

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**EFEECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL
FRUTO DE *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) SOBRE
LOS NIVELES DE MALONDIALDEHIDO SÉRICOS EN
Rattus norvegicus var. albinus CON LIPOPEROXIDACIÓN
INDUCIDA POR ACRILAMIDA**

PROYECTO DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA
OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER EN
FARMACIA Y BIOQUÍMICA

AUTORA:

RAQUEL ESTHER GARCÍA COLLANTES

ASESOR:

Mgtr. CRISTHIAN NEIL RODRÍGUEZ SILVA

TRUJILLO-PERÚ

2018

TITULO

Efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) sobre los niveles de malondialdehído séricos en *Rattus norvegicus* var. *albinus* con lipoperoxidación inducida por acrilamida.

JURADO EVALUADOR

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. Cristhian Neil Rodriguez Silva

Docente Tutor Investigador

AGRADECIMIENTO

Agradecer a Dios primeramente por haber estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar y así poder lograr mis objetivos.

A mis padres Esperanza y Roger que han sido mi apoyo incondicional en todo momento, por haberme dado su fuerza que me han ayudado a poder terminar con éxito mi carrera profesional. Los quiero mucho.

A mis 4 hermanos por sus consejos, apoyo y animo que me han ayudado en los momentos más difíciles de mi vida, gracias por todo lo que han brindado y por todas sus bendiciones.

DEDICATORIA

Agradecer a mis profesores durante toda mi carrera profesional han aportado con su ayuda, por sus consejos y depositado su confianza en mí.

A mis padres y hermanos pilares fundamentales en mi vida quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, de tipo experimental, de enfoque cuantitativo y corte transversal, se realizó con el objetivo de determinar el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) sobre los niveles de malondialdehido séricos de *Rattus norvegicus var. albinus* con lipoperoxidación inducida por acrilamida. Se trabajó con 24 ratas machos, divididos aleatoriamente en 4 grupos (n=6): al grupo blanco solo recibió alimento y agua *ad libitum*, al grupo control se le realizó la inducción a lipoperoxidación con acrilamida a dosis única de 50mg/kg pc intraperitoneal, experimental 1 y experimental 2 se les realizó la inducción a lipoperoxidación con acrilamida a dosis única de 50mg/kg pc intraperitoneal y se les administró el extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* Kunth (mullaca) durante 10 días por sonda orogastrica 200mg/kg pc para el experimental 1 y 400mg/kg pc para el experimental 2. Se determinó la lipoperoxidación en suero según los niveles de malondialdehido (MDA) a través de la técnica del ácido Tiobarbiturico. Los resultados fueron sometidos a la prueba T-STUDENT y prueba ANOVA obteniéndose P (<0.05), se observa que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio. Se concluye que el extracto de hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) reduce la lipoperoxidación expresado en la disminución de los niveles de MDA séricos.

Palabras claves: *Vaccinium floribundum* kunth, extracto hidroalcohólico, lipoperoxidación, malondialdehido, acrilamida, ácido tiobarbiturico.

ABSTRACT

This present investigation, of experimental type, of quantitative approach and cross section, It was done with the objective to determine the effect of the hydroalcoholic extract of *Vaccinium floribundum kunth* (mullaca) about levels MDA serum *Rattus norvegicus var. albinus* with lipoperoxidation induced by acrylamide. We worked with 24 male rats, randomly divided into 4 groups (n=6): the white group only receives food and water ad libitum, the control group was given the induction to lipoperoxidation with acrylamide at a single dose of 50 mg / kg bw intraperitoneally, experimental 1 and experimental 2 were induction to lipoperoxidation with acrylamide at a single dose of 50 mg / kg bw intraperitoneal and administered the hydroalcoholic extract of the fruit of *Vaccinium floribundum Kunth* (mullaca) for 10 days by orogastric tube 200 mg / kg bw for experimental 1 and 400 mg / kg bw for experimental 2. Lipoperoxidation in serum was determined according to the levels of malondialdehyde (MDA) through the technique of thiobarbituric acid. The results were subjected to the T-STUDENT test and ANOVA test obtaining P (<0.05), it is observed that there is a statistically significant difference between the study groups. It is concluded that the hydroalcoholic extract of the fruit of *Vaccinium floribundum kunth* (mullaca) reduces lipoperoxidation expressed in the decrease of serum MDA levels.

Key words: *Vaccinium floribundum*, hydroalcoholic extract, lipoperoxidation, malondialdehyde, acrylamide, thiobarbituric acid.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
III. HIPÓTESIS.....	13
IV. METODOLOGÍA.....	14
4.1 Diseño de la investigación.....	14
4.2 Población y muestra.....	15
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	16
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	17
4.5 Plan de análisis.....	18
4.6 Matriz de consistencia.....	19
4.7 Principios éticos.....	20
V. RESULTADOS.....	21
5.1 Resultados.....	21
5.2 Análisis de resultados.....	23
VI. CONCLUSIONES.....	26
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS.....	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
ANEXOS.....	36

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1 Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium floribundum</i> kunth (mullaca) a dosis de 200mg/kg y 400mg/kg sobre los niveles de malondialdehído séricos en <i>Rattus norvegicus</i> var. <i>albinus</i> con lipoperoxidación inducida por acrilamida.....	21
Tabla 2 Comparar el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (mullaca) sobre los niveles de malondialdehído séricos en <i>Rattus norvegicus</i> var. <i>Albinus</i> entre los grupos de estudio.....	22

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido usadas por el hombre en tiempos atrás para tratar o aliviar enfermedades y dolencias. En las actuales civilizaciones se dedican a cultivar las plantas para su consumo alimentario y también para estudios científicos por su acción terapéutica que posee algunas de ellas, lo primero a destacar es que cada día las personas se interesan más en obtener remedios naturales. Durante mucho tiempo estas plantas han sido la única materia de que disponían los médicos, no había conocimientos para aplicar estudios de manipulación química. Por lo tanto, ahora se investiga las especies y se usan con fines terapéuticos ^(1,2).

El reconocimiento de las pertenencias terapéuticas de las plantas es el producto de mucho tiempo de pelea contra las enfermedades debido a que las personas aprendió a buscar los metabolitos activos en las cortezas, las semillas, los cuerpos frutales y otras partes de las plantas. Los metabolitos activos son elementos químicos de las plantas curativas que producen un efecto o respuesta del organismo beneficioso o dañino en las personas. La ciencia contemporánea ha comprobado su acción activa, considera que en la farmacoterapia moderna tiene una gran importancia ha incorporado una diversidad de fármacos de origen vegetal ^(3,4).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) anuncia que acerca de 80% de los habitantes internacional utiliza plantas medicinales o hierbas medicinales para la atención primaria de salud. Las naciones en crecimiento económico adquieren el 67% de la diversidad de plantas en el mundo. El Perú se coloca en el quinto lugar de todos los países, en mayor cantidad de especies de plantas que son utilizadas por los habitantes por sus

propiedades (4.400 especies). El Perú posee una variedad especies de plantas antioxidantes en las regiones andinas, un estudio realizada por Rosana Chirinos, col (2013), demostraron que las plantas que tenían elevado contenido total de fenólicos (TPC) tuvieron mayor acción antioxidante ^(5,6,7).

Desde el principio de la historia los frutos rojos, o de intensa coloración tenían actividad antioxidante estos frutos son pequeños, no son cultivadas por el hombre, sino que crecen como arbustos en los montes. Las sustancias antioxidantes pueden inhibir o retardar la formación de especies reactivas de oxígeno, evitando la formación de un radical hidroxilo, actúan cediendo un electrón a las moléculas inestables para fijar y anular las moléculas inestables. Metabolitos considerados con actividad antioxidante compuestos fenólicos, antocianinas, vitamina E entre otras ⁽⁸⁾.

