



FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**TÍTULO: PROANTOCIANIDINAS Y SU FUNCIÓN
HEPATOPROTECTORA**

Autor: Sofía Inés García Moreno

Fecha: Junio 2020

Tutor: Francisco José Sánchez Muniz

ÍNDICE

1	RESUMEN.....	3
2	INTRODUCCIÓN.....	3
2.1	Proantocianidinas.....	3
2.1.1	Estructura molecular y actividades.....	3
2.1.2	Extractos de proantocianidinas.....	4
2.2	Función hepática.....	5
3	OBJETIVOS Y METODOLOGÍA.....	7
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4.1	Efecto de las proantocianidinas sobre el daño hepático inducido por dietas altas en grasa y el desarrollo de hígado graso no alcohólico.....	8
4.2	Efecto de las proantocianidinas sobre el daño hepático inducido por intoxicación con metales pesados.....	11
4.2.1	Intoxicación con arsénico.....	11
4.2.2	Intoxicación con cadmio.....	13
4.2.2.1	<i>Sobre la acción proinflamatoria.....</i>	<i>13</i>
4.2.2.2	<i>Sobre las enzimas mitocondriales.....</i>	<i>14</i>
4.3	Efecto de las proantocianidinas sobre el desarrollo de tumores hepáticos.....	15
5	CONCLUSIONES.....	16
6	BIBLIOGRAFÍA.....	17
7	TABLA RESUMEN ESTUDIOS.....	20

1 RESUMEN

Las proantocianidinas (PAs) constituyen un grupo molecular muy amplio y con una capacidad antioxidante muy elevada. Se encuentran en alimentos de origen vegetal, por lo que se pueden extraer de distintas fuentes, entre ellas: de la semilla de uva (GPSE), de las semillas de loto (LSE y LSP) y de la pulpa de algarrobo (CFE). Estos extractos ricos en PAs han demostrado en gran número de investigaciones tener un amplio espectro de beneficios farmacológicos y terapéuticos frente al estrés oxidativo y las enfermedades degenerativas, teniendo una potente actividad frente a radicales libres tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*.

Los efectos de las PAs a nivel hepático son muchos, por un lado su propia actividad antioxidante protege de manera directa al órgano frente a las distintas situaciones en que el estrés oxidativo supone un daño, pero además han demostrado modular la expresión de distintos genes y promover rutas metabólicas que dan lugar a metabolitos menos reactivos, protegiendo así la función hepática. Esta doble actividad protectora – directa e indirecta – resulta beneficiosa tanto en situaciones de elevada ingesta de lípidos, que pueden relacionarse con patologías como: hiperlipidemias, obesidad e hígado graso no alcohólico, así como en situaciones de intoxicación por metales pesados – como el arsénico y el cadmio. Por otra parte, las PAs poseen una citotoxicidad selectiva frente a las células cancerígenas humanas, mientras promueven el crecimiento y la viabilidad de las células sanas, por lo que también actúan previniendo el desarrollo de tumores hepáticos.

Por todo ello, estos extractos ricos en PAs pueden ser incorporados a los alimentos – alimentos funcionales – para ayudar a prevenir, e incluso revertir, distintos tipos de lesiones hepáticas, actuando así como quimioprevención de enfermedades que afectan al hígado.

Palabras clave: *proantocianidinas, extractos de proantocianidinas, función hepática, hígado graso no alcohólico, metales pesados, tumor hepático.*

2 INTRODUCCIÓN

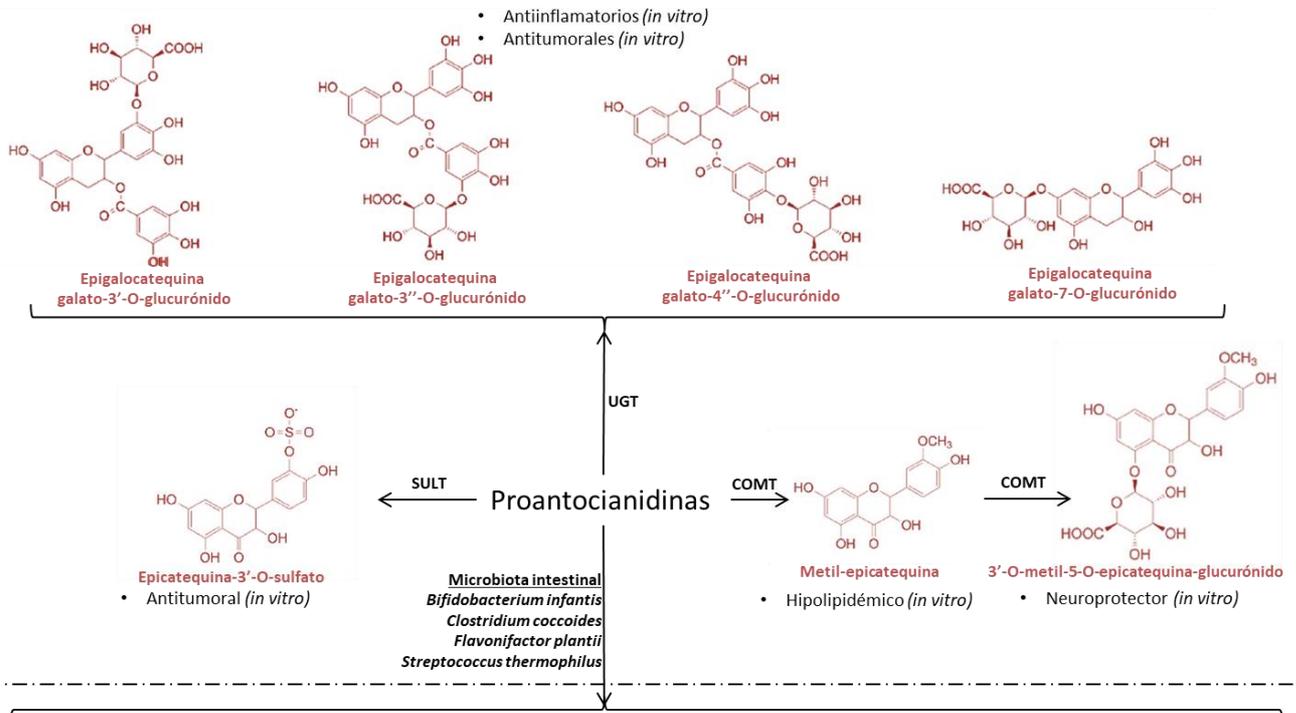
2.1 Proantocianidinas

2.1.1 Estructura molecular y actividades

Las proantocianidinas (PAs) son un grupo de polifenoles de tipo flavonoide cuya complejidad estructural es elevada. Se clasifican en procianidinas, propelargonidinas y prodefidinas, según su grado de polimerización (Monagas et al., 2010). Este grado condiciona su absorción: las más pequeñas – con un grado de polimerización menor a cinco – se absorben por transporte paracelular, con una tasa de absorción inversamente proporcional al mismo. Si bien, las de mayor tamaño son grandes e hidrofílicas sin transportador específico definido, con una biodisponibilidad muy baja ya que su absorción es escasa, entre el 0,1 y el 1,6, y sufren un intenso metabolismo.

A pesar de que la mayor parte de las PAs no se absorben, la fracción no absorbible tiene también un importante papel, ya que es transformada por la microbiota intestinal en fenil-valerolactonas, absorbidas en el colon y transportadas a la circulación sistémica de forma que tienen efectos de todo tipo sobre el organismo: antioxidantes, antihipertensivos, antiteratogénicos, antibacterianos y previenen la obesidad al reducir el acúmulo de grasa (**Figura 1**).

