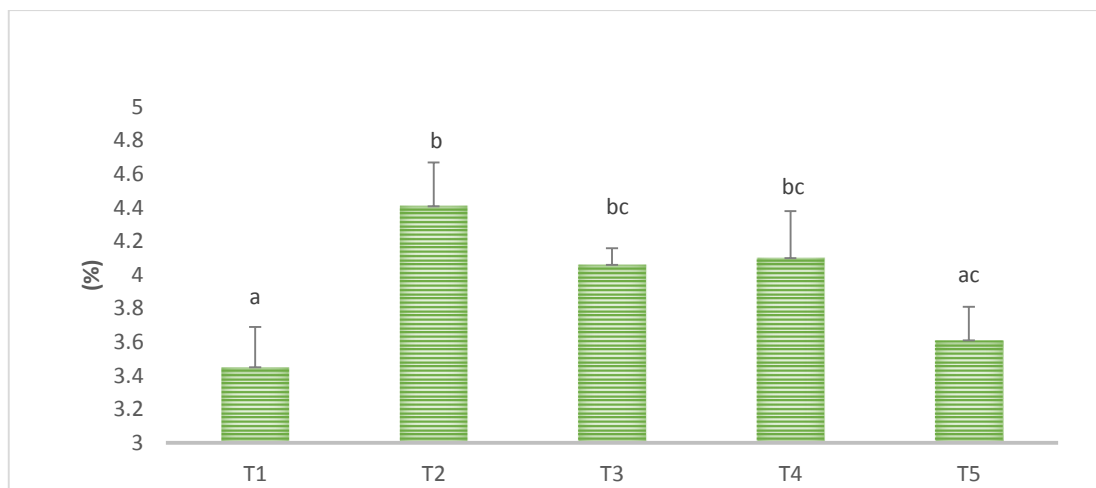


Figura 3: Índice hepático en ratas tras la administración de los tratamientos.

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). *T1: Control; T2: SF + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T3: Silimarina (100 mg/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T4: Zumo de taperiba (1mL/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T5: Zumo de taperiba (5mL/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.).

4.2. Efecto del zumo de taperiba sobre la glucosa y perfil lipídico

En este estudio, con relación a los niveles séricos de glucosa detallados en la **Tabla 3** y **Anexo 6**, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos ($p > 0.05$), pero se pudo observar que todos los tratamientos que incluyen paracetamol produjeron mayores niveles séricos de glucosa que el tratamiento control, siendo el tratamiento a la dosis más alta 5 mL/kg p.v. de zumo el que produjo mayores niveles (97.75 mg/dL), que inclusive, según Ihedioha *et al.* (2013) supera los niveles normales establecidos para animales sanos de la misma edad (Glucosa 48.4–91.2 mg/dL). De los resultados anteriormente descritos, se desprende que el paracetamol podría tener alguna influencia en la medición de los niveles de glucosa. Estos resultados concuerdan con Basu *et al.* (2016), quienes hallaron que el paracetamol interfiere directamente en la medición de los niveles de glucemia en glucómetros como equipo de medición, dando valores mucho más altos que los reales.

En otro estudio realizado, el índice glicémico fue determinado en ratas por Oriondo *et al.* (2016) frente a otros frutos amazónicos, donde hallaron que el taperiba presentó menor índice glicémico (59,7 mg/dL) que el cajú (75,8 mg/dL), cajá (74%) y caimito (71,6 mg/dL); así como mayor índice glicémico que la pitajaya (51,8 mg/dL) y el arazá (43,8 mg/dL). De

esta manera, el zumo de taperiba no influye en el incremento de los niveles de glucosa, por el contrario, mantiene los niveles dentro del rango.

Por otro lado, los niveles séricos de HDL-c mostrados en la **Tabla 3** y **Anexo 7** presentaron diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ($p < 0.05$). También, se pudo observar que el tratamiento con paracetamol disminuyó en 38.43% los niveles de HDL-c, respecto a T1, cuya diferencia fue estadísticamente significativa a un $p < 0.05$. En este sentido, es conocido que el daño hepático crónico puede producir una depresión importante de colesterol debido a que los hepatocitos dañados son incapaces de convertir las proteínas y los carbohidratos a grasas, lo cual sugiere que la disminución de HDL-c está relacionado con la baja síntesis de colesterol en el hígado (Chang-Feng *et al.* 2013).

Tabla 3: Perfil lipídico y glucosa en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos

Tratamiento	HDL (mg/dL)	TG (mg/dL)	Glucosa (mg/dL)
T1	63.75 ^a ± 9.03	47.50 ^a ± 4.36	83.8 ^a ± 3.03
T2	39.25 ^b ± 7.23	46.25 ^a ± 1.50	88.8 ^a ± 7.69
T3	47.50 ^{ab} ± 13.99	45.25 ^a ± 0.50	88.8 ^a ± 9.15
T4	51.75 ^{ab} ± 8.96	53.50 ^a ± 13.87	88.2 ^a ± 6.83
T5	55.25 ^{ab} ± 9.18	61.25 ^a ± 14.89	95.2 ^a ± 14.65

*Promedio de tres repeticiones ± DS. Los valores medios con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$). *T1: Control; T2: SF + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T3: Silimarina (100 mg/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T4: Zumo de taperiba (1mL/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T5: Zumo de taperiba (5mL/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.).

Además, el tratamiento con silimarina y el zumo a diferentes dosis, también expresó una disminución de los niveles de HDL-c, respecto al tratamiento control, sin embargo, a la dosis más alta 5 mL/kg p.v. del zumo, este indicador mostró niveles más altos, con una disminución de 13.33%, evidenciando diferencias no significativas ($p > 0.05$). Dichos

resultados muestran que el tratamiento con el zumo de taperiba a la dosis más alta 5 mL/kg p.v. contribuye mejor a normalizar los niveles de HDL-c y proteger a las células hepáticas manteniendo su función y metabolismo. En lo referente a los niveles séricos de triglicéridos, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos ($p > 0.05$) (**Tabla 3**).

Los resultados sugieren que el zumo de taperiba recupera los niveles de lipoproteínas, al poseer compuestos bioactivos que aumentan la síntesis de la Apoproteína A1, la cual es responsable del origen del HDL-c y junto con otras proteínas actúan coordinadamente para transferir los peróxidos lipídicos, potentes agentes oxidantes, desde las lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) oxidadas hasta las lipoproteínas de alta densidad (HDL-c), captarlos y degradarlos generando productos no inflamatorios. Por otro lado, los compuestos bioactivos presentes en el zumo aumentarían la síntesis de Apoproteína B100 que participa en la movilización del colesterol (González-Pérez y Salas-Flores 2008, Martínez-López *et al.* 2005, Nannipieri *et al.* 2005, Moran *et al.* 1983, Clemente-Ricote y García-Monzón 2003, Sánchez y Ordoñez 2010).

Estos resultados concuerdan con Madi y Farouk (2015), quienes evaluaron el efecto hipolipemiente y hepatoprotector de las semillas secas de *Vitis vinifera* sobre la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en ratas, donde reportaron un aumento significativo de los niveles de HDL-c para los tratamientos con semillas secas de uva roja (RGDS) en comparación con el control inducido. Por el contrario, mostraron una disminución significativa de los niveles de triglicéridos (TG), LDL-c y lipoproteína de muy baja densidad (VLDL-c). Además, las ratas a las que se les administró la dieta que contenía niveles de RGDS produjeron una hepatoprotección significativa frente al paracetamol al disminuir la peroxidación lipídica, mientras que los niveles de GSH, SOD y CAT aumentaron significativamente cerca de los niveles normales.

Rosales *et al.* (2017) reportaron similares resultados en ratas inducidas a daño hepático cuyos tratamientos incluyeron un tratamiento control, tetracloruro de carbono (CCl₄) y una mezcla de siete plantas (EHAM₇) + CCl₄, donde se encontraron que el tratamiento con CCl₄ redujo significativamente los niveles de HDL-c y TG, mientras el tratamiento con EHAM₇ aumentó numéricamente los niveles de HDL-c y TG hasta valores casi normales. En cambio, los resultados reportados por Hañari-Quispe *et al.* (2015) en ratas cuyos tratamientos fueron tratamiento control, tetracloruro, silimarina, extracto hidroetanólico de maíz morado (EAM)

a diferentes dosis, mostraron que el tratamiento con tetracloruro y el EAM a diferentes dosis disminuyó numéricamente los niveles de HDL-c, respecto al control, mientras que todos los tratamientos con paracetamol disminuyeron los niveles de triglicéridos, sin llegar a ser significativo.

4.3. Efecto del zumo de taperiba sobre la actividad de enzimas antioxidantes, glutatión reducido y TBARS

Con respecto a la actividad específica del superóxido dismutasa (SOD) detallada en la **Tabla 4** y **Anexo 8**, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre todos los tratamientos ($p > 0.05$), pero se pudo observar que el tratamiento únicamente con paracetamol y el tratamiento con silimarina produjeron un aumento numérico de la actividad específica de SOD, respecto al grupo control, mientras que los tratamientos con el zumo a diferentes dosis normalizaron los valores de la actividad específica de SOD.

