

Efecto protector de la ingesta de cáscara del *Citrus aurantifolia* (limón) frente al daño hepático inducido por etanol en ratones

Protective effect of ingesting *Citrus aurantifolia* (lemon) peel against hepatic damage induced by ethanol in mice

César Adolfo FLORES VALLE¹, Grace PALACIOS LEIVA², José Benjamín CABALLERO CALAMPA³, Óscar Gabriel PAJUELO RÍOS⁴, José Manuel HUAMÁN GUTIÉRREZ⁵, Óscar Gustavo HUAMÁN GUTIÉRREZ⁶

1 Hospital de Emergencias Villa El Salvador - MINSA -Escuela Profesional de Nutrición -Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

2 Hospital Uldarico Rocca Fernández – EsSalud - Escuela Profesional de Nutrición - Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3 Hospital Nacional Hipólito Unanue – Escuela Profesional de Nutrición - Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

4 Escuela Profesional de Nutrición – Facultad de Medicina - Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

5 Doctor en Estadística – Departamento Académico de Estadística - Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

6 Instituto de Investigación de Bioquímica y Nutrición – Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Recibido: 29/mayo/2025. Aceptado: 29/julio/2025.

RESUMEN

Introducción: Las enfermedades hepáticas en el Perú constituyen una importante causa de morbilidad y mortalidad. El consumo de etanol aumenta el riesgo de las personas a desarrollar cirrosis hepática y otras enfermedades más.

Objetivo: Determinar el efecto protector de la ingesta de cáscara del *Citrus aurantifolia* (limón) frente al daño hepático inducido por etanol en ratones (*Mus musculus*).

Materiales y métodos: Estudio experimental, aleatorizado. Se emplearon 35 ratones *Mus musculus* machos adultos. Se utilizaron las cáscaras de *Citrus aurantifolia* (limón), que se obtuvieron por pelado manual, y luego fue secada en estufa a 40 °C por 72 horas, luego se molió en molino y posteriormente se tamizó. Se suspendió en un medio coloidal de agua con fécula de maíz al 1%. Los ratones fueron distribuidos de forma aleatoria en cinco grupos (n=7), recibiendo los siguientes tratamientos, por cinco días, vía peroral: grupos I y II suspensión de almidón 1%, grupo III: silimarina 100 mg/kg

en suspensión de almidón 1%; grupo IV: cáscara de limón 100 mg/kg y grupo V: cáscara de limón 400 mg/kg. Durante el periodo de tratamiento el grupo I solo recibió en su bebedero solución de glucosa 5%, mientras que los grupos del II-V recibieron en sus bebederos etanol al 5% en solución glucosada (5%) para consumo *ad libitum*. Al sexto día, concluido el tratamiento, se les mantuvo en ayuno de 12 horas y posteriormente fueron sacrificados.

Resultados: Los grupos IV y V recibieron presentaron mayores niveles de GSH con respecto al grupo II (grupo IV, 68,2% mayor y grupo V, 77,3% mayor) (p<0,05); se observó también un menor daño histológico en los grupos IV-V (hígado graso), comparado con el grupo II (hepatitis tóxica severa); sin embargo, los niveles de lipoperoxidación en el tejido hepático de los grupos IV-V fueron significativamente mayores (grupo IV, 35,4% mayor; y grupo V, 55,6% mayor), respecto al grupo II.

Conclusiones: La administración del *Citrus aurantifolia* presenta efecto hepatoprotector expresado en el marcador GSH e histológico.

PALABRAS CLAVE

Modelos de Animal Experimental, hepatopatías, Hígado Graso, Citoprotección, Alimentos Funcionales. (Fuente: DeCS/MeSH BIREME).

Correspondencia:
César Adolfo Flores Valle
cfloresnutri@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Liver diseases in Peru are a major cause of morbidity and mortality. Ethanol consumption increases the risk of developing liver cirrhosis and other diseases.

Objective: To determine the protective effect of ingesting *Citrus aurantifolia* (lemon) peel against ethanol-induced liver damage in mice (*Mus musculus*).

Materials and methods: A randomized, experimental study was conducted. Thirty-five adult male *Mus musculus* mice were used. *Citrus aurantifolia* (lemon) peels were obtained by manual peeling, then oven-dried at 40 °C for 72 hours. They were then ground in a mill and subsequently sieved. They were suspended in a colloidal medium of water with 1% cornstarch. The mice were randomly assigned to five groups (n=7) and received the following oral treatments for five days: groups I and II: 1% starch suspension; group III: 100 mg/kg silymarin in 1% starch suspension; group IV: 100 mg/kg lemon peel; and group V: 400 mg/kg lemon peel. During the treatment period, group I received only 5% glucose solution in their water bowl, while groups II-V received 5% ethanol in glucose solution (5%) ad libitum. On the sixth day, after treatment, mice were fasted for 12 hours and then sacrificed.

