



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**Carrera de Biología**

**“Efecto hepatoprotector del  
extracto del híbrido de  
Sechium HD-Víctor”**

**TESIS**

Que para obtener el título de:

**BIÓLOGA**

**P R E S E N T A**

Ramírez Padilla María Guadalupe

**DIRECTORA DE TESIS**

Dra. Itzen Aguiñiga Sánchez



**Ciudad de México, septiembre, 2021.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

## FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

“ZARAGOZA”

DIRECCIÓN

### JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR P R E S E N T E.

Comunico a usted que la alumna **RAMÍREZ PADILLA MARÍA GUADALUPE**, con número de cuenta **313144507**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **13 de septiembre de 2021** a las **10:00 hrs.**, para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

**PRESIDENTE** Dra. FRANCISCA LEONORA SÁNCHEZ Y GARCÍA FIGUEROA

**VOCAL** Dra. ITZEN AGUIÑIGA SÁNCHEZ

**SECRETARIO** Dr. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO

**SUPLENTE** Dr. EDGAR LEDESMA MARTÍNEZ

**SUPLENTE** Dra. ANA ROCÍO RIVERA MARTÍNEZ



\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

El título de la tesis que presenta es: **Efecto hepatoprotector del extracto del híbrido de *Sechium* HD-Víctor.**


Opción de titulación: Tesis.

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para saludarle.

**A T E N T A M E N T E**  
**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**  
Ciudad de México, a 03 de agosto de 2021

**DR. VICENTE JESÚS HERNÁNDEZ ABAD**  
**DIRECTOR**

RECIBÍ  
OFICINA DE EXÁMENES  
PROFESIONALES Y DE GRADO



VO. BO.  
Biól. MARICELA ARTEAGA MEJÍA  
JEFA DE CARRERA

## **APOYOS FINANCIEROS**

El trabajo se realizó en el laboratorio de Hematopoyesis y Leucemia, perteneciente a la Unidad de Investigación de Diferenciación Celular y Cáncer (UIDCC), de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación (UMIEZ), en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la Universidad Nacional Autónoma de México.

El presente trabajo se realizó gracias al apoyo del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPITT), DGAPA UNAM con clave: IN221017, IN229820, IN215821.

El presente trabajo contó con el apoyo otorgado por el Programa de beca: Beca de Titulación de-Alto rendimiento 2019-2020. Con folio 75760 del Gobierno de México en colaboración con la UNAM

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Itzen Aguiñiga Sánchez, por su paciencia, tiempo y apoyo durante mi estancia en el laboratorio, para enseñarme a hacer investigación, además la confianza otorgada durante los experimentos.

Al Dr. Edelmiro Santiago Osorio por aceptarme en su grupo de trabajo, así como la apoyo y guía durante mi formación académica, así como el tiempo y confianza dados durante mi estancia en el laboratorio.

A la M. en C. Ana Roció Rivera Martínez por el tiempo dedicado a la enseñanza de cosas nuevas, así como su disposición y paciencia durante mi aprendizaje.

A la M. en C. Guadalupe Gómez y a la Dra. Sandra Aguilar por la disposición a enseñar cosas nuevas, la paciencia y comprensión que me dieron.

A la Dra. Graciela Gavia García, Dra. Juana Rosado Pérez y a la M en C. Taide Laurita Arista Ugalde de la Unidad de Investigación en Gerontología, UMIEZ, por la paciencia en enseñarme cosas nuevas, así como el apoyo en las pruebas realizadas.

Al Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez por las facilidades de trabajar en su laboratorio.

A los MVZ. Adriana Altamirano Bautista y Román Hernández Meza, por su apoyo en el cuidado de los animales (ratones) del Bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, además de su accesibilidad para la realización de este trabajo

A todos los integrantes del laboratorio 8 de Hematopoyesis y Leucemia, por su apoyo y disposición en la parte experimental del trabajo, así como de su compañerismo y solidaridad en el trabajo durante mi estancia en el laboratorio.

## DEDICATORIA

A mis papás, por siempre apoyarme y motivarme a seguir adelante, por la confianza que me han brindado durante toda mi vida y el cariño que siempre me han dado, así como a mi hermano Osmar por siempre estar conmigo, confiar en mí, apoyarme y nunca soltarme. Gracias por ser los pilares de mi vida.

A mi abuelito Ernesto† y a mi tía Mar†, que también fueron pilares fundamentales en mi formación personal, por enseñarme a nunca rendirme y luchar por lo que quiero, por siempre apoyarme, escucharme, quererme tanto, estar junto a mí siempre, motivarme a seguir mis sueños, creer en que lograría lo que me propusiera y cuidarme aunque ya no estén físicamente. Así como a mis tías especialmente Miris y Tomy†.

A mi mejor amiga Betsy por tu apoyo y la motivación de superación que nos hemos brindado siempre, por ser siempre como mi hermana, y levantarme en los peores momentos.

A mis amigos Sac, Luis, Gaby, Lamba, Mich, Lalo, Jair y Aramiz por su amistad y compañerismo en el laboratorio, por su apoyo en mis experimentos y su solidaridad, porque no importa que tan largo hubiese sido el día, siempre me hacían reír y hacían más amenas las jornadas.

## ABREVIATURAS

<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b> .....	Oxígeno singlete
<b>Abs</b> .....	Absorbancia
<b>ADH</b> .....	Alcohol deshidrogenasa
<b>ADN</b> .....	Ácido desoxirribonucleico
<b>ADNmt</b> .....	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
<b>Alb</b> .....	Albúmina
<b>ALDH</b> .....	Aldehído deshidrogenasas
<b>ALP</b> .....	Fosfatasa alcalina
<b>ALT</b> .....	Alanina transaminasa
<b>ANOVA</b> .....	Análisis de varianza
<b>AST</b> .....	Aspartato transaminasa
<b>BDL</b> .....	Ligadura de los conductos biliares
<b>BSA</b> .....	Albúmina de suero bovino
<b>CAT</b> .....	Catalasa
<b>CCl<sub>3</sub></b> .....	Triclorometilo
<b>CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub></b> .....	Triclorometilo peróxido
<b>CCl<sub>4</sub></b> .....	Tetracloruro de carbono
<b>CHC</b> .....	Carcinoma hepatocelular
<b>CK</b> .....	Creatinina cinasa
<b>CoA</b> .....	Coenzima A
<b>CoCl<sub>2</sub></b> .....	Cloruro de cobalto
<b>CYP2E1</b> .....	Citocromo P450 2E1
<b>DLF</b> .....	<i>Dicranostigma leptopodum (máxima) fedde</i>
<b>DTT</b> .....	1,4-Dithiothreitol
<b>EHGNA</b> .....	Enfermedad del hígado graso no alcohólico
<b>FSE</b> .....	Extracto de <i>forsythiae fructus</i>
<b>FXR</b> .....	Receptor farnesoide X

<b>GA</b> .....	Ácido gálico
<b>GGT</b> .....	Gamma-glutamyl transferasa
<b>GISeM</b> .....	Grupo Interdisciplinario de Investigación en <i>Sechium edule</i> en México
<b>GPx</b> .....	Glutación peroxidasa
<b>GR</b> .....	Glutación reductasa
<b>GSH</b> .....	Glutación
<b>H<sub>2</sub>O</b> .....	Agua
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> .....	Peróxido de hidrógeno
<b>HCl</b> .....	Ácido clorhídrico
<b>HD-Víctor</b> .....	Hibrido de víctor
<b>HMG CoA</b> .....	3-hidroxi-3-metilglutaril Coenzima-A
<b>HOCl</b> .....	Ácido hipocloroso
<b>HS</b> .....	<i>Hibiscus sabdariffa</i>
<b>INEGI</b> .....	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
<b>INR</b> .....	Índice internacional normalizado
<b>kDa</b> .....	Kilo dáltones
<b>KO</b> .....	Ratones knockout
<b>LDH</b> .....	Lipoproteínas de alta densidad
<b>LDL</b> .....	Lipoproteínas de baja densidad
<b>MAPK</b> .....	Proteína quinasas activadas por mitógenos
<b>MEOS</b> .....	Sistema de oxidación del etanol microsomal
<b>MO</b> .....	<i>Moringa oleífera</i>
<b>MRC</b> .....	Cadena respiratoria mitocondrial
<b>NADP</b> .....	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidada
<b>NADPH</b> .....	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducida
<b>NaOH</b> .....	Hidróxido de sodio
<b>NASH</b> .....	Esteatohepatitis no alcohólica (por sus siglas en ingles)
<b>NFκB</b> .....	Factor nuclear κβ
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b> .....	Anión superóxido



<b>OCA</b>	Ácido obeticólico
<b>OH<sup>-</sup></b>	Radical hidroxilo
<b>OxS</b>	Estrés oxidativo
<b>PBS</b>	Buffer salino de fosfatos
<b>PMSF</b>	Fluoruro de fenilmetilsulfonilo
<b>PPAR<math>\alpha</math></b>	Receptor activado por proliferadores peroxisomales alfa
<b>PPAR<math>\alpha/\delta</math></b>	Elafibranor
<b>PPAR<math>\delta</math></b>	Receptor activado por proliferadores peroxisomales delta
<b>PT</b>	Tiempo de protombina
<b>RL</b>	Radicales libres
<b>RNS</b>	Especies reactivas de nitrógeno
<b>ROS</b>	Especies reactivas de oxígeno
<b>Rpm</b>	Revolución por minuto
<b>RS</b>	Especies reactivas
<b>SOD</b>	Superóxido dismutasa
<b>STAT3</b>	Transductor de señal y activador de la transcripción 3
<b>STZ</b>	Estreptozotocina
<b>TBARS</b>	Ácido tiobarbitúrico
<b>TG</b>	Triglicéridos
<b>TNF</b>	Factor de necrosis tumoral
<b>TNFR1</b>	Receptor 1 de TNF unido al ligando
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	Factor de necrosis tumoral alfa
<b>T-PER</b>	Reactivo de extracción de proteínas de tejidos
<b>TTP</b>	Tristetraprolina
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>VHB</b>	Virus de la hepatitis b
<b>VHC</b>	Virus de la hepatitis c
<b>WHO</b>	World health organization

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

<b>FIGURA 1 .</b> PROGRESIÓN DEL DAÑO HEPÁTICO Y SUS CARACTERÍSTICAS.....	14
<b>FIGURA 2.</b> INTERACCIÓN ENTRE ANTIOXIDANTES Y PROOXIDANTES .....	15
<b>FIGURA 3.</b> GENERACIÓN DE OXÍGENO REACTIVO Y REACCIÓN DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES .....	19
<b>FIGURA 4.</b> VARIEDADES DEL GÉNERO <i>Sechium</i> P. Brown.....	26
<b>FIGURA 5.</b> VARIEDADES DE <i>Sechium edule</i> .....	27
<b>FIGURA 6.</b> ÍNDICE HEPÁTICO .....	42
<b>FIGURA 7.</b> NIVELES DE ASPARTATO TRANSAMINASA (AST) .....	43
<b>FIGURA 8.</b> NIVELES DE ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT) .....	44
<b>FIGURA 9.</b> NIVELES DE FOSFATASA ALCALINA (ALP).....	45
<b>FIGURA 10.</b> NIVELES DE CATALASA (CAT) .....	46
<b>FIGURA 11.</b> MECANISMO DE ACCIÓN DEL EXTRACTO METANÓLICO HD-VÍCTOR51	
<b>TABLA 1.</b> GENOTIPOS DEL GÉNERO SECHIUM SPP.....	30
<b>TABLA 2.</b> RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS BIOQUÍMICOS.....	41

## ÍNDICE

ABREVIATURAS .....	5
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS .....	8
RESUMEN .....	11
INTRODUCCIÓN .....	12
MARCO TEÓRICO.....	13
Daño hepático .....	13
Estrés Oxidativo.....	15
Tratamientos farmacologicos actuales.....	20
Alternativas naturales para el tratamiento del daño hepático .....	21
Modelos de investigación del daño hepático .....	22
Plantas como alternativas terapéuticas .....	24
<i>Sechium edule (Jacq.) Sw.</i> .....	27
Híbridos de <i>Sechium edule</i> .....	29
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	32
JUSTIFICACIÓN.....	33
HIPÓTESIS .....	34
OBJETIVO .....	35
Objetivos particulares .....	35
MATERIAL Y MÉTODO.....	36
Manejo de ratones.....	36
Material biológico.....	36

<b>Tratamiento de ratones en un modelo de daño hepático .....</b>	<b>36</b>
<b>Evaluación de la enzima antioxidante CAT.....</b>	<b>37</b>
<b>Recolección de muestras .....</b>	<b>37</b>
<b>Cuantificación de proteínas .....</b>	<b>38</b>
<b>Análisis estadístico.....</b>	<b>39</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>47</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>52</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>53</b>

## 1. RESUMEN

El hígado es uno de los órganos con mayor importancia médica, el cual al ser atacado por radicales libres producidos por factores ambientales como la contaminación o la alimentación, estos pueden llegar a desencadenar estrés oxidativo, provocando daños a este órgano diana, los efectos negativos en el hígado pueden ir desde enfermedades crónicas como hígado graso e incluso desencadenar en enfermedades más agudas como lo es la cirrosis o cáncer de hígado, por tal motivo, actualmente se han incursionado en la búsqueda de alternativas naturales que puedan ayudar al hígado a eliminar esos radicales libres, uno de esos productos es el fruto de *Sechium edule*, el cual ha demostrado que tiene diferentes beneficios en la salud, ya que se ha determinado que contiene propiedades como antidiabética o antineoplásica, además de un efecto hepatoprotector, por lo tanto un híbrido de este grupo como lo es HD-Víctor podría tener un potencial más alto. Por lo cual se evaluó el efecto hepatoprotector en un modelo *in vivo* con daño inducido por tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>), en donde se probaron dosis de 8, 50 y 125mg/ kg de peso de ratón, administrados cada 48 horas vía oral, mostrando que las enzimas hepáticas como aspartato transaminasa (AST), alanina transaminasa (ALT) y fosfatasa alcalina (ALP) se encontraban más altas en el control con daño hepático mientras que en los grupos tratados con el híbrido se mostraron más bajos, indicando un efecto hepatoprotector, además la enzima antioxidante catalasa (CAT) también se vio favorecida ante la administración del híbrido HD-Víctor, mostrando la capacidad de eliminación de radicales libres.

## 2. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades hepáticas afectan a más del 10% de la población mundial, constituyendo aproximadamente la cuarta o quinta causa de muerte en todo el mundo, la principal enfermedad hepáticas es la del hígado graso no alcohólico con un 40% de frecuencia, seguido por el virus de la hepatitis B (VHB) con el 30% el virus de la hepatitis C (VHC) con el 15% y el consumo nocivo de alcohol que representa el 11% (Farzaei, *et al.*, 2018). El daño hepático puede iniciar con una lesión que va ir desencadenando otras patologías como la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA), esto causado principalmente por la dieta y el sedentarismo, así como patologías como el síndrome metabólico o diabetes mellitus. El desarrollo progresivo de EHGNA da como resultado una esteatohepatitis no alcohólica (NASH), la cual se diagnostica mediante una biopsia hepática invasiva (Younossi, *et al.*, 2018). Su espectro clínico y patológico puede evolucionar de esteatosis simple a esteatohepatitis, a cirrosis y al carcinoma hepatocelular (CHC), su prevalencia se ha incrementado debido al aumento de la obesidad y diabetes mellitus tipo 2, la dislipidemia y el síndrome metabólico en la población mundial, por lo que se considera la principal causa de CHC y la primera indicación de trasplante hepáticos (Bernal-Reyes, *et al.*, 2019). Generalmente la detección de estas enfermedades se realiza cuando ya existe un daño más grave, debido a que no muestra síntomas de alerta, actualmente no se ha aprobado ninguna intervención farmacológica para el tratamiento de la EHGNA, la terapia se enfoca en la mitigación de factores de riesgo con una dieta saludable, así como la pérdida de peso y la mejora de la resistencia a insulina, al igual que el tratamiento para NASH (Mundi, *et al.*, 2020; Friedman, *et al.*, 2018), en cuanto a alternativas farmacéuticas se han probado la pioglitazona o vitamina E, así como agonistas de ácido obeticoólico, que por reacciones secundarias aún están en estudio (Friedman, *et al.*, 2018). La medicina tradicional, se ha utilizado desde épocas muy remotas y hasta la actualidad, ya que en Estados Unidos y Europa, aproximadamente el 65% de los pacientes usan medicamentos a base de hierbas contra la enfermedad hepática, debido a su amplia disponibilidad, baja toxicidad, actividad farmacológica y diversidad química y bajos efectos secundarios en comparación con las drogas sintéticas (Farzaei, *et al.*, 2018).