Por otro lado, la actividad específica de catalasa (CAT), no presentó diferencia estadísticamente significativa entre todos los tratamientos ($p > 0.05$); sin embargo, el tratamiento solo con paracetamol produjo un aumento numérico de la actividad específica de la catalasa, respecto al control. Además, el tratamiento a la dosis más alta 5 mL/kg p.v. del zumo produjo también un aumento numérico de la actividad específica de la catalasa, mientras que a la dosis más baja 1 mL/kg p.v. del zumo, produjo una disminución numérica de la actividad específica de la enzima. En cambio, el tratamiento con silimarina produjo valores de actividad específica de catalasa similares al tratamiento control (**Tabla 4**).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo coinciden con un estudio realizado en ratas inducidas a hepatotoxicidad por Troncoso y Guija (2007), donde trabajaron con un extracto acuoso de perejil fresco a una dosis de 150 mg/kg p.v. para evaluar el efecto del estrés oxidativo en el hígado ocasionado por paracetamol durante 5 días, donde se reportó que el tratamiento con paracetamol, compuesto que produce daño hepático a través de la generación de radicales libres, produjo un aumento numérico de los niveles de SOD y catalasa, respecto al grupo control. Con relación a la actividad de SOD, enzima que participa en la transformación del radical anión superóxido, el tratamiento con perejil produjo un aumento en los niveles sin llegar a ser significativo, siendo estos valores mayores que todos los grupos, incluido el grupo control. Asimismo, en lo referente a la actividad de catalasa,

enzima que participa en las reacciones de transformación del peróxido de hidrógeno, el tratamiento con perejil produjo un incremento numérico de los niveles, siendo estos valores similares al control. Además, el tratamiento con FHP (fármaco hepatoprotector) redujo los niveles de SOD y catalasa, resultando valores similares al tratamiento control.

Los valores de capacidad antioxidante y compuestos bioactivos obtenidos de la literatura y del análisis realizado al fruto fresco, también pueden plasmarse en el modelo *in vivo*. Así, los resultados obtenidos en la parte experimental muestran que el zumo de taperiba (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) modifica la actividad de CAT y SOD, cerca de valores normales. En un estudio, You *et al.* (2010) realizaron un trabajo en ratones para evaluar el efecto del extracto acuoso de diente de león (*Taraxacum officinale*) sobre el estrés oxidativo inducido por el etanol, cuyos tratamientos incluyeron: control, etanol (5g/kg p.v.) y *Taraxacum officinale* (1g/kg p.v.) durante 8 días, donde se reportó que el tratamiento etanol disminuyó significativamente la actividad de la catalasa. La administración del tratamiento con *Taraxacum officinale*, después del daño con etanol, logró recuperar valores de actividad de catalasa similares al tratamiento control. La diferencia en los resultados de estos estudios puede ser explicados por la dosis empleada y el tiempo de experimentación. Asimismo, la catalasa y el superóxido dismutasa, enzimas del sistema de defensa antioxidante, aumentan su actividad como respuesta frente a las especies reactivas de oxígeno (McCord y Fridovich 1969).

En este estudio, los niveles de glutatión reducido (GSH) en homogenizado de hígado (**Anexo 9**) no presentaron diferencia estadísticamente significativa al comparar por pares de tratamientos ($p > 0.05$). Además, se pudo observar que el tratamiento con paracetamol (T2) produjo los mayores niveles de GSH respecto a todos los tratamientos (**Tabla 4**).

Tabla 4: Actividad de enzimas antioxidantes, GSH y TBARS en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos

Trat	SOD (U/mg prot)	CAT (U/mg prot)	GSH (U/mg prot)	TBARS (nmol/g prot)
T1	17.11 ^a ± 0.17	0.39 ^a ± 0.10	148.24 ^a ± 32.31	26.28 ^b ± 0.64
T2	20.49 ^a ± 9.94	0.51 ^a ± 0.26	423.45 ^a ± 124.34	42.17 ^c ± 12.25
T3	19.93 ^a ± 6.16	0.40 ^a ± 0.08	362.74 ^a ± 181.48	26.47 ^{ab} ± 3.29
T4	16.67 ^a ± 1.68	0.35 ^a ± 0.03	243.68 ^a ± 53.27	27.93 ^{ab} ± 1.13
T5	17.39 ^a ± 1.15	0.42 ^a ± 0.05	220.75 ^a ± 18.02	22.91 ^a ± 0.69

*Promedio de tres repeticiones ± DS. Los valores medios con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$). *T1: Control; T2: SF + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T3: Silimarina (100 mg/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T4: Zumo de taperiba (1mL/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T5: Zumo de taperiba (5mL/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.).

En nuestro organismo existen diferentes mecanismos para evitar los efectos del estrés oxidativo causada por los radicales libres. Frente a los ROS, uno de los mecanismos más importantes en el hígado es el GSH (glutación reducido), metabolito empleado como parámetro de estrés oxidativo (Martínez *et al.* 2006). Esta biomolécula, tripéptido (L-y-glutamil-L-cisteinilglicina), tiene un papel fundamental en la protección celular contra el estrés oxidativo. El incremento de GSH se relaciona con la función del hígado en la detoxificación y eliminación de compuestos, incluyendo xenobióticos, reaccionando la molécula GSH con ellos (Kaplowitz *et al.* 1985, Toescu *et al.* 2002). Esto explicaría el incremento en los niveles de GSH en T2.

Además, se observó que la administración del zumo de taperiba a diferentes dosis trata de normalizar estos niveles, siendo los valores cercanos al control, lo que explicaría una posible protección al daño hepático. Estos resultados obtenidos pueden explicarse por los componentes fitoquímicos con capacidad antioxidante que presenta el zumo. Asimismo, el tratamiento con silimarina (T3) expresó mayores niveles de GSH después de T2. Estos

resultados estarían relacionados a la capacidad de la silimarina para contrarrestar el estrés oxidativo por hepatotoxicidad de diversos agentes debido a que actúa como antioxidante, estabilizador de membrana del hepatocito, regenerador celular, antiinflamatorio y regulador del contenido intracelular de glutatión (Fraschini *et al.* 2002, Frías *et al.* 2013).

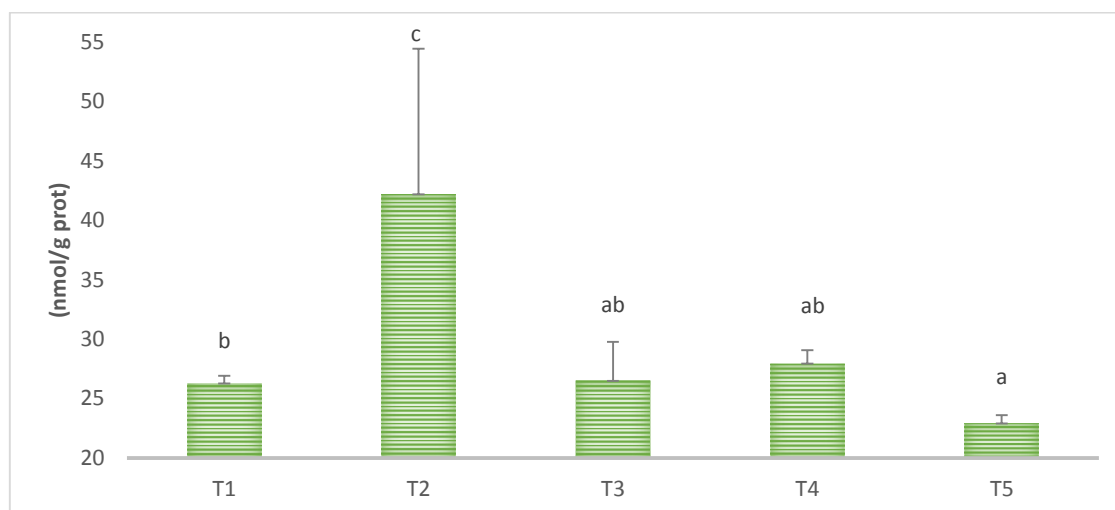


Figura 4: Niveles de especies reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico (TBARS) en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de tratamientos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). *T1: Control; T2: SF + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T3: Silimarina (100 mg/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T4: Zumo de taperiba (1mL/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T5: Zumo de taperiba (5mL/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.).

Los resultados observados coinciden con el proceso de biotransformación del paracetamol, fármaco que se metaboliza en el hígado, donde es glucoronizado y sulfatado en 90%. Del porcentaje restante, 5% es metabolizado por el citocromo 450 y convertido en NAPQI (N acetil-p-benzoquinoneimina), metabolito toxico, el cual en condiciones normales es rápidamente detoxificado por conjugación del glutatión (William 2003, Mancipe *et al.* 2010). Dosis altas de paracetamol generan cantidades de NAPQI capaces de depletar las reservas hepáticas de glutatión y finalmente unirse covalentemente a macromoléculas produciendo más radicales libres de oxígeno (ROS) (Takahashi *et al.* 1993, Khandar *et al.* 1996, Mancipe *et al.* 2010). El incremento de los niveles de GSH en T2 sería resultado de su recuperación en un periodo de 24 a 48 horas, el cual sería una forma de protección que el

propio cuerpo genera contra el estrés oxidativo ocasionado la administración de paracetamol (Turk y Stohs 1981, Chen *et al.* 1989, Saito *et al.* 2010).

