

Efectos del aceite de Sacha Inchi sobre los cambios histopatológicos inducidos por tetracloruro de carbono en hígado de ratas

A. Oyarzábal^a, S. Rodríguez^a, L. Ocaña^a, J.A. Medina^a, Y. Adames^{b*}, M.T. Díaz^c, V. Molina^a

^aDepartamento de Farmacología, Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Cuba.

^bCentro de Investigación en Plantas Proteicas y Productos Bionaturales, Cuba.

^cInstituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana, Cuba.

*Corresponding author, E-mails: yuadames@gmail.com; yadames@bionaturasm.cu.

Recibido: 16-03-22. Aceptado: 28-08-2022.

Publicado: 27-09-22.

RESUMEN

A nivel mundial, la incidencia y prevalencia de enfermedades hepáticas ha ido en aumento en las últimas décadas. Evidencias experimentales y clínicas demuestran que, sustancias con probados efectos antioxidantes y antiinflamatorios, pueden resultar estrategias terapéuticas prometedoras para el tratamiento de estas enfermedades. El aceite obtenido del fruto de *Plukenetia volubilis* L, conocida comúnmente por "Sacha Inchi", ejerce efectos antioxidantes y antiinflamatorios, lo que ha motivado el cultivo de esta planta en Cuba. El objetivo de este trabajo, fue evaluar los efectos del aceite de Sacha Inchi (ASI) sobre los cambios histopatológicos inducidos por CCl₄ en hígado de ratas. Los animales se distribuyeron aleatoriamente en siete grupos: un control negativo sin daño, y seis grupos a los cuales se les indujo el daño mediante la administración de CCl₄: un control positivo tratado con vehículo, y cuatro con ASI (25, 50, 100 y 200 mg/kg) y extracto de semilla de uva (250 mg/kg) (empleada como sustancia de referencia). La inyección intraperitoneal de CCl₄, indujo cambios histopatológicos en el parénquima hepático, observándose esteatosis, hepatocitos balonados e infiltración lobulillar de polimorfonucleares neutrófilos, los cuales fueron prevenidos tras la administración de dosis orales únicas de ASI, a partir de la dosis de 50 mg/kg. En conclusión, la administración de dosis orales únicas de ASI previno el daño agudo inducido por CCl₄ en el parénquima hepático de ratas, asociado a sus efectos antiinflamatorios.

Palabras claves: Enfermedad hepática; Aceite de Sacha Inchi cubano; Tetracloruro de carbono; Antiinflamatorio.

Effects of Cuban Sacha Inchi oil on carbon tetrachloride-induced histopathological changes in rat liver

ABSTRACT

Worldwide, the incidence and prevalence of liver diseases has been increasing in recent decades. Experimental and clinical evidence shows that substances with proven antioxidant and anti-inflammatory effects constitute promising therapeutic strategies for the treatment of these diseases. The oil obtained from the fruit of *Plukenetia volubilis* L, commonly known as Sacha Inchi, exerts antioxidant and anti-inflammatory effects, which has motivated the cultivation of this plant in Cuba. The objective of this work is to evaluate the effects of Sacha Inchi oil (SIO) on the histopathological changes induced by CCl₄ in the liver of rats. The animals were randomly distributed into seven groups: a negative control without damage and six groups in which damage was induced by administering CCl₄: a positive control treated with vehicle and four with SIO (25, 50, 100 and 200 mg/kg) and Grape Seed Extract (250 mg/kg) (used as reference substance). The intraperitoneal injection of CCl₄ induced histopathological changes in the hepatic parenchyma, observing steatosis, ballooned hepatocytes and lobular infiltration of polymorphonuclear neutrophils, which were prevented by the administration of single oral doses of SIO starting at a dose of 50 mg/kg. In conclusion, administration of single oral doses of SIO prevented acute CCl₄-induced damage in rat liver parenchyma associated with its anti-inflammatory effects.

Keywords: Liver disease, Cuban Sacha Inchi oil, Carbon tetrachloride, Anti-inflammatory.

INTRODUCCIÓN

El hígado es considerado un órgano dinámico y vital en las funciones multimetabólicas de los alimentos, medicamentos, productos químicos, productos biológicos y xenobióticos, así como, en la desintoxicación de productos virales y bacterianos. A nivel mundial, la alta

incidencia y prevalencia de diversas enfermedades y el aumento de la obesidad y la diabetes, se asocia a un mayor consumo de medicamentos, todo esto unido a los hábitos alimenticios inadecuados, ha incidido en el incremento de trastornos hepáticos en las últimas décadas [1-3].