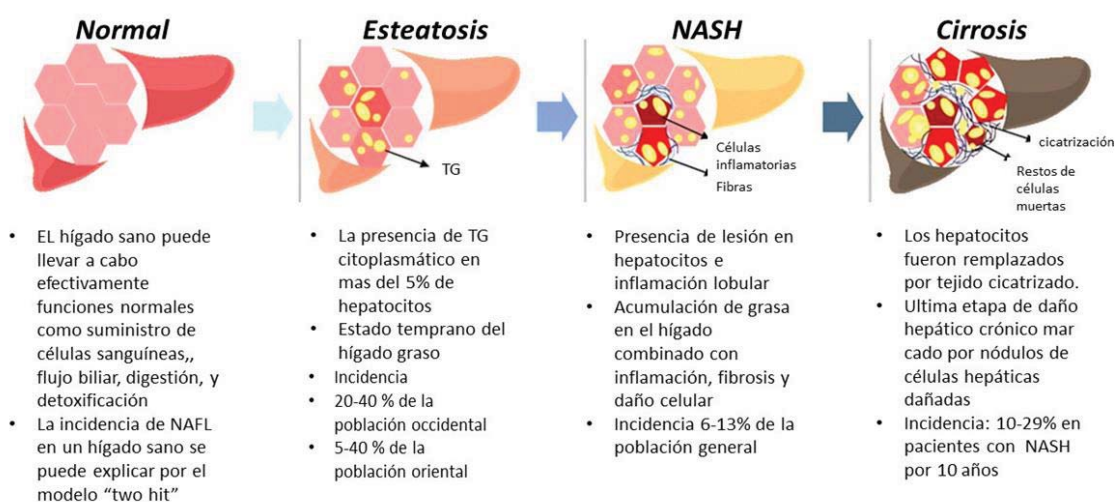
### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. Daño hepático

Actualmente millones de personas padecen algún tipo de enfermedad hepática ya sea aguda o crónica en todo el mundo, estos padecimientos afectan a más del 10% de la población e incluso constituyen aproximadamente la cuarta o quinta causa de muerte en todo el mundo (Parola & Pinzani, 2019). El primer lugar la ocupa la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) con un 40% de frecuencia, seguido por el virus de la hepatitis B (VHB) con el 30%, el virus de la hepatitis C (VHC) con el 15%, el consumo nocivo del alcohol representa el 11%, siendo la cirrosis la tercera casusa de mortalidad en hombres y la séptima en mujeres. En México se estima que para el año 2050 la cifra alcance los 1 855 000 casos nuevo al año; en el caso del carcinoma hepatocelular, hay una incidencia del hígado no cirrótico del 15-20% volviéndose uno de los tumores primarios del hígado a nivel mundial (Farzaei, *et al.*, 2018; Roesch-Dietlen, *et al.*, 2021). El INEGI (2019) informo que las enfermedades del hígado en México, fueron la cuarta causa de muerte en el país, donde de un total de 547 831, habían muerto 39 287 personas, es decir un 7.17 % del total de muertes registradas.

El hígado en estado sano realiza una actividad metabólica y de remodelación tisular constantemente, además tiene una exposición regular a productos microbianos, dando como resultado una inflamación persistente y regulada, para proteger a los hepatocitos de lesiones, así como favorecer la reparación del daño tisular y promover el restablecimiento de la homeostasis ejerciendo efectos hepatoprotectores constantes, desarrollando una actividad adicional solo si el hígado necesita deshacerse de patógenos hepatotóxicos, células malignas o productos tóxicos que intervengan de manera negativa en su actividad metabólica. Por lo que, si no se eliminan estos estímulos peligrosos y no se resuelve la inflamación se genera una perdida masiva de hepatocitos, que puede estimular una respuesta fibrótica, se produce una infección crónica, autoinmunidad o incluso se crea un crecimiento tumoral (Robinson, Harmon, & O'Farrelly, 2016; Brenner, *et al.*, 2013).

La mayoría de los trastornos hepáticos se caracterizan por una disfunción mitocondrial profunda que puede conducir a la desaparición de hepatocitos o sensibilización de estas células a estrés (Brenner, *et al.*, 2013). Dado que el hígado tiene un papel importante en el metabolismo, la hepatotoxicidad que se pueda generar se convierte en un problema de salud con gran relevancia, en donde se muestra un daño celular aumentando no solo los niveles de enzimas hepáticas, sino además hay presencia de radicales libres (RL), las pruebas hepáticas que suelen realizarse suelen incluir alanina transaminasa (ALT), aspartato transaminasa (AST), fosfatasa alcalina (ALP), gamma-glutamil transferasa (GGT), bilirrubina sérica, tiempo de protombina (PT), índice internacional normalizado (INR) y albúmina, estas pruebas pueden ser útiles para determinar un área del hígado donde puede haber un daño que puede derivar en patologías como hígado graso, desencadenando otras enfermedades crónicas como NASH, cirrosis o cáncer de hígado (Figura 1)(Jaeschke *et al.*, 2002; Lala *et al.*, 2020).

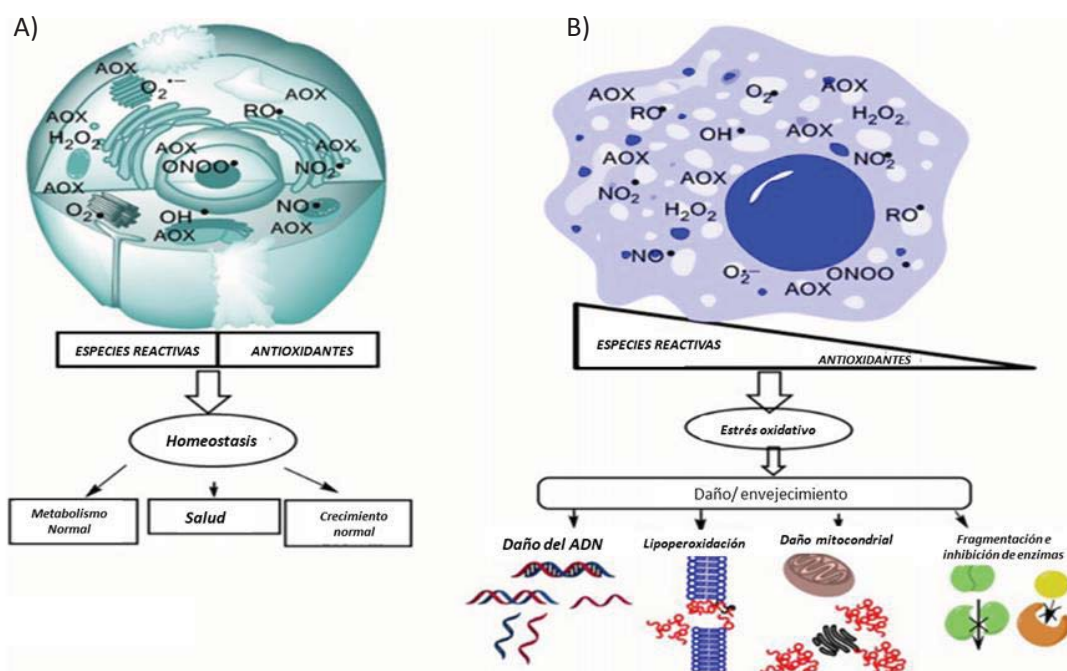


**Figura 1** . Progresión del daño hepático y sus características, desde un estado normal o sano, progresando con un daño en el hígado desencadenando un daño crónico como es la cirrosis. Tomada y modificada de Shin, *et al.*, 2018.



### 3.2. Estrés Oxidativo

El estrés oxidativo (OxS) es un proceso biológico caracterizado por un desbalance entre la producción de especies reactivas (RS) respecto a las antioxidantes a favor de las primeras, causando daño oxidativo de biomoléculas y alteración en la fisiología celular (Rosado-Pérez. *et al.*, 2018; Heredia *et. al.*, 2012), este proceso se lleva a cabo de manera natural en el cuerpo mediante algunas reacciones oxidativas (Figura 2) en la degradación de aminoácidos y grasas, lo que produce radicales libres, compuestos químicos muy reactivos que pueden dañar a la célula, como lo son las especies reactivas de oxígeno (ROS) y las especies reactivas de nitrógeno (RNS), su presencia juega un papel relevante en el desarrollo de numerosas enfermedades humanas (Sánchez-Valle, & Méndez-Sánchez, 2018; Tan, Norhaizan, & Liew, 2018).



**Figura 2.** Interacción entre antioxidantes y prooxidantes. A) Equilibrio entre especies reactivas de oxígeno y antioxidantes, produciendo una homeostasis y por consiguiente un estado normal en el desarrollo celular. B) desequilibrio entre las especies reactivas y los antioxidantes en favor a las especies reactivas generando estrés oxidativo provocando diversos daños en la célula (Tomada y modificada de Rosado-Pérez, *et al.*, 2018).

Uno de los principales productores de estrés oxidativo son las especies reactivas de oxígeno (ROS) los cuales se producen a partir de oxígeno molecular como resultado del metabolismo de las células en forma normal, sin embargo, estas ROS se dividen en radicales libres o no radicales (Miller *et al.*, 1990). Las formas más frecuentes de ROS incluyen anión superóxido ( $O_2^-$ ), ácido hipocloroso, peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), oxígeno singlete, hipoclorito, radical hidroxilo y peróxidos de lípidos, los cuales se producen a partir de reducciones de oxígeno de un electrón y terminan formando agua, la formación de estas moléculas tiene una participación en la progresión, crecimiento, diferenciación y muerte de las células (Tan, Norhaizan & Liew, 2018; Olson, *et al.*, 2017; Heredia *et al.*, 2012; Castillo *et al.*, 2001).

Los radicales libres en general, y el radical hidroxilo en particular, puede reaccionar con moléculas orgánicas reducidas, en especial con las que contienen enlaces dobles como los lípidos insaturados, los anillos aromáticos de aminoácidos y las bases nitrogenadas. La alteración más importante inducida por las ROS sobre los lípidos se debe a los daños generados sobre las membranas en un proceso llamado lipoperoxidación. El daño causado a las proteínas se da según el aminoácido que reaccione con las ROS, ya que puede haber cambios en la estructura primaria de una proteína y un residuo puede modificarse y convertirse en otro diferente. Los aminoácidos más susceptibles son histidina, prolina, cisteína, triptófano, tirosina y en menor grado arginina, lisina, y metionina (Montes, 2018).

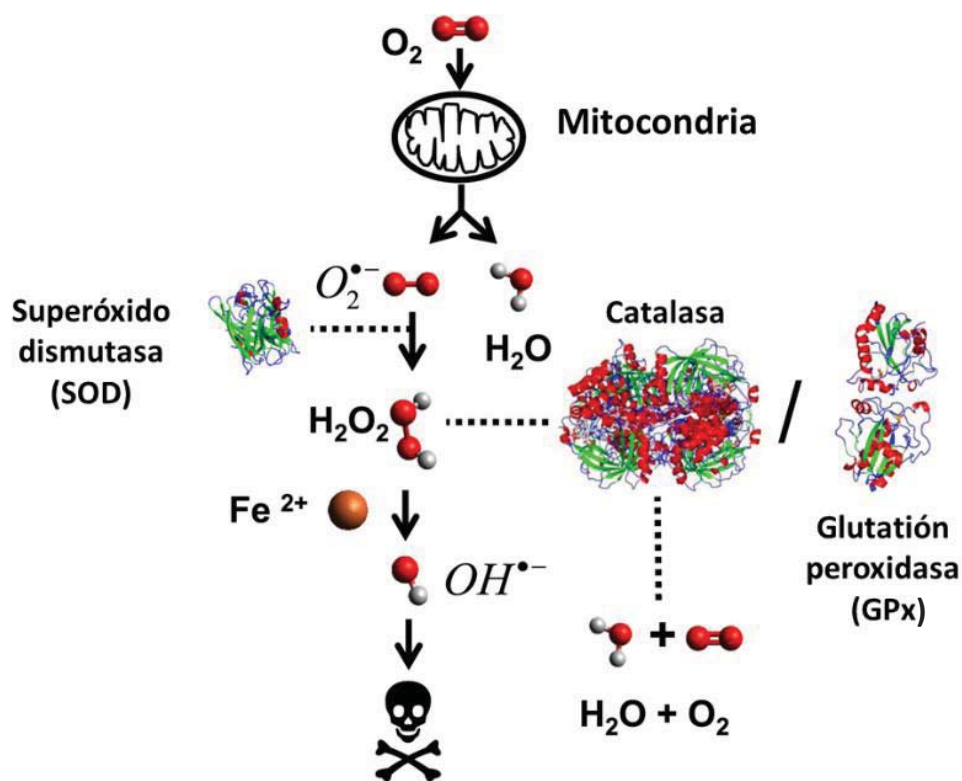
Para contrarrestar los daños celulares por el estrés oxidativo, la célula trata de mantener un estado redox (Montes, 2018), para ello el organismo dispone de un sistema antioxidante que evita o neutraliza la formación de los RL, entre los que podemos destacar las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR) y catalasas (CAT), aunque también intervienen otros factores como las proteínas acarreadoras de metales, las vitaminas A, C y E, la bilirrubina, el ácido úrico y el selenio entre otros (Sánchez-Valle, & Méndez-Sánchez, 2018).

El incremento de la concentración sanguínea de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), como indicador de peroxidación lipídica y reducción de las actividades antioxidantes de las enzimas superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y la catalasa (CAT) en sangre total son indicativos de la presencia de estrés oxidativo (Heredia *et al.*, 2012). La catalasa es una enzima antioxidante con un peso molecular de 250 kDa y consta de cuatro grupos de hemoproteínas, está presente en células como eritrocitos, células renales y hepáticas, es una enzima intracelular y es considerada como el segundo antioxidante enzimático más abundante después de la superóxido dismutasa (SOD) que atenúa los niveles de especies reactivas de oxígeno (Hadwan, 2018), la catalasa es una de las enzimas más conocidas y mejor caracterizadas debido al papel que juegan, ya que catalizan la dismutación del peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno (Olson, *et al.*, 2017).