Los radicales libres son especies químicas, que presentan en su molécula un electrón desapareado y cuando son de bajo peso molecular tienen una gran inestabilidad. Los radicales libres cuando sobrepasan la capacidad de protección antioxidante se produce el estrés oxidativo, por ejemplo, en una oxidación en los lípidos, se genera un daño en las membranas celulares, cambiando su permeabilidad produciendo como consecuencia un edema y posible muerte celular, y una oxidación de la LDL, se desarrolla una placa ateromatosa ⁽⁹⁾.

Las especies reactivas de oxígeno, producidas por diversos estímulos como el propio metabolismo, pueden desencadenar un aumento de los procesos de peroxidación lipídica (PL), proteica, daño al ADN y degeneración celular en diversos blancos celulares,

alterando el balance redox celular y conllevando al desarrollo del denominado estrés oxidativo. La oxidación lipídica es consecuencia del daño de moléculas inestables que van a generar una serie de procesos de un ácido graso al ceder sus electrones y aumentar su estado de oxidación, tiene capacidad de oxidar a través de la formación de su radical ácido graso a otras moléculas cercanas Este procedimiento se le asigna peroxidación lipídica, genera como subproductos tenemos al malondialdehído (MDA), que se puede evaluar en tejidos, plasma, suero u orina ^(10,11).

El fruto *Vaccinium floribundum* pertenece a la familia Ericaceae con el género *Vaccinium*, crece en zonas montañosas. Esta fruta es utilizada mayormente por poseer una alta capacidad antioxidante, utilizado en el proceso agrícola, su capacidad antioxidante tiene un aproximado 1,200 mg equivalentes de Trolox / 100 g de tejido. *Vaccinium floribundum* tiene entre sus componentes a vitaminas C y E, flavonoides, polifenoles y otros, todos estos con capacidad antioxidante que llevan a brindar protección a los tejidos frente al estrés oxidativo ^(13,14).

La presente investigación pretende aportar nuevos conocimientos para prevenir enfermedades asociadas a la aparición de radicales libres, por lo tanto, se considera importante aportar información de *Vaccinium floribundum* como una alternativa para tratamientos de enfermedades causados por radicales libres siendo menos riesgosa y demostrando por varios estudios su eficacia para originar nuevos protocolos de interés médica para acceder al ingreso al sistema de salud. Razón por la que se realizó esta investigación, con el fin de utilizar *Vaccinium floribundum* kunth para reducir los

radicales libres y ser medidos sobre los niveles de MDA en suero es por ello que planteamos la siguiente interrogante:

¿El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) reduce los niveles de malondialdehído séricos en *Rattus norvegicus* var . *albinus* con lipoperoxidación inducido por acrilamida?

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) sobre los niveles de malondialdehído séricos en *Rattus norvegicus* var. *albinus* con lipoperoxidación inducida por acrilamida.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) a dosis de 200mg/kg y 400mg/kg sobre los niveles de malondialdehído séricos en *Rattus norvegicus* var. *albinus* con lipoperoxidación inducida por acrilamida.
- Comparar el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto *Vaccinium floribundum* Kunth (mullaca) sobre los niveles de malondialdehído séricos en *Rattus norvegicus* var.*albinus* entre los grupos de estudio.

II. REVISION DE LA LITERATURA

2.1. Antecedentes

Nardi G et al, en el año 2016 en Brasil, realizó un estudio para comparar los efectos antiinflamatorios y antioxidantes de los extractos metanólicos de *Lycium barbarum*, *Vaccinium macrocarpon* y *Vaccinium myrtillus*. Se trataron con extractos (50 y 200 mg / kg) al día durante 10 días, la actividad antioxidante se determinó mediante el ensayo de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), el poder reductor, las sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico de la peroxidación lipídica, la actividad reducida del glutatión y la catalasa. Se observó solo en *Lycium barbarum*, *Vaccinium macrocarpon* presenta mayor actividad de eliminación del radical DPPH debido a su componente fenólicos y quercitina. Concluyendo que la quercetina y compuesto fenólico que se encuentra en estos extractos de frutos podría producir una respuesta antiinflamatoria basada en la modulación del estrés oxidativo ⁽¹⁵⁾.

Pandir D, en el año 2014 en Turquía, en su estudio evaluó el efecto quimiopreventivo del arándano en el estrés oxidativo inducido por cisplatino y el daño del ADN en la sangre de ratas. Utilizaron *Vaccinium myrtillus* 200 mg / kg durante 10 días. Se han determinado sistemas enzimáticos antioxidantes que incluyen superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y el nivel de malondialdehído (MDA). Demostrando que el *Vaccinium myrtillus* disminuye altamente significativa ($P < 0,05$) en el ADN de los linfocitos. Llegando a la conclusión que *Vaccinium myrtillus* es capaz de prevenir el daño genotóxico y citotóxico causado por el cisplatino en las células de la sangre periférica en ratas ⁽¹⁶⁾.

Torrenegra et al, en el año 2014, en Colombia, evaluaron la actividad antioxidante de las pulpas *Rubus glaucus* B, *Vaccinium floribundum* K y *Beta vulgaris* L, la actividad antioxidante fue determinada mediante la técnica de actividad antiradicalaria por el método DPPH, asimismo el contenido de fenoles totales se realizó por el método colorimétrico Folin-Ciocalteu Demostraron a través de los resultados la actividad antioxidante que presento valores de IC₅₀ mediante la técnica de DPPH en el rango de 53,33 - 141,88 µg/mL, lo cual está directamente relacionado con el contenido en fenoles. Llegando a la conclusión que tanto la pulpa de *Rubus glaucus* Benth variedad Castilla, *Vaccinium floribundum* K y *Beta vulgaris* L, son considerados como promisorios para diseñar productos nutracéuticos por su elevada actividad antioxidante ⁽¹⁷⁾.

Dalgo et al, en el año 2014, Quito – Ecuador, estudió la relación entre el desarrollo del color con el contenido de antocianinas y clorofila en diferentes grados de madurez de mortiño (*Vaccinium floribundum*), se midió el color según la escala CIE, contenido de antocianinas y clorofila se realizó por espectrofotometría UV-VIS. Se encontró en los estados 1 y 5 se observó una disminución de 0,052mg/g de clorofila y un incremento de 13700mg/kg del contenido de antocianinas, llegaron a la concluir que la concentración de antocianinas se incrementa durante la maduración en todas las especies de *Vaccinium*⁽¹⁴⁾.

Medina R, en el año 2015 en Cajamarca- Perú, determinaron su efecto hepatoprotector frente al estrés oxidativo del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* HBK “pushgay” Se determinó en todos los grupos, la concentración de radicales libres en hígado, por el método de las sustancias reactivas al ácido Tiobarbiturico .Demostrando que una concentración de 300 mg del extracto hidroalcohólico kg de peso corporal y 600

mg del extracto hidroalcohólico·Kg de peso corporal fue respectivamente: 6,149; 14,466; 11,794 y 8,786 μ g de malondialdehído.g de hígado, concluyendo que con el extracto hidroalcohólico *Vaccinium floribundum* a 300-600 mg·Kg de peso corporal, disminuyó notablemente la cantidad de radicales libres⁽¹⁸⁾.

García A. en el año 2016, en Trujillo-Perú, tuvo por objetivo determinar el efecto del liofilado de *Vaccinium myrtillus* “arandano” sobre la lipoperoxidación inducida por fluoxetina según niveles de malondialdehído sérico en *Rattus norvegicus* var.albinus. La lipoperoxidación en suero se determinó a través de la técnica de ácido tiobarbiturico (TBARS), llegando a concluir que el liofilizado de *Vaccinium myrtillus* presenta efecto antioxidante expresado en la disminución de los niveles de malondialdehído⁽¹⁹⁾.