Basado en las evidencias del papel del estrés oxidativo, y la inflamación en los trastornos hepáticos, se ha demostrado que, sustancias con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, resultan estrategias terapéuticas prometedoras para el tratamiento de estas enfermedades. Sin embargo, hasta la actualidad, los resultados siguen siendo poco concluyentes y controvertidos [4,5].

El modelo experimental de daño hepático inducido por tetracloruro de carbono (CCl₄), es empleado frecuentemente para evaluar los efectos hepatoprotectores de nuevas sustancias en desarrollo. En este modelo, el CCl₄ desencadena un complejo mecanismo fisiopatológico que culmina con cambios estructurales y funcionales en el hígado, donde el estrés oxidativo y la inflamación desempeñan un papel fundamental [6-9].

Las propiedades antioxidantes de los ácidos grasos saturados e insaturados se encuentran ampliamente documentadas. Así, los ácidos láuricos, oleico, cáprico, caprílico, palmítico, linolénico, linoleico y esteárico, tienen la capacidad de secuestrar *in vitro* radicales libres incluido el radical OH[•], así como, actividad quelante de metales. Estos ácidos grasos *in vivo*, previenen la generación de hidroperóxidos lipídicos, aumentan la actividad de las enzimas antioxidantes endógenas (GPx y SOD), e incrementan la capacidad antioxidante total [10-13]. Además, los ácidos grasos como el láurico, el cáprico, el caprílico y el mirístico, ejercen efectos antiinflamatorios debido a su capacidad de inhibir la actividad de la COX-2; mientras que, el ácido oleico inhibe ambas isoformas de la enzima (COX-1 y COX-2); y los ácidos palmitoleico y oleico inhiben la 5-LOX [14-17].

El aceite de Sacha Inchi (ASI) (*Plukenetia volubilis* L, familia Euphorbiaceae) contiene elevados niveles de ácidos grasos poliinsaturados, como el alfa linolénico (ω -3;18:3) (45%) y el linoleico (ω -6;18:2) (35%). Además, presenta un 20 % de otros ácidos grasos, como el ácido oleico, palmítico y esteárico [18,19]. Los efectos antioxidantes y antiinflamatorios demostrados para el

ASI, han motivado el creciente interés en su producción por la industria farmacéutica a nivel mundial [20,21]. En Cuba, la reciente introducción de su cultivo, ha permitido la obtención de este aceite por primera vez. Si bien, hasta el presente, no se han realizado estudios farmacológicos preclínicos que permitan evaluar los posibles efectos del ASI, obtenido en las condiciones climáticas de este país.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, la investigación tuvo como objetivo, evaluar los efectos del ASI sobre los cambios histopatológicos inducidos por CCl₄ en hígado de ratas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas Wistar machos (150-250 g), provenientes del Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), La Habana, Cuba; las cuales se adaptaron durante 7 días a las condiciones habituales del laboratorio, con temperatura de 20 a 25 °C, humedad relativa de 60 ± 5 %, ciclos de luz/oscuridad de 12 horas, y libre acceso al agua y la comida (pienso estándar para roedores procedente del CENPALAB).

El ASI, lote: Ac 19004, obtenido en el Centro de Investigación en Plantas Proteicas y Productos Bionaturales, La Habana, Cuba; se preparó en forma de suspensión en Tween 65/H₂O (2 %). El extracto de semilla de uva (ESU) (Lote R3992407, Extracts, Healing & Medicinal Herbs, Australia), utilizada como sustancia de referencia, se disolvió en goma acacia al 1 %.

El CCl₄, sustancia inductora del daño hepático, se preparó en forma de suspensión en aceite de soya (20 %) y se administró por vía intraperitoneal (i.p.) (1 mL/kg).

Diseño experimental

Tras culminar la cuarentena, las ratas se distribuyeron aleatoriamente en siete grupos (10 ratas/grupo): un control negativo tratado oralmente con vehículo Tween 65/H₂O (2 %) y por vía i.p. (aceite de soya), y seis grupos a los cuales se les indujo el daño mediante la administración de

CCl₄ (1 mL/kg, i.p; aceite de soya al 20 %): un control positivo tratado con vehículo Tween 65/H₂O (2 %), uno con ESU (250 mg/kg), y cuatro con ASI (25, 50, 100 y 200 mg/kg).