Las enfermedades hepáticas crónicas suelen ir acompañadas de un aumento del estrés oxidativo (que indica niveles excesivos de especies reactivas de oxígeno (ROS) y un desequilibrio oxidante y antioxidante) que puede conducir a la degradación de proteínas, lípidos y ADN celular. Las ROS participan en la respuesta fibrogénica del hígado y contribuyen a la isquemia/regeneración, necrosis y apoptosis. Por lo cual su presencia da como resultado una expresión génica alterada y un daño hepático progresivo. En el caso de involucrar al alcohol, este puede aumentar significativamente de los niveles de ROS mitocondrial en los hepatocitos, dando como resultado la oxidación del etanol y al menos tres vías enzimáticas implicadas. El alcohol deshidrogenasa (ADH) en primer lugar oxida el etanol a acetaldehído y luego este último se oxida a acetato por el aldehído deshidrogenasas (ALDH) en las mitocondrias. La oxidación del etanol también es promovida por el sistema de oxidación del etanol microsomal (MEOS), la enzima del citocromo P450 citocromo P450 2E1 (CYP2E1) y la catalasa en los peroxisomas. Los productos de estas vías pueden inducir a enfermedades como hígado graso, inflamación hepática, hepatitis alcohólica (necrosis) y cirrosis alcohólica progresiva (Farzaei, *et al.*, 2018).

Entre las funciones que llevan a cabo las mitocondrias, se encuentra la regulación del metabolismo de los lípidos hepáticos, además de la respiración celular, asociada al estrés oxidativo; en este sentido se ha encontrado un aumento de la lipogénesis con disminución de la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos, lo cual conduce a la acumulación de triglicéridos en los hepatocitos y esto en combinación con niveles altos de ROS, contribuye a la resistencia a la insulina en pacientes que presentan esteatohepatitis, esto se debe a que las ROS mitocondriales pueden mediar la señalización de las vías metabólicas afectando el desarrollo y progresión de enfermedades hepáticas crónicas ya que promueven la muerte celular, la fibrogénesis hepática, la inflamación y las respuestas inmunes innatas a las infecciones virales. Las mitocondrias son necesarias para el metabolismo de las grasas y la producción de energía, el ciclo de la urea y el metabolismo de los aminoácidos y el hierro (Mansouri, Gattolliat, & Asselah, 2018), jugando un papel clave en el metabolismo de los ácidos grasos y la generación de energía, por lo que se cree que el deterioro de la función mitocondrial es un sello distintivo de la EHGNA, destacando los cambios morfológicos y funcionales que surgen en respuesta a los estímulos metabólicos (Ma *et al.*, 2020).

En condiciones normales, el  $O_2$  se reduce a  $H_2O$ . Sin embargo, algunos electrones pueden escapar de esta vía y convertirse en el radical superóxido. Estas especies reactivas de oxígeno se convierten en peróxido de hidrógeno menos nocivo mediante SOD. Sin embargo, en presencia de  $Fe^{2+}$ , algunas de las moléculas de  $H_2O_2$  pueden reducirse y volverse muy reactivas, atacando a varias biomoléculas. La catalasa transforma efectivamente el  $H_2O_2$  en moléculas menos nocivas y junto con GPX bloquea esa vía, protegiendo de esta manera a la célula de los daños que los RL puedan generar (Tehrani & Moosavi-Movahedi, 2018)



**Figura 3.** Generación de oxígeno reactivo y reacción de enzimas antioxidantes. La mitocondria puede genera un radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) que será convertida en peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) mediante la enzima superóxido dismutasa (SOD) luego la catalasa reaccionara con el  $H_2O_2$  formando agua y oxígeno, y junto al glutatión peroxidasa (GPx) bloquearan vías de formación de RL protegiendo al organismo (Tomada y modificada de Tehrani & Moosavi-Movahedi, 2018).

El estrés oxidativo mitocondrial promueve la muerte de los hepatocitos y la liberación masiva de enzimas hepáticas como la ALT, AST y ALP, las cuales pueden dar como resultado la formación de mediadores proinflamatorios y posteriormente desencadenar en una inflamación crónica (Mohamad, *et al.*, 2018). Las hepatotóxicas (cualquier sustancia o elemento que cause un daño al hígado) generadas durante cualquier tipo de daño también inducen una respuesta inflamatoria en el hígado junto con la activación de la transducción de señales intracelular mediada por MAPK, NFkB y STAT3 (Mangwani, Singh & Kumar, 2019).

### 3.3. Tratamientos farmacológicos actuales

La patogénesis de la EHGNA es compleja y con múltiples vías metabólicas. Es por eso que a la fecha no ha sido posible establecer un tratamiento estándar para esta enfermedad. La mayoría de las intervenciones para EHGNA se han enfocado en controlar las comorbilidades metabólicas asociadas. Uno de los principales problemas es la larga duración para que los desenlaces clínicos sean visibles, razón por la cual los cambios a corto plazo en la histología han sido aceptados como una alternativa para evaluar la respuesta terapéutica. Estos incluyen la resolución de la esteatohepatitis, la disminución en la actividad de la enfermedad y/o la mejora en el estadio de la fibrosis. Por lo anterior se recomienda que los tratamientos farmacológicos se limiten a pacientes con una enfermedad hepática progresiva, es decir, esteatohepatitis y/o fibrosis (Friedman, *et al.*, 2018; Bernal-Reyes, *et al.*, 2019; Mundi, *et al.*, 2020). El enfoque se realiza en la mitigación de los factores de riesgo entre ellos, la dieta, donde se recomienda evitar el consumo de carnes rojas, grasas trans, carbohidratos refinados, y jarabe de maíz. Sin embargo, el hito del tratamiento sigue siendo la pérdida de peso y la mejora de la resistencia a insulina (Mundi, *et al.*, 2020).

Un enfoque actual son las terapias combinadas, aunque también hay fármacos únicos con múltiples dianas de acción celulares o moleculares que están bajo evaluación; respecto a la terapia para NASH, hay enfoques asociados con el hígado, intestino, tejido adiposo y musculo, así como cambios en la alimentación y/o pérdida de peso significativa. Además se han realizado ensayos clínicos de ligandos sintéticos como el receptor farnesoide X (FXR), un agonista de PPAR $\alpha/\delta$  (elafibranor) y un antagonista de CCR2 y CCR5 (Cenicriviroc), los ligandos de PPAR $\delta$  (por ejemplo, pioglitazona, un miembro de la familia de fármacos de la clase de tiazolidindiona) se han estudiado en varios ensayos mostrando una efecto positivo en la esteatosis, la inflamación y la esteatohepatitis hepatocelular, así como la fibrosis; el ácido obeticólico (OCA) corrige la resistencia a la insulina, sin embargo el ensayo clínico fase 2B de OCA se interrumpió antes de tiempo debido a la demostración de eficacia durante un análisis intermedio planificado a priori. por causar prurito y

aumentos moderados en el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en algunos individuos; otro factor influyente en la enfermedad del hígado graso es estrés celular y la apoptosis el cual se ha tratado con la vitamina C, un antioxidante prototípico con efectos antiesteatohepático más eficaz que los fármacos estudiados, sin embargo no tiene una eficacia significativa en la reducción de la fibrosis hepática: el fármaco Emricasan puede atenuar la inflamación y la fibrosis, pero sigue en estudios (Friedman, *et al.*, 2018).

En este sentido la protección de los hepatocitos es de vital importancia para tratar variedades de enfermedades hepáticas ya sean agudas o crónicas, y la búsqueda de un fármaco apropiado con un fuerte efecto protector contra los daños de los hepatocitos es un punto clave en el tratamiento de estas enfermedades. (Tang, *et al.*, 2017)

El estudio de alternativas para el tratamiento de lesiones hepáticas sigue en aumento, dado que la mayoría de los fármacos han causado efectos secundarios como vomito o nauseas por lo que la búsqueda de una alternativa es de suma importancia para el tratamiento de daños en el hígado.

### **3.4. Modelos de investigación del daño hepático**

Existen diversos modelos para el estudio del daño hepático, desde modelos celulares empleados en el estudio de las vías intracelulares mediante plaqueo de células estrelladas hepáticas donde se observa el proceso de activación celular que ocurre en la fibrosis, creando así modelos *in vitro* para estudiar la biología y la terapia de la enfermedad hepática, estos modelos, llamados 3D, son utilizados también para recapitular aspectos de la estructura del hígado y facilitar la investigación principalmente de la regeneración, funciones de células progenitoras y efectos potenciales de fármacos (Campana & Iredale, 2017).



Un modelo animal que se ha desarrollado en los últimos años para varias enfermedades y proporcionar información de procesos fisiopatológicos es el pez cebra ya que se ha visto que los procesos biológicos y las vías de señalización que se observan en rata y ratón se recapitulan en el pez cebra, este modelo se ha utilizado para evaluar la regeneración de hígado inducida por hepatectomía parcial quirúrgica, la lesión hepática inducida por fármacos y la ablación de hepatocitos por nitroreductasa (Forbes & Newsome, 2016).

También los estudios de hepatoprotección, como de diversos grados de daño hepático, son realizadas tanto en ratas como en ratones, se emplea la intoxicación por tetracloruro de carbono ( $\text{CCl}_4$ ) por ser el mejor caracterizado ya que produce la inducción de apoptosis y necrosis de los hepatocitos con inflamación asociada así como la activación de las células madre hematopoyéticas y el posterior desarrollo de fibrosis, dependiendo de la duración del tratamiento se puede inducir fibrosis (4 semanas), cirrosis (8 semanas) o cirrosis micro nodular avanzada (12 semanas). La enfermedad de hígado graso se puede inducir por un régimen dietético. La ligadura de los conductos biliares (BDL) se utiliza en la recapitulación de lesión hepática colestásica, tanto BDL como  $\text{CCl}_4$  se han usado para estudiar la regresión de la fibrosis, estos dos modelos y el dietético se pueden aplicar también en ratones knockout (KO) transgénicos (Campana & Iredale, 2017). Además de estos modelos Adeyemi y colaboradores (2014), realizaron un estudio de protección del hígado a agentes tóxicos, donde se estudió el daño hepático producido por diabetes, la cual se indujo mediante estreptozotocina (STZ).

La deshalogenación reductora del  $\text{CCl}_4$  catalizada por el citocromo P-450 en el retículo endoplasmático de las células hepáticas, evocan una cascada de mecanismos secundarios responsables de la alteración de la membrana plasmática y eventos de muerte celular (Otrubová, *et al.*, 2018). El  $\text{CCl}_4$  es una de las toxinas utilizadas para la inducción experimental de daño hepático en animales de laboratorio aceptando que la hepatotoxicidad de  $\text{CCl}_4$  forma radicales inestables de triclorometilo ( $\text{CCl}_3$ ) y triclorometilo peróxido ( $\text{CCl}_3\text{O}_2$ ) las cuales son capaces de unirse a proteínas o lípidos, o de quitar un átomo de hidrógeno de un lípido insaturado, iniciando la peroxidación lipídica y daño



hepático, mostrando aumento de la actividad de ALT y AST en plasma indicando que la membrana plasmática sufrió de un daño hecho principalmente por la peroxidación lipídica en el sistema de oxidación del citocromo (Chen & Will, 2013; Otrubová, *et al.*, 2018).

### 3.5. Plantas como alternativas terapéuticas

El uso de productos naturales como medicamentos para aliviar y tratar enfermedades, data de aproximadamente 60 000 años (Yuan, *et al.*, 2016), entre estos productos naturales, las plantas han sido un recurso indispensable en la curación para comunidades locales del mundo, su relevancia es tanta que actualmente el 85% de la población depende de su uso para la atención primaria de la salud (Escandón-Rivera, Mata & Andrade-Cetto, 2020). Durante más de 100 años, los investigadores han explorado la flora medicinal desde un punto etnobotánico, antropológico, químico, farmacológico y biotecnológico en unos pocos casos se han llevado a cabo algunas investigaciones clínicas (Mata, *et al.*, 2019). La Organización Mundial de la Salud ha enumerado un total de 21 000 plantas con fines medicinales, las cuales gracias a sus metabolitos secundarios pueden afectar la señalización celular o proteger contra estrés oxidativo o luz UV (Anand, *et al.*, 2019).

La medicina tradicional, se utiliza para el tratamiento de diversas enfermedades mediante plantas con actividad biológica importante, tal es el caso de la *Dicranostigma leptopodum* (Máximo) esta hierba tradicional china, se ha utilizado para atenuar el efecto antioxidante y propiciar un efecto hepatoprotector al elevar los niveles de enzimas hepáticas que incluyen a SOD, CAT y GPx (Tang, *et al.*, 2017). Los extractos de plantas como la *Ligularia fischeri* (Ledeb.) Turcz. se considera una planta con un potencial antioxidante y hepatoprotector, utilizada como alternativa para prevenir enfermedades incluida la lesión hepática y la prevención del daño hepático alcohólico (Kim, *et al.*, 2016) *Dicranopteris linearis* (Burm. F.) Underw. var. *linearis* conocida como Resam por los malayos (Zakaria, *et al.*, 2019) o helecho bifurcado del Viejo Mundo, *Hibiscus sabdariffa* L. (Adeyemi, *et al.*, 2014), el extracto hidroalcohólico del berro (Sadeghi, *et al.*, 2019), se han estudiado, determinando que ejercen un efecto hepatoprotector atenuando y mejorando los daños

inducidos químicamente. Las hojas de oliva se han utilizado en terapias convencionales por sus compuestos antioxidantes y fenólicos han mostrado que la lesión renal, cardíaca y háptica causada por estrés oxidativo disminuyó (Abugomaa & Elbadawy, 2020).

Otra planta que ha tomado importancia en los últimos años por su relevancia terapéutica es la *Moringa oleífera* Lam., que ha mostrado tener un efecto hepatoprotector en la inhibición de la hepatotoxicidad inducida por  $\text{CoCl}_2$  (Khalil, *et al.*, 2020) además la cianobacteria espirulina mostro la reducción de efectos tóxicos aumentando los niveles de glutatión, superóxido dismutasa en tejido hepático (El-Boghdady, Kamel & El-Shamy 2020).

México tiene una gran riqueza natural, ya que contiene del 10 al 20% de la biodiversidad mundial, ocupando el cuarto lugar en variedad de plantas vasculares, con cerca de 31 000 especies diferentes, de las cuales más de 3 350 forman parte de la flora medicinal, siendo consideradas como medicinas complementarias y/o alternativas para el tratamiento de diversos trastornos, empleando las semillas, las hojas, tallos, frutos y raíces de diversas especies como *Swietenia humilis* Zucc., *Hintonia latiflora* (DC.) Bullock, *Hintonia standleyana* Bullock y la *Salvia circinata* Cav. (Mata, *et al.*, 2019), *Psacalium decompositum* (A. Gray), *Medicago sativa* L., *Allium sativum* L. (Hernández, Segura-Cobos, & López-Sánchez, 2016), *Phlebodium aureum* (L.) J. Sm., *Ginkgo biloba* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Panax ginseng* C.A. Mey., *Allium cepa* L., *Capsicum annum* L., *Berberis aquifolium* Pursh y *Aloe vera* (L.) Burm. F. (Maleš *et al.*, 2019) han sido estudiadas por sus actividades antiinflamatorias, antioxidantes, antidiabéticas o hipoglucémicas, así como tratar otras enfermedades como las cardiovasculares y enfermedades del hígado.