Los resultados de lipoperoxidación expresados en los niveles de especies reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico (TBARS) presentados en este trabajo se detallan en la **Tabla 5, Figura 4 y Anexo 10**. Asimismo, estos permiten mostrar que existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos a un $p < 0.05$. También, se pudo observar que el tratamiento únicamente con paracetamol produjo un aumento de 60.46% en los niveles de TBARS, respecto al tratamiento control, resultando esta diferencia estadísticamente significativa a un $p < 0.05$. Por otro lado, el tratamiento con silimarina, el zumo a la dosis menor 1mL/kg p.v. y a la dosis más alta 5mL/kg p.v. produjeron una disminución de los niveles de TBARS, siendo la inhibición de 37.23%, 33.78% y 45.66%, respectivamente. Estos tres tratamientos mostraron una disminución estadísticamente significativa a un $p < 0.05$. Además, sí hubo diferencia estadísticamente significativa al comparar el tratamiento a la dosis más alta 5mL/kg p.v. del zumo (T5) con el tratamiento control a un $p < 0.05$ y también, con el tratamiento a la dosis más baja 1mL/kg p.v. del zumo.

Al contrastar estos resultados se puede observar que el zumo de taperiba a la dosis más alta induce a una disminución de los niveles de TBARS en el tejido hepático, incluso por debajo del control. Estos resultados pueden ser atribuidos a la actividad de los metabolitos secundarios presentes en el zumo. Muchos de estos metabolitos tienen actividad antioxidante frente al estrés oxidativo, protegiendo a las macromoléculas, siendo los ácidos grasos poliinsaturados los más afectados frente al ataque de los radicales libres debido a la metabolización del paracetamol, generando peroxidación lipídica, inestabilidad de la membrana y lisis celular. Durante este proceso se producen dialdehídos, marcadores de lipoperoxidación ocasionada por radicales libres (Valko *et al.* 2007, Rocha *et al.* 2012).

Similares resultados fueron reportados por Troncoso y Guija *et al.* (2007) en ratas, donde se utilizó el extracto de acuoso de perejil (*Petroselinum sativum*) en un modelo de intoxicación por paracetamol, observándose que disminuyeron significativamente los niveles de malondialdehído (MDA) en tejido hepático, mientras que el tratamiento únicamente con paracetamol a una dosis de 200 mg/kg pv. incrementó ligeramente estos niveles. Asimismo, los resultados de Huamán *et al.* (2013) cuyos tratamientos incluyeron paracetamol, silimarina y achiote (*Bixa Orellana*) evidenciaron que las ratas administradas con extracto

hidroetanólico de hojas de achiote a dosis de 500 mg/kg p.v. disminuyeron significativamente los niveles de TBARS en tejido hepático inducido por paracetamol, al igual que el tratamiento con silimarina, mientras que el tratamiento con paracetamol a una dosis de 400 mg/kg p.v. aumentó significativamente estos niveles en tejido hepático.

Madi y Farouk (2015) realizaron un estudio en ratas, donde reportaron que la administración de la dieta que contenía niveles de semillas secas de uva roja (RGDS) produjeron una hepatoprotección significativa frente al paracetamol al disminuir la peroxidación lipídica, mientras que los niveles de GSH, SOD y CAT aumentaron significativamente cerca de los niveles normales. Por otro lado, en otro estudio realizado por Hañari-Quispe *et al.* (2015) en ratas inducidas a injuria hepática por tetracloruro de carbono a una dosis de 0,2 mL/kg p.v., donde se utilizó el extracto hidroetanólico atomizado de maíz (*Zea mays L.*) a diferentes dosis (500 mg/kg p.v., 1000 mg/kg p.v. y 200 mg/kg p.v.), se observó una mayor disminución de los niveles de TBARS en el tratamiento que recibió 1000 mg/kg p.v. del extracto con respecto al tratamiento control. Estos autores atribuyeron el efecto antioxidante a los compuestos fenólicos y flavonoides presentes en mayor cantidad analizados mediante el estudio fitoquímico.

4.4. Efecto del zumo del fruto de taperiba sobre el contenido de proteínas totales en tejido hepático

Con respecto a la concentración de proteínas totales en homogenizado de hígado (**Anexo 11**), no hubo diferencia estadísticamente significativa entre todos los tratamientos ($p > 0.05$), pero se pudo observar que el tratamiento paracetamol produjo una disminución numérica de los niveles de proteínas totales, respecto al tratamiento control, mientras que el tratamiento con silimarina y el tratamiento con el zumo a diferentes dosis mostraron una recuperación de los valores, sin llegar a ser estadísticamente significativo ($p > 0.05$) (**Tabla 5**). Los bajos niveles del tratamiento paracetamol se explicarían por una mayor disponibilidad de aminoácidos para la síntesis de péptidos con propiedades antioxidantes para hacer frente al estrés oxidativo ocasionado por la intoxicación con paracetamol (Arnao-Salas *et al.* 2012). Por otro lado, el efecto regenerador sobre las proteínas totales podría ser debido a los componentes antioxidantes que presenta el zumo (Oriondo *et al.* 2016, Franquin *et al.* 2005, Silva *et al.* 2018, Tiburski *et al.* 2011, Islam *et al.* 2013, Oliveira 2011).

Tabla 5: Cuantificación de proteínas totales (PT) en tejido hepático de ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos

Tratamiento	Proteínas Totales (mg/mL)
T1	54.01 ^a ± 2.78
T2	47.41 ^a ± 17.01
T3	50.63 ^a ± 8.69
T4	51.41 ^a ± 6.56
T5	51.64 ^a ± 2.80

*Promedio de tres repeticiones ± DS. Los valores medios con letras iguales dentro de la misma columna indican diferencias no significativas ($p > 0.05$). *T1: Control; T2: SF + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T3: Silimarina (100 mg/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T4: Zumo de taperiba (1mL/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.); T5: Zumo de taperiba (5mL/kg p.v.) + Paracetamol (300 mg/kg p.v.).

Estos resultados concuerdan con un estudio realizado por Troncoso y Guija (2007) en ratas, en un modelo de intoxicación hepática, donde el tratamiento paracetamol mostró una disminución numérica de los niveles de proteínas totales en tejido hepático, mientras que el tratamiento con silimarina mostró una recuperación de los niveles, sin ser significativo. En otro estudio realizado por Arnao-Salas *et al.* (2012) en ratas inducidas a daño hepático, cuyos tratamientos incluyeron paracetamol, silimarina y extracto acuoso de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) a diferentes dosis, donde reportaron que el tratamiento paracetamol disminuyó significativamente los niveles de proteínas totales (PT) en suero, asimismo, el tratamiento con silimarina y el tratamiento con el extracto recuperaron estos valores, sin llegar a ser estadísticamente significativo.

4.5. Relación entre el estrés oxidativo, perfil lipídico e índice hepático

El uso de medicamentos hepatotóxicos como el paracetamol puede generar una esteatosis o enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA) caracterizado por la acumulación excesiva de triglicéridos dentro del parénquima de los hepatocitos a raíz de la disminución

de la síntesis de lipoproteínas y de su excreción al torrente circulatorio. Esta patogenia es generada por una serie de procesos anormales tales como la disminución de la síntesis de Apoproteína B100 que participa en la movilización de colesterol (González-Pérez y Salas-Flores 2008, Martínez-López *et al.* 2005, Nannipieri *et al.* 2005, Moran *et al.* 1983, Clemente-Ricote y García-Monzón 2003). Esto concuerda con el presente estudio realizado, donde la administración del tratamiento solo con paracetamol logró disminuir significativamente las lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) en suero de ratas. Asimismo, esta condición es indispensable para que ocurra la siguiente etapa caracterizada por producción de EROs, estrés oxidativo y proceso inflamatorio.

La biotransformación del paracetamol conlleva a la formación de NAPQ1, el cual es un metabolito muy reactivo que se une a proteínas mitocondriales produciendo estrés oxidativo mitocondrial y aductos (APAP-proteína) hasta causar necrosis del tejido del hepatocito (McGill *et al.* 2012). Por otro lado, un exceso de radicales libres de oxígeno (RLO) generado por una situación de estrés oxidativo crónico activa la peroxidación lipídica de las membranas celulares, lo que estimula la producción de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) por los hepatocitos y las células de Kupffer. Esta citosina proinflamatoria es capaz de inducir directamente la muerte celular al activar la vía de las caspasas y generar grandes cantidades de RLO al alterar la cadena respiratoria mitocondrial (González-Pérez y Salas-Flores 2008). Este efecto deletéreo sobre hepatocitos vulnerables explicaría la reacción del sistema de defensa antioxidante intracelular al aumentar la actividad de SOD, CAT y GSH frente al exceso de EROs.

Por otro lado, la administración de paracetamol ejerce un efecto dañino a nivel hepático mediante la formación de radicales libres los cuales tienen la propiedad de oxidar a los lípidos de las membranas plasmáticas y como consecuencia de ello se forman sustancias, como el malondialdehído, que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico. En el presente trabajo se ha demostrado la reducción del marcador del estrés oxidativo (TBARS) en ratas administradas con zumo de taperiba.

De esta forma, el estrés oxidativo es considerado como un mecanismo central del daño hepatocelular en esteatosis hepática no alcohólica (EHNA). Los productos reactivos de la peroxidación de lípidos pueden potenciar el estrés oxidativo, tales como el malondialdehído y el 4- hidroxineonanal. El malondialdehído activa a las células estelares hepáticas y estas

aumentan la síntesis de colágeno y de inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMP's) lo cual favorece la fibrosis, así como también contribuye a la inflamación por activación de factor nuclear kB (NF-kB), el cual regula la expresión de las citosinas proinflamatorias (Martínez-López *et al.* 2005). Lo anterior reafirma los resultados encontrados en el presente trabajo, donde se observó macroscópicamente un aumento significativo del tamaño del hígado de ratas intoxicadas con paracetamol, lo que podría evidenciar un acúmulo hepático de productos de proceso inflamatorio aunado a un sobre exceso de triglicéridos.