Cosavalente K, en el año 2015, en Trujillo-Perú, determino la relación entre el contenido de antocianinas totales y capacidad antioxidante in vitro del fruto *Vaccinium corymbosum*, se cuantificaron las antocianinas totales se usó el método de pH diferencial, con lectura en el espectrofotométrico a 520 nm y para la valoración de la capacidad antioxidante una solución etanolica 0,1m del radical libre 2,2 difenil 1-picrilhidrazil. Obteniendo antocianinas expresados en cianidina-3-glucosido, llegando a la conclusión que existe relación entre el contenido de antocianinas y su capacidad antioxidante⁽²⁰⁾.

2.2. Bases Teóricas

Fitoterapia

La fitoterapia está integrada en la medicina complementaria y alternativa, y se puede definir como la utilización de vegetales o extracto de vegetales para empleos terapéuticos.

La fitoterapia con el soporte de plantas es considerada como un tratamiento natural para evitar o curar diferentes enfermedades mediante estudios que afirman sus propiedades medicinales de algunas plantas ⁽²¹⁾.

Plantas medicinales

Las plantas medicinales contienen componentes muy importantes que se pueden utilizar en la elaboración de medicamentos considerados dentro o fuera de la farmacopea, estas plantas medicinales son recomendadas por sus altos valores terapéuticos para curar enfermedades ⁽²²⁾.

Principio Activo

Los principios activos son una composición químicos encargados acto acción farmacológica de un fármaco, que en este caso son las drogas vegetales. Una misma droga vegetal puede incluir un sólo principio activo. Pero lo más frecuente que podemos encontrar en una droga vegetal diferentes principios activos, con efectos muy semejantes entre ellos ⁽²³⁾.

Vaccinium floribundum Kunth

Es una planta que integra la familia de Ericaceae llamado como “uva de monte, es un arbusto cuya altura tiene hasta 2,5 m, sus hojas son pequeñas con bordes aserrado. El tamaño de las flores es hasta 1cm, son rosadas y follaje verde oscuro brindándole un

aspecto lindo a la planta. El fruto tiene una baya redonda de 5 a 8 mm de diámetro de color azul oscuro o morado ⁽²⁴⁾.

Habitad

Las familias de las Ericáceas crecen en climas húmedos y fríos por las montañas, su género *Vaccinium* contiene 450 especies localizadas desde Asia hasta los Andes, este género lo encontramos mayormente en Sudamérica en países como Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia en las alturas de las montañas entre los 1400 m.s, n,m hasta los 4350 m.s.n.m ⁽²⁵⁾.

Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Ericales

Familia: Ericaceae

Género: *Vaccinium*

Especie: *V. Floribundum* ⁽²⁴⁾

Componentes antioxidantes

Ácido ascórbico, B-caroteno, contenidos fenólico solubles, antocianinas(cianidinas-3-o-glucosídica) ⁽²⁵⁾.

Antocianinas

Las antocianinas tienen la capacidad de ceder electrones para estabilizar a una molécula que contiene un electrón desapareado, las antocianinas quelan iones metálicos Fe ³⁺ inhibición de la oxidación de la desoxirribosa en la reacción de Fenton, también captan

radical hidroxilo, aniones superoxido su actividad antioxidante disminuye la formación de malondialdehido conforme aumenta su concentración ⁽²⁶⁾.

Radicales libres

El oxígeno es muy importante para los seres humanos ayuda a mantener las funciones vitales, pero en algunas condiciones el oxígeno se puede convertir en un elemento muy reactivo por acción enzimática, reacciones ionizantes etc, produciendo la formación de radicales libres son considerados como moléculas inestables que contienen uno o más electrones desapareados en su órbita, estas especies reactivas de oxígeno primero alteran las funciones biológicas macromoléculas (carbohidratos ,lípidos ,proteínas, ácidos nucleicos) y después extienden su daño a la célula y a los tejidos ⁽²⁷⁾.

Tipos de radicales libres

Radicales libres inorgánicos

El radical libre de oxígeno más importantes serán radical hidroxilo (OH), radical superoxido, radical peróxido, peróxido de hidrogeno, óxido nítrico responsables del daño celular y en patologías en el sistema cardiovascular y sistema nervioso generándose cuando hay un desequilibrio o estrés oxidativo ⁽²⁷⁾.

Radicales libres orgánicos

En los radicales orgánicos se consideran primordialmente a las biomoléculas (C, N,OS) que muchas veces presentan electrones desapareados que genera la formación de radicales libres que se afecta a si misma impidiendo la realización de sus funciones .Por ejemplo la oxidación del ácido desoxirribonucleico afectaran a los genes ,los lípidos de las membranas celulares a la homeostasis celular⁽²⁷⁾.

Peroxidación lipídica y Malondialdehído (MDA)

La lipoperxidación se produce por la alteración de los ácidos grasos polinsaturados que son más sensibles a los radicales libres, esto se genera por una reacción en cadena que empieza con la sustracción de un hidrogeno de un ácido graso formándose un radical libre que va captar el hidrogeno de otro ácido graso, esta lipoperxidación se da por 3 etapas ⁽²⁸⁾:

Iniciación

El más relevante en la iniciación de la lipoperxidación es el radical hidroxilo forma una molécula de agua más un ácido graso radical ⁽²⁸⁾.

Propagación

En esta etapa el ácido graso radical es inestable que formar con el oxígeno molecular un ácido graso peroxil radical inestable que va a reaccionar con otro ácido graso dando un producto de un ácido graso radical distinto y un peróxido lípido produciendo una reacción en cadena ⁽²⁸⁾.

Terminación

La reacción en cadena se detendrá cuando dos radicales libres reaccionen y se conviertan en moléculas estables o por antioxidantes que van a ceder sus electrones estabilizando estas moléculas de radicales libres. Pero cuando no se detiene esta reacción en cadena causa daño a las membranas celulares y lipoproteínas generando edema, muerte celular y placa ateromatosa. La lipoperxidación genera subproductos como el malondialdehído originando una coloración roja por la reacción con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) permitiendo su evaluación en tejidos, plasma, suero u orina ⁽²⁸⁾.

Acrilamida

la acrilamida es una secuencia de reacciones químicas dando la formación de reacciones de Maillard que es el causante de efectos neurotóxicos, genotóxicos y carcinogénicos, para generar reacciones de Maillard es necesario la interacción de alimentos que contengan grupo amino (lisina, arginina, histidina, triptófano, asparagina) con un grupo carbonilo de un azúcar reductor sometiendo a temperatura superior de 120 °C. La acrilamida sufre una reacción de oxidación formándose al epóxido glicidamida (2,3-epoxy propionamida) demostrándose que altos niveles se originan la formación de radicales libres por la disminución del glutatión reducido (GSH) ⁽²⁹⁾.

III. HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis alternativa (H1):

El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* Kunth (mullaca) reduce los niveles de malondialdehído séricos en *Rattus norvegicus var albinus* con lipoperoxidación inducido por acrilamida.

3.2. Hipótesis Nula (H0)

El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) no reduce los niveles de malondialdehído séricos en *Rattus norvegicus var albinus* con lipoperoxidación inducido por acrilamida.

IV. METODOLOGÍA

4.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El trabajo de investigación fue de tipo experimental, de enfoque cuantitativo y corte transversal.

CONTROL NEGATIVO:

Este grupo estuvo conformado por 06 animales de *Rattus norvegicus var albinus* recibieron alimento y agua *ad libitum* durante 10 días.