Todos los tratamientos (vehículo, ASI y ESU) se administraron como dosis orales únicas (5 mL/kg), una hora antes de la administración del CCl₄ o del vehículo (aceite de soya) según correspondía. Dieciocho horas después de administrar el CCl₄ a los animales, estos se anestesiaron en atmósfera de halotano y se colectaron alícuotas de tejido hepático para el análisis histopatológico.

La dosis escogida para la sustancia de referencia (ESU-250 mg/kg/día), se justifica por ser una dosis comprendida dentro del rango efectivo de esta sustancia, para prevenir la hepatotoxicidad inducida experimentalmente en ratas [22,23].

Análisis histopatológico

Para el análisis histopatológico, los fragmentos de hígado se fijaron en formaldehído neutro tamponado con fosfato de sodio al 4 %. Se estudiaron 10 áreas centrolobulillares ubicadas en la zona III del acini de Rappaport, por animal, a 200X. Se empleó el sistema de puntaje histopatológico descrito a continuación, según el cual se le asigna un valor a cada una de las variables: esteatosis, balonamiento de los hepatocitos e inflamación lobulillar [24].

- a) La esteatosis se evaluó mediante una escala de 0 a 3 según el porcentaje de área de tejido afectada, donde: 0-menos del 5 %, 1- entre 5-33 %, 2- entre 34-66 % y 3- más del 66 %.
- b) El balonamiento de los hepatocitos, se calificó de 0 a 2; se consideró 0: la ausencia de células balonadas, 1: escasas células balonadas, y 2: abundantes células balonadas.
- c) El grado de infiltración lobulillar (0-3), se determinó teniendo en cuenta la presencia y cantidad de focos de polimorfonucleares neutrófilos por campo histológico, asignándole 0: a la ausencia de focos, 1: 1 foco, 2: 2-4

focos, y 3: más de 4 focos.

- d) El grado histopatológico de daño hepático global de cada animal, se obtuvo mediante la suma de los valores de las tres variables, por lo que se encuentra en un intervalo de 0 a 8 [24].

Manejo de datos y Análisis Estadístico

Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante el test no paramétrico de la U de Mann Whitney. A priori, se fijó un nivel de significación $\alpha = 0,05$. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete comercial Statistic para Windows (Release 4.2, Stat Soft, Inc USA). El análisis de la relación dosis/efecto, se realizó mediante el método de regresión lineal y correlación, utilizando el programa Origin 8.0.

RESULTADOS

La inyección i.p. de CCl₄, indujo cambios histopatológicos a nivel del parénquima hepático, específicamente en la región centrolobulillar, donde los hepatocitos presentaron esteatosis macrovesicular y microvesicular, siendo esta última la predominante. También, se observaron hepatocitos balonados e infiltración lobulillar de polimorfonucleares neutrófilos. Así, se apreciaron daños histopatológicos significativos en los animales del grupo control positivo (tratados con vehículo), respecto a los animales del grupo control negativo (sin daño), en los cuales se observó la estructura histológica normal del hígado (Figura 1, Tablas 1 y 2). Por su parte, el ESU (sustancia de referencia) disminuyó significativamente la esteatosis, el balonamiento de los hepatocitos y la infiltración lobulillar, así como, el daño hepático global, con respecto al control positivo, alcanzando en todos los casos más de un 50 % de inhibición.

El efecto del ASI sobre la esteatosis se muestra en la Tabla 1. La dosis de 25 mg/kg no produjo efecto significativo sobre esta variable, mientras que las dosis de 50-200 mg/kg, disminuyeron considerablemente el grado histopatológico de esteatosis con respecto al grupo control positivo.