Results: Groups IV and V received higher GSH levels than group II (group IV, 68.2% higher and group V, 77.3% higher) ($p < 0.05$); Less histological damage was also observed in groups IV-V (fatty liver) compared to group II (severe toxic hepatitis); however, lipid peroxidation levels in the liver tissue of groups IV-V were significantly higher (group IV, 35.4% higher; and group V, 55.6% higher) than in group II.

Conclusions: *Citrus aurantifolia* administration has a hepatoprotective effect, expressed in the GSH and histological markers.

KEYWORDS

Experimental Animal Models, Liver Diseases, Fatty Liver, Cytoprotection, Functional Foods. (Source: DeCS/MeSH BIREME)

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades hepáticas pueden ser agudas o crónicas, local o difusa, leve o grave, así como reversible o irreversible, siendo la cirrosis hepática la causa más frecuente de presentación crónica asociada a una tasa de mortalidad de 15 por cada 100 000 habitantes^{1,2}. El consumo de alcohol aumenta el riesgo de las personas a desarrollar cirrosis hepática y otras enfermedades más. En América Latina el Perú es el sexto país de con mayor consumo de alcohol, siendo 8,1 L per cápita³.

La mayor parte del etanol consumido se oxida en el hígado, donde puede formar acetaldehído y luego acetato. En el hígado se realiza la oxidación a través de tres vías enzimáticas, la vía alcohol deshidrogenasa (ADH), presente en el citosol, el

sistema enzimático oxidativo de etanol (MEOS, microsomal ethanol oxidizing system) y la vía de las catalasas en los peroxisomas, siendo este último poco activo. El producto final de cualquiera de las tres vías es el acetaldehído⁴.

El estrés oxidativo y sus consecuencias, daño celular, pueden ser reducidas a través de la ingesta de antioxidantes de diversos alimentos, destacando entre ellos frutas y verduras. Estas moléculas, como los flavonoides, están presentes en buena cantidad en los cítricos, como el limón⁵.

Las frutas cítricas presentan de manera natural un equilibrio de los principales compuestos bioactivos como vitaminas, minerales, fibras dietéticas y fitoquímicos como flavonoides y carotenoides (precursores de la vitamina A). La naringina y la hesperidina, los glicósidos de flavanona, muestran una pléthora de propiedades biológicas ampliamente en modelos animales (efectos antihiper glucémicos, antiinflamatorios, antioxidantes, antiadipogénicas y antihipercolesterolémicos, etc.), así como *in vitro*. Se ha descrito en estudios epidemiológicos que las sinergias entre los compuestos bioactivos cítricos, considerando que algunos se distribuyen principalmente en las cáscaras y su cantidad es mucho menor en la pulpa o el jugo, contribuyen a sus múltiples beneficios para la salud en la prevención de distintas enfermedades crónicas⁶.

El fruto llamado limón es de pulpa jugosa, perfumada y suave, normalmente es de forma oval y/o esférica. La corteza delgada, de color amarillo verdoso que cambia a amarillo cuando el fruto ha pasado su estado de madurez comercial. En el interior encontramos una pulpa carnosa, cuyo color va de amarillo a verde, de sabor ácido y jugoso, separada por membranas⁷.

En los cítricos la concentración de flavonoides es mayor en el albedo y corazón, seguidos del flavedo, membranas y pulpa, siendo menor en el zumo. La extracción de estos compuestos resulta de mucho interés por parte de la industria alimentaria y farmacéutica. En estudios previos en cáscara de cítricos de diferentes especies, se encontró que el contenido de flavonoides totales oscila en un intervalo de 150 a 478 mg de rutina por cada 100 g de cáscara seca y de 0,3 a 3100,1 mg de quercetina por cada 100 g de cáscara seca⁸.

En consecuencia, el presente estudio tuvo por objetivo evaluar el efecto protector de la cáscara del *Citrus aurantifolia* (limón) frente al daño inducido etanol en ratones.

MATERIALES Y MÉTODOS

El tipo de estudio es experimental, las unidades de análisis fueron asignada a los grupos de forma aleatoria⁹.