METABOLISMO INTESTINAL Y HEPÁTICO



METABOLISMO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

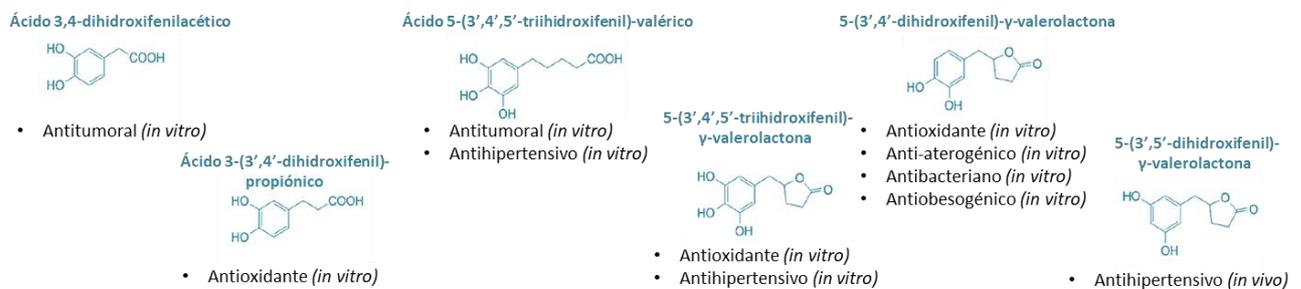


Figura 1. Proantocianidinas y sus metabolitos según la ruta metabólica a seguir. En cada metabolito se indica su actividad demostrada *in vitro* o *in vivo*. (SULT – sulfotransferasa, UGT – uridina 5'-difosfoglucuronil transferasa, COMT – catecol-O-metil transferasa).

Adaptado de Luca et al. (2020).

2.1.2 Extractos de proantocianidinas

Las PAs se encuentran en alimentos de origen vegetal que forman parte de la dieta habitual. En España, la ingesta diaria alcanzaba los 450 mg (Monagas et al., 2010). Sin embargo, en la última década, el consumo de alimentos de origen vegetal ha caído significativamente en España por lo que este valor puede haber disminuido, disminuyendo con ello el efecto beneficioso asociado al consumo de PAs. Por esto, sería interesante proponer las PAs como suplemento o enriquecer los alimentos con ellas, generando alimentos funcionales.

El extracto más ampliamente empleado en los estudios de PAs es el extracto de semilla de uva (GSPE), de la especie *Vitis vinifera* L., se trata de una fuente rica en PAs – catequinas monoméricas, epicatequinas, PAs oligoméricas y poliméricas – con una elevada capacidad antioxidante. Sus efectos han sido estudiados sobre múltiples enfermedades, enfocados especialmente en su capacidad para reducir el estrés oxidativo, la inflamación y enfermedades relacionadas con el síndrome metabólico – obesidad, diabetes y riesgo cardiovascular – para las que han ofrecido nuevas perspectivas de prevención y tratamiento (Rodríguez-Pérez et al., 2019).

Sin embargo, a pesar de que sus propiedades beneficiosas son innegables, su obtención es cara debido a un muy bajo rendimiento del proceso de extracción y a un alto precio de la materia prima (Cao et al., 2018). Es por ello que se han desarrollado nuevos extractos que parten de materias primas más económicas, rentabilizando su proceso de obtención.

Las semillas de *Nelumbo nucifera* Gaert., conocidas comunmente como semillas de loto, también tienen un elevado contenido en PAs, por ello sus extractos del epicarpio (LSE) y de la vaina (LSP) también han demostrado tener una potente actividad antioxidante. Estas materias primas, epicarpio y vaina, resultan de los restos de la producción de las semillas de loto, que se comercializan secas, permitiendo un abaratamiento del coste de los extractos (Cao et al., 2018).

Por otro lado, tenemos el extracto de PAs del algarrobo (CFE) obtenido de una fracción purificada de pulpa de *Ceratonia siliqua* L. Su composición es un 71-81% fibra insoluble con una gran cantidad de polifenoles, específicamente PAs con un elevado grado de polimerización (Macho-González et al., 2019). Este extracto está siendo empleado por el grupo AFUSAN – Alimentación Funcional, Salud y Nutrición – de la Universidad Complutense de Madrid (UCM), que está realizando un estudio para determinar la importancia de la incorporación de PAs a la dieta, obteniendo resultados muy prometedores a nivel hepático e intestinal (Macho-González et al., 2020).

2.2 Función hepática

El hígado es un órgano situado en la cavidad abdominal, inmediatamente por debajo del diafragma, y ocupa la mayor parte del hipocondrio derecho y parte del epigastrio. Tanto en el hombre como en los animales está dividido en lóbulos. En humanos el ligamento falciforme divide al hígado en dos lóbulos principales, izquierdo y derecho, este segundo está a su vez subdividido en tres partes: lóbulo derecho propiamente dicho, caudado y de Spiegel, mientras que la rata posee el lóbulo medio o cavidad quística, lóbulo lateral derecho, lóbulo izquierdo y el lóbulo caudado (Baker et al., 1979) (Figura 2).

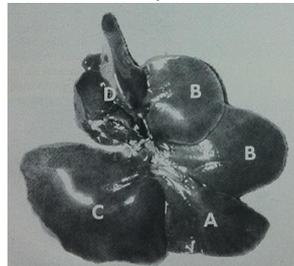


Figura 2. Fotografía del hígado de la rata señalando sus lóbulos. A, lóbulo medio o quístico; B, lóbulo lateral derecho; C, lóbulo izquierdo; D, lóbulo caudado.

Tomado de Baker et al. (1979).

Cada lóbulo está dividido en numerosos lobulillos que constituyen las unidades anatómicas de la víscera. Se disponen como cilindros con forma hexagonal o pentagonal, que en su centro tienen una rama de pequeño calibre de la vena hepática, alrededor de ésta los hepatocitos se disponen en columnas que irradian hacia fuera (Baker et al., 1979).

En el hombre, los conductos biliares se unen dentro del hígado conformando dos conductos de mayor diámetro que salen por la cara inferior del hígado, donde se unen inmediatamente formando el conducto hepático que desemboca en el duodeno en una zona elevada en cuyo interior está la ampolla de Vater, con el esfínter de Oddi que regula el vertido de bilis al duodeno. En la mayoría de los animales parte de la bilis formada se acumula en la vesícula biliar, sin embargo, las ratas carecen de ésta (Baker et al., 1979).

Por su polo vascular recibe sangre portal procedente del estómago, intestino, páncreas y bazo. Esto, junto con sus canalículos biliares, le permite realizar multitud de funciones metabólicas y exocrinas, desempeñando un papel esencial en el metabolismo de nutrientes y la detoxificación de xenobióticos (Constanzo, 2011).

Los hepatocitos son los responsables, entre otras, de las siguientes actividades:

- Metabolismo de hidratos de carbono: glucogenogénesis, glucogenolisis y gluconeogénesis.
- Metabolismo de proteínas y aminoácidos: regulando el pool de aminoácidos libres y síntesis proteica.
- Metabolismo de lípidos: síntesis y/o metabolismo de ácidos grasos, colesterol, quilomicrones remanentes (Qm) y lipoproteínas: VLDL, LDL, HDL.
- Síntesis de sales biliares.
- Detoxificación de sustancias endógenas y exógenas (xenobióticos). En el hígado se lleva a cabo el metabolismo de primer paso, que asegura que estas sustancias exógenas no alcancen la circulación sistémica. Para ello, se sirve de enzimas que modifican las toxinas volviéndolas hidrosolubles, pudiendo así ser excretadas con la bilis o la orina (Constanzo, 2011).

Por todo ello, la importancia nutricional de este órgano es innegable. Proporciona una fuente continua de energía para el organismo al ser capaz de almacenar y modular la disponibilidad de nutrientes en función de la demanda energética de los órganos periféricos y el cerebro. Para esto, se encuentra regulado por señales endocrinas pancreáticas, suprarrenales, tiroideas y nerviosas (Esteller-Pérez et al., 2008). Además de los hepatocitos, en el hígado se encuentran otras células cuyas funciones se detallan en la **Tabla 1**.

El hígado puede ver alterada su funcionalidad por diversas causas como infecciones, tóxicos, xenobióticos, isquemia, trastornos genéticos, etc. Según Esteller-Pérez et al. (2008) en términos generales el hígado presenta tres tipos de repuestas patológicas a las diferentes noxas etiológicas:

- a) la necrosis hepatocitaria, asociada a grados variables de inflamación, que usualmente no producen insuficiencia hepatocelular o lo hacen de forma leve y que se recupera completamente por regeneración;
- b) una respuesta similar a la anterior, pero con insuficiencia hepatocelular aguda grave y fallo multiorgánico que en muchos casos conduce a la muerte del paciente, pero a veces presenta recuperación total;
- c) necrosis hepatocitaria moderada con carácter inflamatorio de carácter crónico que se acompaña tanto de fenómenos de regeneración como de fibrosis. Esta última conduce al cuadro de cirrosis. La obstrucción del flujo biliar, denominada colestasis, es la manifestación habitual de las enfermedades de las vías biliares. Cuando dicha

obstrucción afecta al árbol biliar extrahepático, su etiología es litiásica o tumoral. La colestasis intrahepática que afecta a ramas menores del árbol biliar puede tener consecuencias fisiopatológicas graves.