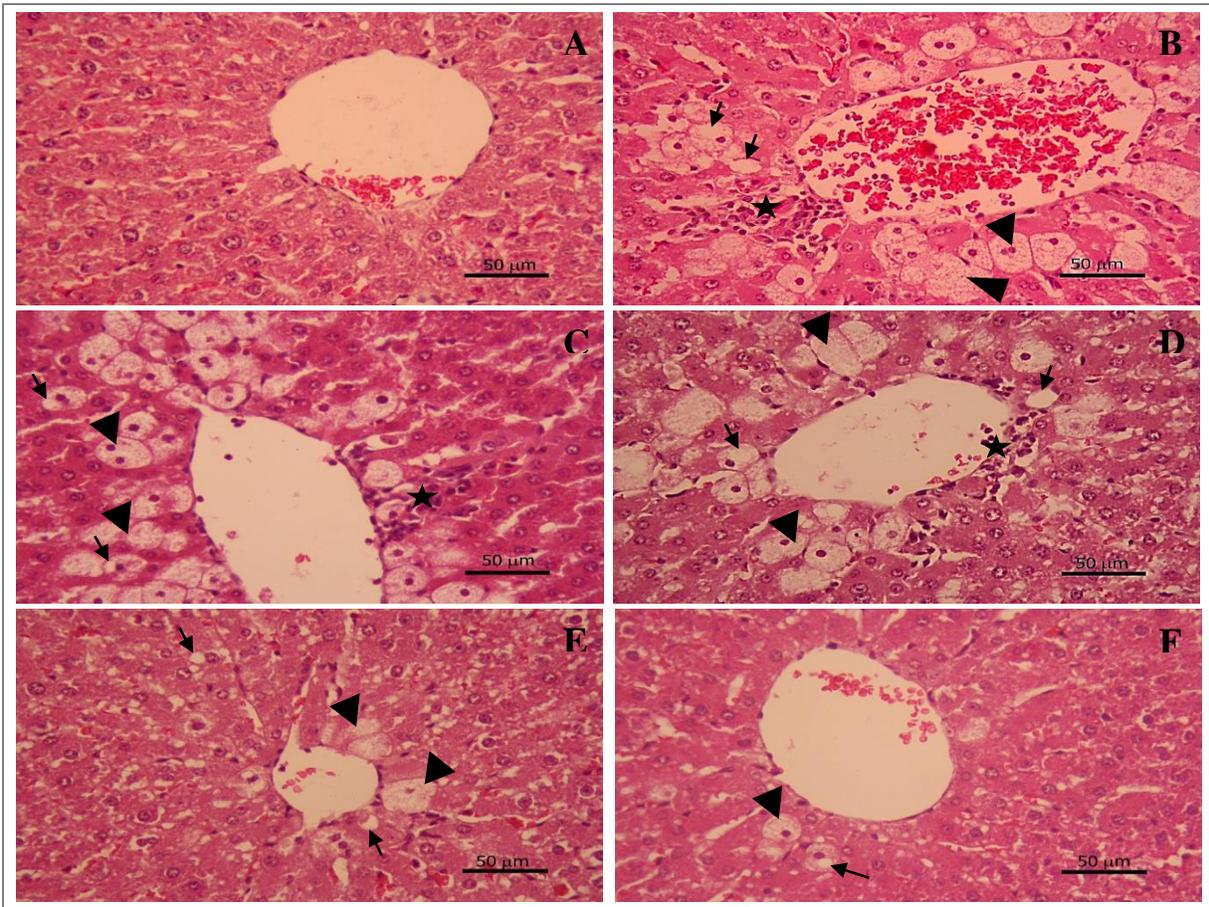


Fig. 1. Efectos del aceite de Sacha Inchi sobre marcadores histopatológicos de daño hepático inducido por CCl₄ en ratas. A) Control negativo, B) Control positivo, C) Aceite de Sacha Inchi 25 mg/kg, D) Aceite de Sacha Inchi 50 mg/kg, E) Aceite de Sacha Inchi 200 mg/kg, F) Extracto de semilla de uva 250 mg/kg. Flechas: esteatosis, puntas de flecha: balonamiento de hepatocitos, estrellas: infiltrado inflamatorio.

Tabla 1. Efectos del ASI, administrado como dosis orales únicas, sobre las variables de daño histopatológico hepático inducido por CCl₄ en ratas.