Los limones fueron adquiridos en el mercado Mayorista del distrito de Santa Anita, Lima, Perú. Se seleccionaron muestras con madurez comercial, luego fueron desinfectados y lavados; la cáscara fue separada de manera manual, descartando

el contenido comestible del fruto. Las cáscaras fueron colocadas sobre una fuente de vidrio, Pyrex, la cual se llevó a una estufa a temperatura de 40 °C por 72 horas, con rotación constante de aire, hasta obtener un peso constante, luego fue pulverizado en molino de cuchillas en el Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. El pulverizado fue cernido y se obtuvo un polvo fino, el cual fue conservado en un frasco de color caramelo y en un ambiente seco.

Para la administración del tratamiento el polvo de cáscara de limón fue suspendido en un sistema coloidal de fécula de almidón al 1%, esto fue preparado al momento de la administración, siendo utilizado como vehículo para las dosis de 100 mg/kg y 400 mg/kg.

Acondicionamiento de la unidad de análisis: Se utilizaron 35 ratones *Mus musculus*, machos, albinos, adultos, con un peso aproximado de 32 ± 5 gramos. Los ratones fueron colocados en jaulas individuales, en un ambiente de 22 °C de temperatura, con ciclos alternados de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Tuvieron siete días de aclimatación antes de iniciar propiamente la intervención. Todos los grupos recibieron la misma dieta balanceada (dieta normocalórica y normoproteica), adquirida de la Universidad Nacional Agraria de La Molina, y agua *ad libitum*.

Evaluación del efecto hepatoprotector: Se aplicó el método empleado por Sandoval (2008)¹⁰, el cual empleó etanol 5% en solución glucosada al 5% para provocar la toxicidad hepática. Los animales fueron distribuidos de manera aleatoria en cinco grupos (n=7), recibiendo todos los grupos durante la intervención alimentación balanceada. En los bebederos se utilizó la solución etanólica para los grupos del II al V y fue proporcionada *ad libitum*, mientras el grupo I solamente recibió solución glucosada 5% en los bebederos para consumo *ad libitum*. Los grupos recibieron luego de la aclimatación el siguiente tratamiento vía orogástrica por un periodo de cinco días:

Grupo I: solución glucosada 5% en los bebederos + suspensión de almidón.

Grupo II: solución etanólica 5% en los bebederos + suspensión de almidón.

Grupo III: solución etanólica 5% en los bebederos + sili-marina 100 mg/kg.

Grupo IV: solución etanólica 5% en los bebederos + cáscara de limón 100 mg/kg.

Grupo V: solución etanólica 5% en los bebederos + cáscara de limón 400 mg/kg.

Terminado el tratamiento se les mantuvo en ayuno de 12 horas. El peso de los animales fue monitoreado al igual que el consumo de alimento y de líquidos en sus bebederos. Luego fueron anestesiados con pentobarbital sódico (26 mg/kg), vía

intraperitoneal, e inmediatamente se realizó una laparotomía, se localizó el ligamento redondo mayor del hígado y se extrajo el hígado, cortando los ligamentos y adherencias secundarias. El hígado fue lavado en solución fisiológica (NaCl 0,9%) y luego fue secado con papel absorbente, posteriormente, se pesó todo el órgano en una balanza analítica. Del lóbulo mayor se seccionó en dos porciones de 0,25 g cada uno, uno de ellos fue conservado en formol al 10% en NaCl 0,9% para el estudio histológico y la otra porción conservada a 4 °C para la preparación del homogeneizado.

El **índice hepático** se determinó mediante la relación del peso del hígado afectado y el peso del ratón, expresado en porcentaje.

El **estudio histológico** fue procesado en el Instituto de Patología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, las muestras fueron parafinadas y se empleó la tinción con hematoxilina-eosina, las láminas fueron leídas por el Médico especialista en Patología (Dr. Ernesto Raez; el presente estudio está dedicado a su memoria). Se evaluaron la integridad de vasos sanguíneos, de los conductos biliares, de la membrana de Disse y del núcleo, además de la presencia de vacuolas; brindando al finalizar cada lectura de la lámina el diagnóstico correspondiente.

Para la evaluación de los indicadores bioquímicos se preparó un **homogeneizado**, se pesó aproximadamente 0,25 g del lóbulo mayor del hígado y se homogeneizó con EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) 0,02 mmol/L hasta un volumen final de 3 mL, siendo realizado sobre gel congelado para conservar una temperatura aproximada de 4 °C.

Para la determinación de **lipoperoxidación** se empleó el método de Buege y Ust (1978)¹¹ y modificado por Suárez (1995)¹² utilizando 250 µL del homogeneizado.