### 3.6. *Sechium edule* (Jacq.) Sw.

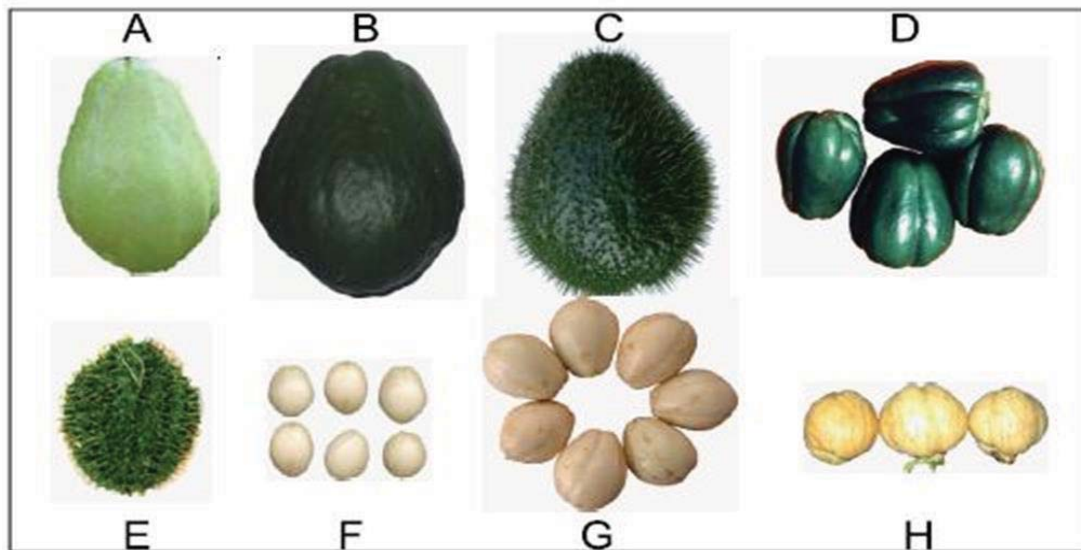
En México la familia Cucurbitaceae, representa a las plantas más importantes por sus cualidades alimenticias (Newstrom, 1991), dentro de ella se encuentra el género *Sechium* P. Browne, comúnmente llamado “chayote” término moderno modificado de los vocablos náhuatl “huitz” y “ayotl” que significan calabaza espinosa. Es una especie vegetal neotropical endémica de México (Lira, 1996; Cadena, 2005), que fue usada desde tiempo precolombinos (Cook, 1901). Su mayor diversidad reside en Mesoamérica, particularmente en México debido a que tiene diferentes especies y variedades, semi domesticadas y silvestres (Hernández, 1985; Rzedowski, 1993, Iñiguez-Luna, *et al.*, 2021).

Durante muchos años, se asumió que *Sechium* P. Browne, era un género monotípico, cuya única especie era *Sechium edule*. Actualmente del género *Sechium* P. Brown se describen diez especies (Lira, 1996; Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007) de las cuales en México están presentes tres: *Sechium chinantlense*, *Sechium compositum* y *Sechium edule*, esta última especie contiene 12 grupos varietales debido a la variación intraespecífica que presenta, las cuales son: *nigrum levis*, *albus levis*, *albus dulcis*, *nigrum conus*, *albus minor*, *nigrum minor*, *amarus sylvestris*, *nigrum máxima*, *nigrum xalapensis*, *virens levis*, *nigrum spinosum*, y *albus spinosum* (Iñiguez-Luna, *et al.*, 2021). De la diversidad biológica anterior, los frutos de plantas silvestres sobresalen por su sabor amargo, mientras que en las variantes domesticadas muestran un sabor neutro a ligeramente dulce (Lira *et al.*, 1999).



**Figura 4.** Variedades del género *Sechium* P. Brown. Tomada de Avendaño-Arrazate, *et al.*, 2017.

El chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) (Cucurbitaceae) es una hortaliza distribuida principalmente en las regiones tropicales y subtropicales de Mesoamérica y el Caribe, sin embargo, los grupos varietales (Figura 5) de *Sechium edule* con mayor distribución geográfica son: *nigrum spinosum* (negro espinoso) y *virens levis* (verde suave), atribuidos a los tipos biológicos de mayor importancia económica (González-Santos, *et al.*, 2017). La planta *Sechium edule* crece en muchas regiones del mundo preferentemente entre 800 y 1 800 m de altitud. En algunas regiones hay variantes adaptadas para el cultivo a nivel del mar usadas para el tratamiento de varios daños. (Stuart, 2014). Las especies de *Sechium edule*, presentan una amplia variación en forma y color de frutos, de los cuales se conocen solo en mercados locales, (Vieira, *et al.*, 2019). Tradicionalmente se utiliza el jugo de las hojas de la planta de *Sechium edule*, usada para el tratamiento de varias enfermedades renales o del hígado. (Sarkar & Dey, 2016), la decocción de sus hojas y frutos han mostrado un efecto diurético o para resolver cálculos renales (Loizzo *et al.*, 2016).



**Figura 5.** Variedades de *Sechium edule*. A) *Virens levis*; B) *Nigrum Xalapensis*; C) *Nigrum spinosum*; D) *Nigrum levis*; E) *Wild relative*; F) *Albus minor*; G) *Albus dulcis* H) *Albus levis*. Tomada de Cadena, *et al.*, 2011.

En general las partes de la planta son comestibles y, desde la época precolombina, sus raíces, brotes y frutos tuberosos se consumen ampliamente en lo que hoy es México y Guatemala, mientras que sus hojas se utilizan como forraje. Se pueden consumir crudos en ensalada, en escabeche, hervidos o en gelatina. En estado crudo, la pulpa de la fruta tiene una textura firme y crujiente, pero después de la cocción, la pulpa tiene una textura suave delicada. La estructura química es responsable de las actividades beneficiosas que presentan los polisacáridos (Shiga, *et al.*, 2015). En este sentido, frutos y semillas de *Sechium edule* Jacq. Swartz (chayote), son ricos en ácido aspártico, ácido glutámico, alanina, prolina, serina, tirosina, treonina y valina; vitaminas como la tiamina, riboflavina, niacina, vitamina A y ácido ascórbico y los minerales calcio, fósforo, hierro, nitrógeno, cobre, zinc, manganeso y potasio (Cadena *et al.*, 2007). Estudios fitoquímicos han revelado la presencia de esteroides, alcaloides no fenólicos, triterpenos como cucurbitacinas E, I y B, y saponinas. Así como, flavonoides, incluyendo naringenina,

apigenina, floretina, florizidina, tres C-glicosilflavonas y cinco O-Glucosil flavonas, y ácidos fenólicos (Aguñiga *et al.*, 2017), muchos de ellos asociados a la reducción de glucosa en sangre y como antioxidantes (Nelson-Dooley *et al.*, 2005; Rosado-Pérez *et al.*, 2018). *Sechium edule* es una planta cuyos frutos son ampliamente utilizados con propósitos curativos en nuestro país y a nivel mundial, farmacológicamente se ha reportado que posee efecto antioxidante, antiinflamatorio, hipoglucemiante, hipotensivo, cardioprotector, antidiabético, así como inhibidor de la lipogénesis (Firdous *et al.*, 2012; Mumtaz *et al.*, 2012; Maity *et al.*, 2013; Neeraja *et al.*, 2015).

Vieira y colaboradores (2019), realizaron una investigación de sus efectos reportando una relación inversa entre el consumo de chayote y la prevalencia de enfermedades crónicas dependientes de sus compuestos bioactivos informando que puede ejercer efectos antibacterianos, antioxidantes, antihipertensivo y antiepiléptico, así como propiedades anti cardiovasculares ejercidas por los flavonoides de los brotes de chayote que disminuye lípidos séricos, colesterol, previniendo la aterosclerosis y la acumulación de grasas en el hígado con la modulación del metabolismo de los lípidos hepáticos, además sus raíces contienen éster metílico de ácido cinámico, ácido camarico y vitexina, los cuales exhibieron actividad antihipertensiva.

La actividad cardioprotectora del extracto etanólico de fruta también se determinó en modelos animales, al reducir significativamente los niveles séricos de varias enzimas (AST, ALT, ALP, LDH, CK), colesterol total ,triglicéridos y colesterol LDL, además de propiedades antidiabéticas y anti obesidad, además de antioxidantes, donde indica que la dieta que contenga compuestos antioxidantes pueden proteger al cuerpo humano de los radicales libres y retardar el progreso de enfermedades crónicas, en este sentido tanto las hojas como las semillas exhiben una fuerte actividad antioxidante, el ácido gálico, ácido cafeico y la isoquercetina se identificaron como los constituyentes antioxidantes más activos en el extracto de acetato de etilo de pulpa seca de chayote, en el caso de las propiedades antiinflamatorias se atribuyen a los polisacáridos bioactivo representados principalmente por arabinosa y homogalacturonanos modulando las funciones de los

macrófagos (Neeraja, Debnath & Firdous 2015). En el caso de las propiedades hepatoprotectoras la administración oral de extractos metanólico han mostrado una actividad hepatoprotectora en un modelo inducido por CCl<sub>4</sub>, donde se mostró una reducción en los niveles de enzimas como AST, ALT y ALP, así como bilirrubina y peroxidación de lípidos hepáticos y un aumento de antioxidantes como GSH, CAT, SOD y proteína total según la dosis (Firdous, *et al.*, 2012)

### **3.7. Híbridos de *Sechium edule***

Los híbridos de plantas se han realizado principalmente para generar variedades e híbridos que satisfagan las necesidades del mercado y consumidor, principalmente comerciales (Savchenko, 2017), en particular en el chayote, se han generado híbridos y además se ha manteniendo y conservando la diversidad genética en México (tabla 1), así la hibridación inducida entre especies es utilizada cada vez con más frecuencia. Los propósitos son diversos, tales como aumentar el crecimiento y la supervivencia a través de la heterosis, obtener ejemplares físicamente más atractivos, o producir ejemplares estériles y/o resistentes a enfermedades consiguiendo híbridos interespecíficos (Cadena *et al.*, 2013).



ACCESIÓN	Grupo	DISTINCIÓN	TIPO	SABOR
631-12	<i>Sechium edule</i>	Perla Negra	Variedad	Amargo
632-12	<i>Sechium compositum</i>	Malpaso	Ecotipo	Amargo
633-12	<i>S. compositum Malpaso X nigrum maxima</i>	H-633-12	Híbrido	Amargo
635-12	<i>S. compositum Talismán X S. edule nigrum spinosum</i>	H-635-12	Híbrido	Amargo
636-12	<i>Sechium chinantlense</i>	El Gavilán	Ecotipo	Amargo
639-12	<i>Sechium edule Madre negra Negra X S. edule virens levis 290</i>	639-12-H-D	Híbrido	Amargo
640-12	<i>S. edule virens levis 290</i>	290-Amargo	Variedad	Amargo
641-12	<i>S. edule nigrum xalapensis X S. edule Madre Negra</i>	H-641-12	Híbrido	Amargo
642-12	<i>Sechium edule: Madre de H-387 y Padre de 639-12-H-D</i>	Madre negra	Variedad	Amargo
643-12	<i>Sechium compositum X Sechium edule nigrum xalapensis</i>	H-D-Víctor	Híbrido	Amargo
643-13	<i>Sechium edule: nigrum spinosum</i>	CHOCO-2012	Variedad	Amargo
H-387	<i>S. edule Madre negra X S. edule virens levis 290</i>	H-387	Híbrido	Amargo

**Tabla 1.** Genotipos del género *Sechium* obtenidas por mejoramiento genético, resaltando la cruce de *Sechium compositum* con *Sechium edule* var. *nigrum* Xalapensis. Tomada de Cadena, *et al.*, 2013.

El Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México (GISEM), ha identificado genotipos amargos de *Sechium edule* tal es el caso de Amargo 290, el híbrido HD-Víctor y H387 07 entre otros (Tabla 1), este último ha mostrado que ejerce una actividad anti-proliferativa sobre células tumorales *in vitro* en concentraciones mil veces menor que el extracto de *Sechium edule* “su progenitor” (Aguñiga *et al.*, 2015), mientras que *in vivo*, los extracto del híbrido vía intraperitoneal muestran baja toxicidad en ratones sanos, además de reducir los niveles de glucosa, estrés oxidativo y citocinas inflamatorias (Aguñiga, 2017). HD-Víctor es un híbrido generado a partir de dos variedades diferentes



de *Sechium*, es decir fue obtenido de la cruce de *Sechium compositum* y *Sechium edule* variedad *nigrum xalapensis* obteniendo un espécimen amargo. Gómez (2019) reportó que extractos del Híbrido HD- Víctor presentan flavonoides, cucurbitacinas y ácidos fenólicos en mayor medida que la variedad *nigrum spinosum*. Además, de manera preliminar en un modelo de ratón con lesión hepática encontró una reducción en las enzimas hepáticas, sin presentar alteraciones hematológicas o morfométricas en los hígados.

#### 4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente las enfermedades del hígado van en aumento y gran parte de estas son las asociadas a comorbilidades como el síndrome metabólico o a alguno de sus componentes, en el caso de la enfermedad de hígado graso no alcohólico su prevalencia es del 6-35% a nivel mundial, en México el estudio más reciente (2016) reportó una prevalencia de esteatosis hepática del 49.19%. El tratamiento para las lesiones hepáticas es mediante fármacos pero muestran reacciones adversas como lo son náuseas, hiperuricemia, laxante en dosis altas, dolores abdominales, dolores estomacales, toxicidad aguda y diarrea, por lo que se buscan alternativas naturales que puedan ayudar al hígado a eliminar los radicales libres producidos por niveles altos de estrés oxidativo, por lo cual se recomienda el consumo de alimentos ricos en antioxidantes ya que entre estos podemos encontrar flavonoides, taninos y carotenoides, los cuales actúan sobre las especies reactivas del oxígeno. Se ha demostrado que los compuestos fenólicos pueden proteger al hígado del efecto de estas especies reactivas de oxígeno (ROS), incluso que frutos de *Sechium edule* tienen actividad hepatoprotectora. Sin embargo, además de los 12 grupos varietales conocidos, GISeM ha desarrollado híbridos como el HD-Víctor, el cual de manera preliminar ha mostrado ejercer un efecto hepatoprotector, sin embargo, el efecto hepatoprotector del híbrido HD-Víctor no ha sido confirmado así como la capacidad antioxidante en un modelo de daño hepático inducido por CCl<sub>4</sub>, tema central de esta investigación.

## 5. JUSTIFICACIÓN

El daño hepático es uno de los problemas de salud con mayor relevancia médica, ya que el daño ocasionado por los radicales libres afecta principalmente a este órgano, provocando enfermedades crónicas como hígado graso, y que puede desencadenar en cirrosis o cáncer de hígado, sin embargo, algunos productos naturales como los frutos de *Sechium edule* (chayote) han mostrado que presenta efecto hepatoprotector, por lo que al analizar el híbrido amargo HD-Víctor, en el que se postula que potencia sus propiedades farmacológicas, se espera que presente un mejor efecto y con ello plantear una alternativa terapéutica para el tratamiento del daño hepático.

## 6. HIPÓTESIS

Se ha demostrado que extractos de *Sechium edule* reducen la hepatotoxicidad en roedores inducida con CCl<sub>4</sub> reduciendo los niveles de enzimas hepáticas. El género *Sechium* presenta variantes genéticas que no han sido analizadas, entre ellos híbrido HD-Víctor que se espera eleven los niveles de enzimas hepáticas en ratones tratados con CCL4 y contrarresten los niveles altos de estrés oxidativo e induzcan hepatoprotección.

## **7. OBJETIVO**

Evaluar el efecto hepatoprotector y antioxidante del extracto metanólico del híbrido de *Sechium* HD-Víctor.