Tabla 1. Funciones más relevantes de las células hepáticas.

Tipo celular no parenquimatosos	Funciones
Células endoteliales	Barrera funcional entre sangre y hepatocitos Captación mediada por receptores Pinocitosis Endocitosis (partículas <0,1 µm) Presentación de ectoenzimas (lipasas) Síntesis de moléculas efectoras (PEG ₂ , citoquinas, etc.)
Células de Kupffer (macrófagos)	Fagocitosis (microorganismos, células tumorales, eritrocitos) Endocitosis (endotoxinas, complejos inmunitarios) Procesado de antígenos Citotoxicidad (superóxido, efectos antitumorales) Señalizadores comunicación intercelular (PI3K, TNF)
Células estrelladas (de Ito, lipocitos)	Almacén de lípidos Almacenes de vitamina A Síntesis de proteínas de la matriz extracelular Regulación contráctil del flujo sanguíneo Expresión y secreción de factores de crecimiento
Células de Pit	Citolíticas naturales (Natural Killer)

Adaptado de Esteller-Pérez et al. (2008).

3 OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

En este trabajo de fin de grado se realiza una amplia revisión bibliográfica para determinar cómo podría resultar útil la función antioxidante de las proantocianidinas (PAs) a la hora de proteger las funciones llevadas a cabo a nivel hepático. Para ello se analizarán las distintas funciones o patologías hepáticas en relación con la expresión de genes y rutas metabólicas y/o enzimáticas y el efecto de las PAs sobre éstas.

Los objetivos principales de este trabajo serían por tanto:

- Determinar qué propiedades de las PAs las hacen idóneas, en teoría, para preservar la función hepática.
- Recopilar los aspectos más relevantes de algunas publicaciones que han demostrado la protección de la función hepática por las PAs.
- Evidenciar si el consumo de PAs en la dieta consigue prevenir el desarrollo de patologías hepáticas.

Para la búsqueda bibliográfica se utilizaron diferentes bases de datos como PubMed, sciELO y Web of Science en las que utilizando las siguientes palabras clave: *proanthocyanidines*, *proanthocyanidine extract*, *liver function*, *non-alcoholic fatty liver disease* y *hepatic damage* pude acceder a artículos de distintas revistas, en su mayoría en inglés. También consulté las publicaciones del grupo AFUSAN – Alimentación Funcional, Salud y Nutrición – grupo referencia de la UCM. Así como la base de datos sobre genes del National Center of Biotechnology Information (NCBI). En adición, leí distintos libros de Fisiología sobre función hepática como el libro Fisiología de Constanzo (2011); Nutrición en las enfermedades hepatobiliares de Esteller-Pérez et al. (2008) y The Laboratory Rat de Baker et al. (1979) centrado en la fisiología hepática de la rata. Con todo ello fui capaz de obtener la información suficiente para responder a las cuestiones planteadas en los objetivos.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Efecto de las proantocianidinas sobre el daño hepático inducido por dietas altas en grasa y el desarrollo de hígado graso no alcohólico

En modelos experimentales el consumo de dietas con alto contenido en grasas – p.ej. dietas tipo cafetería – favorece la acumulación de triglicéridos en el tejido adiposo, así como en el músculo y el hígado (Ginés et al., 2019). Es por ello, que ciertas rutas metabólicas empiezan a adquirir una menor importancia y, en consecuencia, algunos genes comienzan a disminuir su expresión. Uno de estos genes es el gen CPT1A que proporciona instrucciones para producir una enzima llamada carnitina palmitoiltransferasa 1A hepática. Se trata de una enzima esencial para la oxidación de los ácidos grasos, proceso de varios pasos en los que se metabolizan los ácidos grasos para obtener de ellos energía. No es de extrañar, que en una dieta en que los lípidos constituyen gran parte del aporte energético, estos se acumulen de tal forma que las rutas anabólicas en las que se obtiene energía a partir de ellos pasen a requerirse menos, pues el cuerpo puede emplear antes las reservas de glucosa y continuar acumulando esos lípidos con función de reserva. Conjuntamente a la expresión de este gen se disminuyen e incrementan las expresiones de distintos genes relacionados con la síntesis y el metabolismo lipídico, en favor de su acumulación como sustancia de reserva y no de su uso como fuente de energía (Ginés et al., 2019).

La acumulación de ácidos grasos en el hígado relacionada con el consumo de dietas altas en grasas conlleva el desarrollo de una patología conocida como hígado graso no alcohólico (NAFLD). Se trata una enfermedad frecuentemente asociada al síndrome metabólico, en la que se produce una acumulación de grandes glóbulos grasos en el citoplasma de los hepatocitos, los cuales interfieren en su función metabólica normal. Cuando estos glóbulos grasos se mantienen por largos períodos de tiempo producen inflamación y fibrosis, es decir, una evolución anatomopatológica de la esteatosis hacia la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), luego a la esteatonecrosis y finalmente a la cirrosis hepática (Torres et al., 2006).

Las PAs demostraron aumentar en el hígado la expresión de los genes CPT1A y 3-hidroxy-3metilglutaril CoA sintasa (HMGS2) a la vez que reducían la expresión de la sintasa de ácidos grasos (Fasn) y diacilglicerol-O-aciltransferasa 2 (Dgat2) (**Tabla 2**). También tienen actividad inhibiendo la expresión del gen de la lipoproteínlipasa (Lpl) en tejido adiposo al mismo tiempo que provocan un incremento en la oxidación de ácidos grasos a nivel hepático y muscular. Esto permite prevenir un aumento de la adiposidad y en definitiva en la ganancia de peso en las dietas con alto contenido en grasas (Ginés et al., 2019).

Tabla 2. Efectos del extracto de PAs de semilla de uva (GSPE) en el hígado 17 semanas después del tratamiento.

	Dieta Estándar		Dieta alta en grasa		GSPE + dieta alta en grasa
Cpt1a	0,34±0,12*	↑↑	1,01±0,08	↓↓	0,35±0,09*
Fasn	4,24±0,8*	↓↓↓	0,92±0,18	↑	2,69±0,87#
Dgat2	1,23±0,1	↓	1,04±0,12	↑↑	1,36±0,07*

Las muestras hepáticas se obtuvieron al final del tratamiento. Se midió cada gen empleando RT-PCR. Se determinó estadísticamente mediante t-test diferencias significativas: * $p < 0,05$ vs. grupo dieta alta en grasa; # $p < 0,1$ vs. grupo dieta estándar. (El efecto del daño inducido por la dieta alta en grasa se indica con flechas rojas; las situaciones en que el las PAs mejoran o revierten este daño se indican con flechas verdes).

Adaptado de Ginés et al. (2019).

Lo más destacable del estudio de Ginés et al. (2019) es que comprobaron que el efecto que ejercen las PAs sobre la expresión de todos estos genes – reprimiendo la Lpl en tejido adiposo y activando la oxidación de ácidos grasos en el hígado – se mantenía por un periodo de hasta al menos 7 semanas tras la última dosis empleada de GSPE. Es decir, mostraron una función protectora preventiva, evitando o retrasando la aparición de daños hepáticos y reduciendo el incremento de peso, hasta 7 semanas después de haber finalizado el tratamiento antioxidante. Se cree que este efecto protector preventivo puede deberse a tres causas:

- Generación de metabolitos en el lumen gastrointestinal: la interacción de los compuestos no absorbibles con la microbiota en el lumen gastrointestinal puede generar otros compuestos que alcancen diferentes dianas en el organismo.
- Posible acumulación de PAs en los tejidos: Esta hipótesis parece la menos probable pues otros estudios a dosis bajas de flavonoides sugieren que no se acumulan ni en el hígado ni en el tejido adiposo mesentérico.
- Modulación epigenética por PAs:
 1. En el hígado:
 - Modifican en el hígado los niveles de ciertos microRNA – p.ej. la GSPE modifica los miR-33a y miR-122 (Milenkovic et al., 2012; Baselga-Escudero et al., 2015).
 - Incrementan la actividad de la histona desacetilasa (HDAC) al regular las actividades de esta enzima y PPAR- α hepáticas modulando el catabolismo lipídico y reduciendo los niveles de triglicéridos *in vivo* (Downing et al., 2017).
 - Regulan la HDACs clase III hepática (habitualmente llamadas sirtuinas – SIRT1-7) de forma dosis-dependiente. Esto se relaciona con una protección significativa frente a la acumulación hepática de triglicéridos y colesterol.
 2. En el páncreas:
 - Modificación del cociente insulina/glucagón en el páncreas al disminuir la actividad miR-483 en los islotes pancreáticos y esto se relaciona con un equilibrio óptimo entre las células β y α pancreáticas.