Tratamiento	Esteatosis	I %	Balonamiento de hepatocitos	I %	Infiltración lobulillar	I %
Control negativo (vehículo)	0,00 ± 0,00 ***	-	0,00 ± 0,00 ***	-	0,00 ± 0,00 ***	-
Control positivo (vehículo + CCl ₄)	2,70 ± 0,15	-	2,05 ± 0,19	-	1,90 ± 0,28	-
ASI (25 mg/kg) + CCl ₄	2,50 ± 0,17	7,4	1,60 ± 0,17	21,9	1,30 ± 0,26	31,6
ASI (50 mg/kg) + CCl ₄	2,20 ± 0,13 *	18,5	1,50 ± 0,15 *	26,8	1,00 ± 0,21 *	47,4
ASI (100 mg/kg) + CCl ₄	1,70 ± 0,30 *	37,0	1,35 ± 0,15 *	34,1	0,90 ± 0,10 **	52,6
ASI (200 mg/kg) + CCl ₄	1,50 ± 0,34 *	44,4	1,30 ± 0,15 *	36,6	0,80 ± 0,13 **	57,9
ESU (250 mg/kg) + CCl ₄	1,20 ± 0,44 *	55,5	1,00 ± 0,26 **	51,2	0,90 ± 0,28 *	52,6

Notas. ASI: aceite de Sacha Inchi; CCl₄: tetracloruro de carbono; ESU: extracto de semilla de uva; I: Inhibición. Datos como media ± EEM (error estándar de la media), *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001. Comparación vs grupo control positivo. Test de la U de Mann Whitney.

Tabla 2. Efectos del ASI, administrado como dosis orales únicas, sobre el grado histopatológico de daño hepático inducido por CCl₄ en ratas.

Tratamiento	Daño hepático global	I %
Control negativo (vehículo)	0,00 ± 0,10 ***	-
Control positivo (vehículo + CCl ₄)	6,65 ± 0,30	-
ASI (25 mg/kg) + CCl ₄	5,40 ± 0,37	18,8
ASI (50 mg/kg) + CCl ₄	4,70 ± 0,40 *	29,3
ASI (100 mg/kg) + CCl ₄	3,95 ± 0,44 *	40,6
ASI (200 mg/kg) + CCl ₄	3,60 ± 0,52 *	45,9
ESU (250 mg/kg)+ CCl ₄	3,10 ± 0,95 *	53,4

Notas. ASI: aceite de Sacha Inchi; CCl₄: tetracloruro de carbono; ESU: extracto de semilla de uva; I: Inhibición. Datos como media ± EEM (error estándar de la media), **p* < 0,05; ***p* < 0,01; ****p* < 0,001. Comparación vs grupo control positivo. Test de la U de Mann Whitney.

Por consiguiente, se alcanzó el mayor porcentaje de inhibición a la dosis de 200 mg/kg (44,4 %). El efecto del ASI sobre la esteatosis fue dependiente de la dosis (*p*=0,003; *r*=0,978). Además, el ASI disminuyó significativamente el balonamiento de los hepatocitos a partir de la dosis de 50 mg/kg, y el mayor porcentaje de inhibición se alcanzó con la dosis de 200 mg/kg (36,6 %), el efecto resultó dependiente de la dosis (*p*=0,039; *r*=0,895). De manera similar, previno de modo dependiente de la dosis (*p*=0,004; *r*=0,976), la infiltración de polimorfonucleares neutrófilos en la región centrolobulillar, donde 25 mg/kg no produjo efectos significativos, y la mayor eficacia (57,9 % de inhibición) se obtuvo con la dosis mayor ensayada (200 mg/kg).

Por su parte, el análisis global del efecto del ASI sobre los daños histopatológicos (suma de los puntajes de las tres variables independientes), demostró que todas las dosis ensayadas (25-200 mg/kg) disminuyeron significativamente el grado histopatológico de daño hepático global (Tabla 2). El efecto del ASI sobre el daño hepático global fue dependiente de la dosis (*p*=0,001; *r*=0,989) y el mayor porcentaje de inhibición (45,9 %) se obtuvo a la dosis de 200 mg/kg.

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio demuestran que la administración de dosis orales únicas de ASI ejerce un efecto protector, dependiente de la dosis, sobre el daño histopatológico inducido por CCl₄ en el parénquima hepático de ratas.

Teniendo en cuenta que las principales alteraciones histopatológicas (esteatosis, balonamiento de los hepatocitos e infiltración lobulillar) inducidas por el CCl₄ en el hígado se presentaron fundamentalmente en la región centrolobulillar, y que, en esta zona, denominada zona III del lobulillo hepático, se encuentra la mayor concentración de las enzimas que intervienen en el metabolismo hepático; el análisis histopatológico se enfocó a esa región [25,26].