CONTROL POSITIVO:

Este grupo estuvo conformado por 06 animales de *Rattus norvegicus var albinus* a las cuales se les indujo la lipoperoxidación con acrilamida a dosis única de 50mg/kg peso corporal intraperitoneal, además recibieron alimento y agua *ad libitum* ⁽³⁰⁾.

GRUPO EXPERIMENTAL 01:

Este grupo estuvo conformado por 06 animales de *Rattus norvegicus var albinus* a los cuales se les indujo la lipoperoxidación con acrilamida a dosis única de 50mg/kg peso corporal intraperitoneal y se les administro el extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) a 200mg/kg de peso corporal durante 10 días, además de ello recibieron agua y alimento *ad libitum* ⁽¹⁶⁾.

GRUPO EXPERIMENTAL 02

Este grupo estuvo conformado por 06 animales de *Rattus norvegicus var. albinus* a los cuales se les indujo la lipoperoxidación con acrilamida a dosis única de 50mg/kg peso corporal intraperitoneal y se les administro el extracto hidroalcohólico de *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) a 400mg/kg de pc durante 10 días, además de ello recibieron agua y alimento *ad libitum* ⁽¹⁶⁾.

4.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACIÓN VEGETAL:

La planta de *Vaccinium floribundum* Kunth crece en el caserío Belén, Distrito de Chilia, Provincia Pataz, en el Departamento de La Libertad, presenta una superficie de 0.50 m de alto, flores blanco-rosadas, frutos morados al madurar.

MUESTRA VEGETAL:

Se recolectaron el fruto *Vaccinium floribundum* kunth el Distrito de Chilia, Provincia Sánchez Carrión, en el Departamento de La Libertad.

Criterios de inclusión:

Para la selección de la muestra se incluyó:

- Frutos de tamaño homogéneo.
- Frutos con un grado de madurez adecuado (tomando como referencia la coloración del fruto).
- Frutos sanos.

Criterios de exclusión:

Para la selección de la muestra se excluyó:

- Frutos malogrados (por plagas, secos).
- Frutos con tamaño pequeño o muy grande al tamaño elegido.

POBLACIÓN BIOLÓGICA:

Estuvo conformado por 24 *Rattus novergicus* var. *albinus* adquiridas en el bioterio del Instituto Nacional de Salud. Luego de adquirid los *Rattus novergicus* var. *albinus* fueron colocados en jaulas de plástico, se aclimataron por un periodo de 7 días. A temperatura de aproximadamente 17 - 22°C en el lugar.

4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores:

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
<p>Variable Independiente:</p> <p>Extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium floribundum</i> kunth (mullaca).</p>	<p>Sustancia de una planta que contiene metabolitos de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth la porción biológicamente activa extraída usando como solvente el etanol.</p>	<p>Maceración del frutos de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth utilizando etanol al 70 °C, a dos concentraciones del extracto.</p>	<p>Grupo experimental 01 200mg/kg. Grupo experimental 400mg/kg.</p>	<p>Variable Nominal</p>
<p>Variable Dependiente:</p> <p>Efecto sobre los niveles de malondialdehído.</p>	<p>Capacidad del fruto para reducir los niveles de MDA.</p>	<p>Es obtenido mediante las concentraciones de MDA.</p>	<p>µg /ml</p>	<p>Variable cuantitativa de razón</p>

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Preparación del extracto hidroalcohólico

Para la preparación del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* kunth, primero se lavó la superficie de los frutos con agua corriente, se desengrasó con una solución de etanol al 70°C y después se enjuagó con agua destilada. Los frutos se secaron a temperatura ambiente.

Se procedió a molerlos con la ayuda de un molino y luego se procedió a la extracción de los compuestos activos mediante maceración, se pesó 1200 g, se macero con 3 litros de etanol al 70°C y se guardó en un frasco ámbar la mezcla se agito por cinco minutos diarios durante por 10 días. Luego de transcurrido este tiempo, se filtró al vacío, evaporándose el solvente a temperatura ambiente durante 1 semana hasta la obtención de 32.1 g del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium floribundum* Kunth” mullaca”⁽¹⁸⁾.

Extracción de la muestra sanguínea

Los especímenes fueron anestesiados por vía intra-peritoneal con pentobarbital sódico (HALATAL) equivalente a 0,3 ml para cada animal. Después se realizó la recolección de aproximadamente 5mL de sangre directamente desde el corazón expuesto en tubo sin anticoagulante. Luego, inmediatamente, dicha muestra se sometió a centrifugación (3 500 rpm por 10 minutos). Con el sobrenadante obtenido se realizó los ensayos de peroxidación lipídica⁽³¹⁾.

Determinación de la presencia de malonaldehído en suero

Técnica del ácido Tiobarbiturico

Se tomó 100 uL de suero, se coloca en tubo de ensayo de tapa rosca conteniendo 1,6 mL de solución Krebs, adicionando luego 100 µL de solución de hierro y 200 µL de solución

de ascorbato. Una vez preparados y cerrados con tapa los tubos se llevaron a incubar a una temperatura de 37° Celsius en baño maría por 30 minutos; pasado ese tiempo se retira del baño maría y se le agrega 1 ml de ácido tricloroacético (TCA) y se lleva a baño maría a 100 °C por 15 minutos, una vez retirado se centrifuga por 30 minutos a una velocidad de 3500 r.p.m. para luego trasvasar el sobrenadante a otro tubo de ensayo con tapa rosca, al cual se le adiciona 1 ml de ácido tiobarbiturico (TBA) y se lleva a baño maría a 100 °C por 15 minutos, después de esto centrifugar nuevamente por 30 minutos a 3500 r.p.m, luego se añadió 2,5 ml de N-butanol y piridina para extraer el complejo con el ácido tiobarbiturico se agita y centrifuga y por último se lee las absorbancias en espectrofotómetro a una longitud de onda de 535 nm. Las absorbancias fueron transformadas a µg de malondialdehído (MDA) por ml de suero mediante el desarrollo de una curva de calibración⁽³¹⁾.

4.5 Plan de análisis

Los resultados serán sometidos a la prueba de T-STUDENTS para variables cuantitativas, a un 95% de confianza ($\alpha \leq 0.05$) y un error del 5% se utilizará el Paquete estadístico SPSS v 20.0 y ANOVA.

4.6 Matriz de consistencia

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo y diseño de investigación	VARIABLES	Definición	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium floribundum</i> kunth (mullaca) sobre los niveles de malondialdehído séricos en <i>Rattus norvegicus</i> var. <i>albinus</i> con lipoperoxidación inducido por acrilamida.	¿El extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium floribundum</i> kunth (mullaca) tiene efecto sobre los niveles de malondialdehído séricos en <i>Rattus norvegicus</i> var. <i>albinus</i> con lipoperoxidación inducido por acrilamida?	<p>Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium floribundum</i> kunth (mullaca) sobre los niveles de malondialdehído séricos en <i>Rattus norvegicus</i> var. <i>albinus</i> con lipoperoxidación inducido por acrilamida.</p> <p>Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium floribundum</i> kunth (mullaca) a dosis de 200mg/kg y 400mg/kg sobre los niveles de malondialdehído séricos en <i>Rattus norvegicus</i> var. <i>albinus</i> con lipoperoxidación inducido por acrilamida.</p> <p>Comparar el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (mullaca) sobre los niveles de malondialdehído séricos en <i>Rattus norvegicus</i> var. <i>albinus</i> entre los grupos de estudio.</p>	<p>Hipótesis alternativa: El extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (mullaca) reduce los niveles de MDA séricos en <i>Rattus norvegicus</i> var. <i>albinus</i> con lipoperoxidación inducido por acrilamida.</p> <p>Hipótesis Nula: El extracto hidroalcohólico del fruto <i>Vaccinium floribundum</i> kunth (mullaca) no reduce los niveles de MDA séricos en <i>Rattus norvegicus</i> var. <i>albinus</i> con lipoperoxidación inducido por acrilamida.</p>	El trabajo de investigación fue de tipo experimental, de enfoque cuantitativo ,corte transversal.	<p>Variable Independiente: Extracto hidroalcohólico o <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth (mullaca).</p> <p>Variable dependiente Efecto sobre los niveles de malondialdehído.</p>	<p>Concentrado de principios activos con cantidades determinadas.</p> <p>Capacidad el fruto para reducir los niveles de malondialdehído en suero de <i>Rattus norvegicus</i> var. <i>albinus</i>.</p>	<p>Variable Nominal</p> <p>Variable Cuantitativa razón</p>	Los datos fueron analizados con la prueba estadística de ANOVA y T-STUDENT S