Por otro lado, se ha demostrado que la obesidad y la hiperlipidemia están frecuentemente relacionadas con alteraciones hepáticas. El daño hepático y su actividad metabólica pueden determinarse a partir de la actividad de las aminotransferasas como alanina transaminasa (ALT), aspartato transaminasa (AST) y de la fosfatasa alcalina (ALP) – indicadora de la función biliar.

En el estudio de Cao et al. (2018) se ha comprobado que los tratamientos con las PAs del LSE restauran de manera significativa los niveles de ALT en los ratones de una forma dosis-dependiente mientras que las PAs provenientes del LSP son todavía más efectivas disminuyendo también los niveles de AST y ALP. Los resultados de este estudio determinan que las PAs pueden reducir de manera eficaz los niveles altos de ALT y AST en ratones obesos, sugiriendo que pueden proteger al tejido hepático del daño e incluso podrían revertirlo.

Además, las PAs de los extractos de LSE y LSP tienen la capacidad de disminuir las concentraciones plasmáticas de triglicéridos, colesterol y LDL. En análisis histológicos se ha demostrado también que estas PAs tienen la capacidad de disminuir el número de gotículas lipídicas que aparecen en los hepatocitos a pesar del consumo de dietas con alto contenido en grasa, disminuyendo la probabilidad de desarrollar NAFLD.

Este efecto positivo también se ha comprobado en el estudio de Macho-González et al. (2019) donde observaron que los grupos en que administraban CFE reducían considerablemente la esteatosis en la observación macroscópica (**Figura 3**), es decir, frenaban el desarrollo de NAFLD en las ratas del estudio, a las que se había inducido diabetes mellitus tipo II (DM2), al mejorar la glucogénesis y reducir la lipogénesis *de novo*.

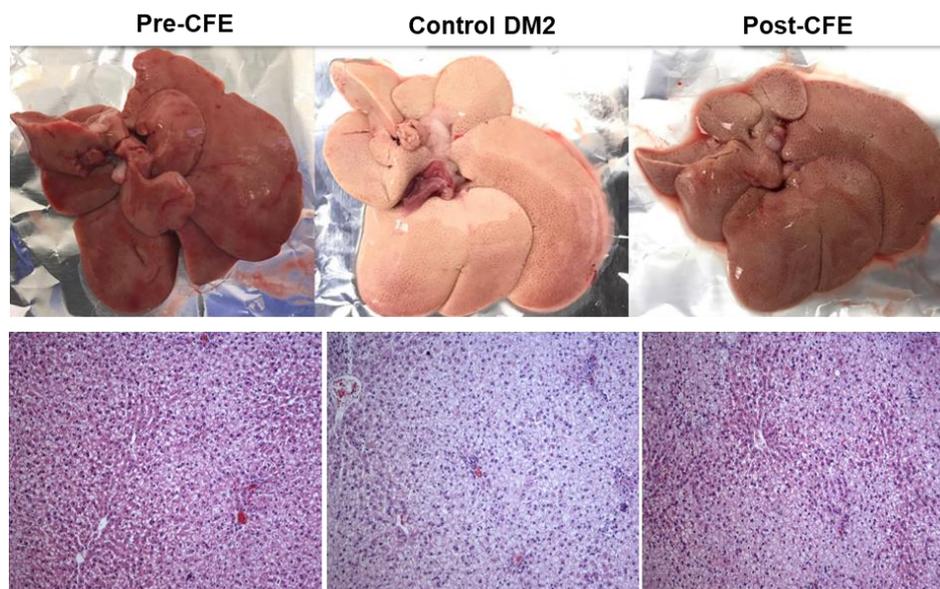


Figura 3. Diferencias entre los hígados de los tres grupos de estudio a nivel macro y microscópico. Fila 1: hígados de los tres grupos: Pre-CFE se le administra el extracto de algarrobo (CFE) desde el comienzo del estudio y luego se le induce DM2; Control DM2 grupo control con diabetes mellitus 2 (DM2) inducida por ingesta de dieta alta en grasas saturadas y colesterol y Post-CFE al que se le administra el CFE tras inducirle la DM2. Fila 2: tinción histológica del hígado con hematoxilina y eosina de los tres grupos.

Tomado de Macho-González et al. (2019).

El grupo AFUSAN lleva años trabajando en el desarrollo de productos cárnicos funcionales enriquecidos en PAs (AFUSAN, 2009) que permiten aportar al organismo, a través de la dieta, las propiedades beneficiosas – entre ellas su gran capacidad antioxidante – de estos compuestos bioactivos. Los alimentos funcionales se diseñan con la finalidad de minimizar la falta de algunos componentes esenciales de la dieta mediante su introducción en alimentos de alto consumo como los propios cárnicos.

También en el estudio de Cao et al. (2018) se encontraron efectos en la actividad antioxidante hepática ya que las PAs administradas tuvieron un efecto significativo restaurando la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) hepática, siendo ese efecto dosis dependiente. Una acción similar se observó en la actividad de la glutatión S-transferasa (GST) y la concentración de glutatión reducido (GSH). Una fuerte actividad antioxidante se encontró también en los ratones alimentados con los extractos de PAs y también una reducción significativa del contenido en malondialdehído (MDA) plasmático. El MDA es un indicador de daño hepático, producto final de la peroxidación de ácidos insaturados, cuya concentración se incrementa cuando hay acumulación de radicales libres, por ello, el nivel de MDA es un reflejo del grado de peroxidación lipídica del cuerpo (Liao et al., 2014). En otro estudio llevado a cabo por el grupo AFUSAN de la UCM (Macho-González et al., 2018) se determinó que el CFE podía reducir de manera significativa los niveles plasmáticos de triglicéridos postpandriales y colesterol de forma dosis-dependiente. Se comprobó *in vitro* que este efecto se debía a la inhibición que producen las PAs sobre la acción conjunta de la lipasa pancreática y las sales biliares, disminuyendo la digestión y absorción de las grasas. Además, las PAs del extracto tienen un efecto hipotrigliceremiante *in vivo* ya que disminuyen tanto la infiltración de grasa hepática como la hiperlipoproteinemia (Macho-González et al., 2020). Este mecanismo está probablemente relacionado, según los autores, con una ralentización del vaciado gástrico e incremento de la velocidad de tránsito intestinal, así como con el elevado grado de polimerización de las PAs utilizadas.

4.2 Efecto de las proantocianidinas sobre el daño hepático inducido por intoxicación con metales pesados

4.2.1 Intoxicación con arsénico

El arsénico es una toxina metaloide y carcinógena presente en suelo, rocas y agua. Su mecanismo de toxicidad no está esclarecido, sin embargo, se sabe que el hígado es una diana importante en la toxicidad del arsénico, ya que es el órgano donde se metaboliza por metilación, reacción llevada a cabo por el glutatión (Xu et al., 2019).

En este proceso de metilación se pueden llevar a cabo distintas reacciones, como resultado de la monometilación del arsénico se obtiene monometilarsónico (MMA^{3+}) cuya toxicidad resulta mayor que la del arsénico inorgánico (iAs) (**Figura 4**). Además, se considera la peroxidación lipídica causada por el estrés oxidativo como uno de los mecanismos principales del envenamamiento con iAs. Es por ello que podría antagonizarse la toxicidad con un efecto antioxidante (Xu et al., 2019).