### **7.1. Objetivos particulares**

- Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto metanólico del híbrido HD-Víctor en un modelo de daño hepático con tetracloruro de carbono en ratones mediante análisis de enzimas hepáticas
- Evaluar parámetros bioquímicos (urea, creatinina, glucosa, ácido úrico, albúmina, AST, ALT y ALP) en ratones con daño hepático inducido por CCl<sub>4</sub> tratados con diferentes dosis de HD-Víctor.
- Evaluar la capacidad antioxidante del extracto metanólico de HD-Víctor en tejido hepático del modelo de daño.

## **8. MATERIAL Y MÉTODO**

### **8.1. Material biológico**

Se usó el extracto metanólico de frutos del híbrido de *Sechium* HD-Víctor el cual se mantuvo a temperatura ambiente hasta su uso.

### **8.2. Manejo de ratones**

Se utilizaron ratones de la cepa CD-1 hembras de 2 a 3 meses de edad, proporcionados por el bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, los cuales se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas a temperatura promedio de 22°C, con agua estéril y alimento estándar *ad libitum*. Los ensayos se realizaron bajo las pautas establecidas para las metodologías de investigación y evaluación de la medicina tradicional (WHO, 2002) y la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 de especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio.

### **8.3. Tratamiento de ratones en un modelo de daño hepático**

Se utilizaron ratones hembra de la cepa CD-1, las cuales se dividieron en 6 grupos (n= 6): Basal (Sin tratamiento), Control (tratados con CCl<sub>4</sub>), Vehículo (CCl<sub>4</sub> + PBS), Tratamientos de HD-Víctor (8, 50, 125 mg/kg + CCl<sub>4</sub>) y ácido gálico (50mg/kg + CCl<sub>4</sub>) como control de hepatoprotección. Previo a la inducción de daño hepático se trataron a los ratones con 7 dosis del extracto metanólico de HD-Víctor y ácido gálico diluido en PBS cada 48 horas, vía gástrica, al día siguiente de la séptima dosis se indujo el daño hepático con CCl<sub>4</sub> al

10% diluido en aceite de oliva por diez días cada 24 horas sin interrumpir el tratamiento con el esquema previo.

Al término del tratamiento y 24 horas después de la última dosis, los ratones fueron puestos en ayunas y se pesaron. Posteriormente fueron anestesiados con pentobarbital sódico al 10% (PISA, México) vía intraperitoneal. Una vez sedados los ratones, se extrajo la sangre mediante plexo axilar y se recolectó en tubos vacutainer con gel de separación (BD, USA) además se obtuvieron los hígados por disección y se pesaron para determinar el índice hepático en relación peso del hígado/peso del ratón obtenido antes de sacrificarlos multiplicado por 100.

#### **8.4. Evaluación de parámetros bioquímicos**

Las muestras de sangre extraída en los tubos vacutainer se centrifugaron a 2000 rpm durante 10 minutos, del sobrenadante se tomaron 3 µL para los análisis de urea, 25 µL creatinina, 3 µL glucosa, 5 µL ácido úrico, 2 µL albúmina, 25 µL AST, 25 µL ALT y 4 µL ALP. La evaluación de cada parámetro se realizó mediante lo establecido por los estuches de Randox Laboratorios Ltd, UK, de acuerdo al parámetro, posteriormente fueron leídos en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1600 Serie) y un analizador automático de bioquímica (Hitachi 912, Boehringer Mannheim, Germany)

#### **8.5. Evaluación de enzima antioxidante CAT**

Se tomaron 5 gramos de hígado y se adicionó 20 µL de buffer de lisis (T-PER) frío que contenía inhibidores de proteasas (DTT o TTP y PMSF) en relación 1:2 con el cual se maceró hasta homogenizar, posteriormente se centrifugó a 2000 rpm por 5 minutos y se tomó el sobrenadante para determinar el nivel de la enzima antioxidante catalasas (CAT),

para lo cual previamente se preparó una “Solución de trabajo” con una mezcla de fosfato de sodio dibásico y monobásico (pH 7.0) y 85 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Posteriormente, se tomaron 10 µl de cada muestra (basal, vehículo, CCl<sub>4</sub>, HD-Víctor 8, 50 y 125 mg/kg y ácido gálico) y se colocaron por triplicado en una placa para UV de 96 pozos, adicionando 190 µl de solución de trabajo. La medición de la enzima catalasa se evaluó por un método espectrofotométrico al medir las absorbancias a los tiempos de reacción del peróxido con las muestras en tiempos de 0, 20, 40, 60 y 80 segundos. Finalmente se calculó la delta de las absorbancias (Absorbancia inicial – Absorbancia final) y se determinaron los niveles de catalasa mediante la expresión:

$$\frac{U \text{ CAT}}{\mu\text{g de proteína}} = \left[ \left( \frac{(\Delta Abs)}{0.0394} \right) (1000) / \mu\text{g de proteína} \right]$$

### 8.6. Cuantificación de proteínas

Para la evaluación de la catalasa, primero se realizó una curva patrón tomando como control a la albúmina de suero bovino (BSA) en concentración de 2, 4, 8, 16, 43 y 64 µg/mL, 40 µL del reactivo de Bradford y aforando a 200 µl con agua milliQ, se cubrió de la luz y se dejó en agitación 5 minutos para luego leer la absorbancia a 595 nm en un espectrofotómetro. Se promediaron las absorbancias y se obtuvo la ecuación general mediante la expresión:

$$y = mx + b$$

Posteriormente se realizó la cuantificación de proteínas que se encontraban en el tejido, para lo cual se tomaron las muestras del sobrenadante previamente obtenido de la



maceración del tejido hepático y se diluyeron al 10% con PBS. Posteriormente se colocaron 2  $\mu\text{L}$  de muestra diluida, 158  $\mu\text{L}$  de agua milliQ y finalmente 40  $\mu\text{L}$  del reactivo de Bradford, se dejó en agitación constante por 5 minutos y se leyó en un espectrofotómetro a 595 nm. Con los datos obtenidos se calculó la concentración de proteínas mediante la ecuación:

$$y = 0.002x + 0.1334$$

### **8.7. Análisis estadístico**

Se determinaron las medias de los datos y su desviación estándar y se realizó una comparación de medias por ANOVA con un nivel de confianza del 95% y una prueba de Tukey.

## 9. RESULTADOS

Después del tratamiento y de la inducción del daño hepático se analizaron los parámetros bioquímicos: glucosa, albúmina, creatinina, urea y ácido úrico en el suero de los ratones. En el caso de la glucosa entre el ratón sano y el ratón control con CCl<sub>4</sub> no hay diferencia significativa, pero si entre el basal y los tratamientos 50 y 125 mg/kg de HD-Víctor y ácido gálico; entre los grupos de tratamiento y el grupo control CCl<sub>4</sub> tampoco se muestra una diferencia significativa, finalmente solo el ácido gálico mostro diferencia con respecto al control sano (Tabla 2). Lo que sugiere que el tratamiento de HD-Víctor no altera los niveles de glucosa en los ratones con daño hepático inducido.

En el caso de la urea y la creatinina todos los tratamientos muestran el mismo comportamiento, sin presentarse alteraciones en estos parámetros (Tabla 2).

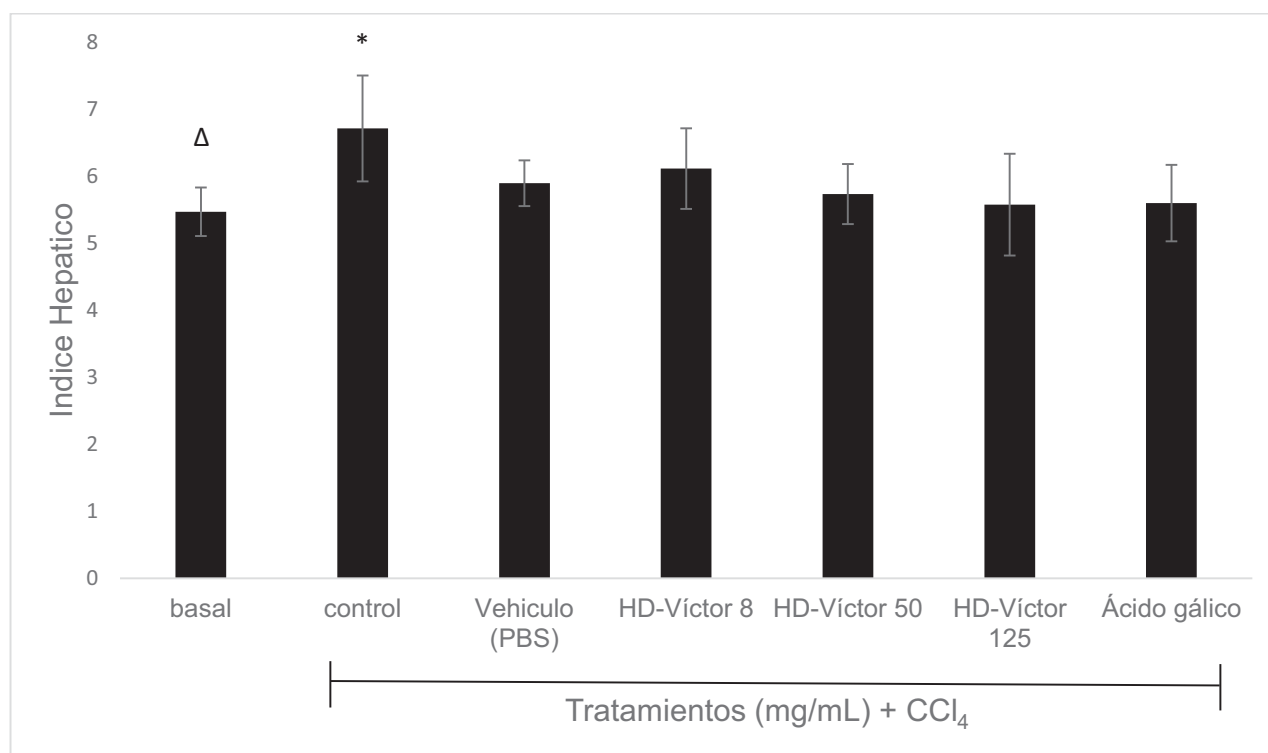
Los niveles de la albúmina entre los ratones sanos no muestran diferencia significativa comparado con los ratone control con CCl<sub>4</sub>, ni con los tratamientos con extractos, pero si con el ácido gálico. Entre los tratamientos administrados con CCl<sub>4</sub>, el único que mostro diferencia significativa fue el ácido gálico, y por último, la administración de ácido gálico mostro diferencias respecto a todos los tratamientos al estar en mayor medida. Esto sugiere que tratamiento con HD-Víctor puede reducir el efecto del daño, al tener los niveles semejantes a los ratones sanos (Tabla 2).

Los niveles de ácido úrico de los ratones sanos no son diferentes a los ratones control con CCl<sub>4</sub>, mientras que el ácido gálico si es diferente a los ratones control CCl<sub>4</sub>, pero no muestra diferencias con los demás tratamientos. El ácido gálico se muestra diferente a todos los tratamientos a excepción del grupo HD-Víctor 125 mg/kg, al tener niveles más altos que los demás, por lo que el tratamiento con el extracto de HD-Víctor reduce los niveles de ácido úrico manteniéndolos parecidos al grupo sano (Tabla 2).

**Tabla 2.** Resultados de los análisis bioquímicos medidos en suero de ratón, datos expresados como media  $\pm$  error estándar, \*diferencia significativa respecto al grupo basal,  $\Delta$  diferencia significativa respecto al control CCl<sub>4</sub> y + diferencia significativa respecto al ácido gálico. (Tukey  $p < 0.05$ ).

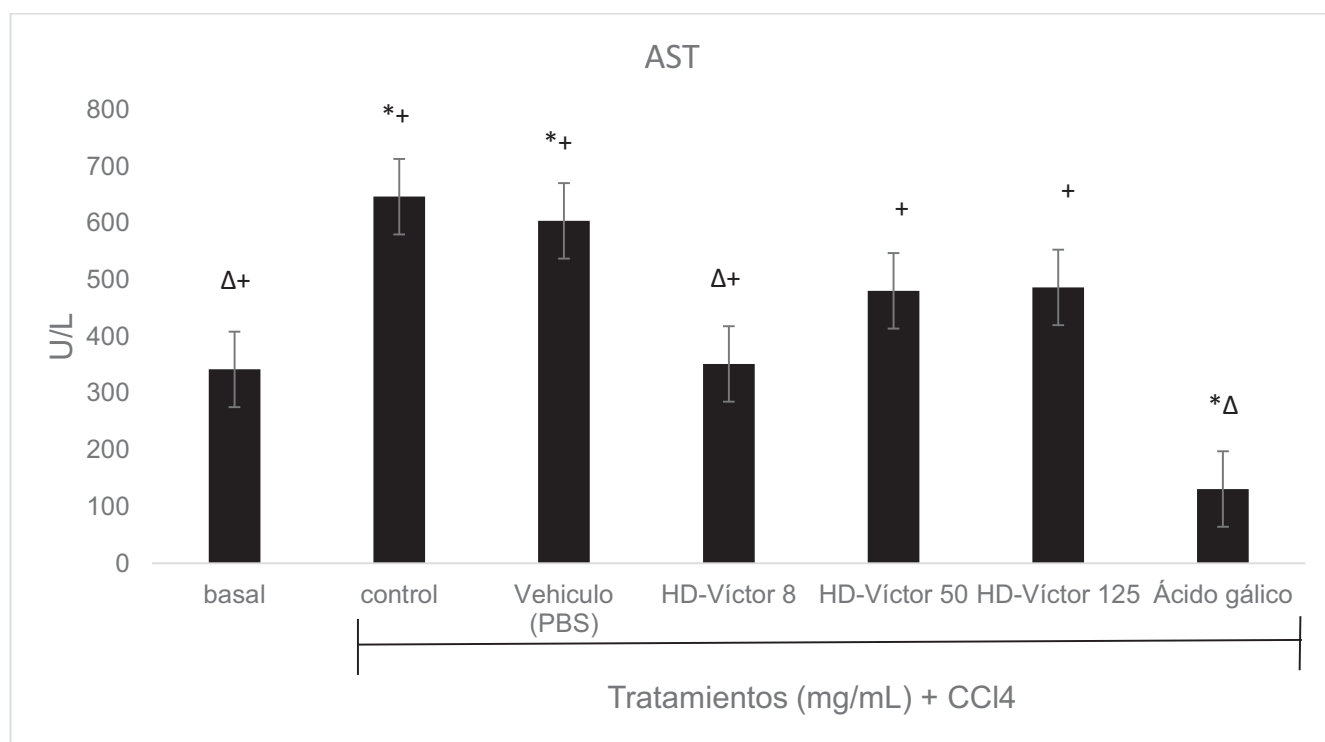
Variables (mg/dL)	Basal	Tratados con CCl <sub>4</sub>					
		CCl <sub>4</sub>	Vehículo (PBS)	HD-Víctor 8mg/kg	HD-Víctor 50mg/kg	HD-Víctor 125mg/kg	Ácido gálico
GLUCOSA	136.2 $\pm$ 5.014 <sup>+</sup>	112 $\pm$ 8.276 <sup>*</sup>	103.8 $\pm$ 2.818 <sup>*</sup>	110 $\pm$ 5.540 <sup>*</sup>	86.5 $\pm$ 5.560 <sup>*</sup>	102.8 $\pm$ 6.537 <sup>*</sup>	106.4 $\pm$ 9.405 <sup>*</sup>
UREA	74.325 $\pm$ 4.012	74.6 $\pm$ 5.1739	83.033 $\pm$ 7.778	74.025 $\pm$ 5.593	69.15 $\pm$ 1.25	76-1 $\pm$ 1	70.2 $\pm$ 1.1
CREATININA	0.58 $\pm$ 0.419	0.706 $\pm$ 0.118	0.566 $\pm$ 0.014	0.587 $\pm$ 0.045	0.575 $\pm$ 0.015	0.57 $\pm$ 0.07	0.62 $\pm$ 0.015
ALBÚMINA	3.99 $\pm$ 0.268	3.683 $\pm$ 0.152	4.016 $\pm$ 0.217	3.777 $\pm$ 0.081 <sup>+</sup>	3.865 $\pm$ 0.105 <sup>+</sup>	3.63 $\pm$ 0.39 <sup>+</sup>	5.425 $\pm$ 0.0155 <sup>*Δ</sup>
ACIDO URICO	3.47 $\pm$ 0.336 <sup>+</sup>	3.14 $\pm$ 0.193 <sup>+</sup>	4.033 $\pm$ 0.225 <sup>+</sup>	1.79 $\pm$ 0.44 <sup>+</sup>	2.865 $\pm$ 0.515 <sup>+</sup>	4.845 $\pm$ 0.025	8.39 $\pm$ 2.6 <sup>*Δ</sup>

Además de los análisis bioquímicos se evaluó el índice hepático para detectar alteraciones en el hígado de acuerdo con la proporción entre el peso del hígado y el peso del ratón. Los ratones sanos fueron diferentes a los ratones control  $\text{CCl}_4$ , y sin diferencias entre los ratones control  $\text{CCl}_4$  y los tratamientos restantes, ni los ratones tratados con ácido gálico mostraron ser diferente a ninguno de los tratamientos, sugiriendo que la administración de HD-Víctor no altera el hígado al mostrar valores parecidos al grupo sano o basal (Figura 6).