4.7 Principios éticos

El cuidado de los animales de experimentación empleados durante la investigación, están sujetos de acuerdo a los principios éticos y normativos establecidos Reglamento del Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) aprobado por acuerdo del Consejo Universitario con Resolución N°0942-2018-CU-Uladech Católica en el cual se evidencia la preocupación en el cuidado y el uso de animales vivos para fines científicos ⁽³²⁾.

En el proyecto de estudio se procedió a utilizar *Rattus norvegicus var. albinus* traídas del Instituto Nacional de Salud, se ubicó los animales de experimentación en un ambiente adecuado, se les colocó en jaulas cómodas de plástico para evitar que se lastimen, todos los días se les alimentaba con comida traído de la INS y el agua que no podía faltar, al sacrificar los animales de estudio se evitó el sufrimiento de las ratas.

V. RESULTADOS:

5.1. RESULTADOS:

Tabla 1

Determinación del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) a concentración de 200mg/kg y 400mg/kg sobre los niveles de malondialdehído séricos en *Rattus norvegicus var. albinus* con lipoperoxidación inducida por acrilamida.

Concentración de malondialdehído µg /ml		
Grupos n=6	X ± DS	Significancia (P) *
Control Negativo Alimento y agua <i>ad libitum</i>	0.469 ± 0.177	
Control Positivo Dosis de 50mg/kg de acrilamida	2.097 ± 0.209	0.000
Experimental 1 (acrilamida+ extracto Vaccinium f. 200mg/kg)	1.655 ± 0.194	
Experimental 2 (acrilamida+ extracto Vaccinium f. 400mg/kg)	0.972 ± 0.161	

*P (<0.05), PRUEBA ANOVA.

Fuente: Paquete estadístico SPSS 22.0 sobre los datos obtenidos durante la investigación.

Tabla 2

Comparar el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto *Vaccinium floribundum* Kunth (mullaca) sobre los niveles de malondialdehído séricos en *Rattus norvegicus* var. *Albinus* entre los grupos de estudio.

Grupos	Significancia (p)*
Grupo blanco VS Experimental 1	0.000
Grupo blanco VS Experimental 2	0.136
Grupo control VS Experimental 1	0.004
Grupo control VS Experimental 2	0.000
Experimental 1 VS Experimental 2	0.000

* P >0.05, PRUEBA T – STUDENT.

Fuente: Paquete estadístico SPSS 22.0 sobre los datos obtenidos durante la investigación.

5.2. ANÁLISIS DE RESULTADOS:

El malondialdehído es un biomarcador como producto de descompensación de la lipoperoxidación que se produce por la reacción entre un radical libre con lípidos poliinsaturados que presentan doble enlace carbono-carbono que contienen hidrógenos que van ser extraídos formando un radical lipídico reaccionando inmediatamente con el oxígeno para formar un radical peroxi lipídico que va a extraer un hidrogeno de otra molécula lipídica formando un nuevo radical lipídico e hidropéroxido lipídico generándose una reacción en cadena, dando lugar a una serie de productos como el malondialdehído es un aldehído que se forma por la ruptura de las largas cadenas de lípidos llegando a la circulación sanguínea, MDA reacciona con el ácido tiobarbiturico dando lugar a un cromógeno de color rojo detectable por espectrofotometría a 532 nm ⁽³³⁾.

En la tabla 1, con la prueba ANOVA se observa que la significancia es de 0.000, es decir el valor P es menor que el alfa (0.05) existiendo una diferencia significancia en los grupos de estudio, demostrándose de esta manera el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto *Vaccinium floribundum* kunt “mullaca” reduce los niveles de MDA en suero de *Rattus novergicus* var. *albinus*, en los grupos experimentales.

El efecto del extracto hidroalcohólico del fruto *Vaccinium floribundum* kunt “mullaca” que redujo los niveles de MDA, se corrobora con el estudio de Pandir D, en el año 2014, utilizo *Vaccinium myrtillus* 200 mg / kg durante 10 días en el estrés oxidativo, determinando el nivel de MDA, llegando a la conclusión el *Vaccinium myrtillus* tiene efecto antioxidante frente al estrés oxidativo. Fahad H en su investigación determino la eficacia hepatoprotectora de CBE (200 y 400 mg / kg) contra la hepatotoxicidad ,su actividad

antioxidante se evaluó mediante varios biomarcadores entre ellos el MDA, evidenciándose su efecto hepatoprotector y defensa antioxidante significativa contra el estrés oxidativo inducido por los radicales libres .En nuestra investigación a concentración de 200mg/kg se obtuvo 1.655 ± 0.194 y 400mg/kg fue de 0.972 ± 0.161 evidenciándose la reducción de su formación de los niveles de MDA ^(16, 34).

En la tabla 1 con el grupo control positivo se puede evidenciar niveles altos de malondialdehído en suero *Rattus norvegicus var albinus* a diferencia de los grupos experimentales, según Pal M ,et al, en el año 2016, los niveles altos de MDA que presenta es por la dosis de 50mg/kg induce a estrés oxidativo causando genotoxicidad, hepatotoxicidad, neurotoxicidad, daño en las membranas de los eritrocito ,esto se debe que la acrilamida es compuesto vinílico de bajo peso molecular y alta solubilidad en agua que le facilitan su rápida absorción y distribución en todo el organismo, presenta deficiencia de electrones dándole la característica de electrofilicidad para interactuar con macromoléculas biológicas como las proteínas, carbohidratos y lípidos ^(35,36).

Giraldo J en el año 2015 ,la acrilamida en el organismo humano una vez ingerida es absorbida rápidamente en el intestino y puede encontrarse en varios órganos como el hígado, corazón, riñones metabolizándose por dos fases, fase I se metaboliza a través del citocromo P450(CYP2E1) a glicidamida por medio de una epoxidación del enlace vinílico (2,3-epoxipropionamida) causando toxicidad y la fase II es biotrasformada por el glutatión a ácidos mercaptúricos que son excretados vía renal, pero cuando el glutatión se agota esta glicidamida reacciona con los lípidos que son los más susceptibles extrayendo un hidrogeno de los lípidos dando la iniciación del mecanismo en cadena de la

lipoperoxidación, formando como productos como el malondialdehído originando una coloración roja por la reacción con el ácido tiobarbitúrico (TBA) ⁽³⁷⁾.

En la tabla 2, se realizó la prueba de PRUEBA T –STUDENT comparación con los grupos de experimentación, por lo que se observó que entre las concentraciones de 200mg muestran diferencia significativa en comparación con el grupo control positivo y negativo, también se muestra diferencia significativa entre la concentración de 400mg y el grupo control positivo y negativo no hay diferencia significativa demostrándose que esta concentración 400mg/kg tiene efecto sobre los niveles de MDA reduciendo su formación.

