

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO



Facultad de Ciencias de la Salud

“Dr. Wilman Ruíz Vigo”

Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica

Efecto del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua” sobre lipoperoxidación inducida con fluoxetina en hígado en *Rattus rattus* var. albinus ooferectomizadas.

Cruz Olivera, Jocelin

Valverde Gómez, Milton Eder

Asesor:

Dr. Q.F. Roberto Osmundo Ybañez Julca

Co - Asesor:

Q.F. Carlos Elías Núñez Gálvez

Cajamarca - Perú

Diciembre - 2016

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO



Facultad de Ciencias de la Salud

“Dr. Wilman Ruíz Vigo”

Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica

Efecto del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua” sobre lipoperoxidación inducida con fluoxetina en hígado en *Rattus rattus* var. *albinus* ooferectomizadas.

Tesis presentada en el cumplimiento parcial de los requerimientos para optar el
Título Profesional de Químico Farmacéutico

Bach. Cruz Olivera, Jocelin

Bach. Valverde Gómez, Milton Eder

Asesor: Dr. Q.F. Roberto Osmundo Ybañez Julca

Co - Asesor: Q.F. Carlos Elías Núñez Gálvez

Cajamarca - Perú

Diciembre - 2016

COPYRIGHT © 2016 by

CRUZ OLIVERA, JOCELIN

VALVERDE GÓMEZ, MILTON EDER

Todos los derechos reservados

PRESENTACIÓN

Señores del Jurado Dictaminador, dando cumplimiento a lo establecido por el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, se somete a vuestra consideración y elevado criterio profesional el presente trabajo de investigación intitulado:

Efecto del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua” sobre la lipoperoxidación inducida con fluoxetina en hígado en *Rattus rattus* var. albinus ooferectomizadas.

Para poder obtener el título profesional de Químico Farmacéutico.

Es propicia esta oportunidad para manifestar el sincero reconocimiento hacia la Universidad y su plana docente, que gracias a ellos y su buena voluntad han contribuido en nuestra formación profesional.

Dejamos a vuestro criterio, señores miembros del Jurado Dictaminador, la calificación del presente trabajo de investigación.

Cajamarca, Diciembre del 2016

Cruz Olivera, Jocelin
Bach. En Farmacia y Bioquímica

Valverde Gómez, Milton Eder
Bach. En Farmacia y Bioquímica

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

“DR. WILMAN RUÍZ VIGO”

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**APROBACIÓN DE TESIS PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

Efecto del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua” sobre la lipoperoxidación inducida con fluoxetina en hígado en *Rattus rattus* var albinus ooferectomizadas

Q.F. Fredy Martos Rodríguez

PRESIDENTE

Q.F. Nidia Hernández Zambrano

MIEMBRO

Q.F. Carlos Elías Núñez Gálvez

MIEMBRO

A:

A Dios, por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mi familia por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo, quienes con sus consejos han sabido guiarme para culminar mi carrera profesional, me siento orgullosa de tenerlos a mi lado y ser ese impulso de perseverancia día a día y por haberme ayudado a lograr una meta más en mi vida; todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

A mi asesor de tesis y profesores, gracias por su tiempo, por su apoyo así como por la sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi formación profesional. Gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida.

Jocelin Cruz Olivera

A:

A mis padres, que me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento, porque creyeron en mí y porque me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, porque en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada mi meta, ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles de mi carrera, y porque el orgullo que sienten por mí, fue lo que me hizo ir hasta el final.

A mi asesor de tesis, por la orientación y ayuda brindada para la realización de la misma, por su apoyo constante y amistad que me permitieron orientar y afianzar nuevos conocimientos, los que se verán reflejados en mi futuro profesional.

A todos, espero no defraudarlos y contar siempre con su valioso apoyo, sincero e incondicional.

Milton Eder Valverde Gómez

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es fruto del esfuerzo en el cual directa e indirectamente participaron distintas personas, tanto opinando, corrigiendo, dándonos ánimos, acompañándonos en los momentos de crisis y en los momentos de felicidad. Dicho trabajo nos ha permitido aprovechar las experiencias de muchas personas las cuales deseamos agradecer en estas líneas.

En primer lugar agradecer a nuestro asesor de tesis Dr. Q.F. Roberto Osmundo Ybañez Julca, que más que un asesor, es un amigo, por su paciencia, valiosa dirección, aporte científico, sugerencias y apoyo para poder seguir este trabajo y así poder llegar a su conclusión.

Todo esto nunca hubiera sido posible sin el amparo y el cariño que nos inspiraron nuestros padres y familiares, que de forma incondicional y a pesar de la distancia siempre estuvieron a nuestro lado aconsejándonos en el momento exacto para no dejarnos caer y así poder enfrentar los momentos difíciles, orientándonos en la toma de decisiones que nos ayuden a balancear nuestras vidas.

Del mismo modo agradecer a nuestra alma mater Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, por habernos aceptado ser parte de ella y abierto sus puertas para poder estudiar nuestra carrera profesional, así como también a los diferentes docentes que brindaron sus conocimientos y su apoyo para seguir adelante día a día.

Jocelin y Milton Eder

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue demostrar el Efecto antioxidante del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua” sobre la lipoperoxidación inducida con fluoxetina en hígado en *Rattus rattus* var. albinus ooforectomizadas, mediante el método espectrofotométrico con la reacción del ácido tiobarbitúrico (TBARS) cuyo principal representante es el malondialdehído (MDA); dicha investigación se realizó en cinco grupos, constituyendo un total de 29 especímenes de la especie *Rattus rattus* var. albinus hembras, jóvenes, procedentes del Bioterio de la Universidad Nacional de Trujillo, dentro de los cuales sólo a 24 de las mismas se las indujo a un proceso de menopausia, se procedió a practicar una cirugía ovárica (Ooforectomización), para luego pasar por un proceso de recuperación post-operatoria, e iniciar con la administración de tratamientos.

Los grupos fueron divididos en: grupo control (A) al que se suministró suero fisiológico a una cantidad de 1mL diario durante seis semanas, grupo problema (B y C) a los cuales se les administró fluoxetina 20 mg/kg a una concentración de 0,15 % durante tres semanas iniciales, seguidamente se administró durante tres semanas restantes extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua” recolectada del Centro Poblado La Encañada, Provincia de Cajamarca, Departamento de Cajamarca, a dosis de 1 g/kg a concentración del 10 % y 1 g/kg a concentración del 20 % respectivamente, considerándose así dosis menor y dosis mayor; al grupo patrón (D) se le administró fluoxetina 20 mg/kg a una concentración de 0,15 %

durante tres semanas, y en las posteriores tres semanas se administró solución salina fisiológica; el último grupo fue el grupo blanco (E), al que no se le administró ningún preparado.

Dichas soluciones fueron administradas por vía oral con ayuda de un dispositivo metálico que facilitó la administración; seguidamente, se procedió a la evaluación de la memoria espacial (adquisición y retención) mediante el Test de Morris, en un periodo de 5 días. Finalmente se sacrificaron los especímenes para poder realizar la determinación de los niveles de malondialdehído en hígado, mediante el método espectrofotométrico, a una longitud de onda de 532 nm.

Palabras claves: *Tropaeolum tuberosum* “Mashua”, lipoperoxidación, fluoxetina, suero fisiológico, preparado fitoterapéutico, malondialdehído, ooferectomizadas.

ABSTRACT

The objective of this research was to demonstrate the antioxidant effect of aqueous extract of *Tropaeolum tuberosum* "Mashua" on lipid peroxidation induced liver fluoxetine *Rattus rattus* var. albinus ooferectomizadas by the spectrophotometric method with thiobarbituric acid reaction (TBARS) whose main representative is malondialdehyde (MDA); this research was conducted in five groups, making a total of 29 specimens of the species *Rattus rattus* var. albinus females, young people from the Vivarium of the National University of Trujillo, in which only 24 of them were induced them to a process of menopause, proceeded to practice ovarian surgery (Ooferectomización), then go through a process of postoperative recovery, and start with the administration of treatments.

The groups were divided into: control group (A) to which saline was supplied at an amount of 1 mL daily for six weeks problem group (B and C) which were administered fluoxetine 20 mg/kg at a concentration of 0,15 % for three initial weeks, then was administered for three weeks remaining aqueous extract of *Tropaeolum tuberosum* "Mashua" collected from the Town Center Encañada, Province of Cajamarca, Department of Cajamarca, at a dose of 1 g/kg at a concentration of 10 % and 1 g/kg at 20 % concentration respectively, so be lower dose and higher dose; pattern group (D) was administered fluoxetine 20 mg/kg at a concentration of 0,15 % for three weeks, and three weeks later physiological

saline was administered; the last group was the target group (E), which was not given any preparation.

These solutions were administered orally using a metal device that facilitated administration; then we proceeded to the evaluation of spatial memory (acquisition and retention) by Morris test during a period of 5 days. Finally they specimens to perform the determination of malondialdehyde levels in liver, by spectrophotometric method at a wavelength of 532 nm were sacrificed.

Keywords: *Tropaeolum tuberosum* "Mashua", lipoperoxidation, fluoxetine, saline, prepared phytotherapy, malondialdehyde, ooferectomizadas.

ÍNDICE

PRESENTACIÓN	IV
DEDICATORIA	VI
AGRADECIMIENTO	VIII
RESUMEN	IX
ABSTRACT	XI
ÍNDICE	XIII
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes teóricos.....	4
2.2. Radicales libres	7
2.3. Efectos nocivos que ocasionan los radicales libres.....	7
2.4. Síntesis de radicales libres.....	9
2.5. Estrés oxidativo	10
2.5.1. Daño a biomoléculas.....	12
2.5.1.1. Daño oxidativo a glúcidos	12
2.5.1.2. Daño oxidativo al ADN o DNA.....	13
2.5.1.3. Daño oxidativo a proteínas	15
2.5.1.4. Daño oxidativo a lípidos	17
2.5.2. Indicadores de estrés oxidativo.....	20

2.5.2.1. Indicador de daño oxidativo a los lípidos	21
2.5.2.1.1. Malondialdehído o hidroxinonenal	21
2.6. Antioxidantes	23
2.6.1. Sistema de defensas antioxidantes	24
2.6.1.1. Tipos de sistemas de defensa antioxidante	26
2.6.1.1.1. Sistema antioxidante enzimático o endógeno	26
2.6.1.1.2. Sistema antioxidante no enzimático.....	29
2.7. Estrés oxidativo y menopausia.....	32
2.8. Estrés oxidativo y Neurodegeneración.....	35
2.9. Fluoxetina y estrés oxidativo	38
2.10. Mashua (<i>Tropaeolum tuberosum</i>).....	41
2.10.1. Origen.....	42
2.10.2. Clasificación y descripción botánica.....	43
2.10.3. Rendimiento y usos	44
2.10.4. Fitosanidad y fisopatías	45
2.10.5. Composición química y nutricional de la Mashua	46
2.10.6. Capacidad antioxidante y metabolitos de la Mashua	48
2.10.6.1. Contenido de compuestos fenólicos totales	49
2.10.6.2. Antocianinas totales	49
2.10.6.3. Carotenoides totales	50
III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	51
3.1. Unidad de análisis, universo y muestra.....	51
3.1.1. Unidad de análisis.....	51
3.1.1.1. Material botánico	51

3.1.1.2. Animales de experimentación.....	51
3.1.2. Universo.....	51
3.1.3. Muestra	51
3.2. Métodos de investigación.....	52
3.2.1. De acuerdo al fin que persigue	52
3.2.2. De acuerdo a la técnica de contrastación.....	52
3.3. Técnicas de investigación.....	52
3.3.1. Selección de grupos de estudio	52
3.3.2. Ooforectomización bilateral	54
3.3.3. Inducción de lipoperoxidación	56
3.3.4. Preparación del extracto acuoso de “Mashua”	56
3.3.5. Análisis de la capacidad cognitiva - Test de Morris	57
3.3.6. Determinación de lipoperoxidación en membranas de células hepáticas por la técnica de ácido tiobarbitúrico.....	58
3.3.7. Curva de calibración	59
3.4. Instrumentos, equipos, materiales, reactivos y otros.....	60
3.4.1. Instrumentos	60
3.4.2. Equipos	60
3.4.3. Materiales	60
3.4.4. Reactivos.....	60
3.4.5. Otros	61
3.5. Técnicas de análisis de datos.....	61
3.6. Aspectos éticos de la investigación.....	62

IV. RESULTADOS	64
V. DISCUSIÓN	80
VI. CONCLUSIONES	84
VII. RECOMENDACIONES	86
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
ANEXOS	101

LISTA DE TABLAS

N°	Título	Pág.
01	Composición química de la Mashua	47
02	Test de Morris durante la fase de adquisición	64
03	Test de Morris - fase de retención	69
04	Determinación de niveles de malondialdehído según absorbancias en células hepáticas de <i>Rattus rattus</i> var. albinus	74
05	Tiempo de permanencia en el IV cuadrante según ANOVA	77
06	Número de cruzamientos en el IV cuadrante según ANOVA	77
07	Niveles de Malondialdehído en células hepáticas según ANOVA	77
08	Significancia estadística de MDA en grupos experimentales según ANOVA	78
09	Significancia estadística de MDA en grupos experimentales según análisis Tukey y Duncan	78

LISTA DE GRÁFICOS

N°	Título	Pág.
01	Fase de adquisición día 1	65
02	Fase de adquisición día 2	66
03	Fase de adquisición día 3	67
04	Fase de adquisición día 4	68
05	Tiempo de permanencia en el IV cuadrante	70
06	Número de cruzamientos en el IV cuadrante	71
07	Promedio de tiempo de permanencia en el IV cuadrante según grupo	72
08	Promedio de número de cruzamientos en el IV cuadrante según grupo ...	73
09	Absorbancias en células hepáticas	75
10	Promedio de absorbancias en células hepáticas según grupos	76
11	Medias de niveles de MDA en grupos de investigación.....	79

I. INTRODUCCIÓN

En nuestro país encontramos una gran variedad de especies vegetales endémicas que son utilizadas por nuestras etnias originarias con fines curativos y que se utiliza desde tiempo inmemorial, es por ello nuestro interés acerca del uso de muchas de estas especies para tratar o prevenir enfermedades que involucren respuestas estrogénicas (generalmente ginecológicas). Sin embargo no debemos olvidar que los remedios a base de plantas medicinales presentan una inmensa ventaja con respecto a los tratamientos químicos, en las plantas los principios activos se hallan siempre biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias, que van a potenciarse entre sí, de forma que en general no se acumulan en el organismo, y sus efectos indeseables están limitados.¹³

La menopausia representa un evento significativo en la vida de cada mujer que conlleva implicaciones médicas, psicosociales y culturales. El aumento en la expectativa de vida, principalmente en países industrializados donde la edad promedio alcanza los 80 años, ha llevado a que las mujeres pasen más de un tercio de sus vidas en estado posmenopáusicas. Aunque la menopausia es un período de transición normal, que abarca una etapa de desarrollo dentro del ciclo biológico, la declinación concomitante en las concentraciones endógenas de estrógenos puede afectar a distintas partes del organismo.

En esta etapa, estos cambios en las mujeres pueden deberse a múltiples factores uno de ellos es la formación de radicales libres, las especies reactivas del oxígeno (EROs) no sólo se generan por la respiración, existen miles de sustancias

tóxicas en el ambiente que son fuente de radicales libres, por ejemplo, cuando el organismo se somete a la exposición de radiaciones UV, la contaminación ambiental, el exceso de ejercicio, ciertos fármacos, y el humo del cigarrillo, entre otros, son algunos de los estresores exógenos a los que estamos expuestos.³⁸

Frente a este problema el organismo se protege contra los radicales libres y otros oxidantes, utilizando antioxidantes, los cuales son compuestos que detienen el ataque y la formación de especies radicalarias dentro de la célula. Existen dos tipos de antioxidantes: antioxidantes enzimáticos y antioxidantes no enzimáticos, los primeros se encuentran dentro del organismo e impiden la formación de radicales libres a partir de otras moléculas, si los radicales libres ya existen, estos antioxidantes se encargan de convertirlos en moléculas menos dañinas para el organismo.

El Problema que se planteó en el trabajo de investigación fue: **¿Cuál es el efecto del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua” a concentración de 10 % y 20 % sobre la lipoperoxidación inducida por fluoxetina, expresado en concentraciones de Malondialdehído en hígado en *Rattus rattus* var. albinus ooforectomizadas?**

Del mismo modo, la puesta en marcha del presente tuvo como objetivo general evaluar el efecto del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua” sobre la lipoperoxidación inducida por fluoxetina en hígado en *Rattus rattus* var. albinus ooforectomizadas, así como sus respectivos objetivos específicos, como son: inducir menopausia quirúrgica a través de la ooforectomía en *Rattus rattus* var. albinus; determinar el efecto de extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua” en dosis de 1 g/Kg, a concentraciones de 10 % y dosis de 1 g/kg a

concentración de 20 % sobre la lipoperoxidación inducida por fluoxetina en hígado; así como determinar el efecto de extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua” sobre la memoria espacial medido a través del tiempo de latencia de escape, tiempo de permanencia y número de cruzamientos según el Laberinto Acuático de Morris en *Rattus rattus* var. albinus ooforectomizadas.

Es por ello que la realización del presente trabajo de investigación conllevó a plantear la siguiente hipótesis:

El extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua” posee efecto antioxidante, expresado en la disminución de las concentraciones de malondialdehído sobre hígado en *Rattus rattus* var. albinus ooforectomizadas.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes Teóricos

Beltran A, Mera J (2013 - 2014)⁴ en su estudio “Elaboración del tubérculo mashua (*Tropaeolum tuberosum*) troceada en miel y determinación de la capacidad antioxidante, realizado en Guayaquil – Ecuador”, determinaron la capacidad antioxidante del tubérculo mashua (*Tropaeolum tuberosum*) con la reacción del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), mediante el método espectrofotométrico, con el fin de evaluar la actividad antioxidante de la muestra (mashua) a la cual se la sometió a una operación unitaria de secado en la estufa con temperatura de 37 grados centígrados hasta alcanzar un peso constante, posteriormente por determinaciones técnicas y ensayos espectrofotométricos determinar su capacidad antioxidante; introduciéndose además, el parámetro llamado eficiencia antioxidante (AOE). Finalmente quedó determinado tanto técnica como experimentalmente que el tubérculo mashua (*Tropaeolum tuberosum*) posee importantes nutrientes y antioxidantes (neutraliza los radicales libres) capaz de solucionar los problemas de desnutrición de los niños y puede alargar el promedio de vida en el ser humano.

Cuya R (2009)¹⁸ menciona en su estudio “Efecto de secado en bandeja y atomización sobre la actividad antioxidante de la mashua (*Tropaeolum tuberosum* R & P)”, realizado en Lima, que en los tubérculos de mashua el contenido de compuestos fenólicos totales se encuentran en un rango de

0,92 a 3,37 mg/g. Los genotipos ARB-5241, DP-02-24 y AGM-5109 tienen alto contenido de compuestos fenólicos con 3,37, 3,05 y 2,75 mg/g, respectivamente. Los genotipos de mashua de color púrpura, presentaron alto contenido de compuestos fenólicos totales, mientras que los genotipos de mashua color amarillo presentaron bajo contenido de compuestos fenólicos totales. El contenido de compuestos fenólicos totales de ARB-5241 fue comparado con las fresas, usado como una referencia (3,35 mg). La capacidad antioxidante hidrofílica de la mashua está relacionada con el contenido de antocianinas totales y contenido de compuestos fenólicos totales. La baja correlación de antocianinas totales con capacidad antioxidante hidrofílica ($r^2 = 0,48$, $p = 0,11$); y la alta correlación entre contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante hidrofílica ($r^2 = 0,84$, $p = 0,00$); la mayoría son probablemente debido a la presencia de diferentes compuestos fenólicos en los tubérculos de mashua.

Entre los cultivares de color púrpura, ARB-5241 fue el único que presentó una alta correlación entre antocianinas y capacidad antioxidante ($r^2 = 0,89$; $p < 0,01$). Los cultivares de color púrpura DP-02-24 y AGM-5109, presentaron una pobre relación, indicando que, otros compuestos fenólicos pueden predominar, el efecto antioxidante. Una significativa correlación fue observada entre la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales, para los cultivares DP-0224, ARB-5241, AGM-5109, M6COL2C, DP-0215 Y DP-0203 ($0,691 < r^2 < 0,911$, $p < 0,01$). Estas diferencias en el coeficiente de correlación, sugiere una importante diferencia

entre los cultivares que podrían ser relacionados para diferentes perfiles de antioxidantes y compuestos fenólicos.