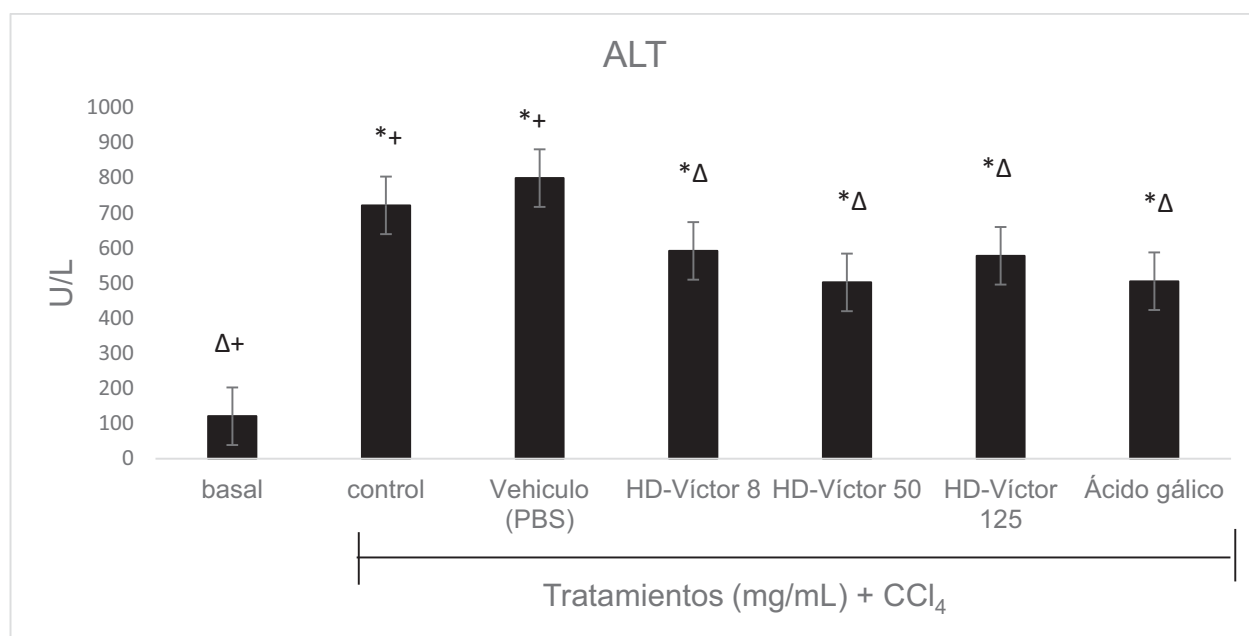
**Figura 6.** Índice Hepático, representado con la media  $\pm$  error estándar. \* Diferencia significativa respecto al grupo basal,  $\Delta$  diferencia significativa respecto al control de  $\text{CCl}_4$  y \*diferencia significativa respecto al ácido gálico (Tukey  $p < 0.05$ ).

También se realizó la evaluación de enzimas hepáticas, las cuales son evaluadas para determinar el daño de hepatocitos y del hígado. La AST en los ratones sanos (basales) fue de 342 U/L y más de 600 U/L en los ratones control CCl<sub>4</sub> y CCl<sub>4</sub>-vehículo como evidencia del daño inducido. El ácido gálico, a pesar de la administración de CCl<sub>4</sub>, lo reduce a no más de 130 U/L. El tratamiento HD-Víctor 8mg/kg tiene niveles similares a los basales de AST, mientras que los tratamientos de 50 y 125 mg/Kg aunque con niveles más bajos que el vehículo, no son significativamente diferentes.



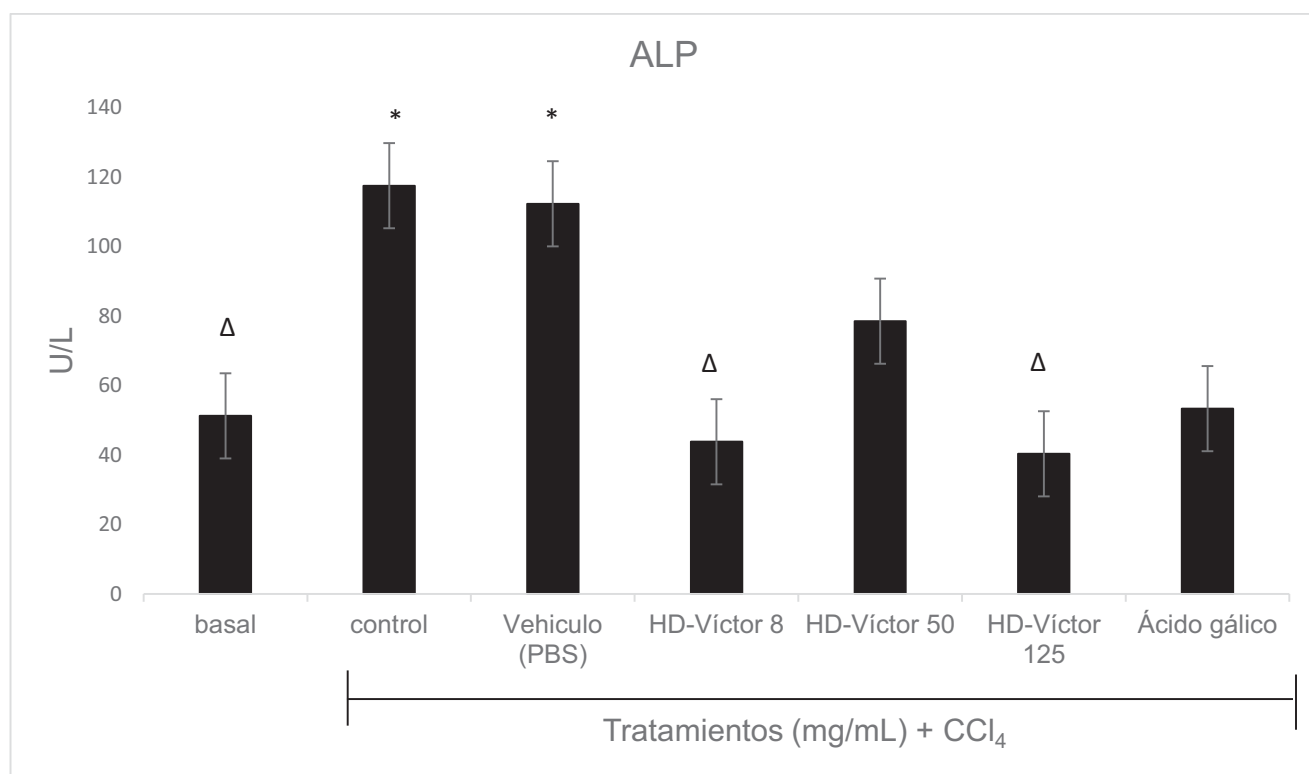
**Figura 7.** Niveles de aspartato transaminasa (AST) medidos en suero de ratón después del tratamiento, Datos expresados como media  $\pm$  error estándar. \*Diferencia significativa respecto a control sano,  $\Delta$  Diferencia significativa respecto a control CCl<sub>4</sub> y + Diferencia significativa respecto al ácido gálico (Tukey  $p < 0.05$ ).

Los niveles de la enzima ALT en grupo basal es en promedio de 120 U/L, en ratones tratados con solo CCl<sub>4</sub> o CCl<sub>4</sub>-vehículo asciende a más de 720 U/L, mientras que todos los tratamientos con HD-Víctor o ácido gálico reducen los niveles de ALT pero no son diferentes significativamente a al control y vehículo. Esto sugiere que los tratamientos con el extracto HD-Víctor disminuyen el daño provocado por el CCl<sub>4</sub>, asemejando el efecto del ácido gálico, aunque sin llegar a los valores del control basal (Figura 8).



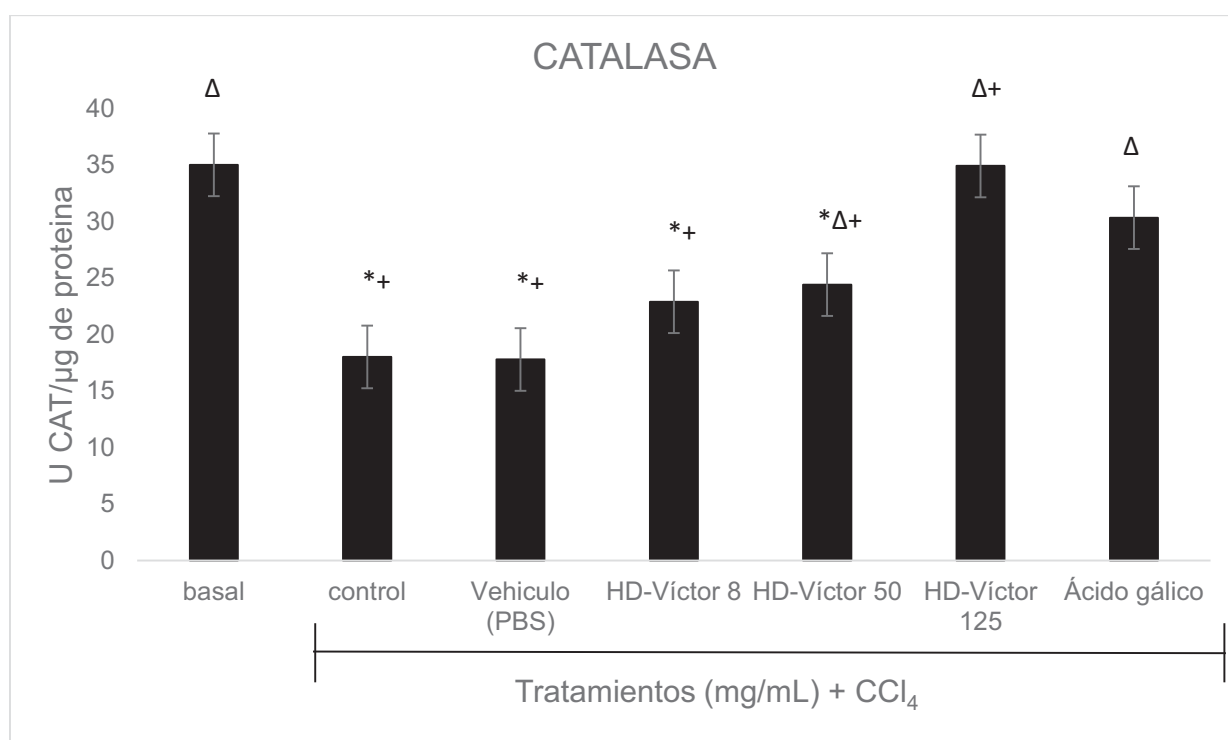
**Figura 8.** Niveles de alanina aminotransferasa (ALT) medidos en suero de ratón después del tratamiento, Datos expresados como media  $\pm$  error estándar. \*Diferencia significativa respecto a control sano,  $\Delta$  Diferencia significativa respecto a control CCl<sub>4</sub> y + Diferencia significativa respecto al ácido gálico (Tukey  $p < 0.05$ ).

En el caso de la ALP, los ratones sanos tienen niveles de 51 U/L, mientras que CCl<sub>4</sub> o CCl<sub>4</sub>-vehículo más de 112 U/L. Interesantemente, a pesar de la administración de CCl<sub>4</sub>, la adición de HD-Víctor, se encuentran niveles por debajo de 78 U/L, en incluso, 8 y 125 mg/kg de HD-Víctor o ácido gálico tienen niveles similares a los del grupo basal. Esto puede indicar que los grupos tratados con el extracto pueden disminuir los niveles de ALP, atenuando el daño inducido (Figura 9).



**Figura 9.** Niveles de fosfatasa alcalina (ALP) medidos en suero de ratón después del tratamiento. Datos expresados como media  $\pm$  error estándar. \*Diferencia significativa respecto a control sano,  $\Delta$  Diferencia significativa respecto a control CCl<sub>4</sub> y + Diferencia significativa respecto al ácido gálico (Tukey  $p < 0.05$ ).

Finalmente se midió la actividad de la catalasa. El basal tenía 35 U Catalasa/ $\mu\text{g}$  de proteína,  $\text{CCl}_4$  y  $\text{CCl}_4$ -vehículo bajó a niveles menores a 18 U, y las concentraciones de HD-Víctor tienden a subir los niveles, aunque sólo HD-Víctor 125 sube los niveles hasta 34 U, similar al ácido gálico que es de 30 U. Lo que podría indicar que el extracto del híbrido puede aumentar los niveles de antioxidantes como es la catalasa, este aumento parece ser dependiente de la dosis (Figura 10).



**Figura 10.** Niveles de catalasa (CAT) medidos en tejido hepático después del tratamiento. Datos expresados como media  $\pm$  error estándar. \*Diferencia significativa respecto a control sano,  $\Delta$  Diferencia significativa respecto a control  $\text{CCl}_4$  y  $\Delta$ + Diferencia significativa respecto al ácido gálico (Tukey  $p < 0.05$ ).



## 10. DISCUSIÓN

El hígado realiza varias funciones fundamentales, incluida la síntesis de proteínas, la homeostasis de la glucosa y la desintoxicación, sin embargo, cuando el hígado está expuesto a niveles altos de toxinas ambientales, puede ocurrir una disfunción metabólica, que varía desde la elevación de la concentración transitoria de las enzimas hepáticas hasta la cirrosis hepática, evolucionando incluso a un carcinoma hepatocelular. El daño hepático inducido por CCl<sub>4</sub>, el cual provoca daño mediado por el estrés oxidativo ha sido aceptado como una de las principales herramientas de estudio para evaluar factores hepatoprotectores (Lee *et al.*, 2019).