La concentración de **glutación (GSH)** se aplicó el método de Sedlak y Lindsay (1968)¹³.

Los datos fueron ordenados y analizados aplicando los estadísticos descriptivos como la media o promedio aritmético, la desviación estándar y la variación porcentual. Se aplicó la prueba de normalidad Shapiro-Wilk. Los niveles de lipoperoxidación e índice hepático presentaron distribución normal, a los cuales se aplicó la prueba paramétrica Análisis de Varianza (ANOVA) y como *post hoc* la prueba de Tukey; mientras que los niveles de glutación (GSH) al no tener distribución normal se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis y como *post hoc* la prueba U de Mann Whitney.

El proyecto fue aprobado por el comité de Investigación de la Escuela Profesional de Nutrición de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Durante la intervención se respecto a las **consideraciones éticas**, se consideró el principio de la tres R (reducir, refinar y reemplazar) y lo considerado por la Ley N° 30407 de Protección y Bienestar Animal¹⁴⁻¹⁶.

RESULTADOS

Referente al índice hepático luego del tratamiento con solución etanólica 5% el grupo II presentó un incremento del 6,5% con respecto al grupo I. Con respecto al grupo II, los grupos III, IV y V presentaron la inhibición del 13,4%, 10,8% y 15,1%, respectivamente.

Los niveles de glutatión luego del tratamiento con solución etanólica 5% el grupo II presentó una disminución significativa ($p < 0,05$) con respecto al grupo I. Con respecto al grupo II, los grupos III, IV y V presentaron incrementos significativos ($p < 0,01$) del 70,1%, 68,2% y 77,3%, respectivamente.

La lipoperoxidación luego del tratamiento con solución etanólica 5% el grupo II presentó un incremento significativo ($p < 0,05$) con respecto al grupo I. Con respecto al grupo II, los grupos IV y V presentaron incrementos significativos ($p < 0,01$) del 36,4% y 55,6%, respectivamente.

Respecto a la **descripción histológica** del tejido hepático, en el **grupo I** se describe una estructura moderadamente conservada, los vasos sanguíneos con apariencia normal, conductos biliares semiobstruidos y algunos hepatocitos con núcleos pulverulentos, no presenta vacuolas; con diagnóstico final de hepatitis tóxica leve.

El **grupo II** presentó estructura alterada con congestión de espacios intersticiales con glóbulos rojos, conductos biliares casi obstruidos, destrucción de membrana de espacio de Disse, con núcleos picnóticos y coagulados, así como vacuolas; con diagnóstico final fue hepatitis tóxica severa.

El **grupo III** presentó una estructura conservada, se aprecia el núcleo, integridad de las membranas del espacio de

Disse, así como los canalículos biliares, así como vacuolas; con diagnóstico final de hepatitis tóxica leve.

El **grupo IV** presentó una estructura muy dañada, en algunos casos con necrosis grasa con varias vacuolas; canalículos biliares ocupados y desordenados; ausencia de membranas del espacio de Disse. Alrededor de la vena centrolobulillar presenta espacios en blanco; con diagnóstico final de hígado grasoso.

El **grupo V** evidenció vena centrolobulillar con estasis; desorden marcado en su estructura, mayor tamaño de vacuolas (a gota gruesa), conductos biliares alterados, hepatocitos con núcleos pulverulentos, ausencia de membrana de los espacios de Disse; con diagnóstico final de hígado grasoso.

DISCUSIÓN

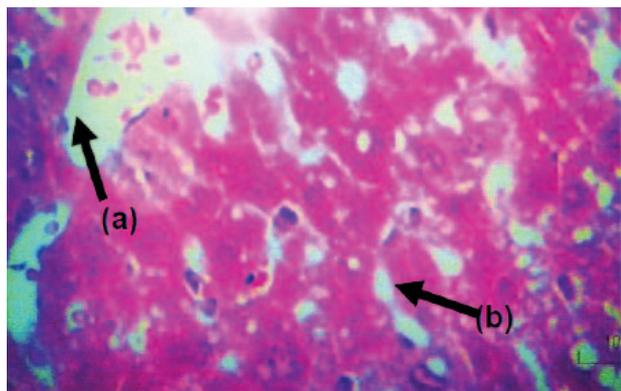
La actividad biológica presente en el *Citrus aurantifolia* puede estar relacionada a sus metabolitos secundarios. Estos son de tipo fenólicos (flavonoides), carotenoides, terpenos, alcaloides, cumarinas, limonoides y aceites esenciales. La presencia y la cantidad de los metabolitos secundarios se ven influenciados por varios factores como la composición del suelo, las propiedades fisicoquímicas, la exposición al sol, las coordenadas geográficas y la parte de la planta utilizada¹⁷. En la mayoría de las frutas, así como en los cítricos, una proporción mayoritaria de las sustancias con actividad biológica se encuentran localizadas en la cáscara, y no en la pulpa¹⁸.