Blain E, Grazia A, Castellanos L, Archila A, Picott B, Gutiérrez J (2004)⁶ en su trabajo de investigación “Efecto de la fluoxetina sobre el hígado de ratas”, realizado en Caracas – Venezuela, mencionan que la fluoxetina ha estado implicada en algunos casos de alteraciones de aminotransferasas, hepatitis agudas y hepatitis crónicas serias; pero con el objetivo de averiguar y evidenciar si produce lesiones hepáticas realizaron un estudio sobre su efecto en el tejido hepático de ratas. Usaron 4 grupos de ratas a las cuales se les administró diariamente durante 4 días fluoxetina a dosis de 15; 10,5 y 2,5 mg, por vía intraperitoneal y un grupo control que estaba en las mismas condiciones pero no recibía medicación alguna. Al quinto día sacrificaron y extrajeron el hígado el cual se fijó en formol y fueron enviados para estudios histológicos, coloreados con hematoxilina y eosina, vistos en microscopía de luz. En todos los grupos comparados con los grupos controles hubo lesión hepática tanto macroscópicas como microscópicas. Las lesiones fueron dependientes de las dosis, dichas lesiones van desde balonamiento celular, congestión sinusoidal focal y edema periportal, pasando por necrosis focal, fibrosis leve hasta áreas extensas de necrosis, dilatación de la vena central, proliferación ductual focal y cambios xantomatosos. Los patrones morfológicos están asociados a hepatotoxicidad por drogas, los daños hepáticos observados histológicamente se incrementaron a medida que la dosis fue aumentando; esto sugiere que la fluoxetina debe considerarse como causa potencial de daño hepático.

2.2. Radicales libres

Un radical libre o modernamente llamados especies reactivas de oxígeno (EROS), es una molécula orgánica o inorgánica, en general extremadamente inestable y, por tanto, con gran poder reactivo. Se puede sintetizar en el laboratorio, se puede formar en la atmósfera por radiación y también se forma en los organismos vivos (incluido el cuerpo humano), por el contacto con el oxígeno y actúan alterando las membranas celulares y, atacando el material genético de las células, como el ADN.

Para conseguir la estabilidad modifican a moléculas de su alrededor provocando la aparición de nuevos radicales, por lo que se crea una reacción en cadena que dañará a muchas células y puede ser indefinida si los antioxidantes no intervienen.

Tras la producción natural de radicales libres por el cuerpo, las cuales llevan a cabo determinadas funciones y que luego son neutralizadas fácilmente por el propio sistema. Con este fin, nuestro cuerpo ha desarrollado diferentes mecanismos antioxidantes como enzimas que son las encargadas de neutralizarlos. Pero a pesar de las múltiples líneas del sistema antioxidante, el nivel de generación de radicales libres puede exceder la capacidad de la red de defensa, lo que lleva al estrés oxidativo.

2.3. Efectos nocivos que ocasionan los radicales libres⁵³

El daño celular producido por las especies reactivas del oxígeno ocurre sobre diferentes macromoléculas:

- ✓ **Lípidos:** Es aquí donde se produce el daño mayor, en un proceso que se conoce como peroxidación lipídica, afecta a las estructuras ricas en ácidos

grasos poliinsaturados, ya que se altera la permeabilidad de la membrana celular produciéndose edema y muerte celular. La peroxidación lipídica o enranciamiento oxidativo representa una forma de daño hístico que puede ser desencadenado por el oxígeno, oxígeno singlete, peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo. Los ácidos grasos insaturados son componentes esenciales de las membranas celulares, por lo que se cree son importantes para su funcionamiento normal; sin embargo, son vulnerables al ataque oxidativo iniciado por los radicales libres del oxígeno.

- ✓ **Proteínas:** Hay oxidación de un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; además se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas, y por último hay formación de grupos carbonilos.
- ✓ **Ácido desoxirribonucleico (ADN):** Ocurren fenómenos de mutaciones y carcinogénesis, existe pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases, deleciones, fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan genes.

El daño se puede realizar por la alteración (inactivación/pérdida) de algunos genes supresores de tumores que pueden conducir a la iniciación, progresión, o ambas de la carcinogénesis. Los genes supresores de tumores pueden ser modificados por un simple cambio en una base crítica de la secuencia del ADN.

Situaciones que aumentan la producción de radicales libres son:

- ✓ Contaminación ambiental.
- ✓ Tabaquismo.
- ✓ Dietas ricas en grasas.
- ✓ Exposición excesiva a las radiaciones solares.
- ✓ Ingesta de aceites "vegetales" que fueron refinados, ya que estos contienen radicales libres al ser sometidos a altas temperaturas.

2.4. Síntesis de radicales libres¹⁷

Los radicales libres se generan a nivel intracelular y extracelular provenientes de fuentes enzimáticas y no enzimáticas:

Enzimáticas:

- ✓ Transferencia de electrones en la mitocondria, lo cual constituye la fuente orgánica principal de radicales libres (RL).
- ✓ Enzimas oxidantes como la xantina-oxidasa, la indolamindioxigenasa, la triptofanodioxigenasa, la mieloperoxidasa, la galactosa-oxidasa, la ciclooxigenasa, la lipooxigenasa, la monoaminoxidasa y la NADPH oxidasa.
- ✓ Sistemas transportadores de electrones en el retículo endoplásmico y las membranas nucleares.
- ✓ Peroxisomas, organelos del citosol muy ricos en oxidasas y que constituyen una importante fuente de H₂O₂.

No enzimáticas:

- ✓ Autooxidación de flavinas reducidas, tioles y pequeñas moléculas como hidroxiquinonas, catecolaminas y tetrahidropterinas.

2.5. Estrés oxidativo

La producción de radicales libres puede aumentar en forma descontrolada, situación conocida con el nombre de estrés oxidativo.

El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS o ERO) y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante.²⁵

El estrés oxidativo se puede definir como una perturbación del equilibrio entre prooxidantes y antioxidantes, con un desplazamiento a favor de los primeros; de modo tal que esta alteración da lugar a cambios en las biomoléculas y de hecho, a modificaciones funcionales en los lugares donde las mismas se encuentren en un momento dado.

Puede decirse entonces que el estrés oxidativo es, en esencia, el efecto adverso que se produce en la sangre y los tejidos de los seres vivos cuando existe un incremento de la degradación de sus biomoléculas causado por radicales libres de oxígeno.

Dicha lesión oxidativa, cuando se produce en moléculas de gran importancia biológica como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, puede conducir a la muerte celular. A medida que aumentan nuestros conocimientos en el campo de los radicales libres, se pone en evidencia su gran implicación en los mecanismos patogénicos de muchas enfermedades, sobre todo en las de tipo crónico.²⁹

Estudios previos correlacionan la existencia entre el estrés oxidativo y la patogénesis de numerosas enfermedades, tal es el caso de problemas de

infertilidad tanto masculino como femenino, donde el estrés oxidativo media la peroxidación dañando la membrana de los espermatozoides e induciendo daño al ADN nuclear; y en órgano femenino, afecta el desarrollo de maduración folicular, ovulación y formación del cuerpo lúteo.

La exposición de la piel a las radiaciones ionizantes afecta la cicatrización de heridas cutáneas producidas por las mismas; también se vinculan a los oxidantes con otras enfermedades como cataratas oculares, enfermedades cardiovasculares, enfermedad de Alzheimer, baja protección inmunológica, diabetes, aterosclerosis, artritis reumatoide, y cáncer.³¹

El estrés oxidativo puede producir alteraciones en la mayor parte de las moléculas orgánicas (ácidos nucleicos, proteínas estructurales y enzimáticas, lípidos, etc.), siendo los lípidos de las membranas celulares y de las lipoproteínas de la sangre especialmente susceptibles a la oxidación.

Los radicales libres atacan los enlaces insaturados del colesterol y de los ácidos grasos mediante un proceso denominado peroxidación, en el cual se origina un radical lipídico que propaga y perpetúa el proceso oxidativo.⁴⁴

Es importante tener en cuenta otros factores que desencadenan el estrés oxidativo, como el tipo de vida y de dieta que actúan como prooxidantes; en cuanto a los factores alimenticios, se conoce que las dietas ricas en grasas pueden contribuir a un estrés oxidativo debido al incremento de peroxidación lipídica.³¹

2.5.1. Daño a biomoléculas⁴⁶

Queda claro que las especies reactivas de oxígeno determinan un daño a los diversos componentes celulares. A partir de ese daño a biomoléculas, se forman sustancias que indirectamente nos muestran un grado de estrés oxidativo que existe en el organismo. Puede asumirse que para cada una de las moléculas susceptibles existe un marcador representativo que así lo identifica. Es decir, la acción de los radicales libres viene determinada, por una parte, por su reactividad química, y por otra parte, por la disponibilidad de un sustrato susceptible en la vecindad de donde se produce el radical libre.

La acumulación de compuestos alterados por el resultado de la reacción del radical libre es a menudo la explicación de efectos a largo plazo, los cuales son difícilmente demostrables como relación causa-efecto de la reacción de los radicales libres, pero las reacciones de los radicales libres provocan unos productos cuyo efecto es acumulativo.

2.5.1.1. Daño oxidativo a glúcidos⁴⁸

Los glúcidos reaccionan fácilmente con los radicales hidroxilos, los mono y disacáridos resisten la acción de los radicales libres de oxígeno. La glucosa constituye un captador del radical superóxido, al retenerlo e impedir su acción sobre otras moléculas. La manosa y el manitol son eliminadores del radical hidroxilo; por ello, se ha observado que diversos polisacáridos actúan como agentes protectores celulares.

El daño oxidativo a los glúcidos reviste importancia cuando se trata de polisacáridos de función estructural, ya que los polisacáridos son despolimerizados por los radicales libres, dando lugar a procesos degenerativos; un caso especial es el del ácido hialurónico cuya función estructural reside en mantener la viscosidad del fluido sinovial. La exposición a agentes oxidantes (sobre todo radical superóxido) provoca su fragmentación, lo que conduce a la desestabilización del tejido conectivo y a la pérdida de viscosidad del fluido sinovial, como es el caso de la artritis reumatoide.

Se ha observado que la superóxido dismutasa es capaz de proteger frente a la despolimerización del ácido hialurónico, en el líquido sinovial. Los proteoglicanos están sujetos a rotura oxidativa de forma similar.

2.5.1.2. Daño oxidativo al ADN o DNA

El DNA también es susceptible al daño oxidativo. El oxígeno es capaz de adicionarse a las bases o al azúcar del DNA formándose el radical peroxilo; las posteriores reacciones de estas especies radicalarias del DNA dan lugar a un gran número de productos.

También se forman puentes cruzados DNA-proteína; el número de productos formados a consecuencia del ataque a las bases del DNA por radicales libres supera la veintena.

Entre ellos se encuentran la 8-oxoadenina, 8-oxoguanina, 4,6-diamino-5-formamidopirimidina, 5-hidroxicitosina, 2,6-diamino-4-hidroxi-5-formamidopirimidina, timina glicol y la 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina.

La cantidad del nucleósido 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina en órganos o en orina se utiliza como índice del daño oxidativo al DNA.⁵

Por otra parte, debemos destacar que el daño oxidativo asociado a proteínas y al DNA no debe ser considerado de manera independiente. La acumulación de formas inactivas de enzimas reparadoras del DNA puede aumentar la acumulación de daño oxidativo al mismo, por lo que se pueden potenciar uno a otro.

Cuando la replicación del DNA dañado tiene lugar antes de la reparación o cuando un DNA dañado se repara de manera incorrecta, tiene lugar una mutación; así pues, las lesiones oxidativas al DNA parecen estar implicadas no sólo en el envejecimiento celular, sino también en la patogénesis de las enfermedades asociadas al envejecimiento. El ADN dañado es reparado por enzimas que cortan la parte afectada, que es entonces excretada por la orina.

Sin embargo, las enzimas reparadoras no son capaces de eliminar todas las lesiones que se acumulan, lo cual conduce a un aumento del número de mutaciones al DNA con la edad,

con las consecuencias que de ello se derivan como el aumento del riesgo de cánceres, etc.⁴⁸

2.5.1.3. Daño oxidativo a proteínas⁴⁸

Todos los aminoácidos presentes en las proteínas tienen residuos susceptibles (sobre todo a nivel del grupo carbonilo) de ser atacados por los radicales libres (principalmente por el radical hidroxilo).

Dentro de los aminoácidos fisiológicos, la tirosina, la fenilalanina, el triptófano, la histidina, la metionina y la cisteína son los que más procesos oxidativos sufren, esta oxidación puede dar lugar a un cambio conformacional de la proteína y, por tanto, a una pérdida o modificación de su función biológica.

Según la concentración de oxígeno presente en el medio, en condiciones anaeróbicas los radicales libres promueven el entrecruzamiento entre proteínas, mientras que en presencia de oxígeno los radicales libres provocan la fragmentación de la cadena peptídica, con las consecuencias que ambos procesos suponen sobre el correcto funcionamiento de la proteína.

Otro mecanismo muy importante de oxidación de proteínas está mediado por los denominados "sistemas de oxidación de función mixta" o "sistemas de oxidación catalizada por metal", que poseen como dianas más comunes los residuos

proteínicos que contienen arginina, histidina, lisina, prolina y cisteína.

Otros aminoácidos como histidina, cisteína y metionina, también sufren daño oxidativo, pero no forman derivados de tipo carbonilo. El daño oxidativo suele ser irreversible y puede conducir a la desnaturalización de la proteína.

Se ha propuesto que la oxidación de enzimas mediada por radicales libres, es un paso de marcaje dentro del recambio proteico, lo que se ve confirmado por las siguientes observaciones.⁴⁸

- ✓ La mayoría de los tejidos animales poseen una proteasa alcalina neutra que degrada las formas oxidadas de las enzimas, pero que apenas tiene actividad sobre las formas no oxidadas.
- ✓ La degradación in vivo de proteínas endógenas en mitocondrias de hígado y corazón y en eritrocitos se ve estimulada por la adición de sistemas generadores de radicales libres.
- ✓ La exposición in vitro de proteínas purificadas a radicales libres aumenta su susceptibilidad a la degradación por proteasas no dependientes de 5'-trifosfato.

El envejecimiento conlleva a la acumulación de proteínas dañadas debido a un aumento con la edad de la velocidad de oxidación de las mismas, a una disminución de la capacidad

de degradar estas proteínas, o ambos a la vez. En el caso de las hemoproteínas, como la oxihemoglobina, el radical superóxido o el peróxido de hidrógeno pueden reaccionar con el hierro para formar metahemoglobina y otros productos de oxidación. Otra importante hemoproteína, la catalasa, es inhibida por el radical superóxido.⁴⁶

2.5.1.4. Daño oxidativo a lípidos

Los lípidos, sobre todo los ácidos grasos poliinsaturados, son las biomoléculas más susceptibles de ser atacadas por radicales libres. El proceso de ataque oxidativo a los lípidos se denomina peroxidación lipídica, generando numerosos subproductos, entre ellos el malondialdehído, cuya determinación en tejidos, plasma u orina es uno de los métodos de evaluar el estrés oxidativo. La acción de los radicales libres de oxígeno sobre los lípidos tiene lugar fundamentalmente sobre los ácidos grasos poliinsaturados, provocando su peroxidación; el resultado es la pérdida de la flexibilidad y de las funciones secretoras, así como la ruptura de los gradientes iónicos transmembrana.

Los radicales libres que pueden iniciar esta reacción son: el radical hidroxilo (HO•), el peróxido (ROO•), el alcóxilo (RO•) y el alquílico (R•). Comienza cuando un radical libre ataca a un carbono de la cadena alifática de un ácido graso, se desprende un átomo de hidrógeno, y se forma un radical

alquílico; esta reacción se produce significativamente en los carbonos contiguos a dobles enlaces de ácidos grasos poliinsaturados, ya que los radicales formados se estabilizan por resonancia con el doble enlace.

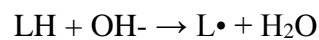
El radical peroxilo puede obtener un hidrógeno alílico proveniente de otro metileno de una cadena de ácido graso cercana lo cual propaga la reacción iniciada por el radical hidroxilo. Así la formación de una ERO puede generar muchos lipoperóxidos. Los lipoperóxidos se pueden reducir mediante glutatión peroxidasas de fosfolípidos o ser eliminados por la acción de fosfolipasas como la fosfolipasa A2, la cual se ha observado aumentada durante el estrés oxidativo.

La peroxidación lipídica se considera como un factor muy importante en el envejecimiento de células aeróbicas. El daño oxidativo a los lípidos de membrana constituye, muy probablemente, un factor importante en la disminución de la fluidez de las membranas.⁴⁸

La Peroxidación Lipídica puede dividirse en tres etapas o fases:

- ✓ **Fase de Iniciación:** en la que un radical libre ataca a un carbono de la cadena alifática de un ácido graso, ocurre la abstracción de hidrógeno del grupo metileno (-CH₂-) unido a un carbono flanqueado por dobles enlaces de un ácido

graso poliinsaturado, con la formación de una especie radicalica (radical alquílico: L•). El hecho de que exista un doble enlace, debilita los enlaces carbono-hidrógeno del átomo de carbono adyacente a dicho doble enlace. Los radicales formados se estabilizan por resonancia con el doble enlace.



(LH= ácido graso, L• = RL centrado en carbono)

✓ **Fase de propagación:** en la que ocurre una reacción en cadena con la extensión del daño y la formación de más especies radicalicas. La especie radicalica formada en la primera fase reacciona con el oxígeno y forma un radical peroxilo (LOO•) que puede reaccionar con otros ácidos grasos poliinsaturados adyacentes y originar un hidropéroxido o lipopéroxido (LOOH) y un radical alquílico; así se produce una reacción en cadena y el daño a un número creciente de ácidos grasos.

El LOO• puede abstraer hidrógeno de moléculas con enlaces débiles como el OH cromanol del a-tocoferol y se producen una serie de reacciones en las que intervienen el ascorbato y el glutatión reducido que permiten la regeneración de la vitamina E.

✓ **Fase de terminación o descomposición:** Consiste en la interacción de radicales peróxilo con radicales centrados en carbono, lo que produce la formación de hidroxiperóxidos lipídicos y lípidos con mayor grado de insaturación (mayor número de dobles enlaces). También es posible la interacción de radicales centrados en carbono con las defensas antioxidantes del organismo, lo que regenera el lípido original con gasto del antioxidante.

Los hidroperóxidos formados se descomponen en etano, pentano, aldehídos reactivos y cetonas. Los aldehídos formados, como el malonildialdehído y el 4-hidroxinonal, pueden reaccionar con proteínas y ácidos nucleicos, lo que determina efectos citotóxicos, genotóxicos y mutagénicos, así como un papel patogénico en varias enfermedades.

2.5.2. Indicadores de estrés oxidativo

Debido a la importancia del daño que el estrés oxidativo puede producir en las células y en el organismo, en los últimos tiempos se ha intentado encontrar índices que nos permitan determinar el daño oxidativo a nivel general (citósol), o particularmente a nivel de lípidos, DNA y proteínas.

Entre los indicadores propuestos, los más relevantes son el cociente glutatión oxidado/glutatión reducido (GSSG/GSH) como indicador de daño oxidativo en el citósol, el malondialdehído y el hidroxinonal

como indicadores de daño a los lípidos así como pentano y etano exhalado, 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina como índice de daño oxidativo al DNA, y grupos carbonilo y 2-oxohistidina como indicadores de daño oxidativo a proteínas.⁸

2.5.2.1. Indicador de daño oxidativo a los lípidos

2.5.2.1.1. Malondialdehído e hidroxinonenal

La degradación de los lipoperóxidos da lugar a la formación de una gran variedad de aldehídos. El ataque de los radicales libres es hacia los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares y lipoproteínas transformándolos en ácidos grasos peroxidados, los cuales sufren un acortamiento de su cadena lateral liberando malondialdehído (MDA), de tal manera que la concentración sérica de MDA, es proporcional a los ácidos grasos poliinsaturados oxidados y por lo tanto un buen indicador de peroxidación lipídica.

Los indicadores de daño oxidativo a lípidos más empleados de entre los señalados son el malondialdehído y el 4-hidroxinonenal.

Se han descrito varios métodos para la determinación de malondialdehído; la mayoría de ellos son poco específicos, puesto que utilizan el ácido tiobarbitúrico como reactivo y éste reacciona

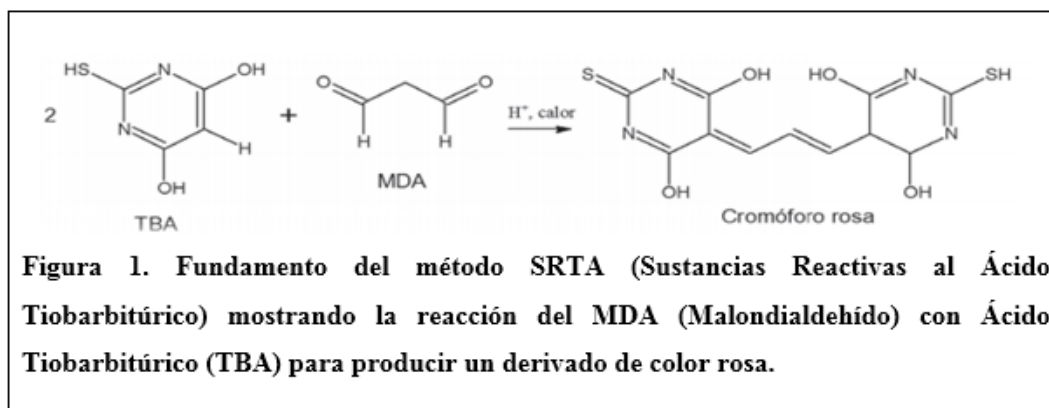
inespecíficamente con todos los aldehídos de las muestras.