El CCl<sub>4</sub>, es utilizado en modelos murinos para estudios de hepatotoxicidad o daño renal lo que conlleva al aumento de marcadores como AST, ALT y ALP (El-Haskoury, *et al.*, 2018), siendo la medición sérica de las primeras dos enzimas el estándar clínico para la evaluación del daño hepático, indicando una lesión a los hepatocitos que dará lugar a la liberación de estas enzimas en la sangre (Lehmann-Werman, *et al.*, 2018). Se ha visto que en estudios de daño hepático inducido por CCl<sub>4</sub>, los niveles de dichas enzimas tienen un aumento significativo en los grupos inducidos con el tetracloruro de carbono en comparación a ratones sanos (El-Haskoury, *et al.*, 2018; Perazzoli, *et al.*, 2017; Feng, *et al.*, 2018), lo cual concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio, dado que las enzimas ALT, AST y ALP aumentaron sus niveles confirmando de esta manera el daño provocado por el CCl<sub>4</sub> en los ratones utilizados.

Diversos recursos naturales han sido estudiados para el tratamiento de la hepatotoxicidad como es el caso de la silimarina, la cual por su eficacia en el tratamiento de enfermedades hepáticas se considera como un control en nuevos estudios como el realizado por Dutta y colaboradores (2018), el ácido gálico (3,4,5-trihidroxibenzoico, GA) es un ácido fenólico natural (Perazzoli *et al.*, 2017) y metabolito secundario presente en diversas frutas, que principalmente por su actividad antioxidante se ha utilizado también como un control para

estudios de hepatoprotección, ya que disminuye significativamente los niveles de enzimas hepáticas (Ojeaburu & Oriakhi, 2021).

En este trabajo, el ácido gálico se usó como control positivo por su actividad antioxidante y hepatoprotectora de acuerdo a lo descrito por Rasool, y colaboradores (2010) y por Jadon, Bhadauria, & Shukla (2007), nuestros resultados concuerdan en que las enzimas AST ALT y ALP, disminuyeron en los grupos tratados con ácido gálico. En el caso de los tratamientos con las diferentes dosis de HD-Víctor mostraron que pueden proteger al hígado del daño causado por este compuesto toxico al disminuir también los niveles de las enzimas hepáticas, sin embargo en los resultados de AST y ALP, el tratamiento más efectivo fue el de 8 mg/mL del extracto de HD-Víctor, esta dosis disminuyo los niveles de dicha enzima aproximándose al nivel del grupo sano, el tratamiento con 125 mg/kg del extracto administrado también disminuyo significativamente los niveles de ALP en los ratones con daño hepático.

En el caso de la enzima ALT, la dosis más exitosa fue la de 50mg/kg la cual se aproxima al ácido gálico (control positivo), aunque todos los tratamientos disminuyen los valores con respecto al control, estos resultados indican que el extracto metanólico de HD-Víctor puede ser eficaz para la protección del hígado ante agentes tóxicos como el CCl<sub>4</sub>.

Entre los estudios de tratamiento con extractos naturales en un modelo de daño hepático con CCl<sub>4</sub>, se encuentran estudios de protección al hígado con arándanos en dosis de (100 y 200 mg/kg) (Liu *et al.*, 2019) y con extracto del extracto del fruto de *Forsythiae Fructus* (FSE) en concentraciones de 1 y 2 g/Kg (Zhang, *et al.*, 2018) en ambos casos se evaluaron parámetros hepáticos, en el primer estudio los niveles de AST disminuyeron significativamente en ambas dosis siendo la más alta la que mostro un mejor efecto, mientras que en el segundo trabajo ambas dosis se asemejaron al control, en el caso de la ALT, el primer trabajo a pesar de bajan considerablemente, no llegan a los niveles de los ratones sanos, mientras que el extracto de FSE ambas dosis se aproximan a los ratones sanos. En nuestro trabajo las concentraciones utilizadas fueron más bajas que las

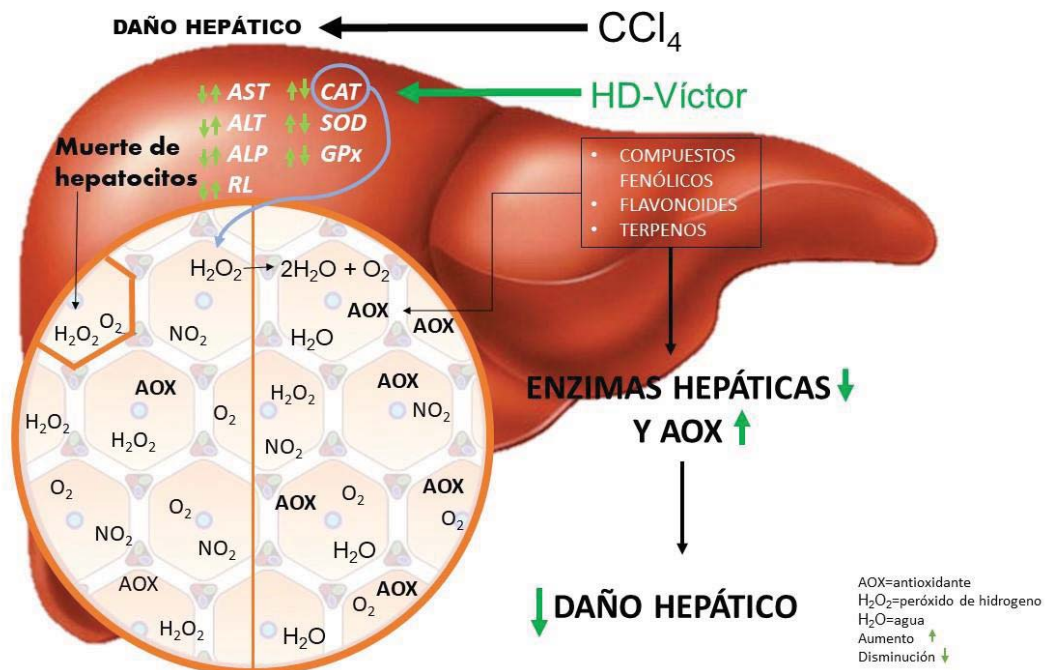
usadas en los trabajos antes mencionados, destacando el efecto ejercido en las dosis de 8 mg/kg que en el caso de las enzimas AST y ALP se asemejan al grupo basal, y la dosis de 125 mg/mL se aproxima a los niveles de los ratones sanos en el caso de ALT, por lo tanto, el efecto hepatoprotector que se ejerce se da aun a menor dosis que en los estudios las antes mencionados

Los antioxidantes intracelulares más importantes del cuerpo humano son el superóxido dismutasa (SOD), el glutatión peroxidasa (GPX) y la catalasa. SOD cataliza la reacción en la que dos moléculas de oxígeno molecular ( $O_2^-$ ) y dos moléculas de  $H_2$  se convierte en  $O_2$  y  $H_2O_2$  (Woith, *et al.*, (2017) este último producto una especie más estable pero que a altas concentraciones es perjudicial para las células; a su vez, el CAT elimina el exceso  $H_2O_2$  generando agua. SOD y CAT, junto con GPx y GST, disminuyen durante el estrés oxidativo (Hernández-Aquino & Muriel, 2018; Shin, *et al.*, 2018). La catalasa es una enzima común que se encuentra en todos los organismos y está presente en los peroxisomas, donde descompone dos moléculas de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en dos moléculas de  $H_2O$  y  $O_2$  ( $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ ). Tanto la catalasa como la GPX degradan el  $H_2O_2$ , la primera se puede generar también en otros sitios de la célula, como las mitocondrias y el citosol, y se considera fundamental para superar el estrés oxidativo intracelular (Shin, *et al.*, 2018). Los niveles más altos de actividad de la catalasa se miden en el hígado, los riñones y los glóbulos rojos (Glorieux & Calderón, 2017). Nuestro trabajo incluyó la evaluación de dicha enzima antioxidante y su papel para eliminar radicales libres generados de la peroxidación lipídica, indicando que el grupo tratado con 125 mg/mL es la que muestra mayor presencia de esta enzima, aumentando significativamente los niveles en este grupo respecto al grupo  $CCl_4$ .

En un modelo con daño hepático la catalasa suele disminuir al generarse mayor cantidad de ROS, la liberación de radicales libres y el daño celular que estas provocan, sin embargo nuestros resultados muestran un aumento de la enzima en proporción a la dosis administrada, por lo tanto, la actividad antioxidante generada por parte del extracto de HD-Víctor, podría estar relacionada con la mejoría en los niveles de las enzimas hepáticas,

que se encuentran disminuidas mostrando un efecto hepatoprotector en el modelo de daño hepático inducido por CCl<sub>4</sub> utilizado. En este sentido la dosis de 125 mg/mL es la que muestra un mayor efecto antioxidante.

Es por esto que se sugiere que el mecanismo de acción del genotipo amargo de *Sechium edule*, HD-Víctor, ayuda en la protección de órganos diana en este caso del hígado ante daños que generan una lesión pero que pueden desencadenar en otras enfermedades más graves. Los compuestos fenólicos, particularmente los flavonoides que contiene (Gómez, 2019) pueden reaccionar con las ROS y donar hidrógenos para hacerlas más estables, aumentando los antioxidantes como la catalasa, la cual reaccionara con el peróxido de hidrogeno separándolo en moléculas menos dañinas como es agua y el oxígeno, así la célula podrá mantener su estado sano sin llegar a apoptosis como lo harían los hepatocitos cuando ocurre un daño, además actuarían mediando la actividad de enzimas hepáticas disminuyendo los niveles que se elevaron producidos por el daño que se pueda generar, disminuyendo así el daño y reestableciendo el funcionamiento de este órgano (Figura 11).



**Figura 11.** Mecanismo de acción del extracto metanólico HD-Víctor en un modelo de daño hepático. Disminuyendo los radicales libres generados por el daño al aumentar los niveles de catalasa y así llevar a cabo su reacción enzimática, además de disminuir las enzimas hepáticas como ALP, AST y ALT liberadas al torrente sanguíneo con el daño, indicando un restablecimiento de sus funciones hepáticas.

## 11. CONCLUSIONES

El extracto del híbrido de Sechium HD-Víctor presenta efecto hepatoprotector, al disminuir los niveles de enzimas hepáticas como lo son ALT, AST Y ALP, las cuales fueron elevadas al inducir el daño por tetracloruro de carbono, funcionando como indicadoras de daño hepático, por lo que al bajar estos niveles nos muestra que puede ser un aliado en la protección de dicho órgano, además los niveles de catalasa del tejido hepático, se encuentra con una mayor expresión en todos los tratamientos de HD-Víctor, incluido el ácido gálico y menos expresada tanto en el grupo CCl<sub>4</sub> como en el vehículo, al ser una enzima antioxidante se mostró que efectivamente ejercía esa función, lo que puede correlacionarse con la disminución de las enzimas hepáticas y por lo tanto proteger al hígado de factores que puedan dañarlo, en este caso evitar la pérdida de hepatocitos por apoptosis inducida por el tetracloruro de carbono.

## 12. REFERENCIAS

- Abugomaa, A., & Elbadawy, M. (2020). Olive leaf extract modulates glycerol-induced kidney and liver damage in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(17), 22100-22111.
- Adeyemi, D. O., Ukwenya, V. O., Obuotor, E. M., & Adewole, S. O. (2014). Anti-hepatotoxic activities of *Hibiscus sabdariffa* L. in animal model of streptozotocin diabetes-induced liver damage. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 1-11.
- Aguiñiga-Sánchez, I. (2017). Efecto antitumoral in vivo de *Sechium P. Browne* (Cucurbitaceae) (Tesis Doctoral, Colegio de Postgraduados, Texcoco, Estado de México, México)
- Aguiñiga-Sánchez, I., Cadena-Iñiguez, J., Santiago-Osorio, E., Gómez-García, G., Mendoza-Núñez, V. M., Rosado-Pérez, J., ... & Soto-Hernández, R. M. (2017). Chemical analyses and in vitro and in vivo toxicity of fruit methanol extract of *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 1638-1645.
- Aguiñiga-Sánchez, I., Soto-Hernández, M., Cadena-Iñiguez, J., Ruíz-Posadas, L. D. M., Cadena-Zamudio, J. D., González-Ugarte, A. K., ... & Santiago-Osorio, E. (2015). Fruit extract from a *Sechium edule* hybrid induce apoptosis in leukaemic cell lines but not in normal cells. *Nutrition and cancer*, 67(2), 250-257.
- Anand, U., Jacobo-Herrera, N., Altemimi, A., & Lakhssassi, N. (2019). A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: Potential avenues of biocompatible drug discovery. *Metabolites*, 9(11), 258.
- Avendaño-Arrazate, C. H., Cadena-Iñiguez, J., Cisneros-Solano, V. M., Ramírez-Rodas, Y. C., & Mejía-Montoya, G. B. (2017, September). VARIACIÓN MORFOLÓGICA A NIVEL INTER E INFRAESPECÍFICO EN *Sechium* spp. In CAB ABSTRACTS.
- Bernal-Reyes, R., Castro-Narro, G., Malé-Velázquez, R., Carmona-Sánchez, R., González-Huezo, M. S., García-Juárez, I., ... & Velasco, J. V. R. (2019). The

Mexican consensus on nonalcoholic fatty liver disease. *Revista de Gastroenterología de México (English Edition)*, 84(1), 69-99.

- Brenner, C., Galluzzi, L., Kepp, O., & Kroemer, G. (2013). Decoding cell death signals in liver inflammation. *Journal of hepatology*, 59(3), 583-594.
- Cadena Iñiguez, J., Soto Hernández, M., Arévalo Galarza, M., Avendaño Arrazate, C. H., Aguirre Medina, J. F., & Ruiz Posadas, L. D. M. (2011). Caracterización bioquímica de variedades domesticadas de chayote *Sechium edule* (Jacq.) Sw. comparadas con parientes silvestres. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 17(SPE2), 45-55.
- Cadena, J. 2005. Caracterización morfoestructural, fisiológica, química y genética de diferentes tipos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw). Tesis doctoral. Colegio de Postgraduados, México.
- CADENA, J., AVENDAÑO, C., CISNEROS, V., ARÉVALO, M., & AGUIRRE, J. (2013). Modelo de Mejoramiento genético participativo en chayote (*Sechium* sp.). Biblioteca del Colegio de Postgraduados.
- Cadena-Iñiguez, J., Arévalo-Galarza, L., Avendaño-Arrazate, C. H., Soto-Hernández, M., Ruiz-Posadas, L. D. M., Santiago-Osorio, E., ... & Ochoa-Martínez, D. (2007). Production, genetics, postharvest management and pharmacological characteristics of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. *Fresh produce*, 1(1), 41-53.
- Campana, L., & Iredale, J. P. (2017, March). Regression of liver fibrosis. In *Seminars in Liver Disease* (Vol. 58, No. 01, pp. 001-010). Thieme Medical Publishers.
- Castillo, C., Benedito, J. L., López-Alonso, M., Miranda, M., & Hernández, J. (2001). Importancia del estrés oxidativo en ganado vacuno: en relación con el estado fisiológico (preñez y parto) y la nutrición. *Archivos de medicina veterinaria*, 33(1), 5-20.
- Chen, M., & Will, Y. (Eds.). (2018). *Drug-induced Liver Toxicity*. Humana Press.
- Cook, O. F. (1901). *The chayote: A tropical vegetable* (No. 28). US Department of Agriculture, Division of Botany.
- Dutta, S., Chakraborty, A. K., Dey, P., Kar, P., Guha, P., Sen, S., ... & Chaudhuri, T. K. (2018). Amelioration of CCl4 induced liver injury in swiss albino mice by



antioxidant rich leaf extract of *Croton bonplandianus* Baill. PloS one, 13(4), e0196411.