Los cambios histopatológicos observados en el grupo control positivo, inducidos por la administración de CCl₄, se corresponden con reportes previos [27]. La esteatosis se identifica como pequeñas inclusiones de grasa microvesicular que rodean el núcleo celular o, en menor grado, como inclusiones macrovesiculares que desplazan el núcleo a la periferia de la célula. En la patogénesis del daño inducido por el CCl₄ en el hígado, la esteatosis se asocia a un aumento de los ácidos grasos, ya sea por un

incremento de la captación o síntesis de estos ácidos, o por la disminución de la beta oxidación de los mismos; incluso, en algunos casos, puede estar dada por alteraciones en varios de estos mecanismos a la vez [28]. El balonamiento de los hepatocitos es otra de las manifestaciones histopatológicas provocadas por el CCl₄, y se considera uno de los cambios histopatológicos mínimos para establecer el diagnóstico de enfermedad hepática grasa no alcohólica. El balonamiento es la fase inicial del proceso de necrosis o apoptosis, y se caracteriza por el aumento de tamaño de los hepatocitos, debido a la acumulación de gotas de grasa, dilatación del retículo endoplásmico y daño del citoesqueleto celular [29,30]. Por otra parte, la infiltración lobulillar de neutrófilos demostrada en el grupo control positivo, se corresponde con estudios previos, en los cuales se ha descrito la infiltración de células inflamatorias en la región centrolobulillar, con predominio de los polimorfonucleares neutrófilos (marcadores de inflamación aguda) en este modelo [31].

El ESU, empleado como sustancia de referencia, redujo significativamente el daño histopatológico hepático inducido por el CCl₄, corroborando así, los efectos hepatoprotectores del ESU descritos por otros autores en condiciones similares [32,33]. Estos resultados validan el modelo empleado en estas condiciones experimentales.

Los efectos del ASI sobre las tres variables histopatológicas analizadas (esteatosis, balonamiento de los hepatocitos e infiltración lobulillar), resultó dependiente de la dosis, donde la dosis mínima efectiva fue 50 mg/kg en todos los casos, ya que la dosis de 25 mg/kg no modificó estas alteraciones hepáticas, y no se pudo determinar la dosis máxima efectiva, ni la DE₅₀, puesto que la dosis mayor ensayada (200 mg/kg) alcanzó los mayores porcentajes de inhibición. De modo similar, la dosis de 200 mg/kg alcanzó la mayor eficacia (45,9 % de inhibición) para prevenir el daño hepático global, si bien en este caso, la dosis de 25 mg/kg también resultó efectiva.

El efecto tóxico del CCl₄ sobre el parénquima hepático, se produce debido a la generación del radical triclorometilo CCl₃[•] que es altamente reactivo, el cual, a su vez, reacciona con el O₂ formando el radical peróxido triclorometil Cl₃COO[•], altamente tóxico, el cual promueve procesos celulares degenerativos, como la peroxidación lipídica y puede conducir a la necrosis. Además, durante el daño oxidativo, se liberan diversos mediadores inflamatorios, como la interleucina-1beta (IL-1b), interleucina-6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF-α) [34]. En este contexto, los efectos del ASI sobre la infiltración de los polimorfonucleares neutrófilos, se corresponden con los efectos antiinflamatorios *in vitro* e *in vivo*, descritos para el Sacha Inchi en estudios previos [20,35].

Por tanto, el ASI ejerce un efecto protector sobre el daño hepático inducido por CCl₄, que pudiera explicarse, al menos parcialmente, por sus efectos antiinflamatorios demostrados en este trabajo. Si bien, futuros estudios deberán demostrar y profundizar en otros mecanismos involucrados en los efectos hepatoprotectores del ASI, donde se evalúen marcadores inflamatorios, como el factor de necrosis tumoral (TNF-α), interleucinas, el factor nuclear (NF-κβ), entre otros.

CONCLUSIONES

La administración de dosis orales únicas de ASI, previno el daño agudo inducido por CCl₄ en el parénquima hepático de ratas asociado a sus efectos antiinflamatorios.