Dichos métodos han sido mejorados gracias a la separación del aducto malondialdehído - ácido tiobarbitúrico por cromatografía líquida de alta resolución de otras sustancias que puedan interferir en la determinación.²²

El 4-hidroxinonenal es un producto muy abundante de la peroxidación lipídica; las técnicas convencionales de cuantificación incluyen la derivatización de la muestra con dinitrofenilhidracina para formar un aducto estable y no volátil con el aldehído, y una cromatografía por H.P.L.C. para separar y cuantificar el pico correspondiente al 4-hidroxinonenal.²⁸

Otro problema adicional es la inestabilidad del MDA en solución debido a su gran volatilidad.

Hoy en día se prefiere efectuar la determinación de los niveles de lipoperóxidos en muestras biológicas.



Fuente: Londoño J. Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Desarrollo y Transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia. [Artículo en internet]. 2012; 9 (3): 129 - 162. [Fecha de acceso 22 de Mayo del 2015]. Disponible en: <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/133/3/9.%20129-162.pdf>³⁰

2.6. Antioxidantes

Un antioxidante es cualquier molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas, generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos. La oxidación de dichos sustratos podrá ser iniciada por dos tipos de especies reactivas: los radicales libres, y aquellas sustancias que sin ser radicales libres, son sustancias suficientemente reactivas para inducir la oxidación de dichos sustratos.¹⁶

Los antioxidantes que se encuentran naturalmente en el organismo y en ciertos alimentos pueden bloquear parte de este daño debido a que estabilizan los radicales libres. La función y efecto que tienen los antioxidantes en la salud es evitar la oxidación de sustancias que puedan provocar alteraciones fisiológicas. Estudios recientes demuestran que la expresión antioxidante enzimática y su actividad se ven drásticamente reducidas en la mayoría de las enfermedades cutáneas. Sin embargo, los antioxidantes endógenos pueden ser

inducidos por fuentes exógenas, dando como resultado un efecto protector contra el daño oxidativo. Los tratamientos con antioxidantes prolongan la vida en los seres vivos.³¹

2.6.1. Sistema de defensas antioxidantes

Como seres humanos estamos expuestos cada instante de nuestras vidas a moléculas tóxicas y altamente reactivas llamadas especies de oxígeno reactivo o también conocidas como radicales libres, moléculas que dañan nuestro organismo.

Desde el momento en que somos concebidos hasta el día que morimos, la oxidación (reacciones químicas que conllevan consumo de oxígeno) de proteínas críticas, lípidos, ácidos nucleicos y azúcares se produce en cada célula de nuestro cuerpo produciendo radicales libres. Es por ello que los organismos evolutivamente desarrollaron sistemas de defensa antioxidante, para poder neutralizar a las especies reactivas de cualquier elemento.

Las reacciones de oxidación son esenciales en los procesos metabólicos celulares. Dichas reacciones involucran la transferencia de electrones que producen RL. Esta situación es incompatible con la vida, a menos que existan en las células mecanismos de defensa que neutralicen los radicales libres. A estas defensas se les denomina antioxidantes y se considera como tal a cualquier sustancia que en concentraciones normales posea una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interaccionar con un RL.³³

El antioxidante al colisionar con él, le cede un electrón oxidándose y transformándose en un RL débil no tóxico.

No todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados enzimáticos catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que reaccionan con los RL.³⁴

Un antioxidante, es cualquier sustancia que presente en bajas concentraciones, retrasa o inhibe la oxidación. Pueden actuar en las formas siguientes:

- ✓ Disminuyendo la concentración de oxidantes.
- ✓ Evitando la iniciación de la reacción en cadena al "barrer" (cubrir o detener una reactividad química muy alta), los primeros radicales libres que se forman.
- ✓ Uniéndose a iones metálicos para evitar la formación de especies reactivas.
- ✓ Transformando los peróxidos en productos menos reactivos.
- ✓ Deteniendo la propagación y el aumento de radicales libres.

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que al estar presente en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN.⁵³

Estos sistemas antioxidantes disminuyen con la edad, en ciertos procesos patológicos y bajo condiciones ambientales como la contaminación atmosférica.

2.6.1.1. Tipos de sistemas de defensa antioxidante

Los mecanismos antioxidantes suelen actuar de forma coordinada, ejercen su función en localizaciones subcelulares concretas, y se agrupan en dos sistemas de defensa antioxidante: sistema enzimático y sistema no enzimático.

2.6.1.1.1. Sistema antioxidante enzimático o endógeno³⁵

Constituye la primera y mejor línea de defensa contra los radicales libres. Está integrado por tres enzimas principales que trabajan en cadena para desactivar selectivamente radicales libres: superóxido dismutasa, (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx); otras tres enzimas, glutatión reductasa (GR), glutatión-S-transferasa (GST) y Γ -glutamil cisteinil sintetasa (GCS), sin ser estrictamente enzimas antioxidantes, estas colaboran indirectamente con la GPx ya que contribuyen a regular el pool intracelular de glutatión reducido (GSH), uno de los principales antioxidantes celulares no enzimáticos.

✓ **Superóxido dismutasa (SOD):** fue la primera enzima de la cual se conoció que actuaba sobre

un radical libre; existen 2 tipos intracelulares de SOD: la que se presenta en la mitocondria, que contiene Manganese en su centro activo (Mn- SOD) y la del citosol, que tiene iones de Cobre y Zinc (Cu-Zn-SOD). Esta enzima convierte el radical libre superóxido (O_2^-) en peróxido de hidrógeno (H_2O_2); el cual es un radical libre menos dañino. Entre los radicales libres el superóxido es el más poderoso y peligroso, debido a que su estructura química que requiere 3 electrones para reequilibrarse. Cuando arrebatara esos 3 electrones de otras moléculas, se crea un desequilibrio mayor que un desequilibrio producido por un solo electrón. La presencia de la SOD en la mitocondria y el citoplasma asegura que muchos de los superóxidos sean convertidos en peróxido de hidrógeno.

- ✓ **Catalasa (CAT):** es una enzima intracelular que se localiza en el interior de los glóbulos rojos; es decir es una hemoproteína tetramérica de amplia distribución en el organismo, existe una alta concentración en hígado y riñón; una baja concentración en el tejido conectivo y epitelios; sin embargo también podemos encontrar una

concentración prácticamente nula en el tejido nervioso. Esta enzima se localiza a nivel celular en mitocondrias, peroxisomas y citosol (eritrocitos). Para su adecuado funcionamiento depende del cobre y zinc a nivel citosólico y del manganeso a nivel mitocondrial. La catalasa, como parte del sistema antioxidante, está involucrada en la destrucción del H_2O_2 generado durante el metabolismo celular, dando como resultado agua y oxígeno. El equilibrio entre la actividad de la CAT respecto a la SOD es fundamental para mantener el balance REDOX.

- ✓ **Glutación Peroxidasa (GPx):** es el principal antioxidante hidrosoluble en el citoplasma de la célula; esta enzima está conformada por tres aminoácidos: cisteína, glicina y ácido glutámico. Bioquímicamente es una proteína tetramérica que posee 4 átomos de selenio y necesita como sustrato esencial al glutatión. La GPx se encuentra ampliamente extendida por los tejidos, siendo el antioxidante con mayor concentración intracelular. Dicha enzima cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno o lipoperóxido, utilizando como agente reductor el glutatión

reducido (GSH), el cual es capaz de conjugarse con compuestos potencialmente tóxicos, provenientes de la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados y de reacciones catalíticas de la enzima lipooxigenasa; de esa manera permite la solubilidad y facilita su excreción biliar. Por esta razón, es importante mantener niveles altos de glutatión, lo cual puede facilitarse mediante la ingesta de aminoácidos sulfurados (metionina y cisteína).

2.6.1.1.2. Sistema antioxidante no enzimático o exógeno

Está integrado por una serie de sustancias que, aun estando presentes a bajas concentraciones, en presencia de compuestos oxidables (como ADN, proteínas o lípidos), se oxidan antes que éstos, y retrasan, inhiben, amortiguan o previenen su oxidación, la producción de radicales libres o los efectos deletéreos de éstos. El sistema antioxidante no enzimático incluye una larga serie de compuestos de bajo peso molecular, siendo los más importantes el glutatión reducido, la vitamina E (α -tocoferol), la vitamina C (ácido ascórbico) y la vitamina A (trans-retinol/ β -caroteno).

Además, los flavonoides, ácidos fenólicos, ácido α -lipóico, ácido úrico, bilirrubina, algunos azúcares y aminoácidos, coenzima Q o ubiquinona y varios derivados de ésta y una hormona, la melatonina, también forman parte de los antioxidantes no enzimáticos. El manganeso, selenio, cobre, hierro y otros minerales, al ser parte del sitio activo de las enzimas antioxidantes, juegan un papel importante en la defensa mediada por enzimas, sin ser verdaderos antioxidantes.⁴⁴

- ✓ **Vitamina C:** es un importante antioxidante hidrosoluble que actúa potenciando el efecto de otros antioxidantes tales como la Vitamina E y el selenio. Dicha vitamina no se sintetiza en el organismo, por lo que debe ser consumida a través de los alimentos. Sus principales funciones son neutralizar el oxígeno singlete (O_2), capturar radicales hidróxilos y aniones superóxido y regenerar la forma oxidada de vitamina E una vez que esta ha reaccionado con un radical libre. Disminuye la peroxidación lipídica.³⁵
- ✓ **Vitamina E:** es un conjunto de compuestos fenólicos conocidos como tocoferoles y tocotrienoles. El alfa tocoferol es el más activo y

ampliamente distribuido; este es un antioxidante lipofílico que se localiza en las membranas celulares; su absorción y transporte se hallan muy vinculados con los lípidos. El tocoferol es considerado como el más importante protector de las moléculas lipídicas, ya que su acción consiste en proteger de la peroxidación a los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de la membrana celular y también inhibir la peroxidación de las LDL.

El tocoferol neutraliza el oxígeno singlete, captura radicales libres hidróxilos, neutraliza peróxidos y captura anión superóxido para convertirlo en formas menos reactivas.

- ✓ **Selenio:** facilita la absorción de la vitamina E; protege a las células frente al radical superóxido y aumenta la actividad de algunas enzimas antioxidante (seleno enzimas), entre ellas la glutatión peroxidasa. Algunas fuentes de selenio son las carnes, pescados, mariscos, cereales, ajos, champiñones y espárragos.
- ✓ **Zinc:** participa en la regulación del estrés oxidativo, induce la producción de metalotioneína, que es muy rica en cisteína y es un excelente atrapador de

radicales hidróxilo. El zinc, al competir tanto con el hierro como con el cobre por la fijación a la membrana celular disminuye la producción de dichos radicales.

- ✓ **Manganeso:** forma parte de la estructura de la enzima superóxido dismutasa, protege contra la peroxidación lipídica, atrapa radicales hidróxilo y superóxido e induce la síntesis de metalotioneínas.³⁵

2.7. Estrés oxidativo y Menopausia

La menopausia es un proceso normal en la vida de las mujeres; es el último periodo que marca el cese (espontáneo o artificial) de la función normal y cíclica de los ovarios, en la que existen varios cambios hormonales que culminan con la desaparición de la menstruación por un espacio mayor de un año, como consecuencia de la pérdida de la función ovárica.⁴⁹ El proceso normal de envejecimiento altera la función de los ovarios y disminuye la producción de estrógenos; los estrógenos se encargan de varias funciones en el cuerpo, las cuales se ven afectadas por la menopausia.

El momento de su presentación está determinado genéticamente y ocurre en promedio, entre los 45 y 55 años; no se relaciona con la raza ni el estado de nutrición; sin embargo, ocurre antes en la mujer nulípara, fumadora, que habita en la altura y en aquellas que han sido sometidas a histerectomía.⁴⁹

El estrés oxidativo también está involucrado en la patogénesis de los síntomas menopáusicos, tales como las alteraciones vasomotoras; estas alteraciones incluyen accesos repentinos de calor o sudoración nocturna: la tasa

metabólica aumenta temporalmente, lo cual a menudo causa sudoración, pánico e irritabilidad. A lo largo de la menopausia ocurren repetitivos episodios de alteración vasomotora, cuyo resultado es la prolongada elevación de la tasa metabólica. Se ha demostrado que este aumento contribuye al estrés oxidativo en cuanto representa un obstáculo para los antioxidantes y su función en la neutralización de los radicales libres.²⁰

Durante el climaterio o etapa perimenopáusica, el cuerpo y metabolismo de una mujer cambia de forma importante, y los mecanismos que regulan el estrés oxidativo no son la excepción. En los últimos años se han realizado estudios que ligan esta disminución en los niveles de estrógenos, con cambios en el comportamiento oxidativo/antioxidativo de la mujer, sin embargo, el panorama aún no está claro.²¹

Los niveles fisiológicos de las especies reactivas de oxígeno (EROs) tienen un rol regulador importante, por diversas vías de transducción de señal, tanto en la foliculogénesis, maduración del ovocito, ciclo endometrial, luteólisis, implantación, embriogénesis, embarazo y menopausia.

La generación persistente y elevada de EROs lleva a una alteración del potencial rédox, que a su vez causa estrés oxidativo, con disminución del potencial celular en la capacidad reductora de los pares rédox (reacciones reducción - oxidación de transferencia de electrones), responsable de su deterioro y envejecimiento cuando sobrepasa de manera descontrolada los límites que establecen los mecanismos antioxidantes.⁴¹

Escalante C, Quesada S, Zeledón F (2009) en su estudio Perfil oxidativo de la mujer menopáusica: Papel de los estrógenos en la prevención y tratamiento

de las enfermedades; lograron demostrar que el nivel de estrés oxidativo, representado por los niveles plasmáticos de 4-hidroxynenal y malondialdehído; los cuales son un producto de desecho de la oxidación de los lípidos, y la capacidad oxidativa de LDL del plasma, se encuentra aumentado significativamente en la mujer posmenopáusica comparada con la "fértil".²¹

Las hormonas sexuales tienen propiedades antioxidantes; pero la dificultad en estudiar el rol del estrés oxidativo en las mujeres ha sido en parte debida a la fluctuación de dichas hormonas endógenas durante el ciclo menstrual. La actividad antioxidante de los estrógenos, algunos fitoestrógenos y la restricción calórica en estudios experimentales podría ser atribuida a su capacidad de aumentar los niveles de estradiol, el cual es un antioxidante que actúa como un barretero de especies reactivas de oxígeno.⁴¹

En los últimos diez años, la terapia de reemplazo hormonal (TRH), como tratamiento de los síntomas climatéricos, ha tenido un gran auge. Además de sus efectos sobre los síntomas climatéricos, la terapia de reemplazo con estrógenos exógenos se ha mostrado beneficiosa en algunas patologías como la osteoporosis.²¹

Se ha demostrado que la marcada reducción de estrógenos aumenta los niveles de estrés oxidativo en el organismo, dependiendo de la concentración y estructura química de la hormona. Los estrógenos en altas concentraciones tienden a tener un efecto antioxidante benéfico, inhibiendo la oxidación de la guanina en el ADN. Por el contrario, a bajas concentraciones, esta hormona tiene efectos prooxidantes, los cuales incluyen ruptura del material genético,

formación de aductos de ADN y oxidación de las bases. Adicionalmente, se ha encontrado que las concentraciones séricas de citoquinas inflamatorias y de biomarcadores prooxidantes, tales como el glutatión, son más altos en mujeres en edad posmenopáusica que en mujeres en edad premenopáusica. La elevación de las citoquinas inflamatorias y los marcadores prooxidantes sugiere la existencia de un alto grado de estrés oxidativo en el estado posmenopáusico.²⁰

2.8. Estrés oxidativo y Neurodegeneración

El estado de estrés oxidativo juega un papel crucial en la fisiopatología de enfermedades neurodegenerativas, tales como: Alzheimer, Parkinson, Huntington y esclerosis lateral amiotrófica. En todas estas condiciones se han observado un incremento de marcadores de daño oxidativo, los cuales involucran oxidación de proteínas, lípidos, DNA e incluso de RNA. Una gran cantidad de evidencias indican que el incremento en la generación de especies reactivas de oxígeno, un déficit en las defensas antioxidantes, así como la disminución en la eficiencia de los mecanismos de reparación del DNA, la proteólisis, y la pérdida de regulación del sistema inmune, son factores que contribuyen primariamente al aumento de estrés oxidativo y llevan al daño cerebral progresivo.

La enfermedad de Alzheimer, es un desorden de placas y marañas fibrilares, la enfermedad de Parkinson, se caracteriza por una disminución de neuronas dopaminérgicas, el mal de Huntington, en una pérdida de neuronas neostriatales, y la esclerosis lateral amiotrófica, es una enfermedad de las neuronas motoras, que difieren en las vías y estructuras involucradas. Sin

embargo, dichas enfermedades también tienen características en común, que incluyen inflamación, mutaciones genéticas, agregados inapropiados de proteínas (cuerpos de Lewy, placas amiloides), activación glial, disfunción mitocondrial y estrés oxidativo, que finalmente conducen al deterioro progresivo que presentan los pacientes con enfermedades neurodegenerativas.¹

El genoma mitocondrial tiene una participación esencial en la patogénesis de estas enfermedades basado en la observación del descenso en la actividad del complejo de la cadena respiratoria, defectos asociados al desequilibrio oxidante-antioxidante en los que se supone subyacen alteraciones en el metabolismo energético que inducen degeneración celular. El DNA mitocondrial se localiza cerca de la membrana interna donde las especies reactivas de oxígeno se producen como consecuencia de la respiración mitocondrial, y así se convierte en una de las dianas inmediatas que llevarán al daño oxidativo y las consiguientes mutaciones. Se ha comprobado que la disfunción mitocondrial y la apoptosis intervienen de una forma muy importante en el desarrollo y progresión de las enfermedades mitocondriales y degenerativas.

El DNA mitocondrial (DNAmít) al acumular mutaciones repercute en la expresión y la actividad anómala de proteínas implicadas en la síntesis de ATP desacoplando la cadena de transporte electrónico con la fosforilación oxidativa y generando más EROS. La sobreproducción de especies reactivas de oxígeno por las mitocondrias disfuncionales puede causar daño oxidativo en las células produciendo alteraciones en sus funciones bioquímicas y

fisiológicas y alterar los perfiles de la expresión genética llevando a las células a la apoptosis. Además el déficit de histonas protectoras en el DNAm tiene como consecuencia la mutación y el daño oxidativo a esta molécula.

Tanto en el sistema nervioso central como en el periférico, los oligodendrocitos y sus precursores son vulnerables a la inflamación, estrés oxidativo y a la elevada concentración de glutamato que puede derivar en excitotoxicidad. La excitotoxicidad está relacionada con la muerte neuronal producida por la activación de receptores de los aminoácidos excitadores (glutamato) que provoca la entrada de calcio a la célula, a la mitocondria, disfunción metabólica y la producción de radicales libres que interfieren en una de las funciones más importantes de las mitocondrias que es el control de las vías específicas de la apoptosis.

Así estas células comienzan a ser disfuncionales o mueren en múltiples patologías que incluyen enfermedad de Alzheimer, lesiones de la médula espinal, enfermedad de Parkinson, hipoxia e isquemia cerebral.

El cerebro, como bien sabemos, es particularmente susceptible al daño oxidativo por su elevado ratio de consumo de oxígeno, por su alta demanda de energía, gran abundancia de ácidos grasos poliinsaturados y lípidos y su relativa capacidad antioxidante respecto a otros órganos. Generalmente, el 2% del oxígeno consumido por las células durante la fosforilación oxidativa se convierte en ROS, sin embargo este debe ser mayor en los sujetos con deficiente fosforilación oxidativa como es el caso de la enfermedad de Alzheimer sugiriendo que el daño oxidativo puede ser un hecho precoz en la patogenia de esta enfermedad.¹⁴

2.9. Fluoxetina y estrés oxidativo

La fluoxetina fue la primera molécula de una nueva generación de antidepresivos, los Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina (ISRSs). Es el paradigma recurrente para el desarrollo de cualquier terapia nueva en el tratamiento de la depresión.⁴⁷

Dicho medicamento fue aprobado por la Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos en diciembre de 1987 y se introdujo en la práctica clínica en enero de 1988, es ahora un agente de primera línea común en el tratamiento de la depresión.⁴⁰

Las concentraciones plasmáticas máximas de fluoxetina semanal se alcanzan después de 6 a 8 horas (contiene partículas con cobertura entérica que resisten a la disolución lo que retrasa el comienzo de la absorción en 1 ó 2 horas en comparación a las formas de liberación inmediata), la ingesta de alimentos no influye en la absorción. Fluoxetina se distribuye ampliamente, unida a proteínas plasmáticas, se metaboliza principalmente en el hígado a norfluoxetina. Se excreta en orina y la semivida de eliminación de fluoxetina inalterada es de 4 a 6 días, siendo la de su metabolito activo de 4 a 16 días (ambas pueden aumentar en pacientes con deficiencia en el isoenzima 2D6 del sistema citocromo P450).