El efecto del extracto hidroalcohólico del fruto *Vacinium floribundum* kunt “mullaca” sobre los niveles de MDA, se debe a su actividad antioxidante por contener como metabolito a las antocianinas tiene la capacidad de donar sus electrones a los radicales libres, lo cual podemos corroborar con el estudio de Prencipe FP, et al, en el año del 2014, en sus resultados obtuvo de *V.floribundum* un contenido alto de ácidos fenólicos , flavonoles , antocianina en comparación con *V. myrtillu* ^(11,12).

Su capacidad antioxidante de las antocianinas participa en la etapa terminal de la lipoperoxidación donando sus grupos hidroxilos presentes en el anillo B y C de sus estructuras químicas al radical peroxi lipídico convirtiéndolo en una molécula estable, evitando de esta manera el mecanismo de reacción en cadena de la lipoperoxidación. Las antocianinas también reducen o eliminan los radicales hidroxilos quelando iones metálicos Fe^{3+} inhibición de la oxidación de la desoxirribosa en la reacción de Fenton ^(38,39).

VI. CONCLUSIONES

- Se determinó que el extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) reduce los niveles de malondialdehído séricos en *Rattus norvegicus var. albinus* con lipoperoxidación inducido por acrilamida.
- Se determinó que el extracto extracto hidroalcohólico del fruto *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) a dosis de 200mg/kg y 400mg/kg reduce los niveles de MDA en suero obteniendo 1.655 ± 0.194 en el experimental 1 y 0.972 ± 0.161 en el experimental 2.
- Según la comparación de los grupos, se demostró el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) sobre los niveles de MDA, mostrando la mejor reducción a concentración de 400mg/kg pc.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- Se recomienda seguir la investigación experimental con diferentes metabolitos presentes en *Vaccinium floribundum kunth (mullaca)* frente a otras patologías.
- Es recomendable incentivar el uso de plantas medicinales como, *Vaccinium floribundum kunth (mullaca)*, debido a sus propiedades terapéuticas, de tal manera que se utilice bajo estándares establecidos de seguridad y calidad de las plantas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Rodríguez N, Pérez J, Iglesias J, Gallego R. Actualidad de las plantas medicinales en terapéutica. *Acta Farmacéutica portuguesa*. [internet].2015. [citado el 22 /09/ 2018]; 4(1)42-52. Disponible en: <http://www.actafarmacauticaportuguesa.com/>
2. Petrovska B. Revisión histórica del uso de plantas medicinales. *Rev. Phcog* [internet].2012. [citado el 22 de septiembre del 2018];6(11): 1–5 Disponible en: <http://www.phcogrev.com/article.asp?issn=09737847;year=2012;volume=6;issue=11;spage=1;epage=5;aulast=Petrovska>
3. Castro D. Cultivo y producción de plantas aromáticas y medicinales.2edi. Universidad Católica de Oriente.2013. [Citado el 22/09/2018]. Disponible en: <http://www.uco.edu.co/investigacion/fondoeditorial/libros/Documents/Libro%20Plantas%20Aromaticas%202013.pdf>
4. Sõukand R , Hrynevich Y , Prakofjewa J , Valodzina T , Vasilyeva I , Paciupa J et al .Uso de plantas cultivadas y remedios no vegetales para la medicación de origen humano y animal en el distrito de Liubañ, Bielorrusia. *J Ethnobiol Ethnomed. Rev. Etnobiología y Etnomedicina*.2017. [Citado el 24/09/2018].13 (1):54.Disponible:<https://ethnobiomed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13002-017-0183-6>
5. Zambrano L, Buenaño M, Mancera N, Jiménez E. Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador.*Rev Univ. salud*. 2015 [Internet]. 2015. [citado el 26/09/2018]. 97-111.Disponible: <http://www.scielo.org.co/pdf/reus/v17n1/v17n1a09.pdf>

6. Bussmann R . La globalización de la medicina tradicional en el norte de Perú: del chamanismo a las moléculas. *Evid Based Complement Alternat Med* . EE.UU [Interet]. 2013. [citado el 27 de octubre del 2017]. 29(19). Disponible en:<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2013/291903/>
7. Chirinos R. Hervé R. Larondelle Y. Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en plantas con propiedades nutricionales y / o medicinales de la región andina peruana. *Evid Based Complement Alternat Med*.Elsevier. [Internet] .2013. [Citado el 26 de octubre del 2017]. (47) 145-152Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669013001052?via%3Dihub>
8. Faicán. Potencial antioxidante y caracterización de ADN de plantas nativas ecuatorianas: Mortiño (*Vaccinium floribundum* K.), Ataco (*Amaranthus caudatus* L.) y Maíz morado, (*Zea mays*). Universidad del Azuay.Tesis [internet].2012. [Citado27/09/2018].Disponible:<http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/3570/1/07259.pdf>
9. Andrade C, Guerrero M, Concellón M, Navarrete A.Estudio de la capacidad antioxidante total y contenido de compuestos antioxidantes en mortiño (*vaccinium floribundum*) tratado con luz UV-C. *Rev. Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, [internet].2012. [Citado el 28 de septiembre del 2018]; 14(2)125-132 Disponible en:<http://www.redalyc.org/pdf/813/81329290005.pdf>
10. Guijarro M,Vásquez J,Guerrero L,Vernaza M. Pan de arándanos andinos (*Vaccinium floribundum*): propiedades físico-químicas y bioaccesibilidad de los antioxidantes. *Comida sci. Technol* [internet].2018. [Citado el 28/09/2018].

Disponible:http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010120612018005015107

11. Pérez L, Tejero J, Girbés T. Efecto de la administración intravenosa de nigrina b sobre la absorción de minerales, producción de malondialdehdo y enzimas antioxidants. Universidad de Valladolid. Tesis [internet]. 2015. [Citado el 28/09/2018]. Disponible: <https://uvadoc.uva.es/bitstream/10324/17796/1/Tesis1063-160718.pdf>
12. Prencipe FP, Bruni R, Guerrini A, Rossi D, Benvenuti S, Pellati F. Perfilado de metabolitos de polifenoles en bayas de Vaccinium y determinación de sus propiedades quimiopreventivas. Pharm Biomed Anal. 2014. [Citado el 4/10/2018]; 89:257-67. Disponible <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24316>
13. Coba S, Coronel, D, Verdugo K, Paredes M. Estudio etnobotánica del mortiño (vaccinium floribundum) como alimento ancestral y potencial alimento funcional la granja. Revista de Ciencias de la Vida. 2012. [Citado 09/10/2018]. 16(2):5-13. Disponible : <http://www.redalyc.org/pdf/4760/47604.pdf>
14. Dalgo M, Cuví M. Relación del desarrollo del color con el contenido de antocianinas y clorofila en diferentes grados de madurez de mortiño (Vaccinium floribundum). UTE. [internet]. 2014. [citado 09/10/2018]. 5(2):14-28. Disponible: <http://ingenieria.ute.edu.ec/enfoqueute/index.php/revista/article/view/37/43>
15. Nardi G, Januario A, Freire C, Megiolaro F, Schneider K, Andreola M et al. La actividad antiinflamatoria de bayas en ratones modelo de inflamación se basa en la modulación del estrés oxidativo. Universidad del Oeste de Santa Catarina. Tesis [internet] 2016. [Citado 9 de octubre del 2018]; 8 (5): 42-49. Disponible

en:<http://www.phcogres.com/article.asp?issn=09748490;year=2016;volume=8;issue=5;spage=42;epage=49;aulast=Nardi;type=3>