- El-Boghdady, N. A., Kamel, M. A., & El-Shamy, R. M. (2020). Omeprazole and *Spirulina Platensis* Ameliorate Steatohepatitis in Experimental Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 18(9), 426-434..
- El-Haskoury, R., Al-Waili, N., Kamoun, Z., Makni, M., Al-Waili, H., & Lyoussi, B. (2018). Antioxidant activity and protective effect of carob honey in CCl<sub>4</sub>-induced kidney and liver injury. *Archives of medical research*, 49(5), 306-313.
- Escandón-Rivera, S. M., Mata, R., & Andrade-Cetto, A. (2020). Molecules isolated from Mexican hypoglycemic plants: A Review. *Molecules*, 25(18), 4145.
- Farzaei, M. H., Zobeiri, M., Parvizi, F., El-Senduny, F. F., Marmouzi, I., Coy-Barrera, E., ... & Abdollahi, M. (2018). Curcumin in liver diseases: a systematic review of the cellular mechanisms of oxidative stress and clinical perspective. *Nutrients*, 10(7), 855.
- Feng, X., Zhong, G. J., Deng Ba, D. J., Yang, B., Chen, L., & Du, S. (2018). Hepatoprotective effect of *Herpetospermum caudigerum* Wall. on carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats. *Journal of cellular and molecular medicine*, 22(7), 3691-3697.
- Firdous, S., Sravanthi, K. A., Debnath, R. A., & Neeraja, K. A. (2012). Protective effect of ethanolic extract and its ethylacetate and n-butanol fractions of *Sechium edule* fruits against carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats. *Int J Pharm Par Sci*, 4(1), 354-9.
- Forbes, S. J., & Newsome, P. N. (2016). Liver regeneration—mechanisms and models to clinical application. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 13(8), 473.
- Friedman, S. L., Neuschwander-Tetri, B. A., Rinella, M., & Sanyal, A. J. (2018). Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nature medicine*, 24(7), 908-922.

- Glorieux, C., & Calderon, P. B. (2017). Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. *Biological chemistry*, 398(10), 1095-1108.
- Gómez G. G., (2019). Efecto Hepatoprotector “in vivo” de extractos de *Sechium P. Brown*. Tesis de maestría Colegio de Posgraduados, Texcoco, Estado de México, México.
- González-Santos, R., Cadena-Iñiguez, J., Morales-Flores, F. J., Ruiz-Vera, V. M., & Pimentel-López, J. (2017). Prediction of the effects of climate change on *Sechium edule* (Jacq.) Swartz varietal groups in México. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64(4), 791-804.
- Hadwan, M. H. (2018). Simple spectrophotometric assay for measuring catalase activity in biological tissues. *BMC biochemistry*, 19(1), 1-8.
- Heredia Ruiz, D., Fernández Caraballo, D., Alfonso Rodríguez, J., & Ballesteros Hernández, M. (2012). El estrés oxidativo en la insuficiencia renal asociada con hipertensión. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 31(1), 16-25.
- Hernández, E. A. G., Segura-Cobos, D., & López-Sánchez, P. (2016). Plants present in México with studies in metabolic syndrome. *J Med Plants Stud*, 4, 95-103.
- Hernández, X. (1985). *Biología agrícola: los conocimientos biológicos y su aplicación a la agricultura*. CECOSA.
- Hernández-Aquino, E., & Muriel, P. (2018). Beneficial effects of naringenin in liver diseases: Molecular mechanisms. *World journal of gastroenterology*, 24(16), 1679.
- INEGI, (2019). Nota técnica sobre las estadísticas de defunciones registradas 2018.
- Iñiguez-Luna, M. I., Cadena-Iñiguez, J., Soto-Hernández, R. M., Morales-Flores, F. J., Cortes-Cruz, M., Watanabe, K. N., ... & Cadena-Zamudio, J. D. (2021). Bioprospecting of *Sechium* spp. varieties for the selection of characters with pharmacological activity. *Scientific Reports*, 11(1), 1-12
- Jadon, A., Bhadauria, M., & Shukla, S. (2007). Protective effect of *Terminalia belerica* Roxb. and gallic acid against carbon tetrachloride induced damage in albino rats. *Journal of ethnopharmacology*, 109(2), 214-218.

- Jaeschke, H., Gores, G. J., Cederbaum, A. I., Hinson, J. A., Pessayre, D., & Lemasters, J. J. (2002). Mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicological sciences*, 65(2), 166-176.
- Khalil, S. R., El Bohi, K. M., Khater, S., Abd El-fattah, A. H., Mahmoud, F. A., & Farag, M. R. (2020). Moringa oleifera leaves ethanolic extract influences DNA damage signaling pathways to protect liver tissue from cobalt-triggered apoptosis in rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 200, 110716.
- Kim, D., Kim, G. W., Lee, S. H., & Han, G. D. (2016). Ligularia fischeri extract attenuates liver damage induced by chronic alcohol intake. *Pharmaceutical biology*, 54(8), 1465-1473..
- Lala, V., Goyal, A., Bansal, P., & Minter, D. A. (2020). Liver function tests. StatPearls [Internet].
- Lee, Y. S., Cho, I. J., Kim, J. W., Lee, M. K., Ku, S. K., Choi, J. S., & Lee, H. J. (2019). Hepatoprotective effects of blue honeysuckle on CCl4-induced acute liver damaged mice. *Food science & nutrition*, 7(1), 322-338.
- Lehmann-Werman, R., Magenheimer, J., Moss, J., Neiman, D., Abraham, O., Piyanzin, S., ... & Dor, Y. (2018). Monitoring liver damage using hepatocyte-specific methylation markers in cell-free circulating DNA. *JCI insight*, 3(12)..
- Lira Saade, R. (1996). Chayote, *Sechium edule* (Jacq.) Sw.
- Lira, R., Castrejon, J., Zamudio, S., & Rojas-Zenteno, C. (1999). Propuesta de ubicación taxonómica para los chayotes silvestres (*Sechium edule*, Cucurbitaceae) de México. *Acta Botanica Mexicana*, (49), 47-61.
- Liu, B., Fang, Y., Yi, R., & Zhao, X. (2019). Preventive Effect of Blueberry Extract on Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Mice. *Foods* (Basel, Switzerland), 8(2), 48.
- Loizzo, M. R., Bonesi, M., Menichini, F., Tenuta, M. C., Leporini, M., & Tundis, R. (2016). Antioxidant and carbohydrate-hydrolysing enzymes potential of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz (Cucurbitaceae) peel, leaves and pulp fresh and processed. *Plant foods for human nutrition*, 71(4), 381-387.

- Ma, X., McKeen, T., Zhang, J., & Ding, W. X. (2020). Role and mechanisms of mitophagy in liver diseases. *Cells*, 9(4), 837.
- Maity, S., Firdous, S. M., & Debnath, R. (2013). Evaluation of antidiabetic activity of ethanolic extract of *Sechium edule* fruits in alloxan-induced diabetic rats. *World J Pharm diabetis Sci*, 2(5), 3612-3621.
  - Maleš, Ž., Ledić Drvar, D., Duka, I., & Žužul, K. (2019). Application of medicinal plants in several dermatovenerological entities. *Acta Pharmaceutica*, 69(4), 525-531.
  - Mangwani, N., Singh, P. K., & Kumar, V. (2019). Medicinal plants: adjunct treatment to tuberculosis chemotherapy to prevent hepatic damage. *Journal of Ayurveda and integrative medicine*.
  - Mansouri, A., Gattolliat, C. H., & Asselah, T. (2018). Mitochondrial dysfunction and signaling in chronic liver diseases. *Gastroenterology*, 155(3), 629-647.
  - Mata, R., Figueroa, M., Navarrete, A., & Rivero-Cruz, I. (2019). Chemistry and biology of selected Mexican medicinal plants. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products* 108, 1-142.
  - Miller, D. M., Buettner, G. R., & Aust, S. D. (1990). Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(1), 95-108.
  - Mohamad, N. E., Yeap, S. K., Beh, B. K., Ky, H., Lim, K. L., Ho, W. Y., ... & Alitheen, N. B. (2018). Coconut water vinegar ameliorates recovery of acetaminophen induced liver damage in mice. *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), 1-9.
  - Montes, F. M., Vázquez, J. P. P., & Rosas, H. R. (2018). *Bioquímica de laguna y piña. Manual Moderno*.
  - Mumtaz, S. F., Paul, S., & Bag, A. K. (2013). Effect of *Sechium edule* on chemical induced kidney damage in experimental animals. *||| Bangladesh Journal of Pharmacology|||*, 8(1), 28-35.
  - Mundi, M. S., Velapati, S., Patel, J., Kellogg, T. A., Abu Dayyeh, B. K., & Hurt, R. T. (2020). Evolution of NAFLD and its management. *Nutrition in Clinical Practice*, 35(1), 72-84.

- Neeraja, K., Debnath, R., & Firdous, S. M. (2015). Cardioprotective activity of fruits of *Sechium edule*. ||| Bangladesh Journal of Pharmacology|||, 10(1), 125-30.
- Nelson-Dooley, C., Della-Fera, M. A., Hamrick, M., & Baile, C. A. (2005). Novel treatments for obesity and osteoporosis: targeting apoptotic pathways in adipocytes. *Current medicinal chemistry*, 12(19), 2215-2225.
- Newstrom, L. E. (1991). Evidence for the origin of chayote, *Sechium edule* (Cucurbitaceae). *Economic Botany*, 45(3), 410-428.
- NOM-062-ZOO-1999, N. O. M., & LA PRODUCCION, E. T. P. (1999). Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- Ojeaburu, S. I., & Oriakhi, K. (2021). Hepatoprotective, antioxidant and, anti-inflammatory potentials of gallic acid in carbon tetrachloride-induced hepatic damage in Wistar rats. *Toxicology Reports*, 8, 177-185.
- Olson, K. R., Gao, Y., DeLeon, E. R., Arif, M., Arif, F., Arora, N., & Straub, K. D. (2017). Catalase as a sulfide-sulfur oxido-reductase: an ancient (and modern?) regulator of reactive sulfur species (RSS). *Redox biology*, 12, 325-339.
- Otrubová, O., Turecký, L., Uličná, O., Janega, P., Luha, J., & Muchová, J. (2018). Therapeutic effects of N-acetyl-L-cysteine on liver damage induced by long-term CCl<sub>4</sub> administration. *General physiology and biophysics*, 37(1), 23-31..
- Parola, M., & Pinzani, M. (2019). Liver fibrosis: Pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues. *Molecular aspects of medicine*, 65, 37-55.
- Perazzoli, M. R. A., Perondi, C. K., Baratto, C. M., Winter, E., Creczynski-Pasa, T. B., & Locatelli, C. (2017). Gallic acid and dodecyl gallate prevents carbon tetrachloride-induced acute and chronic hepatotoxicity by enhancing hepatic antioxidant status and increasing p53 expression. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 40(4), 425-434.
- Rasool, M. K., Sabina, E. P., Ramya, S. R., Preeti, P., Patel, S., Mandal, N., ... & Samuel, J. (2010). Hepatoprotective and antioxidant effects of gallic acid in paracetamol-induced liver damage in mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 62(5), 638-643.

- Robinson, M. W., Harmon, C., & O'Farrelly, C. (2016). Liver immunology and its role in inflammation and homeostasis. *Cellular & molecular immunology*, 13(3), 267-276.
- Roesch-Dietlen, F., González-Santes, M., Sánchez-Maza, Y. J., Díaz-Roesch, F., Cano-Contreras, A. D., Amieva-Balmori, M., ... & Ortigoza-Gutiérrez, S. (2021). Influencia de los factores socioeconómicos y culturales en la etiología de la cirrosis hepática. *Revista de Gastroenterología de México*, 86(1), 28-35.
- Rosado-Pérez, J., Aguiñiga-Sánchez, I., Arista-Ugalde, T. L., Santiago-Osorio, E., & Mendoza-Núñez, V. M. (2018). The biological significance of oxidative stress, effects of fruits as natural edible antioxidants. *Current pharmaceutical design*, 24(40), 4807-4824.
- Rzedowski, J. (1991). Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *Acta botánica mexicana*, (14), 3-21.
- Sadeghi, H., Azarmehr, N., Razmkhah, F., Sadeghi, H., Danaei, N., Omidifar, N., ... & Doustimotlagh, A. H. (2019). The hydroalcoholic extract of watercress attenuates protein oxidation, oxidative stress, and liver damage after bile duct ligation in rats. *Journal of cellular biochemistry*, 120(9), 14875-14884.
- Sánchez-Valle, V., & Méndez-Sánchez, N. (2018). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Médica Sur*, 20(3), 161-168.
- Sarkar, B. R., & Dey, B. K. (2016). PHARMACOGNOSTICAL AND PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL SCREENING OF ROOTS OF SECHIUM EDULE (JACQ.) SW.
- Savchenko, I. V. (2017). Breeding new varieties and hybrids of agricultural plants. *Herald of the Russian Academy of Sciences*, 87(2), 104-110.
- Shiga, T. M., Peroni-Okita, F. H. G., Carpita, N. C., Lajolo, F. M., & Cordenunsi, B. R. (2015). Polysaccharide composition of raw and cooked chayote (*Sechium edule* Sw.) fruits and tuberous roots. *Carbohydrate polymers*, 130, 155-165.
- Shin, S. K., Cho, H. W., Song, S. E., & Song, D. K. (2018). Catalase and nonalcoholic fatty liver disease. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 470(12), 1721-1737.
- Stuart, D. (2014). Godofredo". Sayote". *Philippines medicinal plants*. Stuart Exchange, 12-15.

- Tan, B. L., Norhaizan, M. E., & Liew, W. P. P. (2018). Nutrients and oxidative stress: friend or foe?. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.
- Tang, D., Wang, F., Tang, J., Mao, A., Liao, S., & Wang, Q. (2017). *Dicranostiga leptopodu* (Maxim.) Fedde extracts attenuated CCl<sub>4</sub>-induced acute liver damage in mice through increasing anti-oxidative enzyme activity to improve mitochondrial function. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 85, 763-771.
- Tehrani, H. S., & Moosavi-Movahedi, A. A. (2018). Catalase and its mysteries. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 140, 5-12.
- Vieira, E. F., Pinho, O., Ferreira, I. M., & Delerue-Matos, C. (2019). Chayote (*Sechium edule*): A review of nutritional composition, bioactivities and potential applications. *Food chemistry*, 275, 557-568.
- Woith, E., Stintzing, F., & Melzig, M. F. (2017). SOD activity and extremophilicity: a screening of various plant species. *Die Pharmazie*, 72(8), 490–496.
- World Health Organization. (2002). Pautas generales para las metodologías de investigación y evaluación de la medicina tradicional (No. WHO/EDM/TRM/2000.1). Ginebra: Organización Mundial de la Salud
- Younossi, Z., Anstee, Q. M., Marietti, M., Hardy, T., Henry, L., Eslam, M., ... & Bugianesi, E. (2018). Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 15(1), 11-20.
- Yuan, H., Ma, Q., Ye, L., & Piao, G. (2016). The traditional medicine and modern medicine from natural products. *Molecules*, 21(5), 559.
- Zakaria, Z. A., Kamisan, F. H., Teh, L. K., & Salleh, M. (2019). Aqueous partition of methanolic extract of *Dicranopteris linearis* leaves protects against liver damage induced by paracetamol. *Nutrients*, 11(12), 2945.
- Zhang, Y., Miao, H., Yan, H., Sheng, Y., & Ji, L. (2018). Hepatoprotective effect of *Forsythiae Fructus* water extract against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice. *Journal of ethnopharmacology*, 218, 27–34