En comparación con fluoxetina diaria, fluoxetina semanal provoca fluctuaciones mayores de las concentraciones plasmáticas y las concentraciones estables son 50 % menores. Tanto fluoxetina y su metabolito hepático, norfluoxetina, son inhibidores específicos de la recaptación de

serotonina en el sistema nervioso central, aumentando la neurotransmisión de la serotonina y efectos secundarios cardiovasculares.

Al igual que en los tejidos humanos, la fluoxetina y norfluoxetina son extensamente distribuidos en los tejidos de ratas. Cuando este fármaco se administra por vía intraperitoneal, su metabolito logra alcanzar rápidamente una concentración más alta en órganos tales como hígado, pulmón y cerebro. Fluoxetina ha demostrado ser clínicamente útil como antidepresivo y en el tratamiento del trastorno obsesivo compulsivo, bulimia, y obesidad.

El uso de fluoxetina en estas indicaciones incluye la posibilidad de que los pacientes pueden tener otras enfermedades, como insuficiencia renal o insuficiencia hepática. La dosificación terapéutica de dicho medicamento causa significativamente menos efectos secundarios anticolinérgicos y no parece causar los efectos secundarios cardiovasculares observados en la terapia con antidepresivos tricíclicos. Los modelos animales han demostrado cambios hepatocíticos en ratones, con cambios grasos y la ampliación de hepatocitos.²⁷

Una característica común de todos los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) es que se cree que actúan como fármacos antidepresivos, debido a su capacidad de bloquear de forma reversible la recaptación de la serotonina (5-hidroxitriptamina; 5-HT) en la hendidura sináptica. En consecuencia, el comportamiento farmacocinético de los medicamentos puede ser muy diferente, y estas diferencias farmacocinéticas puede tener una gran influencia en sus perfiles clínicos de acción.⁵²

La fluoxetina, es un medicamento que contiene flúor en su molécula, que inhibe selectivamente la recaptación de serotonina, se ha demostrado que la exposición al flúor (F) induce a la producción excesiva de radicales libres y afecta el sistema de defensa antioxidante. La muy alta electronegatividad del flúor puede modificar la distribución de electrones en estas moléculas, lo que afecta su absorción, distribución y metabolismo.

La incorporación de flúor en un compuesto biológico activo altera los parámetros electrónicos y lipofílicos del compuesto y puede aumentar críticamente la actividad biológica, química, estabilidad metabólica, y la biodisponibilidad. El beneficio de medicamentos fluorados en medicina humana está muy bien establecido; sin embargo, se sabe poco acerca de los peligros de estos compuestos para la misma.

Se ha demostrado previamente que fluoxetina reduce la ingesta de alimentos y por lo tanto el peso corporal en ratas durante los regímenes de tratamiento subcrónicas y crónicas, un efecto aparentemente mediado por impacto de fluoxetina en vías de señalización de serotonina.

Las transaminasas (ALT y AST) son enzimas que a menudo son indicativos de lesión hepática tóxica, un aumento en la actividad de las transaminasas en sangre es un indicador sensible del daño citoplasmático y/o de las membranas mitocondriales; el aumento en la actividad de la ALT (Alaninotransferasa) parece indicar enfermedades hepáticas y es más específica para lesiones hepáticas en comparación con los niveles de AST (Aspartato transferasa), debido a la localización celular de esta enzima.

Las células del hígado contienen más de AST que ALT, pero ALT se limita al citoplasma donde su concentración es mayor que la de AST. La transferasa glutatión S (GST) son una familia de enzimas de desintoxicación que se encuentran en el citosol de la mayoría de las células; la actividad de GST es un índice preciso de daño hepático. En conclusión, el aumento de las actividades de ALT, AST y, GST sugieren lesión hepática grave resultante de la administración de fluoxetina.²⁷

2.10. Mashua (*Tropaeolum tuberosum*)⁴

La mashua es uno de los tubérculos más importantes después de la papa, olluco y oca; se cultiva en los valles húmedos de la zona andina de Perú, Colombia, Argentina, Ecuador y Bolivia. Se menciona que la planta hereditaria es de la meseta peruano - boliviano. Pero ahora puede encontrarse en lugares tan lejanos como Canadá, Europa y Nueva Zelanda. Entre los tubérculos andinos, la mashua es de mayor rendimiento, la planta produce sus mejores cosechas y alto rendimiento entre 3500 y 3800 m.s.n.m. Los rendimientos de la mashua han superado a los de la papa en dos por uno y crece en suelos pobres y sin fertilizantes.

La mashua es una planta herbácea perenne, semirrastrera o trepadora que alcanza los 2 metros de altura. Produce tubérculos comestibles, perfumados y de sabor algo fuerte que miden entre 5 y 15 cm de largo. Se han reconocido más de cien variedades de mashua que varían entre blanco, amarillo, anaranjado, violeta, rojizo o púrpura oscuro, muchas veces punteadas como rojo brillante y con líneas moradas. Los tubérculos tienen forma elipsoidal y

a menudo están ramificados. Sus tallos aéreos tienen forma cilíndrica, muchas ramificaciones y color púrpura claro.

Sus hojas son alternas de color verde con puntas rojas y pueden agruparse alrededor de un soporte. Las flores son bisexuales tienen matices que van del naranja al escarlata y es polinizada por insectos y por pájaros.

2.10.1. Origen

La mashua es un cultivo de alta sierra, aparentemente originaria de los Andes Centrales, es una planta cultivada desde la época prehispánica en los Andes y está representada en la cerámica de esos tiempos.

En el Perú es cultivada en pequeñas escalas, entre los 3500 a 4100 m.s.n.m., su distribución abarca desde Colombia hasta Argentina, siendo consumida mayormente en el Ecuador, Perú y Bolivia. Los Andes es una zona de agricultura tradicional, es probable que ciertas condiciones ecológicas de los Andes centrales, por ejemplo, la marcada estacionalidad anual en cuanto a temperaturas o precipitaciones, hayan favorecido la evolución de especies con órganos subterráneos almacenadores.

En la actualidad se conoce que ha sido introducida con éxito en Nueva Zelanda. Aún en estos días, entre los 2900 y sobre los 3000 m.s.n.m. se encuentran especies silvestres que podrían ser los ancestros de este cultivo.⁴⁸

En los Andes del Ecuador, la mashua se cultiva actualmente en las pequeñas parcelas de indígenas y campesinos, asociada con melloco, oca y papas nativas por lo que resulta difícil conocer su área cultivada

y producción. Desde el punto de vista agronómico la mashua es muy rústica porque se cultiva en suelos pobres, sin uso de fertilizantes y pesticidas químicos o sintéticos; y aun en estas condiciones, su rendimiento puede duplicar el de la papa.

La asociación con melloco, oca y papas nativas se explicaría por los principios de control nematocida e insecticida que posee la planta; a los tubérculos se les atribuyen propiedades anafrodisiacas desde la época de los incas, que la incluían en la alimentación de sus soldados.⁵⁰

2.10.2. Clasificación taxonómica y Descripción botánica

- ✓ **Reino:** Plantae
- ✓ **División:** Magnoliophyta
- ✓ **Clase:** Magnoliopsida
- ✓ **Orden:** Brassicales
- ✓ **Familia:** Tropaeolaceae
- ✓ **Género:** Tropaeolum
- ✓ **Especie:** *Tropaeolum tuberosum*

Descripción Botánica⁴

Es una planta herbácea, de tallos cilíndricos y hábitos rastreros como el mastuerzo, tiene crecimiento erecto cuando es tierna y de tallos postrados con follaje compacto cuando madura. Esto le permite competir ventajosamente con las malas hierbas.

Las hojas son alternas, de 3 - 5 lóbulos, con nervaduras pronunciadas, las flores son solitarias de diferentes colores que van de anaranjadas o rojizas, el número de estambres es variable puede ser de 8 - 13. El tiempo de duración de la flor abierta varía entre 9 a 15 días. El fruto es esquizocarpo, el cual produce abundante semilla botánica, generalmente al igual que en otros tubérculos andinos ocurre el fenómeno de la fascinación.

Los tubérculos, son parecidos a la oca pero se les diferencia porque tienen forma cónica alargada, de yemas profundas, son de color variado: gris, blanco, amarillo, rojizo, morado y negro, generalmente con jaspes oscuros, rayas o pintas cortas, moradas o púrpuras, y mayor concentración de yemas en la parte distal. El tubérculo es arenoso y posee un sabor fuerte que lo hace menos apetecible que la oca.

2.10.3. Rendimiento y usos⁴

Rendimientos sobre 70000 Kg/ha, han sido registrados en parcelas experimentales en Ecuador y Cuzco.

El informe técnico anual del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP – Ecuador) (1989) señala que entre el melloco, la oca y la mashua, éste último fue el cultivo con mayor rendimiento y puede ser considerado como el más promisorio desde el punto de vista agronómico, aunque es el menos apetecido por los consumidores en comparación con los otros tubérculos, debido a su sabor astringente. El más alto rendimiento fue de 74666 Kg/ha, rendimiento que supera a cualquier otro tubérculo andino incluyendo a la papa.

La mashua se cultiva con el objeto de aprovechar los tubérculos como alimento, con fines medicinales y ornamentales, la mashua se destina una cierta cantidad para el consumo animal y otra cantidad se destina para el consumo humano, y se utiliza como ingredientes en sopas, guisos, encurtidos, mermelada, postres.

En nueva Zelanda, aparte de consumir sus tubérculos en sopas y estofados, también son consumidas con agrado por adultos y niños del área rural sancochada en una pachamanca, o en el horno, adquiere un sabor especial semejante al camote.

Actualmente la mashua es muy escasa debido a que tiene poco valor comercial, ya que no es muy apreciado por el hombre porque tiene un sabor picante cuando esta cruda, debido a los isotiocianatos (presentes también en rábanos, nabos); en cocido pierde su textura y se puede volver incluso dulce.

2.10.4. Fitosanidad y Fisopatías

La mashua repele muchos insectos, nematodos y otros patógenos; además es muy rústica por esta razón puede cultivarse en suelos pobres y sueltos, de pH ligeramente ácido entre 5 - 6, aunque también entre pH 5,3 - 7,5; sin fertilizantes ni pesticidas.

La asociación con melloco, oca y papas nativas se explicaría por los principios de control nematicida e insecticida que posee la planta por la presencia de un alto rango de fitoquímicos.

2.10.5. Composición Química y Nutricional de la mashua⁴

El análisis químico de la mashua en estado fresco revela que presenta importantes compuestos como: vitaminas, proteínas, grasas, carbohidratos, y calorías que son muy importantes para el consumo; así también podemos observar valores altos de humedad, fósforo y ácido ascórbico; demostrando así que es un tubérculo importante para la dieta diaria.

La mashua es muy nutritiva, contiene cerca de 20 % de sólido y proteína alrededor de 16 % en materia seca, es un alimento valioso y barato debido a su alto rendimiento. Sin embargo la proteína es altamente variable, dependiendo mucho de la variedad.

La mashua contiene unas cantidades elevadas de aminoácidos esenciales como lisina, aminoácido limitante en muchos cereales y leguminosos; debido a la cantidad de agua variable entre especies, 86 % y 92 %, es necesario expresar los valores en base a la materia seca o presentar de manera simultánea el contenido de humedad. Es importante señalar que otros factores aparte de la variabilidad genética como son las prácticas culturales, el clima y el tipo de suelo, pueden influir en las características del material en estudio.

Los tubérculos de mashua tienen alrededor del 15 % de proteínas, es rico en beta caroteno, en minerales como el K, P, Fe, Mn, Zn, Cu y tienen propiedades antioxidantes como el ácido ascórbico (vitamina C), en el cual se pueden encontrar cantidades de hasta 67 mg por 100 g en materia fresca; pero el contenido puede variar de

6,9 % a 15,9 % en materia seca. Además de proporcionarnos carbohidratos; el almacenamiento de éstas, aumenta la dulzura, esto se debe a la hidrolización de los almidones en azúcar.

La presencia de glucosinatos en este tubérculo tiene efectos beneficiosos para el sistema inmunológico y podrían proteger al organismo humano contra el cáncer, pero, al mismo tiempo, podrían tener efectos perjudiciales sobre el sistema nervioso cuando se consumen en grandes cantidades.²³

TABLA N° 01: COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA MASHUA

COMPONENTES	BASE HÚMEDA (BH)			BASE SECA (BS)	
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
	Rango	Promedio	Promedio	Rango	Promedio
Humedad (%)	79,10 - 88,8	87,4	86	78,3 - 92,4	-
Carbohidratos (g)	-	9,8	11	-	-
Proteínas (g)	1,13 - 2,65	1,5	1,6	6,9 - 15,7	11,4
Grasa (g)	-	0,7	0,6	0,1 - 1,4	4,3
Ceniza (g)	0,56 - 1,08	0,6	0,8	4,2 - 6,5	5,7
Fibra (g)	-	0,9	0,8	7,8 - 8,6	-
Azúcares (g)	5,37 - 9,33	-	-	-	-
Potasio (mg)	1,28 - 1,76	-	-	-	-
Fósforo (mg)	0,61 - 0,83	29	42	-	300
Calcio (mg)	-	12	7	-	50
Hierro (mg)	-	1,0	1,2	-	8,6
Vitamina A (mg)	-	-	1,5	-	214
Tiamina (mg)	-	0,10	0,06	-	0,46
Riboflavina (mg)	-	0,12	0,08	-	0,57
Niacina (mg)	-	0,67	0,6	-	4,3
Vitamina C (mg)	-	77,5	67	-	476

Fuente: Beltran A, Mera J. Elaboración del tubérculo mashua (*Tropaeolum tuberosum*) troceada en miel y determinación de la capacidad antioxidante. [Tesis para obtener el Título de Ingeniero Químico] Guayaquil – Ecuador: Universidad de Guayaquil, Facultad de Ingeniería Química. [Tesis en Internet]. 2013 [Fecha de acceso 03 de Agosto del 2016]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/3504/1/1095.pdf>⁴

2.10.6. Capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de la mashua⁴²

Los compuestos antioxidantes son esencialmente importantes para los seres vivos, porque tienen la capacidad de proteger las células contra el daño oxidativo, evitando el envejecimiento y muerte celular. La acción antioxidante presente en plantas es importante debido a que puede ayudar a las personas a combatir enfermedades provocadas por una reacción de radicales libres o especies reactivas del oxígeno, nitrógeno o hierro. Los radicales libres son moléculas con un electrón desapareado, capaces de favorecer reacciones en cadena muy dañinas para el organismo, desencadenando un fenómeno conocido como estrés oxidativo.

El mecanismo de acción de los antioxidantes puede ser:

- ✓ Preventivo, evitando la formación de radicales libres.
- ✓ Reparador, mediante la reparación endógena del daño causado por los radicales libres.
- ✓ Secuestrador de radicales libres (vitamina E, vitamina C, betacaroteno, flavonoides).

Entre los antioxidantes más conocidos figuran los tocoferoles, el ácido ascórbico, los flavonoides (quercitina, robinutina, luteolina, catequinas, entre otros), antocianinas, carotenoides, ácidos fenólicos (ácidos cafeico, ferúlico, gálico, clorogénico). El contenido de estos compuestos en los vegetales queda determinado por numerosos factores, entre los que se pueden mencionar: la especie, variedad, condiciones de cultivo y maduración.

Las cantidades de flavonoides y polifenoles en alimentos como frutas y vegetales, son mucho más altas que las cantidades de otros antioxidantes como las vitaminas C y E, lo cual hace de estos compuestos los principales antioxidantes adquiridos en la dieta humana.

2.10.6.1. Contenido de Compuestos Fenólicos Totales

Cuya R (2009)¹⁸ señala en su estudio “Efecto de secado en bandeja y atomización sobre la actividad antioxidante de la mashua (*Tropaeolum tuberosum* R & P)”, Lima, que en los tubérculos de mashua, el contenido de compuestos fenólicos totales, se encuentran en un rango de 0,92 a 3,37 mg/g. Los genotipos de mashua de color púrpura, presentaron alto contenido de compuestos fenólicos totales, mientras que los genotipos de mashua de color amarillo presentaron bajo contenido de compuestos fenólicos totales.

El contenido de compuestos fenólicos totales fue comparado con las fresas, usado como una referencia (3,35 mg/g).

2.10.6.2. Antocianinas Totales

Las antocianinas totales del genotipo de la mashua pigmentadas se encuentran en un rango de 0,5 a 2,05 mg. Las antocianinas totales de los tubérculos de mashua parecen tener un componente significativo de compuestos fenólicos totales en los genotipos pigmentados. Por ejemplo, la relación de las antocianinas totales entre el contenido de

compuestos fenólicos totales, el rango de la fracción se encuentra entre 0,3 y 0,67.¹⁸

2.10.6.3. Carotenoides totales¹⁸

Los tubérculos de mashua contienen carotenoides totales que se encuentran en un rango de 1 a 25 μg de β -caroteno. Los contenidos de carotenoides de los tubérculos de mashua son relativamente elevados, comparado con la papa comercial y nativas; también es comparado con el contenido de papaya (4,08 μg).

Sin embargo, el contenido de carotenoides totales de la mashua es reducido respecto al tomate (56 - 210 μg), mango (74,3 μg) y zanahoria (90 ± 16 μg).

Los valores altos de carotenoides totales fueron siempre observados en los cultivares con bajo contenido fenólico. Un incremento gradual en contenido de carotenoides fue observado durante el desarrollo del tubérculo entre los cultivares amarillos y el cultivar púrpura, los valores altos se obtienen en maduración completa. A lo largo de la maduración los cultivares amarillos incrementan en un rango de 1,25 a 3,8 respectivamente. Los cultivares púrpuras presentan valores casi constantes durante el desarrollo del tubérculo, a la vez que las variedades amarillas contienen alto contenido de vitamina A.

III. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Unidad de análisis, universo y muestra

3.1.1. Unidad de análisis

3.1.1.1. Material botánico

Se utilizó tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua”, obtenido en el Distrito de la Encañada, Provincia Cajamarca, Departamento Cajamarca – Perú.

3.1.1.2. Animales de Experimentación

Especímenes hembras *Rattus rattus* var. albinus ooferectomizadas con lipoperoxidación inducida por fluoxetina.

3.1.2. Universo

Tubérculos frescos de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua”, obtenido en el Distrito de la Encañada, Provincia Cajamarca, Departamento Cajamarca – Perú.

3.1.3. Muestra

Extracto acuoso preparado a partir de 500 g de tubérculos frescos de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua”, obtenido en el Distrito de la Encañada, Provincia Cajamarca, Departamento Cajamarca – Perú.

3.2. Métodos de investigación

3.2.1. De acuerdo al fin que persigue

- ✓ **Básica:** Esta investigación estuvo encaminada a la resolución de problemas prácticos, buscando el conocimiento puro por medio de la recolección de datos, de forma que añade información que profundiza cada vez los conocimientos ya existentes.

3.2.2. De acuerdo a la técnica de contrastación

- ✓ **Experimental:** Consiste en crear una situación donde se modifica voluntariamente la realidad presente. Para ello se controlan todas las variables posibles, una de las cuales permanece independiente con el objeto de comprobar lo que se quiere juzgar.

La presente investigación estuvo basada en un procedimiento diseñado para manipular variables en condiciones especiales, que permitan poner en juego algunas variables para observar su comportamiento y lograr así descubrir la esencia del objeto de estudio. Se llevó a cabo en la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo - Cajamarca, durante tres meses, abarcando desde marzo a mayo del 2015.