Asimismo, la actividad antioxidante y hepatoprotectora de este zumo se justifica probablemente por la presencia de ácido ascórbico, carotenoides, polifenoles y terpenoides; los cuales poseen efectos protectores contra el estrés oxidativo (Gonzalez-Aguilar *et al.* 2008; Karasawa y Mohan 2018). Estos compuestos, llamados también antioxidantes exógenos, se unen a las especies reactivas de oxígeno (EROS) antes que las demás moléculas y se oxidan al neutralizar al radical libre, actuando como moléculas suicidas (Venereo 2002, Fusco *et al.* 2007, Bonnefoy *et al.* 2002, Sánchez-Valle y Méndez-Sánchez 2018).

Estudios anteriores demostraron que los principales compuestos fenólicos encontrados en el fruto taperiba son ácido clorogénico, rutina, quercetina, ácido gálico, taninos. Además, entre los carotenoides se encontraron: β -criptoxantina, luteína, zeinoxantina, α y β caroteno, β -criptoxantina (Oriondo *et al.* 2016, Franquin *et al.* 2005, Silva *et al.* 2018, Tiburski *et al.* 2011, Islam *et al.* 2013, Oliveira 2011). Así también, Karasawa y Mohan (2018) indican que los fitoquímicos (ácidos fenólicos, flavonoides, carotenoides, taninos, lignanos y estilbenos), vitaminas (provitamina A, C, E y K), minerales (potasio, calcio y magnesio) y fibras dietéticas presentes en las frutas juegan un papel importante en la salud humana.

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones del trabajo de investigación se concluye lo siguiente:

1. La administración del zumo del fruto de taperiba (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) a dosis de 1 mL/kg p.v. y 5 mL/kg p.v. produjo una disminución significativa de los niveles de lipoperoxidación (TBARS) en las ratas con daño hepático inducido por paracetamol.
2. La administración del zumo del fruto de taperiba (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) a dosis de 5 mL/kg p.v. produjo una disminución significativa del índice hepático (IH) en las ratas con daño hepático inducido por paracetamol.
3. La disminución significativa de lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) se apreció en aquellas ratas que fueron administradas únicamente con paracetamol, mientras que aquellas que fueron administradas con el zumo del fruto de taperiba (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) a dosis de 1 mL/kg p.v. y 5 mL/kg p.v. mostraron mayores niveles de HDL-c sin llegar a ser significativo.
4. Los niveles de TG, glucosa, PT, GSH, SOD y CAT no fueron afectados significativamente por los diferentes tratamientos; sin embargo, se obtuvieron mayores valores numéricos de SOD, CAT y GSH y menores valores de PT con el tratamiento solo con paracetamol.

VI. RECOMENDACIONES

En base a los estudios obtenidos en el presente estudio se recomienda

1. Realizar estudios que determinen el perfil de compuestos bioactivos involucrados en la bioactividad antioxidante de *Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson.
2. Continuar los estudios evaluando la bioactividad antioxidante del zumo de taperiba a mayores dosis que las administradas en el presente estudio y con un periodo de tiempo mayor.
3. Realizar estudios que involucren la participación del zumo del fruto y el paracetamol sobre la concentración de transaminasas en suero sanguíneo y su relación con el estrés oxidativo.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBI, H. 1984. Catalasa in vitro. *Methods in enzymology* 105:121-126.

AGARWAL, S., RAO, V. 1998. Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: A human dietary intervention study. *Lipids* 33: 981- 98.

AGUILERA, Y., MARTIN-CABREJAS, M. A., MEJIA, E. G. 2016. Phenolic compounds in fruits and beverages consumed as part of the mediterranean diet: their role in prevention of chronic diseases. *Phytochemistry reviews* 15(3): 405-423.

ARNAO-SALAS, A. I., SUÁREZ-CUNZA, S., TRABUCCO-RICALDI, J., CISNEROS-CHINCHAY, R., ELENA-RODRIGO, M. 2012. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Smilax sonchifolius* (yacón) en un modelo de intoxicación con acetaminofén. In *Anales de la Facultad de Medicina* 73 (3): 239-244.

ARUNDEL, C., LEWIS, J.H. 2007. Drug-induced liver disease in 2006. *Gastroenterol* 23: 244 - 254.

ASSEFA, A.D., SAINI, R.K., KEUM, Y.S. 2017. Extraction of antioxidants and flavonoids from yuzu (*Citrus junos* Sieb ex Tanaka) peels: a response surface methodology study. *J. Food Meas. Charact* 11(2): 364–379.

AVELLO, M & SUWALSKY, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)* 494:161-172.

AYALA, A., MUÑOZ, M.F., ARGÜELLES, S. 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev* 2014: 360-438.

BANDYOPADHYAY, U., DAS, D., BANERJEE, R. 1999. Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. *Curr Sci.* 77(1): 658 – 666.

- BARRIOS, R. L. A., SIERRA, C. A. S., & MORALES, J. D. C. J. 2017. Efectos tóxicos del paracetamol en la salud humana y el ambiente. *RIAA* 8(1): 139-149.
- BARTOO, A & BADRIE, N. 2005. Physicochemical, nutritional and sensory quality of stirred 'dwarf' golden apple (*Spondias cytherea* Sonn) yoghurts. *International journal of food sciences and nutrition* 56(6): 445-454.
- BASU, A; VEETIL, S; DYER, R; PEYSER, T; BASU, R. 2016. Direct evidence of acetaminophen interference with subcutaneous glucose sensing in humans: a pilot study. *Diabetes technology & therapeutics* 18(2), 43-47.
- BAZALAR, J. D. R. 2018. Evaluación de la actividad antioxidante y antihepatotóxica de la pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) en ratas con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono. Tesis maestría. Lima, Perú, Universidad Mayor de San Marcos. s.p.
- BENÍTEZ, D.E. 2006. Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. *Revista cubana de investigaciones biomédicas* 25(2): 1-8.
- BERMÚDEZ, C. R., VARGAS, M. Q., RODRÍGUEZ, N. E. 2019. Intoxicación por acetaminofén: diagnóstico y abordaje en el adulto. *Revista Médica Sinergia* 4(7): e257.
- BONNEFOY, M., DRAI, J., KOSTKA, T. 2002. Antioxidants to slow aging, facts and perspectives. *Presse Medicale* 31 (25): 1174-84.
- BORELLA, M., VARELA, Q. 2004. Antioxidantes enzimáticos. En: Radicais libres e a resposata celular ao estresse oxidativo. Editora da ULBRA. Canoas- RS (Brasil) p. 35-49.
- BOYNE, A. F., & ELLMAN, G. L. 1972. A methodology for analysis of tissue sulfhydryl components. *Analytical biochemistry* 46(2): 639-653.
- BRAKO, L Y ZARUCCHI, JL. 1993. Catálogo de las angiospermas y gimnospermas del Perú. Missouri Botanical Garden. USA.
- BRITO, S., BARBOSA, I, DE ALMEIDA, C., DE MEDEIROS, J., NETO, J., ROLIM, L. & WANDERLEY, A. G. 2018. Evaluation of gastroprotective and ulcer healing activities of yellow mombin juice from *Spondias mombin* L. *PloS one* 13(11):1-16.

BUEGE, JA Y AUST, SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in enzymology* 52:302-310.

BUNCHORNTAVAKUL, C., REDDY, K.R. 2018. Acetaminophen (APAP or N-Acetyl-p-Aminophenol) and Acute Liver Failure. *Clinics in Liver Disease* 22(2):325-346.

CABALLERO, J. 2014. Efecto hepatoprotector de la almendra de semillas de cucurbita maxima (zapallo macre) en ratas. Tesis pregrado. Lima, Perú, Universidad Mayor de San Marcos. s.p.

CARBONEL, K. 2017. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Gentianella nitida* en un modelo experimental inducido por paracetamol. Tesis maestría. Lima, Perú, Universidad Mayor de San Marcos. s.p.

CASTRO, M. P. V. 2016. Intoxicación por acetaminofén en adultos. *Medicina Legal de Costa Rica* 33(1): 103-109.

CERDÁ, C., SALVADOR, A., OCETE, M.D., TORREGROSA, R., FANDOS-SÁNCHEZ, M., SÁEZ, G. 2009. Estrés oxidativo, envejecimiento y cáncer. En: *Biogerontología Médica*. Editorial Ergon, Madrid 71-85p.

CHANG-FENG, J; BO, L; SHUN-MEI, L; RAJ-KUMAR, Y; HYUNG-RYONG, K. 2013. Mechanism of the inhibitory effects of *Eucommia ulmoides* Oliv. cortex extracts (EUCE) in the CCl₄-induced acute liver lipid accumulation in rats. *International Journal of Endocrinology* 2013:1-11.

CHAREPALLI, V., REDDIVARI, L., VADDE, R., WALIA, S., RADHAKRISHNAN, S., & VANAMALA, J. 2016. *Eugenia jambolana* (Java plum) fruit extract exhibits anti-cancer activity against early stage human HCT-116 colon cancer cells and colon cancer stem cells. *Cancers* 8(3): 29.

CHAUDOÉRE, J., FERRARI, R. 1999. Intracellular antioxidants from chemical biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol.* 37: 949-962.

CHEN, T., RICHIE, J., LANG, C.A. 1989. Life span profiles of glutathione and acetaminophen detoxification. *Drug Metabolism and Disposition* 18(6): 882-887.