El *Citrus aurantifolia* es una fuente muy alta de flavonoides y limonoides, compuestos fitoquímicos, siendo los principales la limonina y hesperidina. Estos compuestos se pueden encontrar

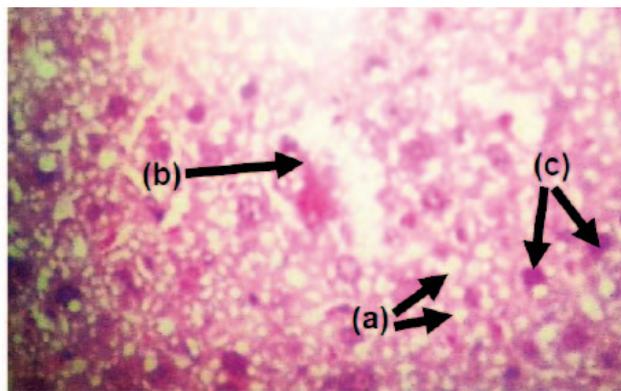
Tabla 1. Índice hepático, niveles de lipoperoxidación y glutatión (GSH) en hígado de ratones

| Grupo: tratamiento | Lipoperoxidación* (nmol/g) | | Glutatión** (10 ² µg/g) | | Índice hepático* (%) | |
|---|----------------------------|------------------------------|------------------------------------|------------------------------|----------------------|------------------------------|
| | Media ± DE | % de inhibición [†] | Mediana (RIC) | % de incremento [†] | Media ± DE | % de inhibición [†] |
| Grupo I: sol. gluc. 5% + susp. de almidón | 13,50 ± 1,5 (a) | - | 48,90 (3,1) (a) | - | 6,2 ± 0,6 | - |
| Grupo II: etanol 5% + susp. de almidón | 19,80 ± 2,0 | - | 25,10 (2,9) | - | 6,6 ± 0,4 | - |
| Grupo III: etanol 5% + silimarina 100 mg/kg | 15,70 ± 5,2 | 20,7% | 42,70 (8,3) (b) | 70,1% | 5,7 ± 0,9 | 13,4% |
| Grupo IV: etanol 5% + SCL 100 mg/kg | 27,00 ± 5,4 (b) | -36,4% | 42,20 (8,1) (b) | 68,2% | 5,9 ± 0,6 | 10,8% |
| Grupo V: etanol 5% + SCL 400 mg/kg | 30,80 ± 3,0 (b) | -55,6% | 44,50 (3,3) (b) | 77,3% | 5,6 ± 0,7 | 15,1% |

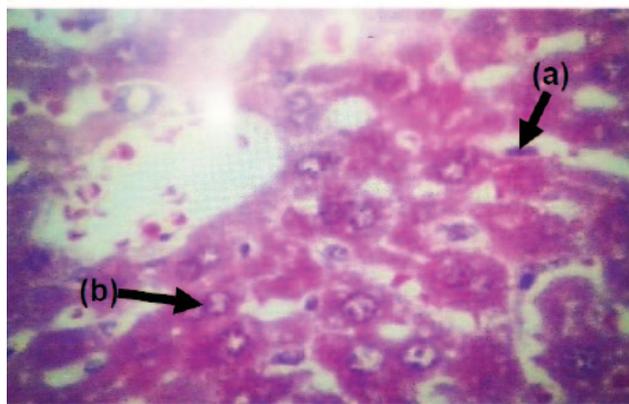
SCL: suspensión de cáscara de limón. (†) Comparado con el grupo II. * Shapiro-Wilk ($p > 0,05$). ANOVA ($p < 0,05$). (a) $p < 0,05$ comparado con el grupo II. (b) $p < 0,01$ comparado con el grupo II. ** Shapiro-Wilk ($p < 0,05$). Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). (a) $p < 0,05$ comparado con el grupo II. (b) $p < 0,01$ comparado con el grupo II.