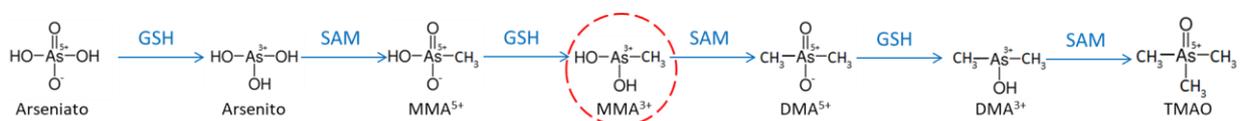


Figura 4. Ruta metabólica en la intoxicación por arsénico. (GSH–glutatión reducido, SAM–S-adenosil-L-metionina, MMA^{3+} y MMA^{5+} —ácido monometilarsónico valencias 3 y 5, DMA^{3+} y DMA^{5+} —ácido dimetilarsínico valencias 3 y 5 y TMAO—óxido de trimetilarsénico).

Adaptado de Xu et al. (2019).

La exposición al arsénico puede causar fibrosis hepática, cirrosis e incluso cáncer hepático en los casos más graves.

El factor nuclear derivado de eritroide 2 (Nrf2) es un importante factor regulatorio de la resistencia celular al estrés. Puede regular muchas enzimas antioxidantes, entre ellas: la glutatión-S-transferasa (GST), la hemo-oxigenasa 1 (HO-1), la NADPH-quinona oxidoreductasa-1 (NQO1) y la γ -glutamato cisteína ligasa (γ -GCL) (Hu et al., 2018).

Las PAs han demostrado ser eficaces frente a la peroxidación lipídica inducida por factores ambientales, aunque el mecanismo a través del Nrf2 no esté totalmente esclarecido, pudiendo resultar útiles en la intoxicación por arsénico ya que pueden reducir la citotoxicidad causada por su monometilación (Xu et al., 2019).

El efecto protector *in vitro* de las PAs frente al daño inducido por arsénico en una línea celular de hepatocitos fetales humanos (L-02) se resume en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Pauta de administración de las dosis de GSPE sin o con As en cada uno de los ocho grupos y principales resultados del estudio de Xu et al. (2019).

		Células L02								
		Grupos	1	2	3	4	5	6	7	8
Tto.	As (25 μ mol/L)	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	GPSE (mg/L)	0	10	25	50	0	0	10	25	50
Resultados	Viabilidad celular	=	↑	↑↑	↑↑↑	↑↑↑	↓↓↓	↓	=	=
	Estrés oxidativo	=	↓	↓↓	↓↓↓	↓↓↓	↑↑↑	↑	=	=
	Monometilación As						↑↑	↓	↓↓↓	↓↓↓
	Dimetilación As						↓	↑	↑↑↑	↑↑↑↑
	Ruta Nrf2		↑	↑↑	↑↑↑	↑↑↑	↓↓↓	↑	↑↑↑	↑↑↑↑

Las células hepáticas L02 fueron tratadas con extracto de PAs de semillas de uva (GSPE) – en verde – sin (-) o con (+) arsénico – en rojo – por 24h *in vitro*. (El efecto del daño inducido por la intoxicación se indica con flechas rojas; las situaciones en que el las PAs mejoran o revierten la situación se indican con flechas verdes).

El tratamiento con As indujo una reducción significativa de la viabilidad celular. Sin embargo, el efecto tóxico del As se vio revertido al administrar GSPE de forma conjunta, lo que podría deberse a que las PAs minimizan la toxicidad de este metal pesado. De forma paralela, cuando se realizó la intoxicación con As se observó un marcado aumento del estrés oxidativo y una disminución de la ruta Nrf2, factor de transcripción necesario para incrementar la maquinaria antioxidante. Sin embargo, el tratamiento conjunto de As y GSPE minimizó el impacto sobre el estrés oxidativo, al incrementar los niveles y expresión de Nrf2 y las enzimas NQO1, HO-1 y GST (**Figura 5**). Además, el GSPE aumentó la velocidad de metilación del hepatocito, reduciendo el tiempo de acción del MMA³⁺ al alcanzar antes el paso de dimetilación y, por tanto, disminuyendo la toxicidad celular. Todos estos efectos protectores del GSPE mostraron un patrón dosis-dependiente, obteniéndose resultados más que prometedores frente a la intoxicación hepática por As para las dosis más elevadas de este extracto.

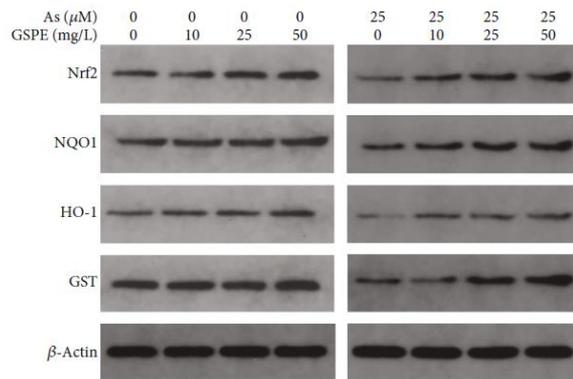


Figura 5. Niveles de las proteínas – Nrf2, NQO1, HO-1, y GST – analizados por Western Blot tras el tratamiento con arsénico y/o GSPE.

Tomado de (Xu et al., 2019).

4.2.2 Intoxicación con cadmio

El cadmio (Cd) es uno de los metales más tóxicos al que el ser humano y los animales estamos expuestos por distintas fuentes: ambiental – por la contaminación industrial, así como el tabaco – y alimentaria – especialmente en alimentos de origen marino. Su toxicidad hepática se debe a múltiples factores, pero juega un papel fundamental el daño oxidativo que provoca en los tejidos al incrementar la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que conlleva una alteración en la estructura del DNA e inhibe la actividad de muchas de las enzimas cruciales en la defensa antioxidante de nuestro organismo (Dudley et al., 1984). Las mitocondrias son las dianas intracelulares del estrés oxidativo, aunque el mecanismo no se conoce por completo, se sabe que el Cd modifica la función mitocondrial e inhibe la fosforilación oxidativa mitocondrial en los hígados de las ratas. Como el estrés oxidativo es uno de los mecanismos clave en el daño inducido por Cd, se puede presuponer que la administración de antioxidantes es un posible tratamiento (Miltonprabu et al., 2016). En el estudio de Miltonprabu et al. (2016) se comprobó que las PAs provenientes del GSPE protegen frente a la acumulación de Cd en hígado y del estrés oxidativo que conlleva, no sólo por sus propiedades antioxidantes, sino también por su capacidad para quelar metales, asociándose con el ion Cd y dejándolo inactivo. En el estudio se detallaron los efectos de las PAs a distintos niveles en la intoxicación por Cd:

4.2.2.1 Sobre la acción proinflamatoria

La intoxicación con Cd aumentó significativamente los niveles de las citoquinas proinflamatorias: factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), interleuquina 4 (IL-4) y óxido nítrico (NO) en suero – determinados por ELISA – así como la expresión hepática del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF κ B) induciendo la inflamación hepática. La activación del factor NF κ B tiene un papel importante en la inflamación y la proliferación celular (Miltonprabu et al., 2016). Los niveles elevados de ROS generados en la intoxicación por Cd activan este factor que se transloca al núcleo regulando la transcripción de genes relacionados con enzimas que median en los procesos de inflamación, como la IL-4 y el TNF α . Esta activación y traslocación al núcleo del factor NF κ B se comprobó que se veía inhibida en presencia de las PAs del GSPE (**Figura 6**).

En comparación con el grupo control se observan disminuciones significativas en los niveles de NO e IL-4 en el grupo tratado únicamente con Cd, mientras que los valores se mantienen muy próximos a los normales en los grupos tratados únicamente con GSPE. Al administrar conjuntamente el tóxico junto con el extracto antioxidante los valores se restauran aproximándose nuevamente a los valores normales. Se puede ver así un incremento en los niveles de TNF- α y NF κ B en presencia de Cd, que son revertidos con la administración conjunta de GSPE, así como el caso contrario para NO e IL-4 cuyas concentraciones disminuyen en el tratamiento con Cd y se incrementan –aproximándose a la normalidad– en la administración conjunta de Cd + GSPE (Miltonprabu et al., 2016).