3.3. Técnicas de investigación

3.3.1. Selección de grupos de estudio

a. Grupo blanco

Estuvo conformado por 5 especímenes hembras no Ooforectomizadas, a las que no se les administró nada, durante un

periodo de seis semanas, sólo se les alimentó con maíz morocho partido, a cantidad del 10 % de su peso y agua en cantidad suficiente.

b. Grupo control

Estuvo conformado por 6 especímenes debidamente Ooforectomizadas, se les administró 1 mL de suero fisiológico, mediante el dispositivo metálico, por un lapso de seis semanas, una vez al día, a un mismo horario comprendido entre 06:00 a.m y 07:00 a.m.

c. Grupo patrón

Constó de 6 especímenes debidamente Ooforectomizadas, a las cuales se les administró tabletas de fluoxetina (Inductor de lipoperoxidación), 20 mg/Kg por vía oral, solución de 0,15 %, mediante el dispositivo metálico, por un lapso de tres semanas, una vez al día, a un mismo horario comprendido entre 06:00 a.m. y 07:00 a.m. Posterior a ello se les administró 1 mL diario de solución salina fisiológica por un lapso de tres semanas en los mismos horarios antes indicados.

d. Grupo problema 1: dosis mayor

Estuvo constituido por 6 especímenes previamente Ooforectomizadas, a las que se le administró tabletas de fluoxetina (Inductor de lipoperoxidación), 20 mg/Kg por vía oral, solución de 0,15 %, mediante el dispositivo metálico, por un lapso de tres semanas, una vez al día, a un mismo horario comprendido entre 06:00 a.m. y 07:00 a.m. Posterior a ello se les administró una

concentración mayor de extracto de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua”, la cual es de 1 g/kg de acuerdo a su peso corporal, a una concentración de 20 %, utilizando el dispositivo metálico, por un periodo de tres semanas, una vez al día, en un horario comprendido entre 06:00 y 07:00 a.m.

e. Grupo problema 2: dosis menor

Estuvo constituido por 6 especímenes previamente Ooforectomizadas, a las que se le administró tabletas de fluoxetina (Inductor de lipoperoxidación), 20 mg/Kg por vía oral, solución de 0,15 %, mediante el dispositivo metálico, por un lapso de tres semanas, una vez al día, a un mismo horario comprendido entre 06:00 y 07:00 a.m.

Posterior a ello se les administró una concentración mínima de extracto de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua”, la cual es de 1 g/kg de acuerdo a su peso corporal, a una concentración del 10 %, utilizando el dispositivo metálico, por un periodo de tres semanas, una vez al día, en un horario comprendido entre 06:00 y 07:00 a.m.

3.3.2. Ooforectomización bilateral de *Rattus rattus* var. albinus

a. Preparación de los especímenes

A los animales de experimentación se les cortó el consumo de alimentos y líquidos durante un lapso de tiempo aproximado de 8 a 10 horas, para evitar y prevenir la aspiración de dichos contenidos hacia sus pulmones por inducción de la anestesia.

b. Proceso de operación bilateral

- En primer lugar se procedió a afeitar el pelo de la zona donde se realizó dicha operación.
- Se adecuó el área de operación, posteriormente se procedió a anestésiar al espécimen con Ketamina a una dosis de 120 mg/kg de acuerdo a su peso.
- Se desinfectó la zona para la cirugía y con ayuda de un bisturí N° 20, se inició con un corte vertical a la altura del vientre de la rata albina, en el que seguidamente se empezó a identificar los ovarios y se procedió con la extirpación.
- Luego de ser operadas, se optó por abrugarlas haciendo uso de calefacción (estufa de laboratorio) para evitar la hipotermia, finalmente se las mantuvo en post – operatorio con la finalidad de que se produzca la menopausia y por ende la reducción de estrógenos.

Cálculo de Dosis de Ketamina

✓ Cálculo para kilogramo de peso

120 mg ketamina----- 1 Kg de peso

✓ Cálculo de dosis a administrar al animal

500 mg----- 10 mL sol

3.3.3. Inducción de Lipoperoxidación

Se indujo a lipoperoxidación con fluoxetina, la cual se administró posterior al proceso de recuperación post operatorio, a una dosis de 20 mg/kg a concentración de 0,15 %; por un periodo de tres semanas, los grupos administrados fueron el grupo patrón y los dos grupos problemas.

3.3.4. Preparación del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua”

- El extracto acuoso se preparó a partir de la recolección y selección de los mejores tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua” provenientes del Distrito de la Encañada, de la Provincia de Cajamarca.
- Se procedió a realizar el respectivo lavado de los tubérculos y se colocaron en un recipiente limpio.
- Se trituró dicho material biológico haciendo uso de una licuadora o un extractor, para obtener el mayor concentrado posible del principio activo, el cual fue denominado extracto matriz, luego se filtró, quedando libre de impurezas.
- Luego se procedió a preparar el extracto acuoso a distintas concentraciones, al 10 % y 20 % v/v, tomándose 10 mL y 20 mL del extracto matriz para luego ser aforado a 100 mL con agua destilada, el preparado se envasó en frascos ámbar y se conservó en refrigeración para evitar la oxidación del mismo.

- Este procedimiento se realizó interdiario, por un lapso de tres semanas lo que duró el proceso de administración.

3.3.5. Análisis de la capacidad cognitiva con Test de Morris⁵⁴

El Test de Morris es un laberinto de agua, que fue diseñado por R.G. Morris para evaluar la memoria espacial en ratas y que consiste en una piscina circular llena de agua en la que se sitúa una plataforma que debe ser localizada por el animal.

El aprendizaje y la memoria espacial se relacionan con la capacidad de adquirir y retener asociaciones de las características del ambiente, lo que permite al organismo desenvolverse en el espacio; la memoria espacial consiste en codificar, almacenar y recuperar información acerca de rutas, configuraciones y localizaciones espaciales.

Con este test es posible valorar la memoria de referencia, que es si la plataforma permanece en el mismo lugar durante los ensayos; y cuando se cambia la plataforma de posición en cada ensayo, se evalúa la memoria de trabajo.

Procedimiento

- ✓ Se contó con una piscina circular de 150 cm de diámetro y con una profundidad de 50 cm, pintada de color negro para que les sea un poco más difícil de orientarse y con unas líneas blancas indicando en dos de los cuadrantes la dirección del sol y la luna; la plataforma debe ser movable.

- ✓ Contamos con un espacio amplio para que el animal de experimentación no sea interrumpido por ningún distractor.
- ✓ Se procedió a llenar de agua la piscina.
- ✓ Se estableció un tiempo de prueba, el cual fue de 120 segundos, hasta que la rata hembra encuentre dicha plataforma; esto debe ocurrir antes del tiempo establecido.
- ✓ Una vez realizada la prueba los animales fueron regresados a sus jaulas, lejos de área de trabajo.
- ✓ Se colocó al espécimen en los tres diferentes cuadrantes excepto en donde estaba la plataforma.
- ✓ Cuando el espécimen no encontraba la plataforma dentro del tiempo establecido, se la retiraba y se la dejaba reposar durante 5 minutos y luego se volvía a repetir la prueba. Esas pruebas fueron realizadas durante cuatro días y en el quinto día, se retiró la plataforma, la cual ayuda en la evaluación de su capacidad cognitiva o retención de memoria que tienen los especímenes.

3.3.6. Determinación de la lipoperoxidación en membranas de células hepáticas por la técnica de ácido Tiobarbitúrico

- ✓ Se realizó la extracción del hígado para posteriormente suspenderlo en solución salina fisiológica y luego se secó con papel adsorbente.
- ✓ Se pesó el órgano en una balanza analítica para encontrar la relación porcentual del peso del hígado/peso del animal.

- ✓ Se trituró el hígado con ayuda de un mortero recubierto en hielo, homogenizando con tampón fosfato 50 mM pH 7,40 y se filtró 10 mL haciendo uso de una gasa.
- ✓ De lo filtrado se tomó 450 μ L al cual se adicionó 50 μ L de buffer fosfato 50 mmol/L, a pH 7,4 y 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 10 %.
- ✓ Se centrifugó a 6000 rpm durante 10 min, se tomó 1 mL del sobrenadante y se adicionó 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) al 0,67 %.
- ✓ Dicha mezcla se calentó a 92 °C por 30 minutos para posteriormente enfriar en baño de hielo por 15 minutos y a continuación se añadió 4 mL de N-butanol y piridina (15:1 v/v), se centrifugó a 3000 rpm por 10 minutos y se procedió a leer la absorbancia del sobrenadante en el espectrofotómetro a 532 nm.

3.3.7. Curva de calibración (Ver anexo N° 01)

- ✓ Se procedió a preparar una solución de Ácido Tiobarbitúrico (ATB) a una concentración de 0,8 % (Solución I).
- ✓ Se preparó una solución de Malondialdehído (MDA) a una concentración de 2 nM/mL (Solución II).
- ✓ Se calentó la mezcla a 92 °C por 30 minutos para posteriormente enfriar en baño de hielo por 15 minutos.

3.4. Instrumentos, equipos, materiales, reactivos y otros

3.4.1. Instrumentos

- ✓ Formato de registro de tiempos para Test de Morris: consiste en una tabla Excel, donde se registró los tiempos e intentos empleados por los especímenes de cada grupo en estudio por día, durante 5 días.
- ✓ Formato de registro para determinación de Malondialdehído en células hepáticas: consiste en una tabla donde se anotaron las absorbancias obtenidas en las lecturas por espectrofotometría de las muestras en estudio.
- ✓ Software para análisis estadísticos: ANOVA, TUKEY y DUNCAN.

3.4.2. Equipos

- ✓ Balanza analítica Marca Ohaus Adventurer Modelo ARO640.
- ✓ Balanza digital Marca Mettler Toledo.
- ✓ Centrifuga Marca Hettich Modelo EBA20.
- ✓ Refrigeradora Marca Coldex Modelo TA04Y07EXB0.
- ✓ Baño maría Marca Memmert.
- ✓ Espectrofotómetro Spectronic 20 Genesys

3.4.3. Materiales

Materiales de vidrio y otros de uso común en el Laboratorio Multifuncional de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo - Cajamarca.

3.4.4. Reactivos

- ✓ Cloruro de sodio 0,9 %: Laboratorio B. Braun
- ✓ Agua destilada

- ✓ Alcohol 96°: Laboratorio Alkofarma E.I.R.L
- ✓ Ketamina de 500 mg/10 mL: Laboratorio Sanderson
- ✓ Alcohol yodado IDOSAFE 10%: Laboratorio Roker
- ✓ Ácido tiobarbitúrico/sol. SDS al 0, 67 %
- ✓ Ácido Tiobarbitúrico al 0, 8 %
- ✓ BHT/ etanol
- ✓ Glicola/ NaCl/ pH 3.5
- ✓ Fe/H₂O
- ✓ N-butanol-piridina 15:1 v/v
- ✓ Tampón fosfato 50 mM pH 7,40
- ✓ Ácido tricloroacético (TCA) al 10 %.
- ✓ Malondialdehído 2 nM/mL

3.4.5. Otros

Clorhidrato de Fluoxetina 20 mg/kg a concentración de 0,15%
(PROZAC 20 - ELI LILLY)

3.5. Técnicas de análisis de datos

El tratamiento estadístico de los datos obtenidos se realizó mediante la prueba estadística ANOVA, Tukey y Test de Duncan.

✓ Prueba estadística ANOVA

Es un análisis de varianza, el cual se utilizó para verificar si hay diferencias estadísticamente significativas entre medias, cuando se tiene más de dos muestras o grupos en el mismo planteamiento. En la cual la significancia de los datos se refleja con valores $p < 0,05$ y un intervalo de confianza del 95%.

✓ Prueba estadística Tukey

Sirve para probar todas las diferencias entre medias de tratamientos de una experiencia. Su interés fundamental es comparar promedios entre dos grupos.

✓ Test de Duncan

Es un test de comparaciones múltiples, compara varios grupos con una variable cuantitativa; es decir sirve para determinar la diferencia entre pares de medias.

3.6. Aspectos éticos de la investigación³⁶

La experimentación con animales ha permitido un desarrollo cada vez más acelerado de los conocimientos biológicos, del bienestar del hombre y de los propios animales.

Al analizar el proceso de investigación realizado y tomar como unidad de análisis al animal, nos toca como investigadores asumir una enorme responsabilidad social que ello implica, la que se ve reflejada en el conocimiento del Texto definitivo de la Declaración Universal de los Derechos del Animal, Londres (1978) aprobada por la UNESCO y la ONU, así como los principios éticos en la experimentación animal, referidos en la Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del consejo de la Unión Europea.

La presente investigación se basó fundamentalmente en el respeto por la vida de los animales de experimentación, se aseguraron condiciones ideales de alojamiento y cuidados, se ejerció un control sobre los niveles de dolor, tanto en la intervención quirúrgica, administración de medicamento y preparado

fitoquímico, así como durante el sacrificio; asimismo el empleo de una adecuada metodología, la cual nos permitió el empleo mínimo de especímenes.

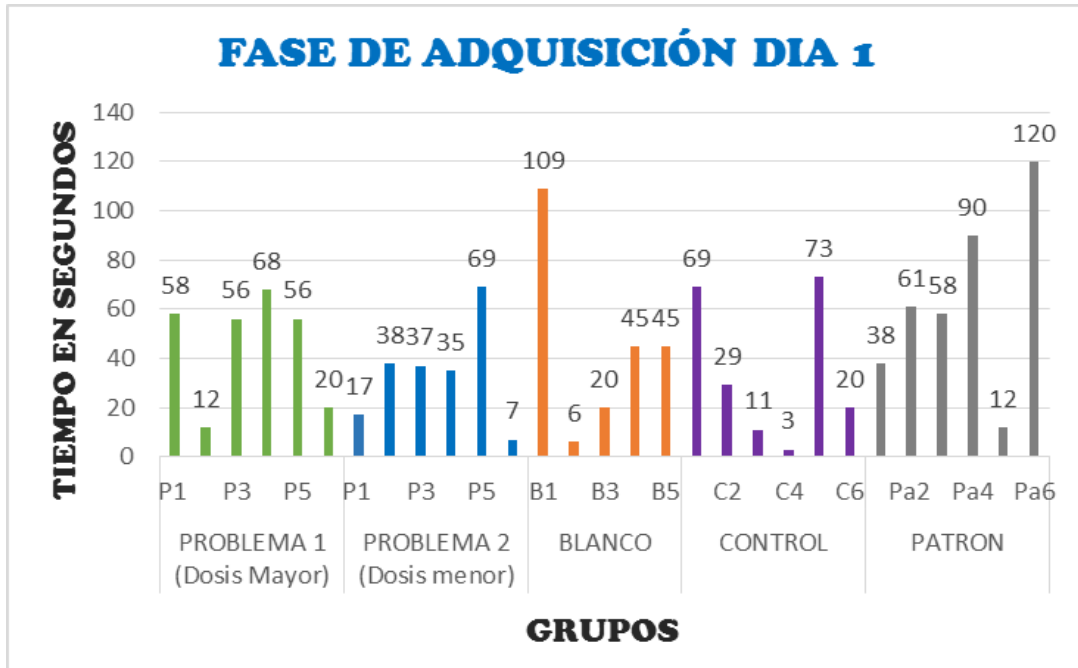
Es preciso reconocer que toda forma de vida es un valor en sí mismo, que debe ser respetada y protegida. El respeto hacia los animales no es incompatible con el valor del conocimiento, teniendo en claro que respetar no es “no tocar”: es valorar, comprender y estimar lo que se toca; y, sobre todo, hacerse responsable de todo lo que se toca.

IV. RESULTADOS

TABLA N° 02: TEST DE MORRIS DURANTE LA FASE DE ADQUISICIÓN

GRUPOS		TIEMPO EN SEGUNDOS			
		DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4
PROBLEMA 1 (DOSIS MAYOR)	P1	58	75	27	15
	P2	12	120	37	19
	P3	56	110	84	35
	P4	68	30	13	62
	P5	56	27	120	95
	P6	20	89	66	56
PROBLEMA 2 (DOSIS MENOR)	P1	17	70	10	25
	P2	38	20	24	68
	P3	37	13	56	49
	P4	35	21	30	28
	P5	69	62	70	24
	P6	7	13	56	49
BLANCO	B1	109	90	85	74
	B2	6	58	80	65
	B3	20	89	66	56
	B4	45	23	77	58
	B5	45	70	61	24
CONTROL	C1	69	11	59	32
	C2	29	7	13	3
	C3	11	39	36	6
	C4	3	20	10	107
	C5	73	28	46	54
	C6	20	112	55	9
PATRÓN	Pa 1	38	47	60	47
	Pa 2	61	45	21	23
	Pa 3	58	42	4	54
	Pa 4	90	71	97	81
	Pa 5	12	119	16	0
	Pa 6	120	46	60	18

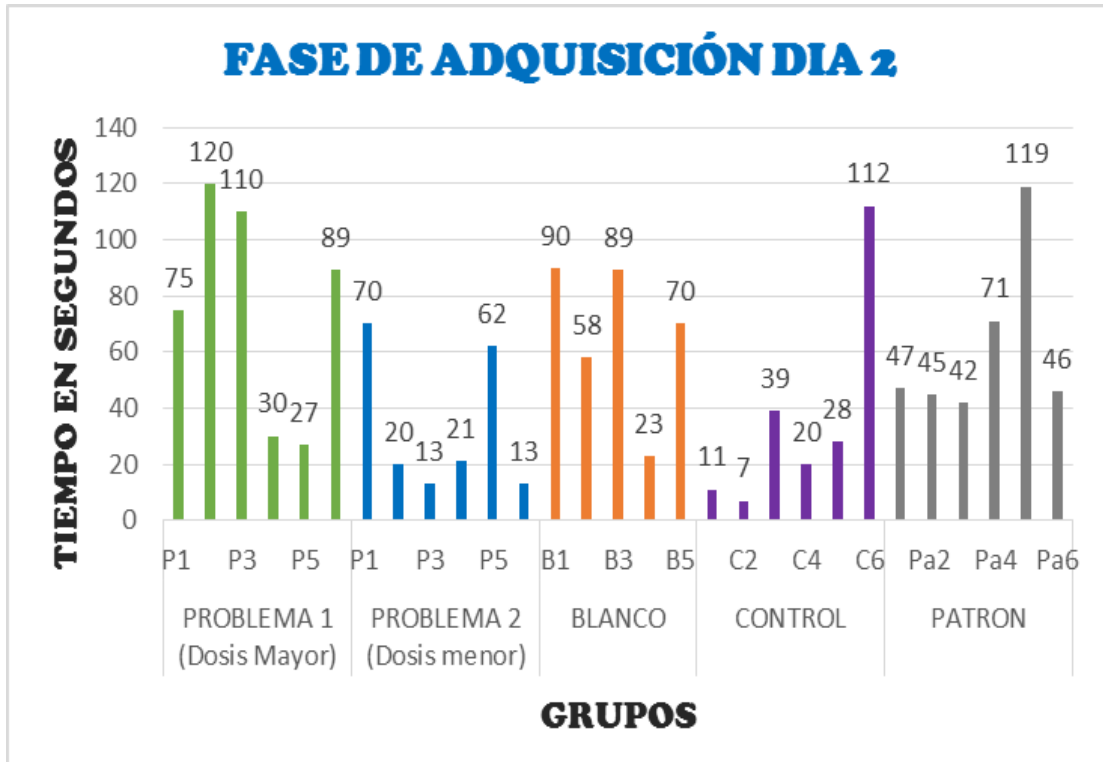
Fuente: Tabla elaborada por los investigadores.



Fuente: Tabla N° 02

GRÁFICO N° 01: FASE DE ADQUISICIÓN DÍA 1

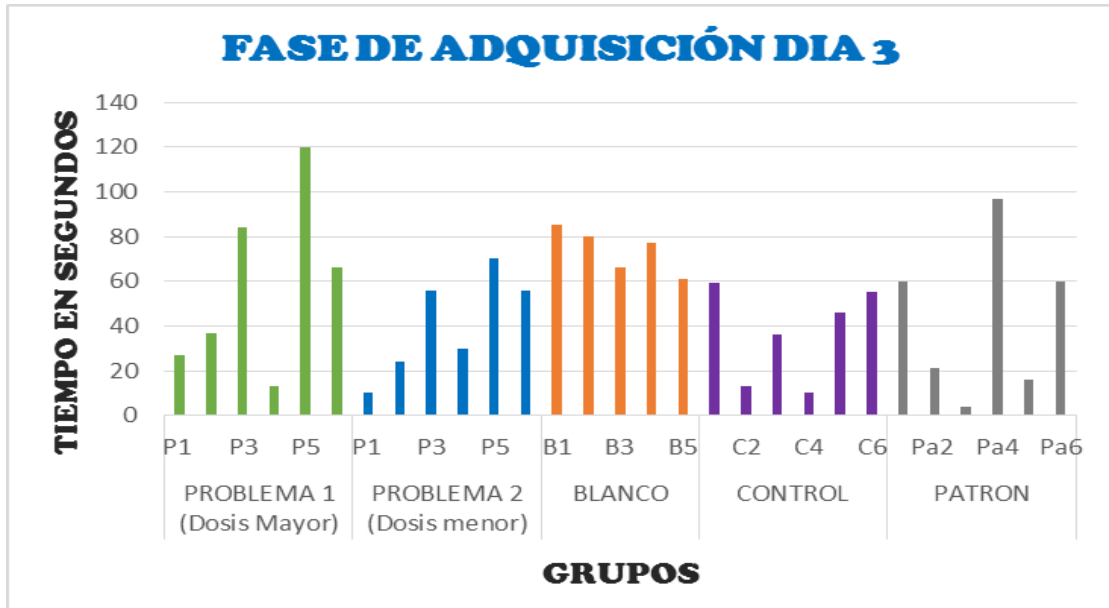
Interpretación: En este gráfico se muestra la fase de adquisición correspondiente al día 1, considerando que el tiempo máximo de exposición experimental es de 120 segundos, se pudo evidenciar que dos especímenes se acercan al límite de dicho tiempo (especímen B1 y Pa6), del mismo modo nos muestra especímenes con tiempos mínimos en la ubicación de la plataforma de salvataje (especímenes dosis mayor P2, dosis menor P6, B2, C3, C4, Pa5). También se puede indicar que los tiempos de los grupos problema 1 y problema 2 son mucho más homogéneos en relación a los demás grupos, cabe resaltar que estos datos no tienen mucha relevancia por ser el primer día de experimentación.