REFERENCIAS

- [1] Cotter T.G., Rinella M. (2020) "Nonalcoholic Fatty Liver Disease 2020: The State of the Disease" *Gastroenterology*, 158(7): 1851-1864.
- [2] Peng C., Stewart A.G., Woodman O.L., Ritchie R.H., Qin C.X. (2020) "Non-Alcoholic Steatohepatitis: A Review of Its Mechanism, Models and Medical Treatments" *Front Pharmacol*, 11:603926.
- [3] Tsochatzis E.A., Bosch J., Burroughs A.K. (2014)

- “Liver cirrhosis” *Lancet*, 383:1749–61.
- [4] Ali M., Khan T., Fatima K., Ali Q.A., Ovais M., Khalil A.T., Ullah I., Raza A., Shinwari Z.K., Idrees M. (2017) “Selected hepatoprotective herbal medicines: Evidence from ethnomedicinal applications, animal models, and possible mechanism of actions” *Phytotherapy Research*, 32: 199–215.
- [5] Hussain A., Ali A.A., Ayaz S., Akram M., Ali A., Mehar P., Tariq W.Y. (2021) “Hepatoprotective effects of various medicinal plants: A systematic review” *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10(3): 109-121.
- [6] Ingawale D.K., Mandlik S.K., Naik S.R., (2014) “Models of hepatotoxicity and the underlying cellular, biochemical and immunological mechanisms: A critical discussion” *Environ Toxicol Pharmacol*, 37: 118-33.
- [7] Ničković V.P., Novaković T., Lazarević S., Šulović L., Živković Z, Živković J., Stojanovic N.M., Sokolovic D.T. (2018) “Pre- vs. post-treatment with melatonin in CCl4-induced liver damage: Oxidative stress inferred from biochemical and pathohistological studies” *Life Sciences*, 202: 28-34.
- [8] Mughal T.A., Saleem M.Z., Ali S., Anwar K.K., Bashir M.M., Babar M., Khan M.A. (2019) “Evaluation of Hepatotoxicity of Carbon Tetrachloride and Pharmacological Intervention by Vitamin E in Balb C Mice” *Pakistan J Zool*, 51(2): 755-761.
- [9] Yoshioka H., Usuda H., Miura N., Fukuishi N., Nonogaki T., Onosaka S. (2017) “Vitamin D3-induced hypercalcemia increases carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity through elevated oxidative stress in mice” *PLoS ONE*, 12(4): e0176524.
- [10] Chan R., Aalt B. (2010) “Oxidative Stress and Vascular Function: Implications for Pharmacologic Treatments” *Curr Hypertens Rep*, 12(3):154-61.
- [11] Sengupta A., Ghosh M., Bhattacharyya D.K. (2015) “In vitro antioxidant assay of medium chain fatty acid rich rice bran oil in comparison to native rice bran oil” *Journal of Food Science and Technology*, 52(8): 5188-519.
- Acta Microscópica* Vol. 31, No. 2, 2022, pp. 49-50
- [12] Lee S.I., Kang K.S. (2017) “Function of capric acid in cyclophosphamide-induced intestinal inflammation, oxidative stress, and barrier function in pigs” *Scientific Reports*, 7(1): 16530.
- [13] Song I.B., Gu H., Han H.J., Lee N.Y., Cha J.Y., Son Y.K., Kwon J. (2018) “Omega-7 inhibits inflammation and promotes collagen synthesis through SIRT1 activation” *Applied Biological Chemistry*, 61(4): 433-439.
- [14] Pérez Y., Oyarzábal A., Sierra R., Mas R., Molina V., Jiménez S., González V. (2017) “Inhibition of cyclooxygenase (COX) and 5-lipoxygenase (5-LOX) by D-005 (A lipid extract of *Acrocomia crispera* fruits)” *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat*, 16 (3): 319–328.
- [15] Huang W.C., Tsai T.H., Chuang L.T., Li Y.Y., Zouboulis C.C., Tsai P.J. (2014) “Anti-bacterial and anti-inflammatory properties of capric acid against *Propionibacterium acnes*: a comparative study with lauric acid” *Journal of Dermatological Science*, 73(3): 232-240.
- [16] Chapkin R.S., Davidson L.A., Weeks B.R., Lupton J.R., McMurray D.N. (2007) “Immunomodulatory effects of (n-3) fatty acids: putative link to inflammation and colon cancer” *Journal of Nutrition*, 137: 200S-204S.
- [17] Guidoni M., De Christo Scherer M.M., Figueira M.M., Schmitt E.F., Almeida L.C., Scherer R., Bogusz S., Fronza M. (2019) “Fatty acid composition of vegetable oil blend and in vitro effects of pharmacotherapeutical skin care applications” *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 52(2): e8209.
- [18] Paucar L.M., Salvador R., Guillén J., Capa J., Moreno C. (2015) “Estudio comparativo de las características físico-químicas del aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), aceite de oliva (*Olea europaea*) y aceite crudo de pescado” *Scientia Agropecuaria*, 6(4): 279-290.
- [19] Alayón A.N., Echeverri I. (2016) “Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* linneo): ¿una experiencia ancestral desaprovechada? Evidencias clínicas asociadas a su consumo” *Eev Chil Nutr*, 43(2): 167-171.