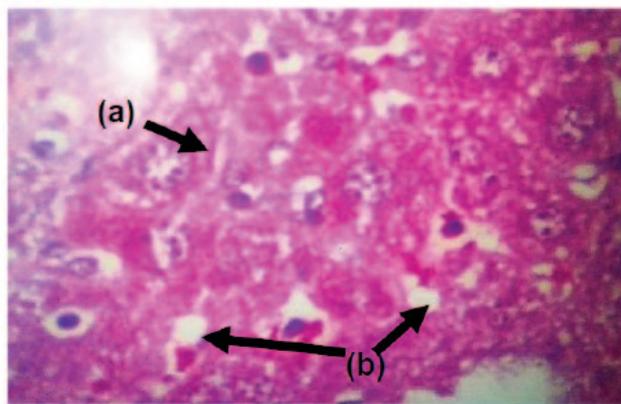
Grupo I: (a) vasos sanguíneos conservados. (b) conductos biliares semi obstruidos. Hepatitis tóxica leve. H-E 10x.



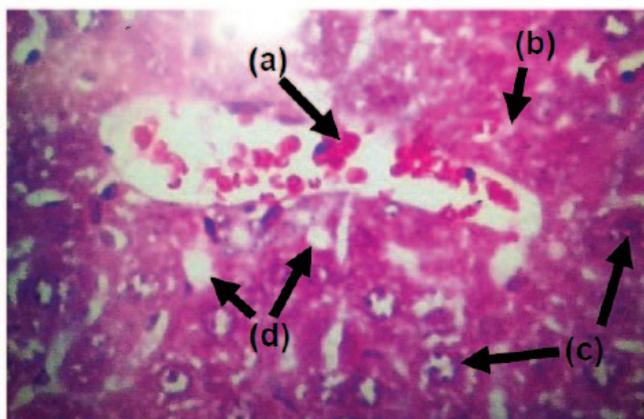
Grupo II: (a) gran número de vacuolas. (b) destrucción de la membrana de Disse. (c) núcleos coagulados. Hepatitis tóxica severa. H-E 10x.



Grupo III: (a) mantenimiento de membranas de Disse. (b) integridad del núcleo. Hepatitis tóxica leve. H-E 10x.



Grupo IV: (a) destrucción membrana de espacio de Disse. (b) presencia de vacuolas. Hígado graso. H-E 10x.



Grupo V: (a) vena centrolobulillar con estasis. (b) ausencia de membrana de espacio de Disse. (c) núcleos coagulados. (d) presencia de vacuolas. Hígado graso. H-E 10x.

Figura 1. Microfotografía de cortes histológico de tejido hepático de ratones

principalmente abundantes en las capas externa e interna de la cáscara (flavedo y albedo), así como en todas las partes de la planta¹⁹. Zamanian et al. indica que los flavonoides como la quercetina, el cual se encuentra también en el *Citrus aurantifolia*, presentan una buena actividad antioxidante directa, además de induce al aumento de las enzimas antioxidantes en las células²⁰. Esto podría estar relacionado al incremento del GSH observado en los grupos tratados con la cáscara de limón.

La naringenina, flavonoide encontrado en la cáscara de los cítricos, detiene la formación del complejo malondialdehído-ADN observado en algunos tipos de cáncer, asimismo refiere que la quercetina puede reducir los niveles de glutatión y actuar como prooxidante favoreciendo la apoptosis en algunas células cancerosas²¹. En nuestro estudio la administración de cáscara de *Citrus aurantifolia* incrementó los niveles de malondialdehído en ambas dosis, respuesta dosis dependiente, y el glutatión aumentó de igual manera, efectos no congruentes con el estudio citado donde hubo reducción de malondialdehído y de glutatión.

En otro estudio se administró el extracto de *Citrus reticulata*, y se observó una disminución de la concentración de malondialdehído del músculo de la pechuga en pollos, de igual manera sucedió con la actividad de la glutatión peroxidasa por lo que el glutatión estuvo conservado en su concentración celular²², dichos resultados son similares a nuestro grupos experimentales en cuanto el incremento de glutatión, pero discrepantes con los resultados de lipoperoxidación.

En un estudio con ratas Wistar se administró extracto hidroetanólico de cáscara de fruta de *Citrus limon* y con limoneno (flavonoide encontrado en los cítricos) frente al daño hepático causado por dietilnitrosamina (DEN)/2-acetilamino-fluoreno (2AAF), tuvo como resultados la disminución de la peroxidación lipídica en tejido hepático, así como aumentos en los niveles de glutatión²³. Similares resultados se encontraron con respecto al glutatión en nuestro estudio, sin embargo nuestros resultados con la administración de la cáscara del *Citrus aurantifolia* fueron de incremento de la lipoperoxidación en nuestro modelo animal en ambas dosis.