CLAPÉS, S., TORRES, O., COMPANIONI, M., VILLARIÑO, U., BROCHE, F., & CÉSPEDES, E. M. 2001. Peroxidación lipídica y otros indicadores de estrés oxidativo en pacientes diabéticos. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 20(2), 93-98.

CLEMENTE-RICOTE, G., GARCÍA-MONZÓN, C. 2003. Estado actual de la esteatohepatitis no alcohólica. *Med Clin (Barc)* 121: 102-8.

INEI. (2018). *Compendio Estadístico del Perú 2018. Agrario*. 88 p. Lima, Perú.

COOKE, D., STEWARD, W.P., GESCHER, A.J., MARCZYLO, T. 2005. Anthocyanins from fruits and vegetables – ¿does bright colour signal cancer chemopreventive activity? *Eur J Cancer* 41(13): 1931-40.

CORRALES, L. C., & ARIZA, M. M. M. 2012. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova*, 10(18).

CORREIA, B., FREITAS, R., FIGUEIRA, E., SOARES, M.V.M., NUNES B. 2016. Oxidative effects of the pharmaceutical drug paracetamol on the edible clam *Ruditapes philippinarum* under different salinities. *Comp. Biochem. Physiol. C: Pharmacol. Toxicol.* 179: 116–24.

CRONQUIST, A. 1988. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York.

DAULMERIE, S. 1994. *Investigations on golden apple (Spondias cytherea) production with particular reference to postharvest technology and processing*. Trinidad and Tobago: Inter-American Inst. for Cooperation on Agriculture. 112p.

DONADIO, L. C.; MORO, F. V.; SERVIDOTE, A. A. 2000. *Frutas Brasileiras (Brazilian Fruits)*. Jaboticabal: Editora Novos Talentos.

DROGE, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82: 47-95.

ELEJALDE, J. I. 2001. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. In *Anales de medicina interna* 18(6): 50-59.

FARREL, G.C. 2004. Hepatopatía causada por fármacos, anestésicos y toxinas. En: Sleisenger y Fordtran eds. Enfermedades gastrointestinales y hepáticas: Fisiopatología diagnóstico y tratamiento. 7ª ed. Buenos Aires: Ed. Panamericana. p. 1486-1537.

FAVARI, L., ARCE-DÍAZ, C., ORTÍZ-MARTÍNEZ, J., PABLO-PÉREZ, S., SOTO, C., & MELÉNDEZ-CAMARGO, M. E. 2013. Efectos hepatoprotector y antioxidante de *Taraxacum officinale* en el daño hepático agudo inducido por el tetracloruro de carbono en la rata. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas* 44(4): 53-61.

FOLASADE, O. A., OLAIDE, R. A., & OLUFEMI, T. A. 2016. Antioxidant properties of *Persea americana* M. seed as affected by different extraction solvent. *Journal of Advances in Food Science & Technology* 3(2): 101-106.

FRANQUIN, S., MARCELIN, O., AURORE, G., REYNES, M., & BRILLOUET, J. M. 2005. Physicochemical characterisation of the mature-green Golden apple (*Spondias cytherea* Sonnerat). *Fruits* 60(3) 203-210.

FRASCHINI, F., DEMARTINI, G., ESPOSTI, D. 2002. Pharmacology of silymarin. *Clinical drug investigation* 22(1):51-65.

FRÍAS, R. V., GARCÍA, J. G. R., DEL VALLE LAISEQUILLA, C. F., REYES, M. A., CÓRDOBA, A. R. 2013. Silimarina, ácido alfa-lipoico y Seleniometionina en el tratamiento de hígado graso: revisión sistemática de la literatura. *Anales Médicos de la Asociación Médica del Centro Médico ABC* 58(1): 37-46.

FUSCO, D., COLLOCA, G., LO MONACO, M.R., CESARI, M. 2007. Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clin Interv Aging* 2: 377-87.

GIBSON, J. D., PUMFORD, N. R., SAMOKYSZYN, V. M., & HINSON, J. A. 1996. Mechanism of acetaminophen-induced hepatotoxicity: covalent binding versus oxidative stress. *Chemical research in toxicology* 9(3): 580-585.

GIRI, D., OZEN, M., ITTMANN, M. 2001. Interleukin-6 is an autocrine growth factor in human prostate cancer. *Am J Pathol.* 159:2159-65.

GIMENO, E. 2004. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Revista OFFARM* 23(6)80-84.

GÓMEZ-RODRÍGUEZ, B. T., CORTÉS SUÁREZ, S., IZQUIERDO-SÁNCHEZ, T. 2013. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Zingiber officinale* Roscoe (jengibre) en modelo de hepatotoxicidad en ratas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 18(3): 431-444.

GONCALVES, J., SILVA, C.L., CASTILHO, P.C., CAMARA, J.S. 2013. “An attractive, sensitive and high-throughput strategy based on microextraction by packed sorbent followed by UHPLC-PDA analysis for quantification of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids in wines”. *Microchem. J.* 106: 129–138.

GONZALEZ-AGUILAR, G., ROBLES-SÁNCHEZ, R. M., MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M. A., OLIVAS, G. I., ALVAREZ-PARRILLA, E., & DE LA ROSA, L. A. 2008. Bioactive compounds in fruits: health benefits and effect of storage conditions. *Stewart Postharvest Review* 4(3): 1-10.

GONZÁLEZ-MENDOZA, M., VICUÑA-FERNÁNDEZ, N. 2003. Modificación de enzimas hepáticas en ratas desnutridas tratadas con acetaminofén. *Gaceta Médica de México* 139(5): 429-433.

GONZÁLEZ-PÉREZ, B., SALAS-FLORES, R. 2008. Esteatosis hepática en niños obesos. *Revista de endocrinología y nutrición*,16(2): 74-82.

GUALDANI, R., CAVALLUZZI, M., LENTINI, G., & HABTEMARIAM, S. 2016. The chemistry and pharmacology of citrus limonoids. *Molecules* 21(11):1530.

HADLEY, C.W., CLINTON, S.K., SCHWARTZ, S.J. 2003. The consumption of processed tomato products enhances plasma lycopene concentrations in association with reduced lipoprotein sensitivity to oxidative damage. *J Nutr.* 133: 727-732. HALLIWELL, B. 1990. How to characterize a biological antioxidant. *Free radical research communications* 9(1): 1-32.

HAMZA, R.Z., AL-HARBI, M.S. 2015. Silymarin and *Nigella sativa* extract ameliorate paracetamol induced oxidative stress and renal dysfunction in male mice. *Asian. Pac. J. Trop. Dis.* 1: S169-S174.

HAÑARI-QUISPE, R., ARROYO, J., HERRERA-CALDERÓN, O., HERRERA-MORAN, H. 2015. Efecto hepatoprotector del extracto hidroetanólico atomizado del maíz morado (*Zea mays* L.) en lesiones hepáticas inducidas en ratas. In *Anales de la Facultad de Medicina* 76(2): 123-128

HERTOG, M.G.L., HOLLMAN, P.C.H., VENEMA, D. P. 1992. Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 1591- 1598.

HUAMÁN, O; SANDOVAL, M; BÉJAR, E; HUAMÁN, Z; TARAZONA, V. 2013. Efecto de los extractos acuoso e hidroetanólico de hojas de *Bixa orellana* (achiote) sobre los indicadores no enzimáticos de la hepatotoxicidad por paracetamol, en ratas. In *Anales de la Facultad de Medicina* 74 (4): 279-283.

IGHODARO, O. M., & AKINLOYE, O. A. 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine* 54(4): 287-293.

Ihedioha J.I., Noel O.A., Ihedioha T.E. (2013). Reference values for the serum lipid profile of albino rats (*Rattus norvegicus*) of varied ages and sexes. *Comp. Clin. Pathol.* 22(1): 93–99.

ISLAM, S. M. A., AHMED, K. T., MANIK, M. K., WAHID, M. A., KAMAL, C. S. I. 2013. A comparative study of the antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and thrombolytic potential of the fruits and leaves of *Spondias dulcis*. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine* 3(9): 682-691.

JANICK, J., & PAULL, R. E. (2008). *The Encyclopedia of Fruit & Nuts*. CABI, Cambridge 371-372.

JIALAL, I.; GRUNDY, S. 1993. Effect of combined supplementation with alfa-tocopherol, ascorbate and beta-caroteno on low-density lipoprotein oxidation. *Circulation* 88: 2780-2786.

JIMÉNEZ, M. D. C., MONTERO, T., MARTÍNEZ, S., GARCÍA, M., PÉREZ, J.L. 2015. Efecto hepatoprotector del Noni-C® en la intoxicación experimental inducida por tetracloruro de carbono. *Revista Cubana de Medicina Militar* 44(1): 24-32.

JIN, S., PARK, H. J., OH, Y. N., KWON, H. J., KIM, J. H., CHOI, Y. H., KIM, B. W. 2015. Anti-cancer activity of *osmanthus matsumuranus* extract by inducing G2/M arrest and apoptosis in human hepatocellular carcinoma Hep G2 cells. *Journal of cancer prevention* 20(4): 241.

KAPLOWITZ, N.; TAK, A.W.; OCKHTENS, M. 1985. The regulation of hepatic glutathione. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 25:715-44.

KARASAWA, M. M. G., MOHAN, C. 2018. Fruits as prospective reserves of bioactive compounds: a review. *Natural products and bioprospecting* 8(5): 335-346.

KHANDAR, M. A., PARMAR, D. V., DAS, M., KATYARE, S.S. 1996. Is Activation of Lysosomal Enzymes Responsible for Paracetamol-induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity. *J Pharm Pharmacol.*48:437-440.