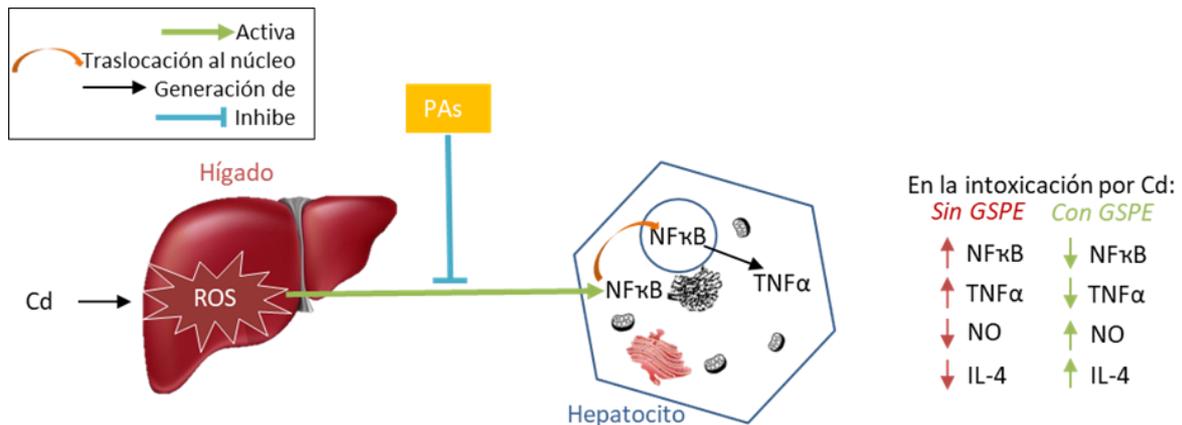


Figura 6. Efectos del GSPE en las actividades de los marcadores de inflamación hepática de los hígados de las ratas sometidas a intoxicación por Cd. (Figura elaborada para ilustrar los cambios encontrados en la publicación de Miltonprabu et al. (2016)).

Además, la activación del NF κ B también está relacionada con la acción de las serina/treonina quinasas conocidas como IKK, pues estas fosforilan proteínas y factores de la ruta del NF κ B. Actualmente, inhibidores de las IKK se consideran reguladores específicos de la activación del NF κ B. La pre-administración del GSPE suprime eficazmente la inflamación al inhibir la transcripción de genes que aparece con la activación del NF κ B (Miltonprabu et al., 2016).

4.2.2.2 Sobre las enzimas mitocondriales

Las actividades de enzimas mitocondriales como isocitrato deshidrogenasa (ICDH), succinato deshidrogenasa (SDH), malato deshidrogenasa (MDH), α -cetoglutarato deshidrogenasa (α -KHD) y NADH deshidrogenasa disminuían significativamente en ratas intoxicadas con Cd. El estrés oxidativo producido en la intoxicación reduce la actividad de las enzimas del ciclo de Krebs, perturbando la membrana mitocondrial e incrementando los niveles de peroxidación lipídica al alterar el transporte electrónico de la cadena respiratoria. La preadministración de PAs del GSPE elevó significativamente las actividades de estas enzimas. Se observó, además, un desacoplamiento significativo en las mitocondrias aisladas de los hígados de las ratas tratadas con Cd+GPSE, esto se relaciona con un efecto protector frente al estrés oxidativo y una menor producción de ROS (Miltonprabu et al., 2016). Se comprobó que las ratas pretratadas con GSPE y sometidas a la intoxicación con Cd presentan un incremento significativo en la actividad de las enzimas del ciclo de Krebs, comparado con el grupo tratado solo con Cd. Así mismo, las ratas tratadas únicamente con

GPS presentan niveles de enzimas del ciclo de Krebs significativamente superiores al grupo control (**Figura 7**).

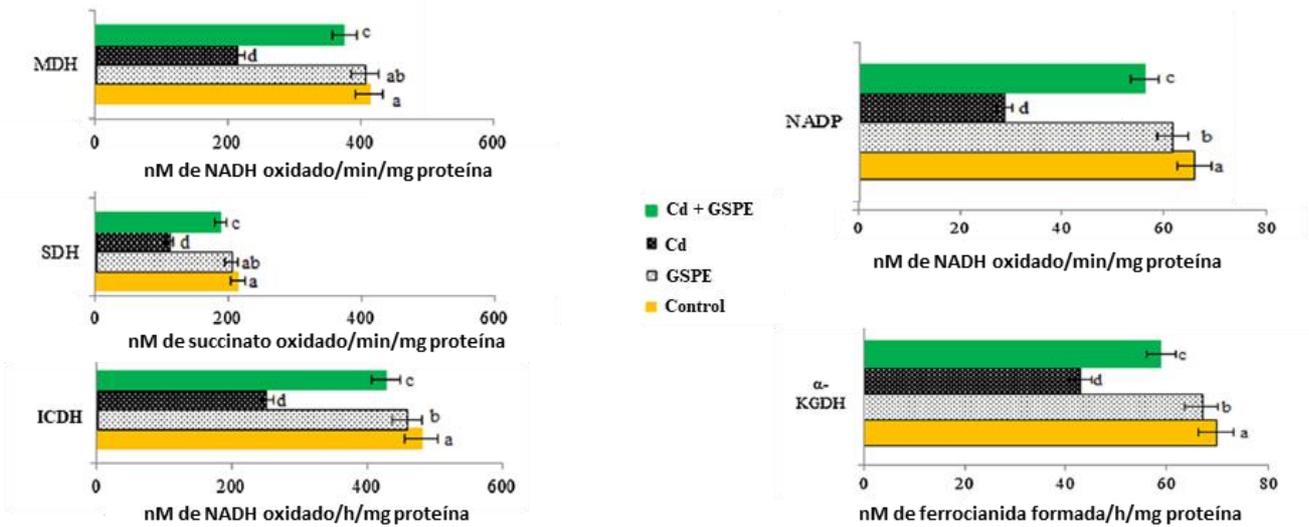


Figura 7. Efectos del GSPE en los cambios inducidos en las actividades de las enzimas mitocondriales en la intoxicación por Cd. Los valores se expresan como la media \pm la desviación estándar. Los valores que no comparten la misma letra (a-d) difieren significativamente ($p < 0,05$).

Tomado de Miltonprabu et al. (2016).

4.3 Efecto de las proantocianidinas sobre el desarrollo de tumores hepáticos

El crecimiento de un tumor puede causar cambios en la estructura y función hepáticas, además los tumores generan ROS e inducen estrés oxidativo en el organismo como resultado de los daños en los tejidos y el DNA (Bagchi et al., 2000).

El mecanismo del desarrollo de un tumor ocurre en 3 fases:

1. **Iniciación:** el carcinógeno modula la integridad genética de la célula. En este primer paso se genera mucho estrés oxidativo que daña al DNA de la célula, conduciendo al siguiente paso, la promoción.
2. **Promoción:** la célula genéticamente dañada falla en su intento de compensar el daño producido y comienza a promover un crecimiento descontrolado.
3. **Progresión:** se generan capilares por angiogénesis y se induce el crecimiento del tumor, así como la carcinogénesis.

Los antioxidantes pueden mediar en el estrés oxidativo producido por los tumores al reaccionar con las ROS, reaccionando con ellas y quelando iones metálicos (carcinógenos) con esto se reduce el estrés oxidativo y se previene el paso crítico en el inicio de la carcinogénesis (Bagchi et al., 2000).

Otra ventaja es que las PAs parecen tener una citotoxicidad selectiva frente a las células cancerígenas humanas, mientras que promueven el crecimiento y la viabilidad de las células sanas. Tienen una actividad protectora dosis-dependiente hasta 50 veces mayor que la de la vitamina C y E (Bagchi et al., 2000). También inhiben la ciclooxygenasa, la lipoxigenasa, la proliferación de linfocitos T, la infiltración de neutrófilos, la apoptosis, necrosis y la agregación plaquetaria (Abd Eldaim et al., 2019).

El GSPE tiene un potencial significativo para captar radicales libres tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*, resultando aún más eficaz que las vitaminas C, E y los β -carotenos. Evita la peroxidación lipídica hepática y cerebral y el daño al DNA en los animales, protege contra la toxicidad multiorgánica inducida por drogas y productos químicos y demuestra tener una citotoxicidad selectiva hacia las células cancerígenas (Jia et al., 2011). En múltiples estudios se ha demostrado además que el GSPE previene la hepatocarcinogénesis inducida por la dimetilnitrosamina (DMN) mediante patrones selectivos de prevención y muerte celular, modulando los perfiles de expresión génica y protegiendo la integridad genómica (Abd Eldaim et al., 2019).

La aplicación crónica de DMN en ratas resultó en una muy alta incidencia de tumores hepáticos malignos. La biotransformación de DMN produce metabolitos alquilantes que causan la formación del aducto en el ADN, mediado por las enzimas del citocromo P450 (Tolba et al., 2015) (Figura 8).