Fuente: Tabla N° 02

GRÁFICO N° 02: FASE DE ADQUISICIÓN DÍA 2

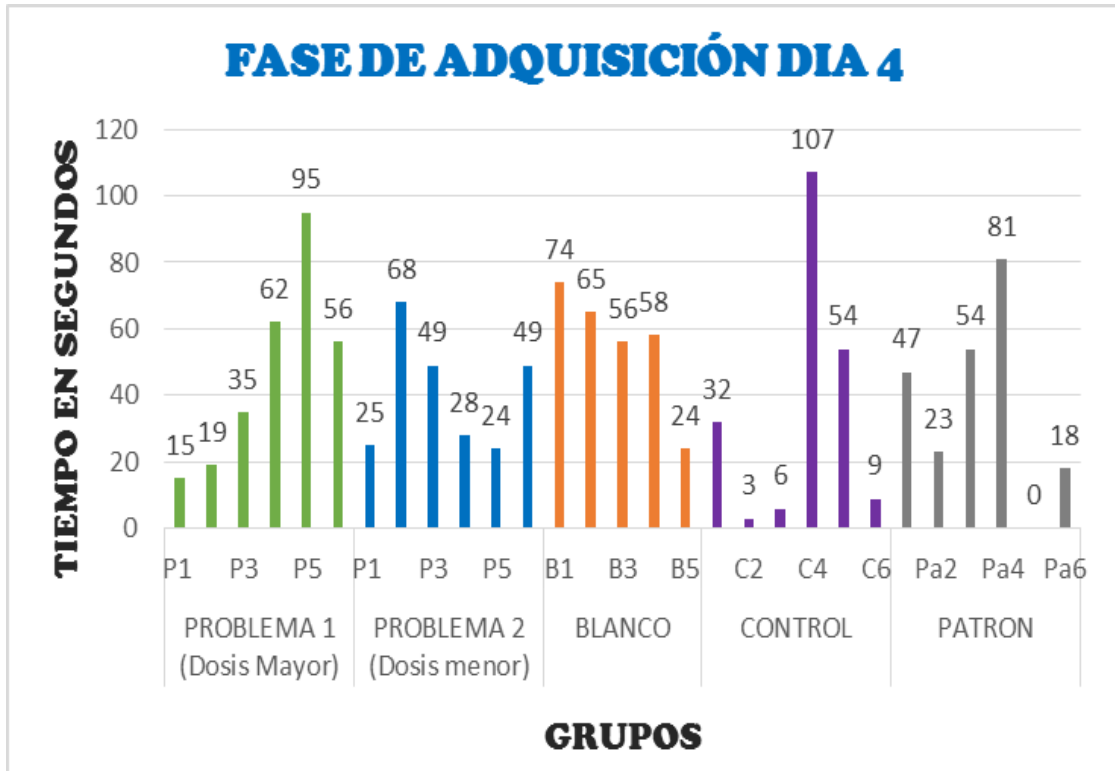
Interpretación: Según el gráfico se observa que los especímenes que hicieron mayor tiempo en el día 1 (Pa6 y B1) han disminuido significativamente dicho tiempo, muy por el contrario los especímenes que hicieron el menor tiempo (especímenes dosis mayor P2, dosis menor P6, B2, C3, C4, Pa5) han incrementado el tiempo en encontrar la plataforma, del mismo modo se puede evidenciar que especímenes que mostraban un mayor tiempo han disminuido relativamente, en este día de experimentación los tiempos de cada grupo muestran una mayor dispersión.



Fuente: Tabla N° 02

GRÁFICO N° 03: FASE DE ADQUISICIÓN DÍA 3

Interpretación: El gráfico muestra una mayor disminución en tiempo de los especímenes de los distintos grupos sólo uno de ellos muestra un máximo tiempo (dosis mayor P5), se muestra un incremento de especímenes de distintos grupos que logran un menor tiempo; el grupo blanco muestra mayor homogeneidad de tiempos con respecto a los demás.



Fuente: Tabla N° 02

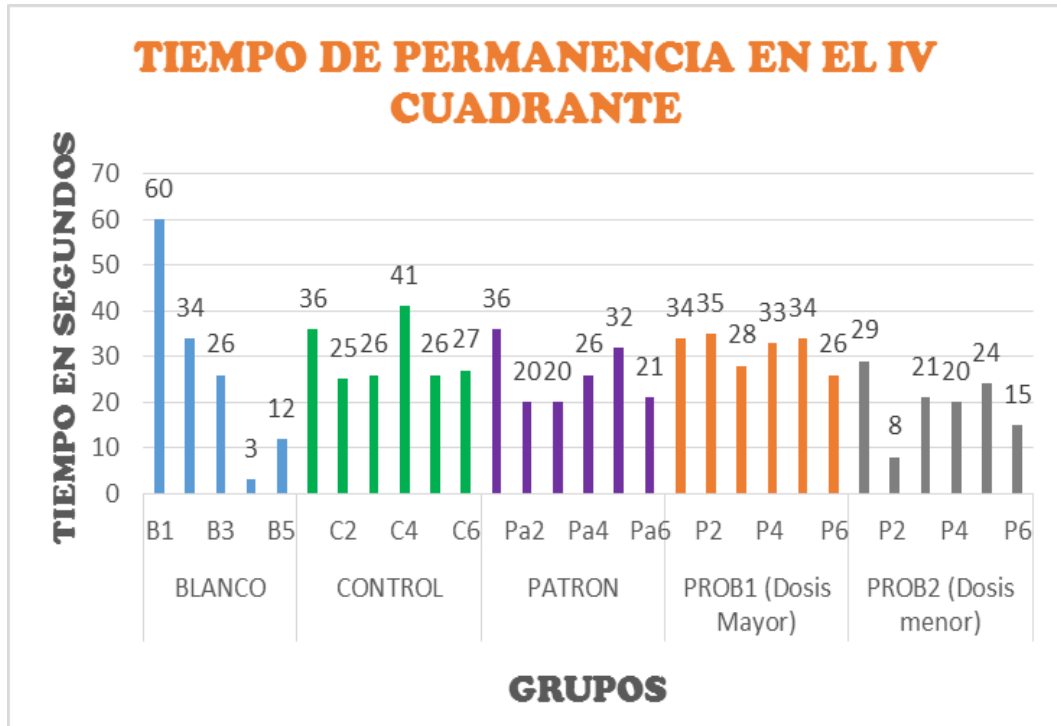
GRÁFICO N° 04: FASE DE ADQUISICIÓN DÍA 4

Interpretación: Se evidencia que el tiempo máximo que se mostraba en los días anteriores ha disminuido, un caso resaltante es el espécimen Pa5 que no logra encontrar la plataforma, los tiempos de los distintos grupos muestran equivalencia en relación a los días anteriores pese a mostrar una mínima dispersión de los mismos; presentando datos más homogéneos los grupo dosis menor y blanco.

TABLA N° 03: TEST DE MORRIS - FASE DE RETENCIÓN

CRUZAMIENTOS Y TIEMPO EN EL IV CUADRANTE			
GRUPOS		N° DE CRUCES	TIEMPO EN SEGUNDOS
PROBLEMA 1 (DOSIS MAYOR)	P1	15	34
	P2	12	35
	P3	14	28
	P4	11	33
	P5	12	34
	P6	11	26
	PROMEDIO	12.5	31.7
PROBLEMA 2 (DOSIS MENOR)	P1	7	29
	P2	2	8
	P3	5	21
	P4	8	20
	P5	5	24
	P6	6	15
	PROMEDIO	5.5	19.5
BLANCO	B1	10	60
	B2	12	34
	B3	11	26
	B4	2	3
	B5	8	12
	PROMEDIO	8.6	27
CONTROL	C1	6	36
	C2	8	25
	C3	12	26
	C4	14	41
	C5	14	26
	C6	6	27
	PROMEDIO	10	30.2
PATRÓN	Pa 1	16	36
	Pa 2	10	20
	Pa 3	9	20
	Pa 4	12	26
	Pa 5	10	32
	Pa 6	14	21
	PROMEDIO	11.8	25.8

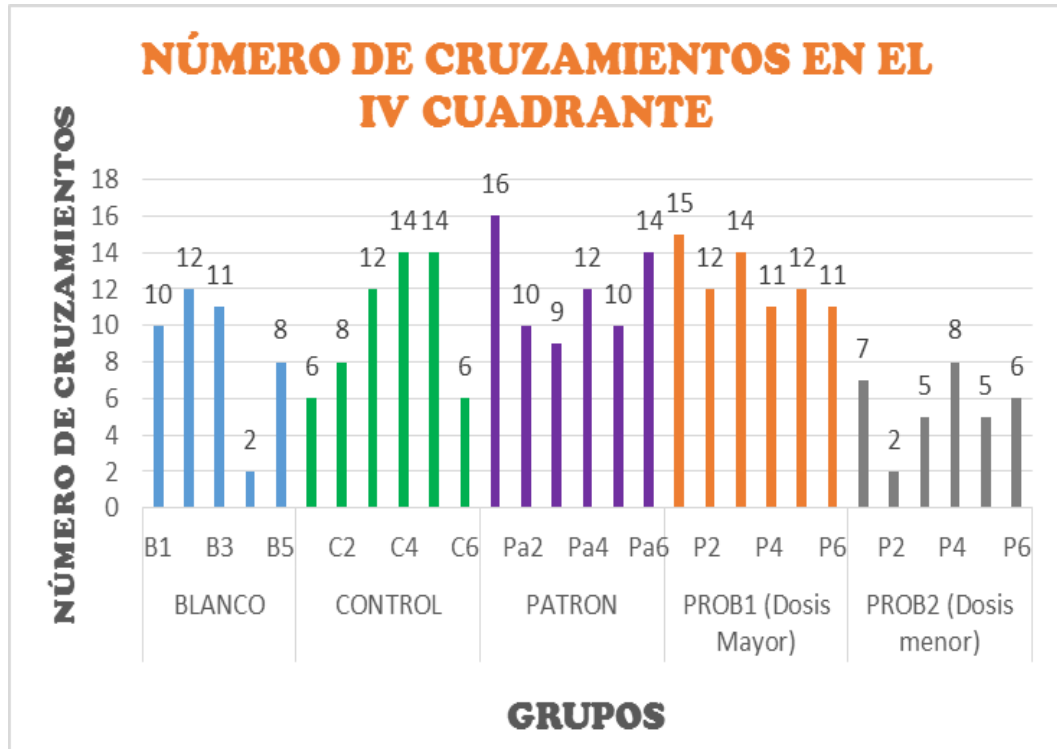
Fuente: Tabla elaborada por los investigadores.



Fuente: Tabla N° 03

GRÁFICO N° 05: TIEMPO DE PERMANENCIA EN EL IV CUADRANTE

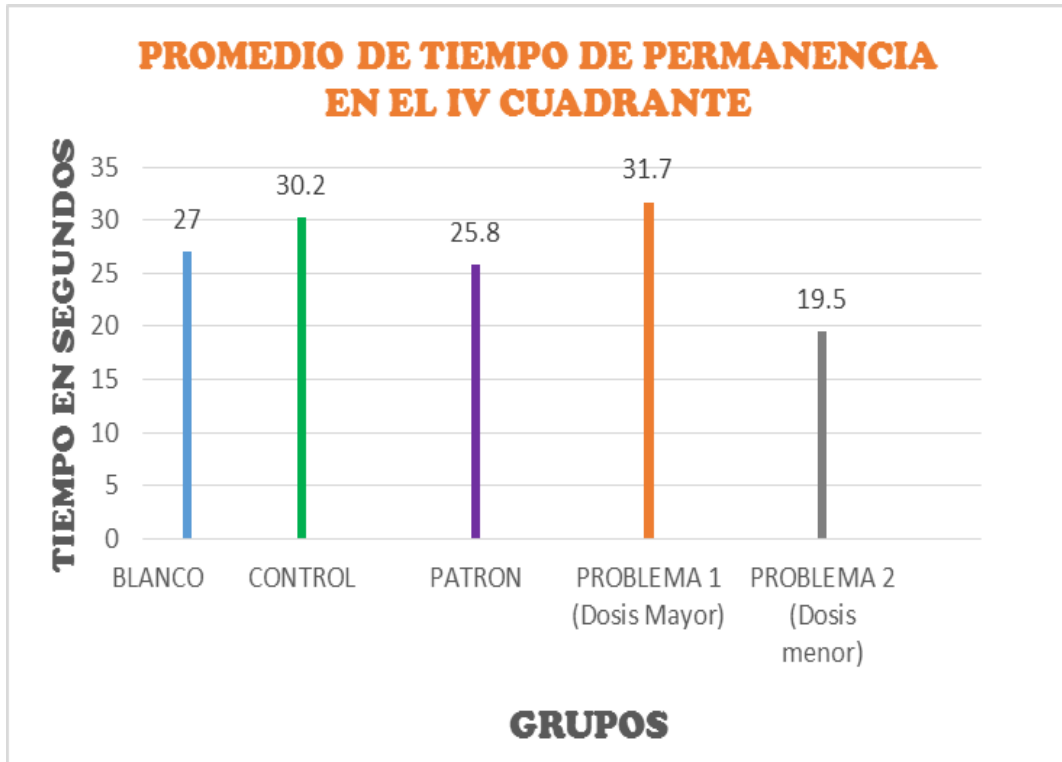
Interpretación: Considerando que el tiempo de permanencia en el IV cuadrante es directamente proporcional al aprendizaje aprendido (a mayor tiempo de permanencia mayor aprendizaje) se puede indicar que el grupo control muestra un mayor tiempo de permanencia en relación a los demás grupos, algunos especímenes del grupo blanco muestran un tiempo mínimo siendo este caso incongruente; pues este grupo no fue intervenido quirúrgicamente, así mismo el grupo problema 1 (dosis mayor) muestra un mayor tiempo de permanencia que el problema 2 (dosis menor) y el grupo patrón.



Fuente: Tabla N° 03

GRÁFICO N° 06: NÚMERO DE CRUZAMIENTOS EN EL IV CUADRANTE

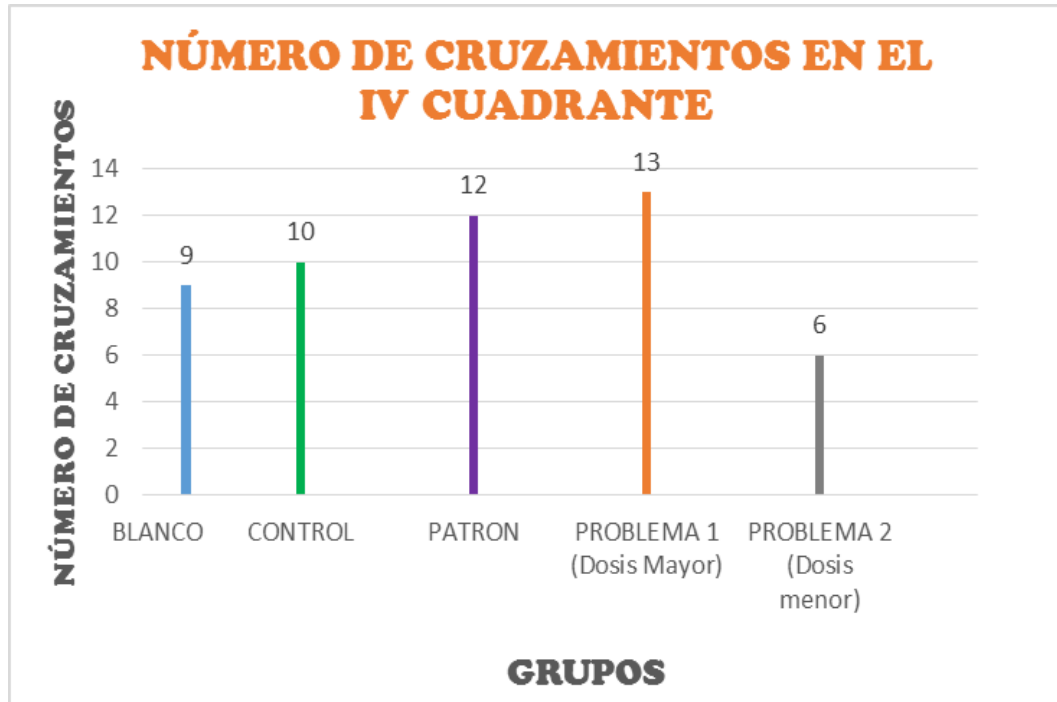
Interpretación: Del mismo modo que el gráfico anterior los datos son directamente proporcionales, se evidencia que el grupo problema 1 (dosis mayor) tiene mayor número de cruzamientos con respecto a los demás grupos, el grupo problema 2 (dosis menor) muestra menos número de cruzamientos que los demás grupos. El grupo blanco y patrón asemejan los datos obtenidos.



Fuente: Tabla N° 03

GRÁFICO N° 07: PROMEDIO DE TIEMPO DE PERMANENCIA EN EL IV CUADRANTE SEGÚN GRUPO

Interpretación: En este gráfico se puede observar que el grupo problema 1 (dosis mayor) claramente presenta mayor tiempo de permanencia en el IV cuadrante con respecto a los demás grupos siendo directamente proporcional al aprendizaje del espécimen. En cuanto al grupo problema 2 (dosis menor) presenta un menor aprendizaje con respecto a los otros grupos.



Fuente: Tabla N° 03

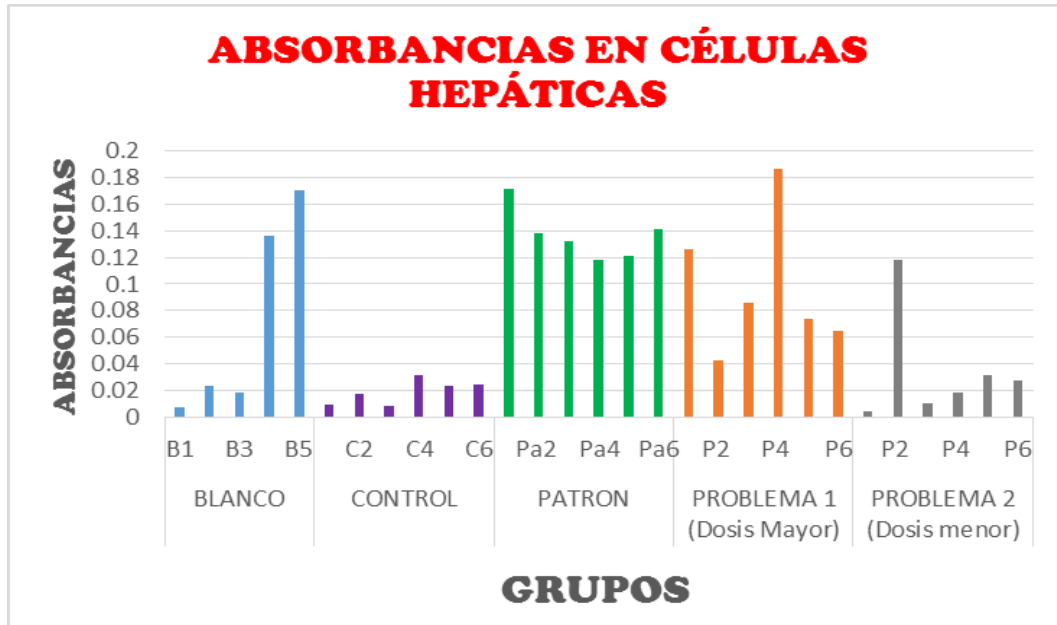
GRÁFICO N° 08: PROMEDIO DE NÚMERO DE CRUZAMIENTOS EN EL IV CUADRANTE SEGÚN GRUPO

Interpretación: En este gráfico se puede observar que el grupo problema 1 (dosis mayor) presenta ligeramente mayor número de cruzamientos en el IV cuadrante con respecto al grupo patrón y mucho mayor con respecto a los demás grupos, los números de cruzamientos son directamente proporcional al aprendizaje adquirido. En cuanto al grupo problema 2 (dosis menor) presenta un menor aprendizaje con respecto a los otros grupos, refiriéndonos a los números de cruzamientos.