- [20] Ambulay J.P., Rojas P.A., Timoteo O.S., Barreto T.V., Colarossi A. (2020) “Effect of the emulsion of Sacha Inchi (*Plukenetia huayabambana*) oil on oxidative stress and inflammation in rats induced to obesity” *J Functional Foods*, 64: 103621.
- [21] Aguilar J.L., Paico S.R.D., Lozada-Requena I.A., Cabello M.A. (2015) “Comparative evaluation of the antiinflammatory effect of two varieties of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* and *Plukenetia huayabambana*) in mice” *Front Immunol*.
- [22] Rekha S., Sowjanya P., Babu N.G., (2013) “Effect of *Vitis vinifera* L Seed Extract on Hepatic Marker Enzymes and Oxidative Stress against Acetaminophen Induced Hepatotoxicity in Rats” *Inter J Pharma and Chemic Scien*, 2(2): 738-743.
- [23] Oyarzábal A., Pérez Y., Jiménez S., Molina V. (2021) “Effects of D-005, lipid extract of the fruit of *Acrocomia Crispa*, on oxidative stress induced by carbon tetrachloride in rats” *Rev CENIC Cienc Biol*, 52(2): 137-145.
- [24] Kleiner D.E., Brunt E.M., Van Natta M., Behling C., Contos M.J., Cummings O.W., Ferrell L.D., Liu Y.C., Torbenson M.S., Unalp-Arida A., Yeh M., McCullough A.J., Sanyal A.J. (2005) “Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease” *Hepatology*, 41(6): 1313-1321.
- [25] Steinman J.B., Salomao M.A., Pajvani U.B. (2021) “Zonation in NASH—A key paradigm for understanding pathophysiology and clinical outcomes” *Liver International*, 41(11): 2534-2546.
- [26] McGill M.R., Jaeschke H. (2019) “Animal models of drug-induced liver injury” *BBA-Molecular Basis of Disease*, 1865(5): 1031-1039.
- [27] Tong X., Wang Q., Sun Y., Chen S., Ou X., Jia J., You H. (2021) “Pathological Assessment for Clinical Trials of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease” *Japanese J Gastro Hepato*, 7(4): 1-7.
- [28] De A., Duseja A. (2020) “Natural History of Simple Steatosis or non-alcoholic fatty liver” *J Clin Exp Hepatol*, 10(3): 255-262.
- [29] Verdelho M., Cortez-Pinto H. (2011) “Cell death and nonalcoholic steatohepatitis: where is ballooning relevant?” *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 5(2): 213–222.
- [30] Lackner C. (2011) “Hepatocellular ballooning in nonalcoholic steatohepatitis: the pathologist’s perspective” *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 5(2): 223–231.
- [31] Ibrahim S.H., Hirsova P., Gores G.J. (2018) “Non-alcoholic steatohepatitis pathogenesis: sublethal hepatocyte injury as a driver of liver inflammation” *Gut* 67(5): 963-972.
- [32] Deng J.S., Chang Y.C., Wen C.L., Liao J.C., Hou W.C., Amagaya S., Huang S.S., Huang G.J. (2012) “Hepatoprotective effect of the ethanol extract of *Vitis thunbergii* on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats through anti-oxidative activities” *J Ethnopharmacol*, 142(3): 795-803.
- [33] Sharma S.K., Suman, Vasudeva N. (2012) “Hepatoprotective activity of *Vitis vinifera* root extract against carbon tetrachloride-induced liver damage in rats” *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 69(5): 933-937.
- [34] Xu Y., Xie L., Tang J., He X., Zhang Z., Chen Y., Zhou J., Gan B., Peng W. (2021) “Morchella importuna Polysaccharides Alleviate Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Oxidative Injury in Mice” *Front Physiol*, 12: 669331.
- [35] Quinteros M.F., Vilcacundo R., Carpio C., Carrillo W. (2016) “Digestibility and anti-inflammatory activity in vitro of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) Proteins” *Asian J Pharm Clin Res*, 9: 303-306.