KNEKT, P., JARVINEN, R., REUNANEN, A., MAATELA, J. 1996. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *BMJ* 312: 478-81.

KONIGSBERG, M. 2008. Radicales libres y estrés oxidativo: Aplicaciones médicas. 1ra ed. México, Manual Moderno. p. 359-375.

KUCUK, O., SARKAR, F.H., SAKR, W., DJURIC, Z., POLLAK, M.N., KHACHIK, F. 2001. Phase II randomized clinical trial of lycopene supplementation before radical prostatectomy. *Cancer Epidemiol Biomark* 10: 861-8.

LACHANCE, P.A., NAKAT, Z., JEONG, W. 2001. Antioxidants: an integrative approach. *Nutrition* 17: 835-838.

LAGO-VANZELA, E. S., RAMIN, P., UMSZA-GUEZ, M. A., SANTOS, G. V., GOMES, E., & SILVA, R. D. 2011. Chemical and sensory characteristics of pulp and peel 'cajámanga' (*Spondias cytherea* Sonn.) jelly. *Food Science and Technology* 31(2): 398-405.

LANCASTER, E.M., HIATT, J.R., ZARRINPAR, A. 2014. Acetaminophen hepatotoxicity: an updated review. *Archives of Toxicology* 89(2):193-199.

LANDRUM, J.T., BONE, R.A., KILBURN, M.D. 1997. The macular pigment: a possible role in protection from age-related macular degeneration. *Adv Pharmacol.* 38:537-55.

Ley de la protección a los animales domésticos y a los animales silvestres mantenidos en cautiverio. Ley Peruana Nro. 27265 /2000.

- LI, X., LONG, Q., GAO, F., HAN, C., JIN, P., ZHENG, Y. 2017. Effect of cutting styles on quality and antioxidant activity in fresh-cut pitaya fruit. *Postharvest Biology and Technology* 124: 1-7.
- LIPE, C. 2016. Efecto hepatoprotector del zumo del fruto de *Corryocactus brevistylus* (Sanky) en ratones con daño hepático inducido por etanol. Tesis pregrado. Lima, Perú, Universidad Mayor de San Marcos. s.p.
- LIRA, J.S.; BEZERRA, J.E.F.; MOURA, R.J.M. SANTOS, V.F. 2014. Repetibilidade da produção, número e peso de fruto em cirigueleira (*Spondias purpurea*L.). *Revista Brasileira de Fruticultura* 36 (1):214-220.
- LIU, C. L., WANG, J. M., CHU, C. Y., CHENG, M. T., & TSENG, T. H. 2002. In vivo protective effect of protocatechuic acid on tert-butyl hydroperoxide-induced rat hepatotoxicity. *Food and Chemical Toxicology* 40(5): 635-641.
- LIU, R. H. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of nutrition* 134(12): 3479S-3485S.
- LOBO, V., PATIL, A, PHATAK, A., CHANDRA, N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.* 4(8).
- LORENZI, H.; SARTORI, S.; BACHER, M. L. 2006. Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura), Instituto Plantarum de Estudos da Flora, Nova Odessa.
- LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L., & RANDALL, R. J. 1951. Protein measurements with the folin reagent. *Bio Chem* 193: 265-275.
- MADI, A., & FAROUK, M. 2015. Lipid-lowering and hepatoprotective effects of *Vitis vinifera* dried seeds on paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Nutrition research and practice* 9(1): 37-42.
- MANCIPE, L; FERNÁNDEZ, A; DIANA, C; FERNÁNDEZ, A; DANIEL, G. 2010. Intoxicación por Acetaminofén. *Revista Med.* 18(2): 221-227.
- MARCHENA, U., AMPARO, L., MONTOYA PARRA, G. A., CUADROS QUIROZ, M. A., HENAO, D. C., ZAPATA, P. A., LOAIZA, M. C. 2009. Bioactive compounds on food and health-promoting properties. *Perspectivas en Nutrición Humana* 11(1): 27-38.

MARKLUND, S Y MARKLUND, G. 1974. Implicación del radical superóxido en la autooxidación de pirogalol y un ensayo conveniente para el superóxido dismutasa. The FEBS Journal 47(3):469-474.

MARTÍNEZ, M; ANDRÉS, D; ZUBILLAGA, M. 2006. Conceptos actuales del metabolismo del glutatión. Utilización de los isótopos estables para la evaluación de su homeostasis. Acta Bioquím Clín Latinoam. 40(1):45-51.

MARTÍNEZ-LÓPEZ, E., DOMÍNGUEZ-ROSALES, J.A., HERNÁNDEZNAZARA, Z.H., PANDURO-CERDA, A. 2005. Esteatohepatitis no alcohólica. Investigación en Salud 7: 40-7.

MATLAGA, B.R., HALL, M.C., STINDT, D., TORTI, F.M. 2001. Response of hormone refractory prostate cancer to lycopene. J Urol. 166:613.

MCCORD, J. M., & FRIDOVICH, I. 1969. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). Journal of Biological chemistry 244(22): 6049-6055.

MCGILL, M.; WILLIAMS, D.; XIE, Y.; RAMACHANDRAN, A.; JAESCHKE, H. 2012. Acetaminophen-induced liver injury in rats and mice: Comparison of protein adducts, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in the mechanism of toxicity. Rev Toxicology and Applied Pharmacology 264(3): 387-394.

MINAGRI. 2018. Anuario Estadístico de Producción Agrícola 2017. Lima, Perú.

MINSA. 2017. Tabla Peruana de Composición de los Alimentos. Lima-Perú: INS.

MOHAMMED, M., BRIDGEMOHAN, P., MOHAMED, M. S., BRIDGEMOHAN, R. S. H., & MOHAMMED, Z. 2017. Postharvest physiology and storage of golden apple (*Spondias cythera sonnerat* or *Spondias dulcis forst*): a review. Journal of Food Processing and Technology 8(12): 1-8.

MONTAÑEZ, T., & GIORDANO, A. E. 2016. Efecto hepatoprotector del zumo de *Spondias purpurea* "ciruela" variedad roja en ratones inducidos a toxicidad por etanol. Tesis pregrado. Lima, Perú, Universidad Mayor de San Marcos. s.p.

- MONTIER, A., RAMOS, A., GÓMEZ, M., PÉREZ, J., QUINTANA, Q. 2015. Estrés oxidativo en la diabetes mellitus papel de la vitamina E y antioxidantes endógenos. *Rev Ciencias Médicas* 19(5): 973-985.
- MORAN, J.R., GHISHAN, F.K., HALTER, S.A. 1983. Steatohepatitis in obese children: a cause of chronic liver dysfunction. *Am J Gastroenterol.* 78: 374-7.
- MOURA, F.T.; SILVA, S.M.; SCHUNEMANN, A.P.P.; MARTINS, L.P. 2013. Frutos do umbuzeiro armazenados em diferentes estádios de maturação. *Revista Ciência Agronômica, Fortaleza* 47:131-133.
- MUÑOZ, G. (2015). Hepatomegalia. *Pediatr Integral* 19 (3): 180-197.
- NAGAO, N., NAKAYAMA, T., ETOH, T., SAIKI, I., MIWA, N. 2000. Tumor invasion is inhibited by phosphorylated ascorbate via enrichment of intracellular vitamin C and decreasing of oxidative stress. *J Cancer Res Clin Oncol.* 126: 511-8.
- NANNIPIERI, M., GONZALEZ, C., BALDI, S., POSADAS, R., WILLIAMS, K., HAFFNER, S.M., FERRANNINI, E. 2005. Liver enzymes, the metabolic syndrome, and incident diabetes. *Diabetes Care* 28: 1757-62.
- NETO, J. R. C., DE MELO, S.S. 2019. Caracterização física e físico-química de frutos de *Spondias dulcis* Panetkinson de diferentes microrregiões do Estado da Paraíba. In *Colloquium Agrariae* 15(2):18-28.
- NIKI, E. 2009. Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects. *Free Radic Biol Med* 47:469-84.
- NIMSE, S. B., & PAL, D. 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Rsc Advances*, 5(35), 27986-28006.
- NORMAN, H.; BUTRUM, R.; FELDMAN, E. 2003. The role of dietary supplements during cancer therapy. *J Nutr.* 133 (11): 3794 S- 3799 S.
- OCHOA, C., GRANDA, C., CHAPOÑÁN, M., BORJA, R., BORJAS, P., ORTIZ, J., UGAZ, G., PUERTA, E., PUCUTAY, M. 2008. Efecto protector de *Peumus boldus* en ratas con toxicidad hepática inducida por Paracetamol. *Ciencia e Investigación Médica Estudiantil* 13: 20 - 25.