TABLA N° 04: DETERMINACIÓN DE NIVELES DE MALONDIALDEHÍDO SEGÚN ABSORBANCIAS EN CÉLULAS HEPÁTICAS

GRUPOS	ABSORBANCIA EN HÍGADO (532 nm)	
PROBLEMA 1 (DOSIS MAYOR)	P1	0.126
	P2	0.043
	P3	0.086
	P4	0.186
	P5	0.074
	P6	0.065
	PROMEDIO	0.097
PROBLEMA 2 (DOSIS MENOR)	P1	0.004
	P2	0.118
	P3	0.01
	P4	0.019
	P5	0.032
	P6	0.028
	PROMEDIO	0.035
BLANCO	B1	0.007
	B2	0.024
	B3	0.019
	B4	0.136
	B5	0.17
	PROMEDIO	0.071
CONTROL	C1	0.009
	C2	0.018
	C3	0.008
	C4	0.032
	C5	0.024
	C6	0.025
	PROMEDIO	0.019
PATRÓN	Pa 1	0.171
	Pa 2	0.138
	Pa 3	0.132
	Pa 4	0.118
	Pa 5	0.121
	Pa 6	0.141
	PROMEDIO	0.137

Fuente: Tabla elaborada por los investigadores.



Fuente: Tabla N° 04

GRÁFICO N° 09: ABSORBANCIAS EN CÉLULAS HEPÁTICAS

Interpretación: Los niveles de absorbancia son directamente proporcional a la lipoperoxidación hepática (a mayor absorbancia mayor daño hepático), dicho esto se puede evidenciar que el grupo patrón muestra más alta absorbancia en comparación a los demás grupos, así también el grupo problema 2 (dosis menor) muestra menores absorbancias con respecto al grupo problema 1 (dosis mayor), el grupo control evidencia menores absorbancias con respecto a los demás grupos.



Fuente: Tabla N° 04

GRÁFICO N° 10: PROMEDIO DE ABSORBANCIAS EN CÉLULAS HEPÁTICAS SEGÚN GRUPOS

Interpretación: Siendo directamente proporcional los niveles de absorbancias a la producción de lipoperoxidación hepática, se puede observar que el grupo patrón presenta mayor absorbancia con respecto a los demás grupos, por ende mayor daño hepático. El problema 1 (dosis mayor) presenta mayor nivel de absorbancia con respecto al problema 2 (dosis menor) evidenciando así un mayor efecto hepatoprotector la utilización de una dosis menor, el grupo control presenta menor absorbancia con respecto al resto de grupos.

TABLA N° 05: TIEMPO DE PERMANENCIA EN EL IV CUADRANTE SEGÚN ANOVA

ANÁLISIS ANOVA	
PERCENTIL	Significancia : $p < 0,05$
P = 0,346	No existe diferencias significativa

Fuente: Tabla N° 03

TABLA N° 06: NÚMERO DE CRUZAMIENTOS EN EL IV CUADRANTE SEGÚN ANOVA

ANÁLISIS ANOVA	
PERCENTIL	Significancia : $p < 0,05$
P = 0,003	Existe diferencias significativa

Fuente: Tabla N° 03.

TABLA N° 07: NIVELES DE MALONDIALDEHIDO EN CÉLULAS HEPÁTICAS SEGÚN ANOVA

ANÁLISIS ANOVA	
PERCENTIL	Significancia : $p < 0,05$
P = 0,0008	Existe diferencias significativa

Fuente: Tabla N° 04.

TABLA N° 08: SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA DE MDA EN GRUPOS EXPERIMENTALES SEGÚN ANOVA

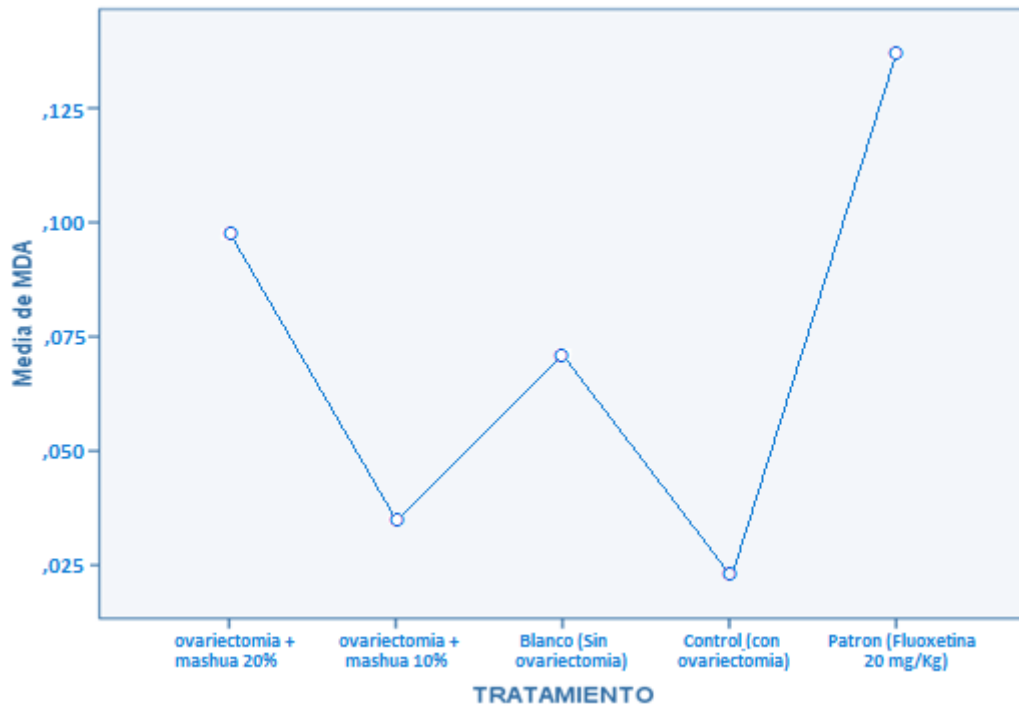
MDA					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
ENTRE GRUPOS	0,036	4	0,009	4,759	0,005
DENTRO DE GRUPOS	0,047	25	0,002		
TOTAL	0,083	29			
EXISTE SIGNIFICANCIA					

Fuente: Tabla N° 04.

TABLA N° 09: SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA DE MDA EN GRUPOS EXPERIMENTALES SEGÚN TUKEY Y DUNCAN

MDA					
	TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
HSD Tukey ^a	ovariectomia + mashua D. MAYOR	6	0,0352		
	Blanco (Sin ovariectomia)	6	0,0712	0,0712	
	ovariectomia + mashua D. MENOR	6	0,0967	0,0967	
	Control (Con ovariectomia)	6		0,1100	
	Patron (Fluoxetina 20 mg/Kg)	6		0,1368	
	Sig.			0,135	0,098
Duncan ^a	ovariectomia + mashua D. MAYOR	6	0,0352		
	Blanco (Sin ovariectomia)	6	0,0712	0,0712	
	ovariectomia + mashua D. MENOR	6		0,0967	0,0967
	Control (Con ovariectomia)	6		0,1100	0,1100
	Patron (Fluoxetina 20 mg/Kg)	6			0,1368
	Sig.			0,164	0,156

Fuente: Tabla N° 04.



Fuente: Tabla N° 04

GRÁFICO N° 11: MEDIAS DE NIVELES DE MDA EN GRUPOS DE INVESTIGACIÓN

Interpretación: Siendo directamente proporcional los niveles de absorbancias a la producción de lipoperoxidación hepática, se puede observar que el grupo patrón presenta mayor absorbancia con respecto a los demás grupos, por ende mayor daño hepático. El problema 1 (dosis mayor) presenta mayor nivel de absorbancia con respecto al problema 2 (dosis menor) evidenciando así un mayor efecto hepatoprotector la utilización de una dosis menor, el grupo control presenta menor absorbancia con respecto al resto de grupos.

V. DISCUSIÓN

El término “estrés oxidativo”, popularizado por Helmut Sies, se define como “una alteración en el balance pro-oxidante/antioxidante a favor de los primeros, dando lugar a posibles daños a biomoléculas”. Los daños repercuten de forma directa o indirecta en el tejido, siendo la importancia del daño dependiente de la duración y de la naturaleza del sistema estresado. El exceso de radicales libres, en relación con las defensas antioxidantes está involucrado en mayor o menor grado en la patogénesis de múltiples enfermedades y en el envejecimiento.⁵⁵

Debido a la dificultad existente para detectar directamente los RL, estos se pueden identificar mediante la medición de los productos de las reacciones oxidativas (peroxidación lipídica, oxidación del DNA, oxidación de proteínas o de carbohidratos), o mediante el conocimiento de la depleción de sustancias antioxidantes. Un aumento del estrés oxidativo puede estar producido por tres condicionantes, por un aumento mantenido de los radicales libres de oxígeno o nitrógeno que superarían los mecanismos de defensa, por una disminución de la defensa antioxidante y por la acción conjunta de ambos mecanismos lo que provocaría un daño oxidativo crónico.⁵⁵

En la presente investigación, la determinación de los radicales libres se expresa en los niveles de MDA (Malondialdehído), el cual es directamente proporcional a los niveles de radicales libres presentes en las células.

La determinación del MDA, uno de los productos resultantes de la fragmentación que sufren los ácidos grasos poliinsaturados en el proceso de peroxidación, se

considera un indicador válido o biomarcador de estrés oxidativo al que son sometidas las estructuras lipídicas de las membranas celulares como consecuencia de la acción de los radicales libres como del paso del tiempo.

Estepa V, Ródenas S, Martín MC (2001)²⁴ en su trabajo de investigación "Optimización de un método para la determinación de la peroxidación lipídica en suero humano", realizado en Madrid – España, mencionan que entre la variedad de métodos analíticos desarrollados para determinar el malondialdehído endógeno, el más comúnmente utilizado se basa en la reacción del mismo con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA). El MDA, en condiciones de bajo pH y alta temperatura, reacciona con el ácido tiobarbitúrico (TBA) dando lugar a un aducto MDA-TBA cromógeno o pigmento rojo que es detectable por espectrofotometría o por fluorimetría. El MDA que se forma in vivo tiene una vida media muy corta, pues reacciona rápidamente con grupos amino libres procedentes de los fosfolípidos, aminoácidos y proteínas presentes en el suero, dando productos fluorescentes. Estos grupos amino libres también compiten con el MDA por su capacidad de unirse al TBA. Sin embargo, aunque poco específica, la reacción del TBA se considera un método muy sensible para la determinación de la peroxidación lipídica en tejidos animales y con tal finalidad se utiliza con frecuencia.

En el gráfico N° 04 de la fase de adquisición, se puede evidenciar que el grupo blanco presenta más tiempo en encontrar la plataforma, que es algo contradictorio teóricamente debido a que este grupo a pesar de no ser operadas y tampoco se les administró ninguna sustancia, deberían presentar un buen estado mental el cual evidencia aprendizaje. En el gráfico N° 05, dicho grupo cambia y presenta un poco más de permanencia en el IV cuadrante, mostrando aprendizaje debido a que

recuerda en qué lugar se encontraba la plataforma, al igual que evidencia en el gráfico N° 07 mostrando un promedio regular en la permanencia en el IV cuadrante. Una vez analizado el grupo blanco se pudo comparar con el resto de grupos, en este caso con el grupo patrón el cual en la fase de adquisición del día 4 presenta un nivel cognitivo bajo, esto debido a que su estado de memoria se podría haber afectado por las sustancias administradas y al estrés sometido por la operación. En la fase de retención del gráfico N° 05 y 07 presenta tiempos regulares de permanencia en el IV cuadrante, pero en el gráfico N° 08 tiene mayor número de cruzamientos que el grupo blanco, esto es debido a que se está evidenciando el estrés oxidativo producido tanto por la operación como por el medicamento, aumentando la producción de radicales libres en su organismo.

Con respecto a los grupos problemas tanto a dosis mayor como a dosis menor, presentan un mayor aprendizaje en la fase de adquisición, en la fase de retención en el gráfico N° 05, 06, 07 y 08 se puede observar que el problema 1 a dosis mayor tiene una mayor permanencia y número de cruzamientos en el cuadrante IV, esto es producido por el extracto acuoso de mashua, el cual hace mostrar su poder antioxidante, reduciendo de alguna manera el nivel de estrés oxidativo y por ende los radicales libres, su poder se debe a que en su composición presenta vitamina C, E, carotenoides y flavonoides.

En cuanto al promedio de las absorbancias en células hepáticas se puede decir que el extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* "Mashua" a una dosis menor de 1 g/kg a concentración de 10 %, tuvo un mejor efecto protector sobre la lipoperoxidación inducida por fluoxetina en células hepáticas en *Rattus rattus* var. albinus ooferectomizadas, expresado en el promedio de absorbancia de 0,04 de

MAD, con respecto a una dosis mayor de 1 g/kg a concentración de 20 % el cual se obtuvo como promedio de absorbancia 0,09 de MAD.

Con respecto a los resultados obtenidos en la parte experimental en memoria espacial, se evidencia que la dosis mayor muestra mayores beneficios que una dosis menor; esto debido a que mashua presenta contenido lipídico así como un gran porcentaje de agua en su composición, las cuales benefician el paso hacia la barrera hematoencefálica, caso contrario sucede en los resultados obtenidos en las absorbancias (lipoperoxidación en hígado), en donde los mayores atributos se ven marcados en la administración de una dosis menor, presentando así está un beneficio como antioxidante.

VI. CONCLUSIONES

De acuerdo al trabajo realizado sobre el efecto de *Tropaeolum tuberosum* "Mashua" en lipoperoxidación inducida por fluoxetina en hígado en *Rattus rattus* var. albinus ooforectomizadas se concluye que:

- ✓ Se evaluó el efecto del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* "Mashua" sobre lipoperoxidación inducida por fluoxetina en hígado en *Rattus rattus* var. albinus ooforectomizadas, el cual es beneficioso sobre lipoperoxidación a diferentes dosis.
- ✓ Se indujo menopausia quirúrgica a través de la ooforectomía en *Rattus rattus* var. albinus.
- ✓ Se determinó el efecto del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* "Mashua" en dosis de 1 g/kg, a concentración de 10 %, y dosis de 1 g/kg a concentración de 20 % sobre la lipoperoxidación inducida por fluoxetina en hígado. Siendo la dosis de 1 g/kg a concentración de 10 % (dosis menor) la que tuvo un mejor efecto protector sobre la lipoperoxidación, expresado en el promedio de absorbancia de 0,04 de Malondialdehído (MDA), con respecto a una dosis mayor de 1 g/kg a concentración de 20 % el cual se obtuvo como promedio de absorbancia 0,09 de MDA.

- ✓ Se determinó el efecto de extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* "Mashua" sobre la memoria espacial medido a través del tiempo de latencia de escape, tiempo de permanencia y número de cruzamientos según el laberinto acuático de Morris, encontrándose que el extracto en mención tiene efectos beneficiosos sobre la memoria de *Rattus rattus* var. albinus ooforectomizadas, siendo más significativa la capacidad de memoria con la administración de extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* "Mashua" a dosis mayor de 1 g/kg a concentración del 20 % tanto en tiempo de permanencia como en cantidad de números de cruzamientos en el cuarto cuadrante, esto según promedios antes mencionados, con respecto a la dosis menor.

VII. RECOMENDACIONES

- ✓ Difundir la información recopilada mediante el presente trabajo a los profesionales de salud, para que se incluya como opción de estudio de un tratamiento alternativo para pacientes tratados con fluoxetina.
- ✓ En función de este trabajo es que se debe establecer una comparación de los diferentes alimentos que sean ricos en actividad antioxidante para establecer prioridades en la alimentación de niños, adultos y ancianos, para evitar enfermedades degenerativas (tales como el cáncer) y podamos alargar nuestro ciclo de existencia.
- ✓ Realizar marchas fitoquímicas para poder ampliar el conocimiento acerca de la acción del resto de sus componentes.
- ✓ Fomentar el consumo de productos naturales o de la zona, poseedores de gran beneficio para la salud.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Angoa M, Rivas S. Estrés oxidativo y Neurodegeneración: ¿Causa o Consecuencia? Arch Neurocién Mex. [Revista en Internet]. 2007; 12 (1): 45 - 54. [Fecha de acceso 23 de Enero del 2016]. Disponible en: http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=44485&id_seccion=20&id_ejemplar=4508&id_revista=5
2. Arredondo A, Venet G, Álvarez E, Martorell E, Martínez A. Indicadores de estrés oxidativo durante la descompensación metabólica en pacientes con hipertensión arterial de tipo II. Medisan. [Revista en Internet]. 2008; 12 (4). [Fecha de acceso 13 de Marzo del 2015]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol12_4_08/san14408.htm
3. Barrera V, Espín S, Merino F, Tapia C, Brito B, Espinosa P, et al. Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. [Libro en Internet]. Vol 4. Quito – Ecuador: International Potato Center; 2003. [Fecha de acceso 3 de Diciembre del 2015]. Disponible en: <http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Ra%C3%ADces%20y%20Tub%C3%A9rculos%20Alternativas%20para%20el%20uso%20sostenible%20en%20Ecuador.pdf>
4. Beltran A, Mera J. Elaboración del tubérculo mashua (*Tropaeolum tuberosum*) troceada en miel y determinación de la capacidad antioxidante. [Tesis para obtener el Título de Ingeniero Químico]. Guayaquil – Ecuador: Universidad de Guayaquil, Facultad de Ingeniería Química. [Tesis en Internet]. 2013 [Fecha

de acceso 9 de Julio del 2015]. Disponible en:

<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/3504/1/1095.pdf>

5. Berzosa C. Estudio del daño oxidativo, niveles de defensas antioxidantes y efecto ergogénico de la melatonina en pruebas de esfuerzo físico agudo. [Tesis de doctorado]. Zaragoza: Universidad Zaragoza, Departamento de Farmacología y Fisiología. [Tesis en Internet]. 2011 [Fecha de acceso 18 de Febrero del 2016]. Disponible en:
<https://zaguan.unizar.es/record/6810/files/TESIS-2012-002.pdf>
6. Blain E, Grazia A, Castellanos L, Archila A, Picott B, Gutiérrez J. Efecto de la fluoxetina sobre el hígado de ratas. Caracas – Venezuela. GEN. [Artículo en Internet]. 2004; 58 (1): 22 – 24. [Fecha de acceso 27 de Septiembre del 2016]. Disponible en: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILA CS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=421155&indexSearch=ID>
7. Bonet V. Estudio del estrés oxidativo hepático asociado a la enfermedad de Alzheimer. Efecto del tratamiento con bexaroteno y/o genisteína. [Tesis de doctorado]. Valencia – España: Universidad de Valencia, Facultad de Medicina y Odontología. [Tesis en Internet]. 2013 [Fecha de acceso 5 de Marzo del 2015]. Disponible en:
<http://mobiroderic.uv.es/bitstream/handle/10550/30131/Tesis%20doctoral%20Vicent%20Bonet%20Costa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

8. Borrás C. Importancia del Estrés Oxidativo en la diferencia de Longevidad entre machos y hembras. [Tesis de doctorado]. Valencia: Facultad de Medicina y Odontología, Departamento de Fisiología. [Tesis en Internet]. 2003 [Fecha de acceso 18 de Junio del 2015]. Disponible en: <http://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/15072/borras.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Campos D, Noratto G, Chirinos R, Arbizu C, Roca W, Cisneros L. Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (*Solanum* sp), mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas). J Sci Food Agric. [Revista en Internet]. 2006; 86 (10): 1481 - 1488. [Fecha de acceso 03 de Febrero del 2015]. Disponible en: http://aggiehorticulture.tamu.edu/faculty/cisneros/Papers/Campos_2006.pdf
10. Camps D, Ruffino S, Majul E, Joison A. Bioquímica del Estrés Oxidativo y de las Especies Reactivas del Oxígeno. [Libro en Internet]. Argentina: LuLu. 2010 [Fecha de acceso 10 de Julio del 2015]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=QcELAgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=inauthor:%22Diego+Camps%22&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiRgN_esPHLAhWHqh4KHd_JAyUQuwUIMTAC#v=onepage&q&f=false
11. Capote M, Segredo A, Gómez O. Climateric and menopause. Rev Cubana Med Gen Integr. [Revista en Internet]. 2011; 27 (4): 543 - 557. [Fecha de acceso 18 de Enero del 2015]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252011000400013

12. Carrasco E, Terrazas F, Calderón R, Thiele G. Los tubérculos andinos: Tesoro de Los Andes: Alimentos del mundo andino. Ciclo de conferencias sobre alimentos andinos. [Artículo en Internet]. 1997; 1 – 20. [Fecha de acceso 23 de Noviembre del 2015]. Disponible en:
http://www.condesan.org/portal/sites/default/files/publicaciones/archivos/Parte_3.pdf
13. Casero MC. El desarrollo de la legislación sobre plantas medicinales en la Comunidad Europea y su incorporación en el ordenamiento jurídico español: su problemática. Valencia: Facultad de Farmacia. DS: Derecho y salud [Artículo en Internet]. 2003; 11 (1): 85 - 108. [Fecha de acceso 18 de Enero del 2015]. Disponible en:
<https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:HFzRn1fH9hgJ:https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/500295.pdf+&cd=6&hl=es&ct=clnk&gl=pe>
14. Cerdá C, Borrego S, Sáez G. Estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia. Valencia – España. [Artículo en Internet]. 2010; 1 (10): 1 – 20. [Fecha de acceso 03 de Febrero del 2016]. Disponible en:
<http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/view/1055/1054>
15. Chirinos R, Campos D, Warnier M, Pedreschi R, Rees J, et al. Antioxidant properties of mashua (*Tropaeolum tuberosum*) phenolic extracts against oxidative damage using biological in vitro assays. EJournal [Revista en Internet]. 2008; 111 (1): 98 - 105. [Fecha de acceso 15 de Febrero del 2015]; Disponible en:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608003361>