16. Pandir D, Ozlem K. Efecto quimiopreventivo del arándano (*Vaccinium myrtillus*) contra el estrés oxidativo inducido por el cisplatino y el daño al ADN. Section Cellular and Molecular Biology.2016. [Citado10/102018];69(6):811–816. Disponible: <https://link.springer.com/article/10.2478/s11756-014-0371-y>
17. Torrenegra E, Villalobos L, Castellar A, León G, Granados C, Pajaro N et al . Evaluación de la actividad antioxidante de las pulpas de *Rubus glaucus* B, *Vaccinium floribundum* K y *Beta vulgaris* L. Rev Cubana Plant Med. 2016.[citado11/10/2018]; 21(4):18.Disponible: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-4796
18. Medina R. Efecto hepatoprotector de *vaccinium floribundum* hbk “pushgay” (ericaceae) frente al estrés oxidativo inducido con tetracloruro de carbono. Universidad Nacional de Cajamarca.Tesis.2015. [Citado11/102018]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologist/v13_n2/pdf/a07v13n2.pdf
19. García A, Rodríguez C. Efecto del liofilado de *Vaccinium myrtillus* “arandano” sobre la lipoperoxidación inducida por fluoxetina según niveles de malonilaldehído serico en *Rattus novergicus* var.albinus. Universidad Nacional de Trujillo. Tesis [internet].2016. [Citado 10 de octubre del 2018]. Disponible en: <file:///C:/Users/Acer/Music/Rodriguez%20Garcia%20Anita%20Milady.pdf>
20. Cosavalente K. Relación entre el contenido de antocianinas totales y su capacidad antioxidante in vitro de extracto de diferente grado etanolito del fruto de *Vaccinium corymbosum*. Universidad Nacional de Trujillo. Tesis [Internet]

- 2015.[Citado 14/10/2018]. Disponible: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1263>
21. Sae K. Fitoterapia: opción terapéutica emergente en la enfermedad urológica. Rev. Transl Androl Urol.[internet]. 2012.[Citado 15 de octubre del 2018]. 1(3): 181–191. Disponible en: <http://tau.amegroups.com/article/view/667>
22. Zahid L. Introducción e importancia de las plantas y hierbas medicinales. National Health Portal. 2016.[Citado 15/10/2018]. Disponible: <https://www.nhp.gov.in/introduction-and-importance-of-medicinal-plants>
23. Barranco A, Vargas D. Manual técnico de farmacia y parafarmacia. Vol. I, Editorial CEP, S.L.[internet]. 2012. [Citado 15 de octubre del 2018]. Disponible en: <http://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/detail.action?docID=3208351>
24. Jácome J. Aplicación de un tratamiento enzimático con enzimas pectolíticas (pectinex ultra sp-l y ultrazym afpl) en la obtención de una bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*) y su efecto en el contenido de antocianinas. Tesis. 2014.[Citado 15/10/2018]. Disponible: <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8448/1/AL%20548.pdf>
25. Moncayo M. Caracterización del hábitat de crecimiento del mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*) en el páramo de Cotacachi. Tesis. 2017. [Citado 17/10/2018]. Disponible: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/8031/1/UDLA-EC-TIAG-2017-30.pdf>
26. Suganya et al. Actividad de protección contra daños en el ADN y actividad de captación de radicales libres de antocianinas del salvado de sorgo rojo (*sorgo*

- bicolor*).Rev.Biotechnol Res..2012. [Citado 22/10/2018].2012, ID 258787,9.
Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/btri/2012/258787/>
27. M. Quiñones, M. Miguel . Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Nutr. Hosp [internet] 2012 .[citado el 3 de noviembre del 2018];27(1): 76-89.Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S021216112012000100009
28. Vargas L. Estandarización de métodos espectrofotométricos para la determinación de malondialdehído y carboxihemoglobina en estrés oxidativo. Universidad Mayor de San Andrés. Tesis [internet].2014. [Citado 22 de octubre del 2018]. Disponible en:<file:///C:/Users/Acer/Downloads/T-1870.pdf>
29. Aguilar V,Marcelo M. Efecto del extracto hidroalcoholico de la raíz de lepidium meyenii(maca roja) sobre lipoperxidación inducida en células hepáticas de *Rattus novergicus var.albinus*. Universidad Nacional de Trujillo.Tesis [internet].2014. [Citado 22/10/2018].Disponible:<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3695/Aguilar%20Ramos%2c%20Vianca%20Luz.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
30. Zargar S. Papel terapéutico de la quercetina en el daño oxidativo inducido por la acrilamida en el cerebro en la rata. Rv. Biología farmacéutica .2015.[citado 22/102018];54(9):17631767.Disponible:<https://www.tandfonline.com/doi/full/0.3109/13880209.2015>

31. Rodríguez A, Rubio Efecto del liofilizado de *Vaccinium myrtilis* sobre los niveles de malonilaldehído en la lipoperoxidación inducida por fluxetina en suero de *Rattus norvegicus* var. *albinus*. [tesis en internet]. Universidad Nacional de Trujillo. Tesis . [internet]. 2016. [citado el 2 de noviembre del 2018]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1976/Rodriguez%20Garcia%20Anita%20Milady.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
32. Reglamento del Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI), aprobado por acuerdo del Consejo Universitario con Resolución N°0942-2018-CUULadech Católica. 2018 [Citado el 2 de noviembre del 2018]; Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2018/reglamento-comite-etica-v002.pdf>
33. Ayala A, Muñoz M, Argüelles S. Peroxidación lipídica: producción, metabolismo y mecanismos de señalización del malondialdehído y 4-hidroxi-2-nonenal. Revista oxid Med Cell Longev [internet]. 2014. [citado el 29/10/2018]. V. 2014, ID 360438, 31. Disponible: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2014/360438>
34. Fahad H · Arif M. Ujala A. Hassan S. Eficiente actividad hepatoprotectora del extracto de arándano contra la hepatotoxicidad inducida por CCl₄ regulación negativa de las enzimas hepáticas y actividad antioxidante. Elsevier. 2017. [citado 29/10/2018]; 10(11):1054-1058. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1995764517313287>
35. Pal M, Jakhar R, Chul S. Morin hydrate attenuates the acrylamide-induced imbalance in antioxidant enzymes in a murine model. Revista Int J Mol Med. International Journal of molecular medicina. [internet]. 2015. [citado el 29

de noviembre del 2018]; 36(4): 992–1000.Disponible en:<https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijmm.2015.2306>

36. Li D, Wang P, Liu Y, Hu X, Chen F. Metabolismo de la acrilamida: diferencias interindividuales e interespecíficas, así como la aplicación como biomarcadores.Revista Curr Drug Metab [internet].2016. [citado el 29/11/2018]; 17(4):317-26. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26467066>
37. Giraldo J. Aspectos sobre acrilamida: formación, cuantificación, mitigación y futuras consideraciones. Rev. P+L [internet].2015. [citado el 30/11/2018]; 10(1). Disponible: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-04552015000100011&fbclid=IwAR3OXMwxqaoRrNjj_SgP3DkNgNMckzUe0eAGZpA2B-xi0mlF8vMsS_JbGn4
38. Fuertes M,Cuvil M,Vásquez J,Guerrero L,Vernaza M. Andean blueberry (*Vaccinium floribundum*) bread: physicochemical properties and bioaccessibility antioxidants.Technol,Campinas.Ecuador.2018.[citado30/11/2018].Disponible:<http://www.scielo.br/pdf/cta/2018nahead/0101-2061-ct-fst30317.pdf>
39. Suganya D.Saravana K. Actividad de protección contra daños en el ADN y actividad de captación de radicales libres de antocianinas del salvado de sorgo rojo.Rev.Biotechnol.2012.[citado30/11/2018].Disponible:<http://www.scielo.br/pdf/cta/2018nahead/0101-2061-cta-fst30317.pdf>

ANEXOS

Anexo I. Determinación de la presencia de malondialdehído en suero

REACTIVOS	TESTIGO	PROBLEMA
Sol de Krebs (ml)	1.7	1.6
Problema (ml)	-	0.1
Fe (ml)	0.1	0.1= 1ml
Ascorbate (ml)	0.2	0.2=2ml
Incubar a 37°C por 30 minutos		
TCA (ml)	1.0	1.0
Baño maria a 100 °C por 15 min ,centrifugar a 3500 rpmx 30'		
TBA (ml)	1.0	1.0
Baño maria a 100 °C por 15 min ,centrifugar a 3500 rpmx 30'		
Leer en especto fotometro a 535 nm		

Anexo 2. Prueba de CHAPIRO – WILKS para determinar la normalidad de los grupos de estudio.