- OLIVEIRA, J. R. S. D. 2011. Caracterização de extratos de cajá-manga (*Spondias dulcis* Parkinson) potencialmente ativos e seguros para obtenção de fitocosmético antioxidante. Tesis postgrado. Araraquara, Brasil, Universidad Universidad Estatal Paulista. s.p.
- ORIONDO, R. L., VALDIVIESO, L. R., ORÉ, M. R., ARNAO, A. I., PALOMINO, M., ESTRADA, E., CASTILLO, M. L. 2016. Evaluación de la capacidad antioxidante y el índice glicémico de frutos promisorios amazónicos del Perú. *Agroindustrial Science* 6(1): 121-125.
- PANTH, N., MANANDHAR, B., PAUDEL, K. R. 2017. Anticancer activity of *Punica granatum* (pomegranate): a review. *Phytotherapy research* 31(4): 568-578.
- PEÑARRIETA, J. M., TEJEDA, L., MOLLINEDO, P., VILA, J. L., BRAVO, J. A. 2014. Phenolic compounds in food. *Revista boliviana de química* 31(2): 68-81.
- PÉREZ, T.G. 2003. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* 22(1).
- PÉREZ-MÉNDEZ, O. 2004. Lipoproteínas de alta densidad (HDL). ¿Un objetivo terapéutico en la prevención de la aterosclerosis?. *Archivos de cardiología de México* 74(1): 53-67.
- PINEDA, D.; SALUCCI, M.; LÁZARO, R.; MAIANI, G.; FERRO, A. 1999. Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. *Rev Cubana Aliment Nutr* 13(2): 104-111.
- POLLAK, M. 2001. Insulin like growth factors and prostate cancer. *Epidemiology* 23:59-66.
- PORTO, D. D., HENRIQUES, A. T., & FETT-NETO, A. G. 2009. Bioactive alkaloids from South American Psychotria and related species. *The Open Bioactive Compounds Journal* 2(1).
- PRESCOTT, L. F., & WRIGHT, N. 1973. The effects of hepatic and renal damage on paracetamol metabolism and excretion following overdose.: a pharmacokinetic study. *British journal of pharmacology* 49(4): 602-613.
- QUESADA, J. S., LLANOS, J. O. 2010. Propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de las lipoproteínas de alta densidad. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis* 22: 17-21.

- QUINTANAR, E. M. A. & CALDERÓN, S. J. V. 2009. La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. Revista de educación bioquímica 28(3): 89-101.
- REED, D. J., FARISS, M. W. 1984. Glutathione Depletion and susceptibility. Pharmacol Rev. 2(1):255-335.
- REY, O. 2017. Actividad hepatoprotectora de Ananas comusus (piña) en ratas con toxicidad hepática inducida por isoniacida. Tesis pregrado. Lima, Perú, Universidad Mayor de San Marcos. s.p.
- REYNEL, C., PENNINGTON, T. D., PENNINGTON, R. T., FLORES, C., & DAZA, A. 2003. Árboles útiles de la Amazonía peruana y sus usos. Tarea Grafica Educativa, Perú.
- ROACH, J., STACY, B. 1997. Acetamnophen toxicity. Orthop. Nurs. 16:49-53.
- ROCHA, C., BOLOGNESI, V., GASPARI, J., GOMES, O., KLOCKER, O. 2012. Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidantes em produtos cárneos. Ciência Rural, Santa Maria 42(8):1510-1517.
- RODRÍGUEZ, A., SAID, H., TRINIDAD, J. 2008. Etiología y complicaciones de la cirrosis hepática en el Hospital Juárez de México. Rev Hosp Jua Mex. s.p.
- ROSALES MUÑOZ, C.G., SORIA FREGOZO, C., PÉREZ VEGA, M. I., CEDILLO CRUZ, L. Y., HUACUJA RUIZ, L., BELTRÁN, M., DE LA LUZ, M. 2017. Efecto hepatoprotector de una mezcla de siete plantas en cirrosis inducida con tetracloruro de carbono. Revista Cubana de Plantas Medicinales 22(1):1
- SAITO, C., ZWINGMANN, C., JAESCHKE, H. 2010. Novel mechanisms of protection against acetaminophen hepatotoxicity in mice by glutathione and N- acetylcysteine. HEPATOLOGY 51(1): 246-254.
- SÁNCHEZ, C., & SOTOMAYOR, G. 2015. Efecto Hepatoprotector del Zumo de Fruta de la Opuntia ficus indica (Tuna), variedad morada. Ratas con Intoxicación Hepática Inducida por Paracetamol Tesis pregrado. Lima, Perú, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. s.p.
- SÁNCHEZ-VALLE, V., MÉNDEZ-SÁNCHEZ, N. 2018. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Médica Sur 20(3): 161-168.

SÁNCHEZ, J., & ORDOÑEZ, J. 2010. Propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de las lipoproteínas de alta densidad. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*, 22, 17-21.

SAN-MIGUEL, A., & MARTIN-GIL, F. J. 2009. Importancia de las especies reactivas al oxígeno (radicales libres) y los antioxidantes en clínica. *Gaceta Médica de Bilbao*, 106(3), 106-113.

SANTA-CRUZ, K. 2019. Efecto de la administración de la harina de *Myrciaria dubia* (camu camu) sobre daño hepático inducido por paracetamol en ratones. Tesis pregrado. Lima, Perú, Universidad Mayor de San Marcos. s.p.

SHARMA, J.B., KUMAR, A., KUMAR, A. 2003. Effect of lycopene on pre-eclampsia and intra-uterine growth retardation in primigravidas. *Int J Gynaecol Obstet*. 81:257-62.

SILVA, E. P. D., ASQUIERI, E. R., VIEIRA, E. C. S., SILVA, J. S., SILVA, F. A. D., DAMIANI, C. 2018. Physicochemical characterization and behavior of biocompounds of caja-manga fruit (*Spondias mombin* L.). *Food Science and Technology* 38(3): 399-406.

SISAMON, I. 2003. Acerca de la Hepatotoxicidad del Paracetamol. *Revista del Hospital Privado de Comunidad* 6(2): 1-3.

SNAWDER, J., ROE, A., WAYNE, R., ROBERTS, D. 1994. Loss of CYP2E1 and CYP1A2 activity as a function of acetaminophen dose: Relation to toxicity. *Biochem and Biophys Res Commun*.203:532-539.

SOTERO, V., SILVA, L., GARCÍA, D. 2009. Evaluación de la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del fruto del camu camu (*Myrciaria dubia*). *Rev Soc Quim Perú* 75(3): 293-298.

TAHIR, M.; FALEY, B.; PATE, G. 2005. Impact of vitamin E and C supplementation on serum adhesion molecules in chronic degenerative aortic stenosis: A randomized controlled trial. *Am Heart J* 150: 302-306.

TAKAHASHI, T; LASKER, JM; ROSMAN, AS; LIEBER, CS. 1993. Induction of cytochrome P4502E1 in the human liver by ethanol is caused by a corresponding increase in encoding messenger RNA. *Hepatology* 17(2):236- 245.

- TARKO, T., DUDA-CHODAK, A., SROKA, P., SATORA, P., SEMIK-SZCZURAK, D., WAJDA, L. 2017. Application of principal component analysis for optimization of polyphenol extraction from alternative plant sources *J. Food Nutr. Res.* 56: 167–178.
- TEJADA, F. 2010. Hepatotoxicidad por fármacos. *Revista Clínica de Medicina de Familia* 3(3): 177-191.
- TEMPLE, R.J., HIMMEL, L.M.H. 2002. Safety of newly approved drugs: implications for prescribing. *JAMA* 287:2273-5.
- THATCHER, N., EDWARDS, R., LEMONE, N., DOCHMER, J., DAVIES, D. 2000. The potential of acetaminophen as a product in gene-directed enzyme proding therapy. *Cancer gene Therapy* 7: 521-525.
- TOESCU, V; NUTTALL, S; MARTIN, U; KENDALL, M; DUNNE, F. 2002. Oxidative stress and normal pregnancy. *Clin Endocrinol* 57(5):609-613.
- TOMÁS-BARBERÁN, F. A. 2003. Los polifenoles de los alimentos y la salud. *ALIM. NUTRI. SALUD* 10 (2): 41-53.
- TRONCOSO, L; GUIJA, E. 2007. Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* (perejil) en ratas, con intoxicación hepática inducida por paracetamol. In *Anales de la Facultad de Medicina* 68(4):333-343.
- TURK, W., STOHS, S. 1981. Hepatic Glutathione Content and Aryl Hydrocarbon Hydroxylase Activity of Acetaminophen-Treated Mice as a Function of Age. *Journal Drug and Chemical Toxicology* 4(1): 37-48.
- VALKO, M., LEIBFRITZ, D., MONCOL, J., CRONIN, M., MAZUR, M., TELSNER, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int j Biochem Biol.* 39:44-84.
- VEGA, A.; AMPUERO, N.; DÍAZ, L.; LEMUS, R. 2005. El Aloe Vera (*Aloe Barbadensis* Miller) como componente de alimentos funcionales. *Rev. Chilena* 32(3): 208-214.
- VENEREO, J.R. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de medicina militar* 31(2): 126-133.

VIRAM, M., ROSENBLAT, M., GAITINI, D., NITECKI, S., HOFFMAN, A., DORNFELD, L. 2004. Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. *Clin Nutr.* 23(3): 423-33

VOISHM, W., DALY, M., BOON, A., HEALTLEY, V. 1993. Paracetamol and acute biliary pain with cholestasis. *Lancet* 342: 869p.

WANG, X., WU, Q., LIU, A., ANADÓN, A., RODRÍGUEZ, J. L., MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M. R., MARTÍNEZ, M. A. 2017. Paracetamol: overdose-induced oxidative stress toxicity, metabolism, and protective effects of various compounds in vivo and in vitro. *Drug metabolism reviews* 49(4): 395-437.

WILCHES, M. T. 2017. Evaluación de la actividad hepatotóxica del acetaminofén in vivo en rata e in vitro en cortes de hígado de rata, en búsqueda de la correlación entre ambos modelos de tal forma que permita la sustitución del método in vivo. *Revista de Toxicología* 34(2): 153-160.

WILLIAM ML. 2003. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* 349(5):474-485.