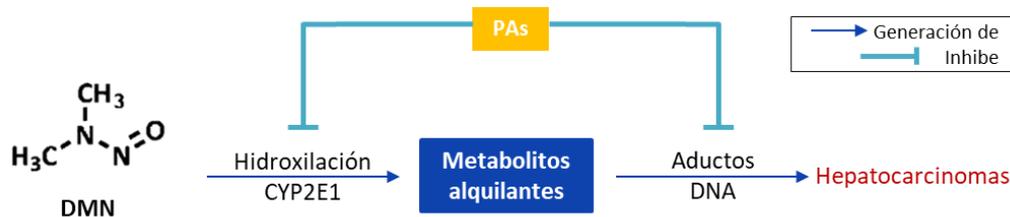


Figura 8. Esquema del mecanismo de daño hepático causado por la dimetilnitrosamina (DMN) y efecto de las proantocianidinas (PAs).

Adaptado de Tolba et al. (2015).

Recopilando toda esta información, se podría concluir que las PAs presentan una actividad protectora frente al desarrollo de tumores hepáticos fundamentalmente gracias a su elevada actividad antioxidante. Por ello, podrían emplearse como fitoterapéuticos en la quimiopreención del cáncer en general y, en concreto, del cáncer hepático (Bagchi et al., 2000).

5 CONCLUSIONES

Las PAs constituyen un grupo de moléculas con una elevada actividad antioxidante que puede ejercer efectos beneficiosos en nuestro organismo y en concreto a nivel hepático:

- a) Frente al estrés oxidativo inducido por las dietas con alto contenido en grasa, ayudando a reestablecer la morfología (p.ej. en la progresión a NAFLD) y preservando la función hepática.
- b) Frenando los efectos hepatotóxicos por intoxicación con arsénico y cadmio.
- c) Reduciendo el desarrollo y la progresión del hepatocarcinoma al inhibir las células tumorales y promover el desarrollo de las células sanas.

En la actualidad el perfil dietético de un elevado porcentaje de población se aleja, de manera evidente y difícilmente modificable, de la dieta mediterránea rica en alimentos de origen vegetal adoptando en su lugar el consumo de dietas con un alto contenido en grasas saturadas y de alimentos ultraprocesados.

La incorporación de moléculas quimioprotectoras como las PAs a alimentos, para convertirlos en alimentos funcionales, parece necesaria para reducir los efectos negativos de estos perfiles dietéticos incorrectos relacionados con muchas de las alteraciones fisiopatológicas hepáticas.

6 BIBLIOGRAFÍA

- Abd Eldaim, M. A., Tousson, E., El Sayed, I. E. T., Abd El-Aleim, A. E. A. H., & Elsharkawy, H. N. (2019). Grape seeds proanthocyanidin extract ameliorates Ehrlich solid tumor induced renal tissue and DNA damage in mice. *Biomed Pharmacother*, *115*(November 2018), 108908. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108908>
- AFUSAN (2009). "Productos cárnicos con compuestos bioactivos cardiosaludables incorporados mediante la adición de frutos secos, preferentemente nuez". Patente Nacional nº 203000367.
- Bagchi, D., Bagchi, M., Stohs, S. J., Das, D. K., Ray, S. D., Kuszynski, C. A., Joshi, S. S., & Pruess, H. G. (2000). Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: Importance in human health and disease prevention. *Toxicology*, *148*(2-3), 187-197. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(00\)00210-9](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00210-9)
- Bagchi, D., Swaroop, A., Preuss, H. G., & Bagchi, M. (2014). Free radical scavenging, antioxidant and cancer chemoprevention by grape seed proanthocyanidin: An overview. *Mutat Res*, *768*(C), 69-73. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2014.04.004>
- Baker, H.J., Lindsey, J.R. & Wesibroth, S.H (1979). *The laboratory rat. American College of Laboratory Animal Medicine Series*. Cambridge, Estados Unidos: American Press. ISBN: 9781483268613
- Baselga-Escudero, L., Pascual-Serrano, A., Ribas-Latre, A., Casanova, E., Salvadó, M. J., Arola, L., Arola-Arnal, A., & Bladé, C. (2015). Long-term supplementation with a low dose of proanthocyanidins normalized liver miR-33a and miR-122 levels in high-fat diet-induced obese rats. *Nutr Res*, *35*(4), 337-345. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2015.02.008>
- Bian, J. T., & Bhargava, H. N. (1998). Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *General Pharmacol*, *30*(5), 771-776. [https://doi.org/10.1016/S0306-3623\(97\)00332-7](https://doi.org/10.1016/S0306-3623(97)00332-7)
- Cao, J., Yu, X., Deng, Z., Pan, Y., Zhang, B., Tsao, R., & Li, H. (2018). Chemical Compositions, Antiobesity, and Antioxidant Effects of Proanthocyanidins from Lotus Seed Epicarp and Lotus Seed Pot. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *66*(51), 13492-13502. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b05137>
- Constanzo, L.S. (2011). Fisiología gastrointestinal en *Fisiología* (pp. 327-379). Barcelona, España: Elsevier España. ISBN: 9788480868242.
- Downing, L.E., Ferguson, B.S., Rodriguez, K. & Ricketts, M.L. (2017). A grape seed procyanidin extract inhibits HDAC activity leading to increased Ppar phosphorylation and target-gene expression. *Mol. Nutr. Food Res.*, *61*, 1600347.
- Dudley, R. E., Svoboda, D. J., & Klaassen, C. D. (1984). Time course of cadmium-induced ultrastructural changes in rat liver. *Toxicol Applied Pharmacol*, *76*(1), 150-160.

[https://doi.org/10.1016/0041-008X\(84\)90038-3](https://doi.org/10.1016/0041-008X(84)90038-3)

- Dulundu, E., Ozel, Y., Topaloglu, U., Toklu, H., Ercan, F., Gedik, N., & Sener, G. (2007). Grape seed extract reduces oxidative stress and fibrosis in experimental biliary obstruction. *J Gastroenterol Hepatol*, 22(6), 885-892. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2007.04875.x>
- Esteller Pérez, A., Cabré, E. & Peña Quintana, L. (2008). Nutrición en las enfermedades hepato biliares. En A. Gil Hernández (Ed.), *Tratado de Nutrición: Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición* vol, 4 (pp. 721-766). Madrid, España: Editorial Médica Panamericana. ISBN: 9788498353495
- Ginés, I., Gil-Cardoso, K., Serrano, J., Casanova-Martí, À., Lobato, M., Terra, X., Blay, M. T., Ardévol, A., & Pinent, M. (2019). Proanthocyanidins limit adipose accrual induced by a cafeteria diet, several weeks after the end of the treatment. *Genes*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/genes10080598>
- Gu, L., Kelm, M. A., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., Gebhardt, S., & Prior, R. L. (2004). Concentrations of Proanthocyanidins in Common Foods and Estimations of Normal Consumption. *J Nutr*, 134(3), 613-617. <https://doi.org/10.1093/jn/134.3.613>
- Hu, Y., Yu, C., Yao, M., Wang, L., Liang, B., Zhang, B., Huang, X., & Zhang, A. (2018). The PKC δ -Nrf2-ARE signalling pathway may be involved in oxidative stress in arsenic-induced liver damage in rats. *Environ Toxicol Pharmacol*, 62, 79-87. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.05.012>
- Jia, Z., Song, Z., Zhao, Y., Wang, X., & Liu, P. (2011). Grape seed proanthocyanidin extract protects human lens epithelial cells from oxidative stress via reducing NF- κ B and MAPK protein expression. *Mol Vis*, 17, 210-217.
- Liao, W. Z., Ning, Z. X., Ma, L., Yin, X. R., Wei, Q. Y., Yuan, E. D., Yang, J. G. & Ren, J. Y. (2014) Recrystallization of dihydromyricetin from *Ampelopsis grossedentata* and its anti oxidant activity evaluation. *Rejuvenation Res*, 17 (5), 422-429.
- Luca, S. V., Macovei, I., Bujor, A., Miron, A., Skalicka-Woźniak, K., Aprotosoai, A. C., & Trifan, A. (2020). Bioactivity of dietary polyphenols: The role of metabolites. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 60(4), 626-659. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1546669>
- Macho-González, A., Garcimartín, A., López-oliva, E., Benedí, J., Bastida, S., & Sánchez-Muniz, F. J. (2020). Papel de las proantocianidinas sobre la microbiota, permeabilidad intestinal e inflamación En A Marcos (Ed.), *Inmunonutrición* (pp. 245-266). Madrid, España: Editorial Médica Panamericana. ISBN: 9788491101208.
- Macho-González, A., Garcimartín, A., Naes, F., López-Oliva, M. E., Amores-Arrojo, A., González-Muñoz, M. J., Bastida, S., Benedí, J., & Sánchez-Muniz, F. J. (2018). Effects of Fiber Purified Extract of Carob Fruit on Fat Digestion and Postprandial Lipemia in Healthy Rats. *J Agri Food Chem*, 66(26), 6734-6741. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01476>