Las modificaciones epigenéticas en los hepatocitos (por ejemplo, muerte celular, acumulación de grasa, etc.), probablemente se deban a estrés oxidativo, inducido por etanol o al efecto directo del metabolismo de éste, que da como resultado una expresión génica alterada de los reguladores epigenéticos que se evidencian en cambios histológicos, desde una esteatosis hasta llegar a una fibrosis y/o hepatocarcinoma²⁴. Según Yan et. al. la predisposición de los ratones a sufrir lesiones biliares va relacionada con la alimentación crónica con etanol, lo que conlleva a un fenotipo de hepatitis alcohólica, similar a nuestros resultados de los grupos experimentales que recibieron etanol²⁵.

Se ha observado que el etanol causa aumento del índice hepático y que preparados que contienen altos niveles de po-

lifenoles, antocianinas, vitamina C, flavonoides y carotenoides reducen dicho índice; Han et. al. presentó resultados similares a nuestros grupos experimentales en cuanto a la atenuación de la severidad con respecto a la formación de vacuolas grasas y a la infiltración inflamatoria usando un producto derivado de la cáscara de tamarindo²⁶. Nasehi et al. encontró similares resultados en la atenuación de inflamación, fibrosis, hiperplasia del conducto biliar y necrosis con la hesperidina (flavonoide encontrado en la cáscara del *Citrus aurantifolia*) en una relación dosis-respuesta²⁷.

El consumo de cáscara de limón es una práctica muy común en la población peruana, es especial en la costa, bajo la forma de limonada frozen y en otras preparaciones culinarias, el presente estudio tiene como limitación la extrapolación de los resultados a las personas, debido a ser un modelo animal, sin embargo, permite esclarecer los mecanismos de protección y los efectos a nivel histológico.

CONCLUSIONES

La ingesta de la cáscara de *Citrus aurantifolia* (limón) en ambas dosis presentó efecto protector hepático con el incremento del glutatión y una mejor conservación del tejido hepático, siendo sugerentes los hallazgos de un probable efecto protector.

Se recomienda ampliar, en posteriores estudios, la cuantificación de la actividad enzimática de SOD, CAT, GPx, GSSG en tejido hepático en modelos animales, con la finalidad de conocer otros mecanismos de protección que estaría estimulando el consumo de cáscara de limón. Plantear nuevos estudios con dosis de cáscara de limón mayores a las empleadas en este estudio, para evaluar si los resultados se comportan de forma dosis-dependiente.

AGRADECIMIENTOS

Al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado por el financiamiento del estudio (código N° 160104067)

Al Dr. Ernesto Ruez Gonzáles, por su apoyo invaluable en la lectura de cortes histológicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Osorio Calixtro L, Patiño Trinidad T, Tagle Arróspide M, Huayanay Falconi L. Percepciones, conocimientos y actitudes sobre enfermedad hepática en adultos sanos que acuden a instituciones de salud de estrato A, B y C. Rev Gastroenterol Perú. abril de 2010; 30(2):126-32.
2. Malpica-Castillo A, Ticse R, Salazar-Quifones M, Cheng-Zárate L, Valenzuela-Granados V, Huerta-Mercado Tenorio J. Mortalidad y readmisión en pacientes cirróticos hospitalizados en un hospital general de Lima, Perú. Rev Gastroenterol Perú. octubre de 2013; 33(4):301-5.