WU, T. F., HSU, L. T., TSANG, B. X., HUANG, L. C., SHIH, W. Y., CHEN, L. Y. 2016. Clarification of the molecular pathway of Taiwan local pomegranate fruit juice underlying the inhibition of urinary bladder urothelial carcinoma cell by proteomics strategy. *BMC complementary and alternative medicine* 16(1): 96.

XIA, X., LING, W., MA, J., XIA, M., HOU, M., WANG, Q. 2006. An anthocyanin-rich extract from black rice enhances atherosclerotic plaque stabilization in apolipoprotein E-deficient mice. *J Nutr.* 136(8): 2220-25.

YAN, M., HUO, Y., YIN, S., HU, H. 2018. Mechanisms of acetaminophen-induced liver injury and its implications for therapeutic interventions. *Redox biology* 17: 274-283.

YOU, Y., YOO, S., YOON, H. G., PARK, J., LEE, Y. H., KIM, S., JUN, W. 2010. 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(6): 1632-1637.

YU, P. 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews* 74 (1): 139-162.




ZAFRILLA, P., MORILLAS, J., MULERO, J., XANDRI, J.M., SANTO, E., CARAVACA, G. 2004. Estrés oxidativo en enfermos de Alzheimer en diferentes estadios de la enfermedad. *Nutr Hosp* 19: 63.

ZHANG, B., CAI, J., DUAN, C.Q., REEVES, R. 2015. “A Review of Polyphenolics in Oak Woods,” *Int. J. Mol. Sci.* 16(4): 6978–7014.

ZHANG, Z.; FARTHING, M. 2005. The roles of vitamin C in *Helicobacter pylori* associated gastric carcinogenesis. *Chinese J Digest Diseases* 6: 53-58.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Clasificación taxonómica del fruto por el herbario del Museo de Historia Natural

  **UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL 

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 208-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fruto) recibida de Catherine Candiotti Guzman, la Universidad Nacional Agraria La Molina, especialidad Nutrición; ha sido estudiada y clasificada como: *Spondias dulcis* Sol. Ex Parkinson, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: SAPINDALES

FAMILIA: ANACARDIACEAE

GENERO: *Spondias*

ESPECIE: *Spondias dulcis* Sol. Ex Parkinson

Nombre vulgar: "Taperibá, tapisho"
Determinado por: Mg. María I. La Torre Acuy

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 31 mayo de 2018

Mg. ~~Asunción A. Cano Echevarría~~
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Anexo 2: Características fisicoquímicas de la pulpa de taperiba

Ensayos	Resultados
Humedad (g/100 g)	82.30
Cenizas (g/100 g)	0.42
Proteínas (g/100 g)	0.85
Grasa (g/100 g)	0.28
Carbohidratos (g/100 g)	14.5
Fibra (g/100 g)	1.03
Vitamina C (mg/100 g)	48.77
Capacidad antiox. (μ mol Equi. de Trolox/100 g)	669.01
Compuestos fenólicos (mg de á. gálico equiv./100g)	37.12
Flavonoides totales (mg quercetina. equiv. / 100g)	4.39
Carotenoides totales (mg β -caroteno equiv./100 g)	2.57
Acidez (g./100 g) (ác. cítrico)	0.98
pH	2.95
°Brix	11.52
Marcha fitoquímica	
Azúcares reductores	ausencia
esteroides	presencia
alcaloides	presencia
taninos	presencia
saponinas	presencia
terpenoides	presencia
flavonoides	presencia

Anexo 3: Composición de dieta estándar para ratas

PPAB-UNALM	Porcentaje (%)
Materia seca	88.33
Proteína	20.00
Fibra	3.47
Grasa	7.48
Lisina	1.05
Metionina	0.51
Met-cys	0.86
Arginina	1.18
Treonina	0.77
Triptófano	0.28
Glicina	0.86
Gli-Ser	1.86
Histidina	0.52
Leucina	1.72
Isoleucina	0.84
Fenilalanina	0.97
Phe-Tyr	1.82
Valina	0.97
Fosf. Total	0.50
Fosf. Disponible	0.20
Calcio	0.60
Sodio	0.08
Ácido linoleico	3.70

Fuente: Planta Piloto de Alimentos Balanceados (s.f.)

Anexo 4: Índice hepático en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos

Tratamiento	Repetición	Índice hepático (%)
T1: Control negativo	R1	3,33
	R2	3,22
	R3	3,46
	R4	3,78
T2: Control positivo	R1	4,40
	R2	4,10
	R3	4,73
	R4	4,42
T3: Silimarina	R1	4,15
	R2	3,95
	R3	4,13
	R4	4,00
T4: ZTAP1	R1	4,21
	R2	4,04
	R3	3,74
	R4	4,40
T5: ZTAP2	R1	3,31
	R2	3,66
	R3	3,77
	R4	3,68

ZTAP1: Zumo de taperiba (1mL/kg p.v.)

ZTAP2: Zumo de taperiba (5mL/kg p.v.)

Anexo 5: Medida final de peso corporal y peso de hígado en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos

Tratamiento	Repetición	Peso corporal (g)	Peso de hígado (g)
T1: Control negativo	R1	204,22	6,8
	R2	217,67	7,0
	R3	231,26	8,0
	R4	198,53	7,5
T2: Control positivo	R1	209,30	9,2
	R2	239,09	9,8
	R3	188,31	8,9
	R4	214,90	9,5
T3: Silimarina	R1	212,30	8,8
	R2	222,53	8,8
	R3	210,52	8,7
	R4	215,21	8,6
T4: ZTAP1	R1	204,14	8,6
	R2	200,50	8,1
	R3	213,83	8,0
	R4	204,65	9,0
T5: ZTAP2	R1	184,11	6,1
	R2	221,36	8,1

Anexo 6: Niveles de glucosa en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos

Tratamiento	Repetición	Glucosa (mg/dL)
T1: Control negativo	R1	80
	R2	88
	R3	85
	R4	84
	R5	82
T2: Control positivo	R1	80
	R2	96
	R3	80
	R4	82
	R5	93
T3: Silimarina	R1	78
	R2	82
	R3	99
	R4	97
	R5	88
T4: ZTAP1	R1	87
	R2	83
	R3	90
	R4	82
	R5	99
T5: ZTAP2	R1	92
	R2	85
	R3	88
	R4	121
	R5	90

Anexo 7: Perfil lipídico en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos

Tratamiento	Repetición	HDL-c en sangre (mg/dL)*	TG en sangre (mg/dL)**
T1: Control negativo	R1	62	46
	R2	52	54
	R3	73	45
	R4	68	45
T2: Control positivo	R1	35	47
	R2	37	45
	R3	50	48
	R4	35	45
T3: Silimarina	R1	50	45
	R2	30	45
	R3	64	45
	R4	46	45
T4: ZTAP1	R1	48	45
	R2	42	45
	R3	54	50
	R4	63	74
T5: ZTAP2	R1	45	45
	R2	51	81
	R3	66	58
	R4	59	61

HDL-c: lipoproteínas de alta densidad

TG: triglicéridos

Anexo 8: Actividad antioxidante en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos

Tratamiento	Repetición	Superóxido dismutasa (U/mg proteína)	Catalasa (U/mg proteína)
T1: Control negativo	R1	17,24	0,28
	R2	16,92	0,44
	R3	17,19	0,46
T2: Control positivo	R1	14,92	0,41
	R2	31,97	0,81
	R3	14,59	0,32
T3: Silimarina	R1	13,81	0,33
	R2	19,85	0,37
	R3	26,13	0,49
T4: ZTAP1	R1	18,61	0,36
	R2	15,57	0,32
	R3	15,85	0,39
T5: ZTAP2	R1	17,00	0,45
	R2	18,68	0,44
	R3	16,48	0,36

Anexo 9: Niveles de glutatión reducido (GSH) en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos

Tratamiento	Repetición	GSH (U/mg prot)
T1: Control negativo	R1	165,45
	R2	168,29
	R3	110,97
T2: Control positivo	R1	362,28
	R2	566,53
	R3	341,55
T3: Silimarina	R1	184,63
	R2	547,41
	R3	356,18
T4: ZTAP1	R1	182,92
	R2	265,74
	R3	282,38
T5: ZTAP2	R1	234,39
	R2	227,52
	R3	200,33

Anexo 10: Niveles de lipoperoxidación en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos

Tratamiento	Repetición	TBARS (nmol/g prot)
T1: Control negativo	R1	25,55
	R2	26,90
	R3	25,95
	R4	26,72
T2: Control positivo	R1	34,31
	R2	39,64
	R3	34,55
	R4	60,18
T3: Silimarina	R1	30,75
	R2	27,24
	R3	23,31
	R4	24,58
T4: ZTAP1	R1	26,88
	R2	27,89
	R3	29,51
	R4	27,42
T5: ZTAP2	R1	21,99
	R2	23,02
	R3	23,67
	R4	22,97

TBARS: Especies reactivas del ácido tiobarbitúrico

Anexo 11: Cuantificación de proteínas totales (PT) de tejido hepático en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol tras la administración de los tratamientos

Tratamiento	Repetición	PT mg/mL
T1: Control negativo	R1	51,53
	R2	56,18
	R3	51,68
T2: Control positivo	R1	55,41
	R2	26,54
	R3	65,80
T3: Silimarina	R1	62,55
	R2	45,16
	R3	43,30
T4: ZTAP1	R1	58,04
	R2	53,08
	R3	52,15
T5: ZTAP2	R1	53,23
	R2	52,46
	R3	53,39