16. Corfo – Chile, Antioxidantes: definición, clasificación y conceptos generales, [En línea]. Chile: Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA); 2009; [Fecha de acceso 25 de Abril del 2015]. Disponible en: <http://www.portalantioxidantes.com/antioxidantes/>
17. Cruz J, Licea M, Hernández P, Abraham E, Yanes M. Estrés oxidativo y diabetes mellitus. Rev Mex Patol Clin. La Habana – Cuba. [Revista en Internet]. 2011; 58 (1): 4 - 15. [Fecha de acceso 18 de Abril del 2015]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2011/pt111b.pdf>
18. Cuya R. Efecto de secado en bandeja y atomización sobre la actividad antioxidante de la mashua (*Tropaeolum tuberosum* R & P). [Tesis para optar el grado de Magister Scientiae]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina. Escuela de Postgrado. Especialidad de Tecnología de Alimentos. [Tesis en Internet]. 2009 [Fecha de acceso 19 de Enero del 2016]. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1703/TAL%2015-119-TM.pdf?sequence=1>
19. De la Torre R. Determinación de la actividad de superóxido dismutasa en poblaciones humanas normales y patológicas. [Tesis de doctorado]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid – Facultad de Farmacia. [Tesis en Internet]. 1994 [Fecha de acceso 07 de Agosto del 2015]. Disponible en: <http://biblioteca.ucm.es/tesis/19911996/D/1/D1021701.pdf>
20. Doshi S, Agarwal A. The role of oxidative stress in menopause. J Midlife Health. [Artículo en Internet]. 2013; 4 (3): 140 – 146. [Fecha de acceso 28 de Septiembre del 2015]. Disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3952404/>

21. Escalante C, Quesada S, Zeledón F. Perfil oxidativo de la mujer menopáusica: Papel de los estrógenos en la prevención y tratamiento de las enfermedades. Acta méd. Costarric. [Revista en Internet]. 2009; 51 (4): 206 – 212 [Fecha de acceso 13 de Mayo del 2015]. Disponible en:
http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022009000400004
22. Escrivá C. Estudio de los valores de referencia para los parámetros de estrés oxidativo: malondialdehído y glutatión, medidos por cromatografía líquida de alta eficacia, en humanos y animales de experimentación. [Tesis de Doctorado]. Valencia – España. Universidad de Valencia: Facultad de Medicina y Odontología. Departamento de Fisiología. [Tesis en Internet]. 2015 [Fecha de acceso 16 de Abril del 2015]. Disponible en:
<http://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/50944/TESIS%20CONSUELO%20ESCRIV%C3%81.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
23. Espín C. Aporte al rescate de la Mashua aplicando técnicas de cocina de vanguardia. [Tesis para obtener el grado de Licenciada en Gastronomía y Servicios de alimentos y bebidas]. Cuenca – Ecuador. Universidad de Cuenca: Facultad de Ciencias de la Hospitalidad. Carrera de Gastronomía. [Tesis en Internet]. 2013. [Fecha de acceso 18 de Diciembre del 2015]. Disponible en:
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/1614/1/tgas76.pdf>
24. Estepa V, Ródenas S, Martín M. C. Optimización de un método para la determinación de la peroxidación lipídica en suero humano. In Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia. Facultad de Farmacia. Universidad

- Complutense. Madrid – España. [Revista en Internet]. 2001; 67 (3): 1 – 3.
[Fecha de acceso 24 de Noviembre del 2016]. Disponible en:
<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:guBKPxUJqPMJ:analesranf.com/index.php/aranf/article/download/87/129+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=pe>
25. Fina B. Estrés oxidativo. Universidad Nacional de Rosario. Facultad Ciencias Médicas. Argentina. Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral. [Artículo en Internet]. 2009; 1 – 4. [Fecha de acceso 20 de Abril del 2015]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/293951224/ESTRES-OXIDATIVO>
26. Gonzales M, Betancourt M, Ortiz R. Daño Oxidativo y Antioxidantes. Universidad Autónoma Metropolitana – Unidad Iztapalapa – México. Bioquímica. [Revista en Internet]. 2000; 25 (1): 3 - 9. [Fecha de acceso 20 de Marzo del 2015]. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/pdf/576/57611797001.pdf>
27. Iwona S. Impact of fluoxetine on liver damage in rats. Pharmacological Reports. [Artículo en Internet]. 2011; 63 (2): 441 – 447. [Fecha de acceso 15 de Febrero del 2016]. Disponible en: http://www.if-pan.krakow.pl/pjp/pdf/2011/2_441.pdf
28. Jovaní C. Nutrición, gasto energético, estrés oxidativo y factores neutróficos en el escolar y adolescente deportista. [Tesis de Doctorado]. Valencia – España: Universidad de Valencia: Facultad de Medicina y Odontología. Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología. [Tesis en Internet]. 2014 [Fecha de acceso 19 de Abril del 2016]. Disponible en:

<http://mobiroderic.uv.es/bitstream/handle/10550/35904/TESIS%20DOCTORAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

29. Lima L. Estrés Oxidativo y Antioxidantes: Actualidades sobre los antioxidantes en los alimentos. Cuba: Universidad de la Habana. [Artículo en Internet]. 2001; 12: 17-22. [Fecha de acceso 9 de Febrero del 2015]. Disponible en:
http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/estres_oxidativo_y_antioxidantes.pdf
30. Londoño J. Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Corporación Universitaria Lasallista - Facultad de ingenierías. Desarrollo y Transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia. [Artículo en Internet]. 2012; 9 (3): 129 - 162. [Fecha de acceso 22 de Mayo del 2015]. Disponible en:
<http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/133/3/9.%20129-162.pdf>
31. López A, Lazarova Z, Bañuelos R, Fernando C, Sánchez S. Antioxidants, a paradigm for diseases treatment. Revista Anacem. [Revista en Internet]. 2012; 6 (1): 48 - 53. [Fecha de acceso 19 de Mayo del 2015]. Disponible en:
<http://www.revistaanacem.cl/wp-content/uploads/2015/10/AR1.-Antioxidantes-un-paradigma-en-el-tratamiento-de-enfermedades.pdf>
32. Maldonado O, Jiménez E, Guapillo M, Ceballos G, Méndez E. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico – degenerativas. Rev Med UV. [Artículo en Internet]. 2010; 10 (2): 32 – 39. [Fecha de acceso 17 de Febrero del 2015] Disponible en:

https://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf

33. Martínez C, Rugerio C, Rivas S. Estrés oxidativo y neurodegeneración. Rev Fac Med UNAM. [Revista en Internet]. 2003; 46 (6): 229 - 35. [Fecha de acceso 03 de Mayo del 2015] Disponible en:

<http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2003/un036f.pdf>

34. Mayor R. Oxidative Stress and Antioxidant Defense System. Rev. Inst. Med. Trop. [Artículo en Internet]. 2010; 5 (2): 23 - 29. [Fecha de acceso 9 Junio del 2015]. Disponible en:

<http://www.imt.edu.py/admin/uploads/Documento/v5n2a05.pdf>

35. Molina E. El papel de los antioxidantes como desaceleradores del envejecimiento. ReNut. [Artículo en Internet]. 2012; 6 (3): 1109 – 1119. [Fecha de acceso 11 de Agosto del 2015] Disponible en:

[http://www.iidenut.org/pronj/kaslos/solidos/pdf_revista_tec/Renut%2021/Renut 21 \(2012\) 7 El papel de los antioxidantes como desaceleradores del envejecimiento.pdf](http://www.iidenut.org/pronj/kaslos/solidos/pdf_revista_tec/Renut%2021/Renut%2021%20(2012)%207%20El%20papel%20de%20los%20antioxidantes%20como%20desaceleradores%20del%20envejecimiento.pdf)

36. Montenegro S, Gayol MC, Tarrés MC. Aspectos éticos de la investigación con animales. Rev. Méd. Rosario. [Artículo en Internet]. 2011; 77, 69-74. [Fecha de acceso 15 de Agosto del 2016]. Disponible en:

http://www.fveter.unr.edu.ar/upload/Aspectos_%E9ticos_de_la_inv._con_anim..pdf

37. Montero M. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. ISSN – Anales de la Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. [Artículo en Internet]. 1996; 57 (4): 278 - 281. [Fecha de acceso 27 de Agosto del 2015]. Disponible en:
http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/anales/v57_n4/radicales.htm
38. Mundo J. Evaluación del estrés oxidativo en células hepáticas de rata durante un proceso de obstrucción biliar. [Tesis de Licenciatura]. México: Universidad de las Américas de Puebla, Departamento de Química y Biología. Escuela de ciencias [Tesis en Internet]. 2005 [Fecha de acceso 10 de Enero del 2015]. Disponible en:
http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lqf/mundo_a_jn/capitulo_1.html#
39. Nichols J, Charlson J, Lawson G. Automated HPLC Assay of fluoxetine and norfluoxetine in Serum. Clin. Chem. Drug Monitoring and Toxicology. [Artículo en Internet]. 1994; 40 (7): 1312 - 1316. [Fecha de acceso 10 de Marzo del 2016]. Disponible en:
<http://www.clinchem.org/content/40/7/1312.long>
40. Özden H, Bildirici K, Üstüner D, Üstüner C, Cengiz U, Tülay A, Yılmaz V. Histopathologic examination of rat liver after experimental application of fluoxetine. Türkiye Ekopatoloji Dergisi. [Artículo en Internet]. 2005; 11 (1): 9-15. [Fecha de acceso 26 de Febrero del 2016]. Disponible en:
<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/tepd/article/view/5000146594/5000133799>

41. Pacheco J. Estrés Oxidativo en el Climaterio y Menopausia y Cáncer Ginecológico. Rev Per Ginecol Obstet [Revista en Internet]. 2010; 56 (2): 108-119. [Fecha de acceso 26 de Septiembre del 2015] Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ginecologia/vol56_n2/pdf/a06v56n2.pdf
42. Paucar S. Composición Química y capacidad antioxidante de dos variedades de mashua (*Tropaeolum tuberosum*): Amarilla chaucha y Zapallo. [Tesis para obtener el Título de Ingeniera de Alimentos]. Quito: Universidad Tecnológica Esquinoccial. Facultad de Ciencias de la Ingeniería. Carrera de Ingeniería de alimentos. [Tesis en Internet]. 2014. [Fecha de acceso 15 de Enero del 2015] Disponible en: http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5112/1/58311_1.pdf
43. Pérez P, Pérez J. Métodos para Medir el Daño Oxidativo. Rev Cubana Med Milit. [Revista en Internet]. 2000; 29 (3): 192 - 8. [Fecha de acceso 25 de Julio del 2015]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mil/v29n3/mil07300.pdf>
44. Rafael Jimenez, Antioxidantes: radicales libres y sistemas de defensa antioxidante, [En línea]. España: Fundación Alimentum; [Fecha de acceso 10 de Mayo del 2015]. Disponible en: http://infoalimenta.com/expertos-opinan/28/78/Antioxidantes-radicales-libres-y-sistemas-de-defensa-antioxidante/detail_templateSample/
45. Rivera G. Elaboración y valoración nutricional de tres productos alternativos a base de Mashua para escolares del proyecto Runa Kawsay. [Tesis para obtener el Título de Bioquímico Farmacéutico]. Riobamba – Ecuador: Escuela

- Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. [Tesis en Internet]. 2010. [Fecha de acceso 10 de Diciembre del 2015]. Disponible en:
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/728>
46. Romagnoli M. Mecanismo de Producción de Radicales Libres en la Diabetes: Importancia del Xantina Oxidasa e Implicación del Factor Nuclear kB. [Tesis de Doctorado]. Valencia: Universitat de Valencia. Facultad de Ciencias de la Actividad Física y el Deporte. Departamento de Fisiología. [Tesis en Internet]. 2008. [Fecha de acceso 21 de Julio del 2015]. Disponible en:
<http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/9910/romagnoli.pdf;jsessionid=A9B1ABA55DF21C26C1B8A80AAC94603.tdx1?sequence=1>
47. Rossi A, Barraco A, Donda P. Fluoxetina: una revisión de la medicina basada en la evidencia. *Annals of General Hospital Psychiatry*. [Artículo en Internet]. 2004; 3 (1): 1 - 9. [Fecha de acceso 19 de Febrero del 2016]. Disponible en:
<http://www.gador.com.ar/wp-content/uploads/2015/04/rossi.pdf>
48. Rubio N, EL Estrés Oxidativo: Mecanismos Moleculares, [En línea]. Cadiz – España: Ozonjerez; 2012; [Fecha de acceso 26 Marzo del 2015]. Disponible en:
<http://ozonjerez.net/articulos-publicados/23-el-estres-oxidativo-mecanismos-moleculares.html>
49. Salvador J. Climaterio y menopausia: Epidemiología y fisiopatología. *Rev Per Ginecol Obstet* [Revista en Internet]. 2008; 54: 71 - 78. [Fecha de acceso 4 de Setiembre]. Disponible en:
http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ginecologia/vol54_n2/pdf/a03v54n2.pdf

50. Suquilanda M. Producción orgánica de hortalizas en Sierra Norte y Central del Ecuador. Quito: Universidad Central & MAG & UEFC. [Artículo en Internet]. 2003; 1 - 192. [Fecha de acceso 10 de Junio del 2015]. Disponible en: http://www.mountainpartnership.org/fileadmin/user_upload/mountain_partnership/docs/1_produccion_organica_de_cultivos_andinos.pdf
51. Urresta B. Evaluación del valor nutrición de la harina de mashua (*Tropaeolum tuberosum*) en dietas para pollos de engorde. [Tesis para obtener el Título de Ingeniero Agroindustrial]. Quito: Escuela Politécnica Nacional. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. [Tesis en Internet]. 2010. [Fecha de acceso 20 de Junio del 2015]. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/2062/1/CD-2866.pdf>
52. Van J. Farmacocinética clínica de los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina. Clin Pharmacokinet. [Artículo en Internet]. 1993; 24(3): 203-220. [Fecha de acceso 16 de Marzo del 2016]. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.2165%2F00003088-199324030-00003>
53. Venereo J. Daño Oxidativo, Radicales Libres y Antioxidantes. Rev Cubana Med Milit [Revista en Internet]. 2002; 31 (2): 126 - 33. [Fecha de acceso 23 de Febrero del 2015]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol31_2_02/MIL09202.pdf
54. Vicens P, Iborra R, Salido MD. Aprendizaje espacial y laberinto de agua: metodología y aplicaciones. Psicothema. [Artículo en internet]. 2003; 15 (4): 539 - 544. [Fecha de acceso 06 de Diciembre del 2016]. Disponible en: <http://www.psicothema.com/pdf/1104.pdf>

55. Vilches A. Estrés oxidativo, actividad antioxidante y senescencia celular en fibroblastos con trisomía del cromosoma 21. [Tesis de Doctorado]. Barcelona: Universidad de Barcelona. Facultad de Farmacia. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. [Tesis en Internet]. 2013. [Fecha de acceso 10 de Febrero del 2016]. Disponible en:
http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/44363/1/AVG_TESIS.pdf

ANEXOS

ANEXO N° 01: Curva de calibración de MDA y ATB (nM/mL)

Solución II										
Conc. Final (nM)	0	0.05	0.1	0.5	0.75	1	1.5	2	2.5	3
Solución I (µL)	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500
Solución II (µL)	0	25	50	250	375	500	750	1000	1250	1500
Agua destilada	1500	1475	1450	1250	1125	1000	750	500	250	0

ANEXO N° 02: Material vegetal *Tropaeolum tuberosum* "Mashua"



ANEXO N° 03: Pesado de espécimen



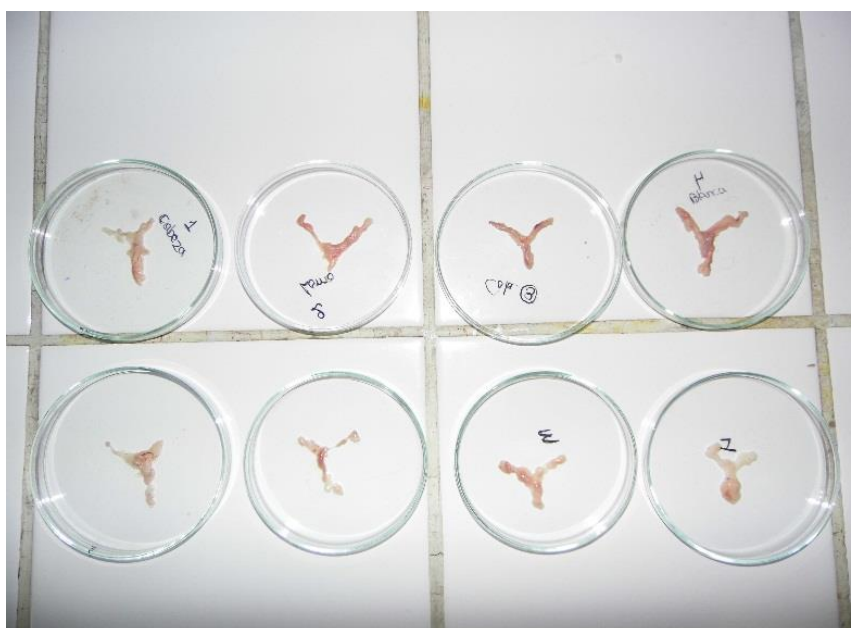
ANEXO N° 04: Trituración de material farmacológico “fluoxetina”



ANEXO N° 05: Aplicación de anestesia al espécimen.



ANEXO N° 06: Ovarios extraídos



ANEXO N° 07: Administración de las soluciones experimentales mediante un dispositivo metálico.



ANEXO N° 08: Sacrificio de especímenes experimentales.



ANEXO N° 09: Muestras hepáticas sometidas a baño de hielo.



ANEXO N° 10: Homogenizado y filtrado hepático.



ANEXO N° 11: Recubrimiento con papel metálico de muestras “filtrado hepático”.



ANEXO N° 12: Muestras llevadas a ebullición.



ANEXO N° 13: Lectura de muestras en espectrofotómetro a 532 nm.



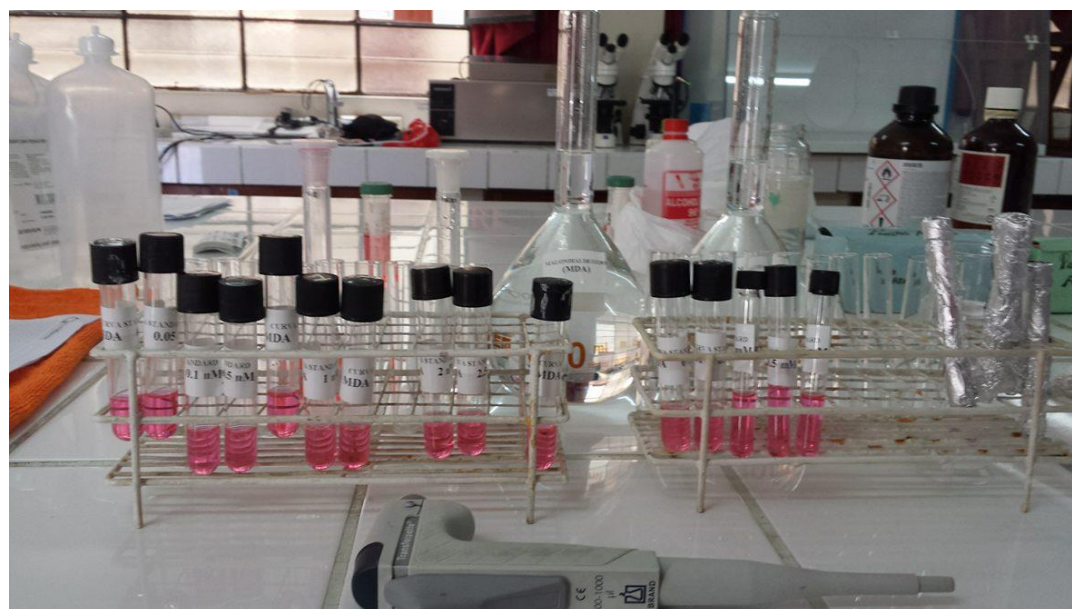
ANEXO N° 14: Preparación de Ácido Tiobarbitúrico.



ANEXO N° 15: Soluciones para preparación de curva de calibración.



ANEXO N° 16: Preparación de curva de calibración.



ANEXO N° 17: Preparación de curva de calibración.



ANEXO N° 18: Tesistas