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro- wilk		
	estadístico	gl	Sig.	estadística	gl.	Sig.
Grupos de estudio	.109	24	.200(*)	.946	24	.220

Fuente: SPSS 22.0 sobre los datos obtenidos durante la investigación

Interpretación

Teniendo en cuenta el número de muestra utilizado en la investigación la prueba que aplica para determinar la normalidad fue la de CHAPIRO – WILKS ($n < 30$). En el gráfico observamos que la significancia el valor $P > 0.05$ se concluye que los datos provienen de una **DISTRIBUCIÓN NORMAL.**

Figura 1 Identificación taxonómica del fruto *Vaccinium floribundum* Kunth (mullaca) en el Herbarium Truxillense (HUT).



Figura 2. Lugar de donde se obtuvo la planta medicinal para el presente proyecto



Figura 3. Recolección el fruto de *Vaccinium floribundum* Kunth (mullaca)



Figura 4. Preparación para obtener el extracto del fruto *Vaccinium floribundum* kunth (mullaca) .

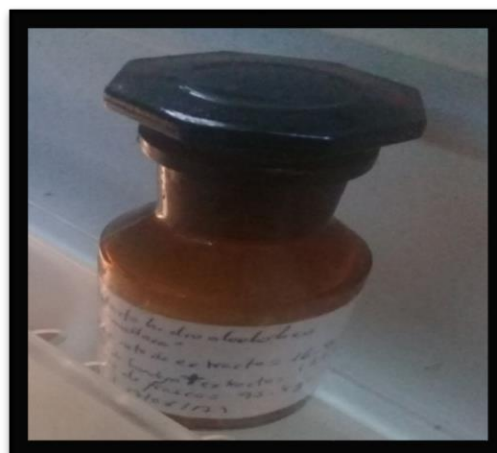
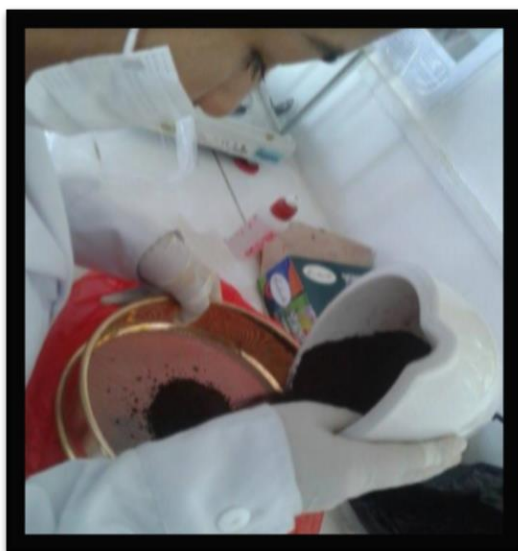


Figura 5. Administración de la acrilamida 50mg/kg intraperitoneal



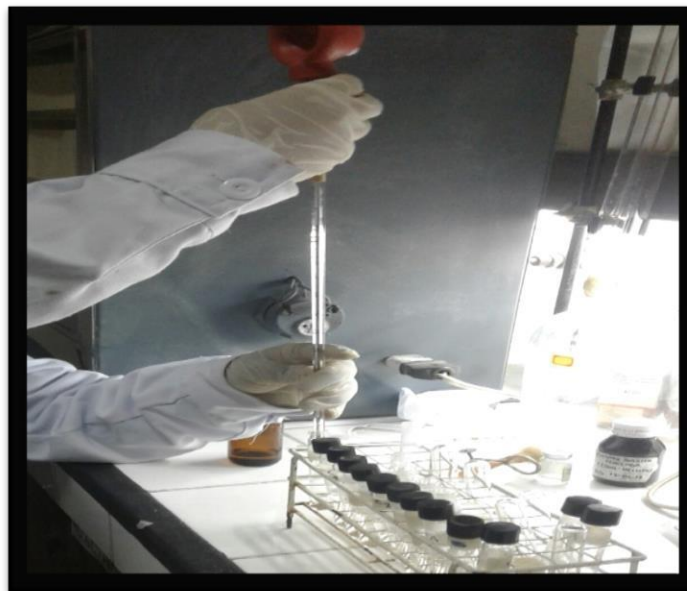
Figura 6. Sondeo el extracto hidroalcoholico del fruto de *Vaccinium floribundum kunth* (mullaca) a los grupos experimentales



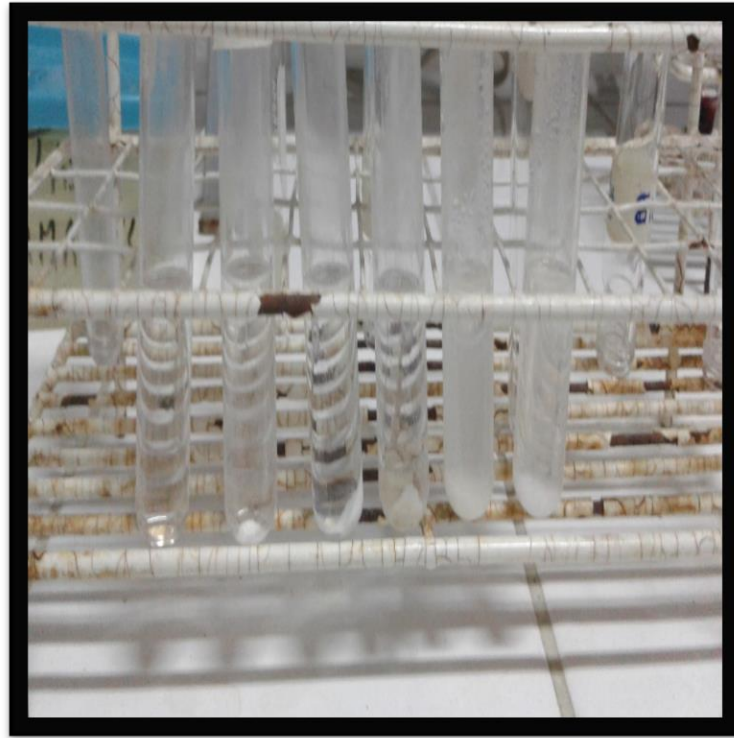
Figura 7. Punción cardiaca realizada a los animales de experimentación: *Rattus norvegicus* var. *Albinus*



Figura 8. Determinación de la presencia de malondialdehído en suero
Agregando los reactivos a las muestras de suero



Las muestras con TBA antes de llevar a baño maría parte final del procedimiento.



Después del baño maría a 100 °C por 15 min, se evidencio en cada muestra una coloración y por último se llegó a leer en el espectrómetro a 535nm.