- Macho-González, A., Garcimartín, A., López-Oliva, M. E., Ruiz-Roso, B., de la Torre, I. M., Bastida, S., Benedí, J., & Sánchez-Muniz, F. J. (2019). Can carob-fruit-extract-enriched meat improve the lipoprotein profile, VLDL-oxidation, and LDL receptor levels induced by an atherogenic diet in STZ-NAD-diabetic rats? *Nutrients*, *11*(2). <https://doi.org/10.3390/nu11020332>
- Milenkovic, D., Deval, C., Gouranton, E., Landrier, J. F., Scalbert, A., Morand, C., & Mazur, A. (2012). Modulation of miRNA expression by dietary polyphenols in apoE deficient mice: A new mechanism of the action of polyphenols. *PLoS ONE*, *7*(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029837>
- Miltonprabu, S., Nazimabashir, & Manoharan, V. (2016). Hepatoprotective effect of grape seed proanthocyanidins on Cadmium-induced hepatic injury in rats: Possible involvement of mitochondrial dysfunction, inflammation and apoptosis. *Toxicol Rep*, *3*, 63-77. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.11.010>
- Monagas, M., Urpi-Sarda, M., Sánchez-Patán, F., Llorach, R., Garrido, I., Gómez-Cordovés, C., Andres-Lacueva, C., & Bartolomé, B. (2010). Insights into the metabolism and microbial biotransformation of dietary flavan-3-ols and the bioactivity of their metabolites. *Food Function*, *1*(3), 233-253. <https://doi.org/10.1039/c0fo00132e>
- Quesada, H., Del Bas, J. M., Pajuelo, D., Díaz, S., Fernandez-Larrea, J., Pinent, M., Arola, L., Salvadó, M. J., & Bladé, C. (2009). Grape seed proanthocyanidins correct dyslipidemia associated with a high-fat diet in rats and repress genes controlling lipogenesis and VLDL assembling in liver. *Intl J Obes*, *33*(9), 1007-1012. <https://doi.org/10.1038/ijo.2009.136>
- Rodríguez-Pérez, C., García-Villanova, B., Guerra-Hernández, E., & Verardo, V. (2019). Grape seeds proanthocyanidins: An overview of in vivo bioactivity in animal models. *Nutrients*, *11*(10), 1-20. <https://doi.org/10.3390/nu11102435>
- Tolba, R., Kraus, T., Liedtke, C., Schwarz, M., & Weiskirchen, R. (2015). *Carcinogenic liver injury in mice. Lab Anim* *49* (1_suppl), 59-69. <https://doi.org/10.1177/0023677215570086>
- Torres, L. P., Lamas, R. P., Arbelo, T. F., Alonso, M. D. C. V., & Martínez, R. (2006). Hígado graso no alcohólico en niños obesos. *Rev Cubana Pediatr*, *78*(1).
- Xu, M., Niu, Q., Hu, Y., Feng, G., Wang, H., & Li, S. (2019). Proanthocyanidins antagonize arsenic-induced oxidative damage and promote arsenic methylation through activation of the Nrf2 signaling pathway. *Oxid Med and Cell Longev*, *2019*. <https://doi.org/10.1155/2019/8549035>
- Zhou, K., & Raffoul, J. J. (2012). Potential anticancer properties of grape antioxidants. *J Oncol*, *803294*. <https://doi.org/10.1155/2012/803294>

7 TABLA RESUMEN ESTUDIOS

Tabla 4. Características principales de los estudios empleados para llevar a cabo esta revisión bibliográfica.

Autores	Muestra	Población	Intervención	Tiempo	Pruebas evaluación	Resultados	
Ginés et al. España, 2019	Experimento corto n=14 2 grupos de 7	Ratas Wistar hembra Peso 240-270 g	10 días Grupo 1: DE Grupo 2: DE + GSPE	18 días Grupos 1 y 2: DAG	28 días	Extracción de sangre y tejidos Metabolitos plasmáticos y hormonas TG y mRNA	Los niveles de Cpt1a, Fasn y Dgat2 se vieron significativamente alterados en los grupos a los que se administró la dieta alta en grasa. Esta situación se revirtió en los grupos a los que se administró el GPSE.
	Experimento largo n=30 3 grupos de 10		10 días Grupos 1, 2 y 3: DE+ GSPE	17 sem Grupo 1: DE Grupos 2 y 3: DAG	~19 semanas		
Cao et al. China, 2018	n= 70 7 grupos de 10	Ratones C57BL/6j Peso 20-22 g	Grupo 1: DE Grupo 2: DAG Grupo 3: DAG + LSE 25 Grupo 4: DAG + LSE 100 Grupo 5: DAG + LSP 25 Grupo 6: DAG + LSP 100	60 días	Morfología de tejido hepático y adiposo TG, TC, LDL y HDL AST, ALT y ALP Actividad enzimas antioxidantes	El peso del hígado aumentó significativamente en el grupo 2. Los grupos 3 a 6 en los que se administran los extractos LSE y LSP mantienen el mismo peso que el grupo 1 (grupo control), siendo mayor la reducción de peso con LSP.	
Macho-González et al., España, 2019	n=24 3 grupos de 8	Ratas Wistar macho	Grupo 1: Control Grupo 2: CFE desde día 1 Grupo 3: CFE desde aparición DM2	8 semanas Se les indujo DM2 en la 3 ^{ra} semana	Crecimiento y grasa fecal Glucemia Lipoproteínas Composición lipoproteica del plasma Actividad arilesterasa Oxidación VLDL y hepática Niveles del receptor de LDL	En los grupos en los que se administró el CFE disminuyó significativamente el grado de esteatosis hepática.	
Macho-González et al., España, 2018	n=24 4 grupos de 6	Ratas Wistar macho	Grupo 1: Control Grupo 2: CFE 25 Grupo 3: CFE 50 Grupo 4: CFE 150	7 días	TG y colesterol Grasas y composición del contenido intestinal remanente Grasa en heces	Se observó una disminución significativa del nivel de triglicéridos en sangre post-pandrial así como una disminución significativa de la colesterolemia.	
Xu et al. China, 2019	80-90% confluencia celular (3-5 días) 8 grupos	Células L-02 cultivadas en placas de cultivo de 6 pozos a 37°C con 5% CO ₂ .	C final de arsénico: 0; 25 µmol/L C final de GSPE: 0; 10; 25 y 50 mg/L Añadidos al medio al mismo tiempo durante 24h . Cada experimento se repitió 3 veces.	2 semanas	Ensayo MTT de viabilidad Ensayo de apoptosis ROS Estrés oxidativo y función hepática Metilación del arsénico	La ruta del Nrf2 se ve significativamente disminuida en la intoxicación con arsénico. En los grupos tratados con GSPE las enzimas de la ruta del Nrf2 se expresan en mayor medida con una relación dosis-dependiente.	
Miltonprabu et al. India, 2015	n=24 6 grupos de 6	Ratas Wistar macho Peso 170-190 g	Grupo 1: grupo control Grupo 2: GSPE 100mg/kg Grupo 3: Cd (CdCl ₂) 5mg/kg Grupo 4: GSPE 100mg/kg 90' antes de Cd 5mg/kg	28 días	Concentración hepática de Cd ATPasas de membrana del adipocito Citoquinas inflamatorias Ensayo enzimas mitocondriales	En la intoxicación por Cd se observan disminuciones significativas en los niveles de NO e IL-4, así como incrementos muy notables en los niveles de NFκB y TNF-α. Todos cambios revierten en el caso de los grupos tratados, aunque sigue habiendo diferencias significativas respecto al control.	