3. Bustíos C, Dávalos M, Román R, Zumaeta E. Características Epidemiológicas y Clínicas de la Cirrosis Hepática en la Unidad de Hígado del HNERM Es-Salud. *Rev Gastroenterol Perú*. julio de 2007;27(3): 238–45.
4. Cederbaum AI. Alcohol metabolism. *Clin Liver Dis*. noviembre de 2012;16(4):667–85.
5. Delgado Olivares L, Betanzos Cabrera G, Sumaya Martínez MT. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investig Cienc Univ Autónoma Aguascalientes*. 2010;(50):10–5.
6. Dhuique Mayer C, Servent A. An overview of the nutritional quality and health benefits linked to the world diversity of citrus fruits/juices. *J Food Sci*. enero de 2025;90(1):e17576.
7. Asociación Macroregional De Productores Para La Exportación. Perfil de mercado del limón (Citrus). 2008.
8. Vargas y Vargas M de L, Figueroa Brito H, Tamayo Cortez JA, Toledo López VM, Moo Huchin VM. Aprovechamiento de cáscaras de frutas: análisis nutricional y compuestos bioactivos. *Cienc - Sum Rev Científica Multidiscip Prospect [Internet]*. 2019 [citado el 1 de julio de 2025];26(2). Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10458194006>
9. Hernández Sampieri R, Fernández Collado C, Baptista Lucio M del P. Metodología de la investigación. Sexta edición. México; 2014.
10. Sandoval M, Lazarte K, Arnao I. Hepatoprotección antioxidante de la cáscara y semilla de *Vitis vinifera* L. (uva). *An Fac Med*. diciembre de 2008;69(4):250–9.
11. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978;52:302–10.
12. Suárez Cunza S. Detoxificación hepática y defensa antioxidante por efecto de xenobioticos alimentarios. 1995 [citado el 12 de julio de 2024]; Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/1835eab0-5a81-4f34-ae4f-859db6ab4839>
13. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*. el 24 de octubre de 1968;25(1):192–205.
14. Fuentes Paredes F de MD, Mendoza Yanavilca RA, Rosales Fernández AL, Cisneros Tarmeño RA. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón [Internet]. Instituto Nacional de Salud; 2010 [citado el 3 de julio de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.ins.gob.pe///handle/20.500.14196/117>
15. Congreso de La República. Ley de protección y bienestar animal. [Internet]. El Peruano; 2016. Disponible en: <https://leyes.congreso.gob.pe/documentos/leyes/30407.pdf>
16. Russell W, Burch R. The principles of humane experimental technique. Vol. 3. ALTEX; 1959. 94 p.
17. Indriyani NN, Anshori JA, Permadi N, Nurjanah S, Julaeha E. Bioactive Components and Their Activities from Different Parts of *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle for Food Development. *Foods*. el 17 de mayo de 2023;12(10):2036.
18. Czech A, Malik A, Sosnowska B, Domaradzki P. Bioactive Substances, Heavy Metals, and Antioxidant Activity in Whole Fruit, Peel, and Pulp of Citrus Fruits. *Int J Food Sci*. el 16 de marzo de 2021;2021:6662259.
19. Phucharoenrak P, Muangnoi C, Trachootham D. A Green Extraction Method to Achieve the Highest Yield of Limonin and Hesperidin from Lime Peel Powder (*Citrus aurantifolia*). *Molecules*. el 26 de enero de 2022;27(3):820.
20. Zamanian MY, Soltani A, Khodarahmi Z, Alameri AA, Alwan AMR, Ramírez-Coronel AA, et al. Targeting Nrf2 signaling pathway by quercetin in the prevention and treatment of neurological disorders: An overview and update on new developments. *Fundam Clin Pharmacol*. 2023;37(6):1050–64.
21. Jomova K, Raptova R, Alomar SY, Alwaseel SH, Nepovimova E, Kuca K, et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol*. 2023; 97(10):2499–574.
22. Mavrommatis A, Zografaki ME, Marka S, Myrtesi ED, Giamouri E, Christodoulou C, et al. Effect of a Carotenoid Extract from Citrus reticulata By-Products on the Immune-Oxidative Status of Broilers. *Antioxidants*. el 10 de enero de 2022;11(1):144.
23. Ezzat RS, Abdel-Moneim A, Zoheir KM, Mohamed EE, Abou-Seif HS, Hefnawy M, et al. Anti-carcinogenic effects and mechanisms of actions of Citrus limon fruit peel hydroethanolic extract and limonene in diethylnitrosamine/2-acetylaminofluorene-induced hepatocellular carcinoma in Wistar rats. *Am J Cancer Res*. el 15 de noviembre de 2024;14(11):5193–215.
24. Osna NA, Tikhanovich I, Ortega-Ribera M, Mueller S, Zheng C, Mueller J, et al. Alcohol-Associated Liver Disease Outcomes: Critical Mechanisms of Liver Injury Progression. *Biomolecules*. el 27 de marzo de 2024;14(4):404.
25. Yan S, Lin Z, Ma M, Arasteh A, Yin XM. Cholestatic insult triggers alcohol-associated hepatitis in mice. *Hepatol Commun*. el 24 de octubre de 2024;8(11):e0566.
26. Han SC, Huang RP, Zhang QY, Yan CY, Li XY, Li YF, et al. Antialcohol and Hepatoprotective Effects of Tamarind Shell Extract on Ethanol-Induced Damage to HepG2 Cells and Animal Models. *Foods*. el 3 de marzo de 2023;12(5):1078.
27. Nasehi Z, Kheiripour N, Taheri MA, Ardjmand A, Jozi F, Shahaboddin ME. Efficiency of Hesperidin against Liver Fibrosis Induced by Bile Duct Ligation in Rats. *BioMed Res Int*. el 11 de abril de 2023;2023:5444301.