Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado

Efecto antioxidante del extracto acuoso de las hojas del *Smallanthus sonchifolius* (yacón) sobre el estrés oxidativo inducido por fructosa más colesterol en ratas

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica

AUTOR

Ivar Jines LAVADO MORALES

ASESOR

Dr. Jorge Luis ARROYO ACEVEDO

Lima, Perú

2022



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Lavado I. Efecto antioxidante del extracto acuoso de las hojas del Smallanthus sonchifolius (yacón) sobre el estrés oxidativo inducido por fructosa más colesterol en ratas [Tesis de doctorado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2022.

METADATOS COMPLEMENTARIOS

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Ivar Jines Lavado Morales
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	20655225
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-1861-7274
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Jorge Luis Arroyo Acevedo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	06785241
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-7695-1908
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Mesías Moisés García Ortiz
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	07200816
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Luis Miguel Visitación Félix Veliz
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	07371298
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Juan Manuel Parreño Tipian
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10326579
Datos de investigación	
Línea de investigación	E.3.3.5 Métricas de la información y evaluación de la producción científica

Grupo de investigación	REPRONAT
Agencia de financiamiento	Autofinanciado.
Ubicación geográfica de la investigación	1- Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Dirección: Jr. Puno 1002. Cercado de Lima 15001. Perú. Coordenadas: Latitud: S12.0552758; Longitud: O77.0256027
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2016 - 2021
URL de disciplinas OCDE	Farmacología, Farmacia https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05 Pharmacology and pharmacy https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.00

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Siendo las **08:00 horas 28 de junio de 2022** se reunieron mediante la plataforma de Google Meet de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Evaluador de Tesis, presidido por el Dr. Mesías Moisés García Ortiz e integrado por los siguientes miembros: Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (asesor), Dr. Luis Miguel Visitación Felix Veliz y Dr. Juan Manuel Parreño Tipian; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **Efecto antioxidante del extracto acuoso de las hojas del *Smallanthus sonchifolius* (yacón) sobre el estrés oxidativo inducido por fructosa más colesterol en ratas,** presentado por el Magíster en Salud Publica **IVAR JINES LAVADO MORALES.**

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Doctor en Farmacia y Bioquímica**. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

A continuación, el Jurado Evaluador de Tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

DIECISIETE (17) MUY BUENO

Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue al Magíster en Salud Publica **IVAR JINES LAVADO MORALES** el Grado Académico de **Doctor en Farmacia y Bioquímica**.

Siendo las 10:50 hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las 10:57 hrs. del 28 de junio de 2022.

Dr. Mesías Moisés García Ortiz (P.P., T.C.)
Presidente

Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (P. P., T.C)
Miembro - Asesor

Dr. Juan Manuel Parreño Tipian (P. P., T.C.)
Miembro

Dr. Luis Miguel Visitación Felix Veliz (P. P., T.C.)
Miembro

Observaciones:.....

DEDICATORIAS

A mi esposa Bertha Noemí, mis hijos Ivar, Georg, Niels y mi suegra, por ser mi compañía y estímulo para seguir adelante.

Además, a mis padres Alejandro, Graciela y mi hermanita Gladys que desde el cielo me bendicen, también a mis hermanos: Iris, Isabel, Gustavo, Pilar y Alex.

A mi asesor Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo por su incondicional apoyo, permanente estímulo y acertados consejos.

AGRADECIMIENTO

A mi asesor:
Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo por su asesoría y orientación permanente
Durante el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A la Facultad de Farmacia y Bioquímica
por los grandiosos años de estudio.

A los Dres. Miembros del Jurado Examinador
y calificador.

INDICE

RESUMEN……i

ABSTRACT……..ii

RESUMO……iii

I. INTRODUCCION………1

1.1. Situación problemática……1

1.2. Formulación del problema…….....4

1.3. Justificación teórica……4

1.4. Justificación práctica……5

1.5. Objetivos…….....7

1.5.1. Objetivo general……...7

1.5.2. Objetivos específicos……7

II. GENERALIDADES …….. ……8

2.1. Antecedentes de la investigación...……...8

2.1.1 Antecedentes nacionales...……...8

2.1.2 Antecedentes internacionales...……10

2.3. Bases teóricas ……..…….....14

2.3.1. Breve historia y origen del yacón...……...14

III: PARTE EXPERIMENTAL ………..50

3.1. Tipo y diseño de la investigación 50

3.2. Materiales, equipos y reactivos 50

3.2.1. Material biológico 50

3.2.2. Material botánico 50

3.2.3. Reactivos 51

3.2.4. Equipos 51

3.2.5. Recursos físicos 51

3.3. Metodología experimental 51

3.3.1. Técnicas de recolección de muestras 51

3.3.2. Preparación del extracto para el estudio fitoquímico 52

3.4. Ensayo experimental de inducción y reversión al estrés oxidativo *In vitro* e *In vivo* 53
3.4.1. Determinación de los antioxidantes *In vitro* 53
3.4.1.1. Método del Poder Antioxidante de Reducción Férrica (FRAP) 53
3.4.1.2. Método de inhibición frente al radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidraizil (DPPH) 53
3.4.1.3. Método reacción con el radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbenztiazolin-6-sulfonato de amonio) (ABTS) 54
3.4.2. Metodología experimental para *In vivo* 55
3.4.2.1. Determinación de capacidad antioxidante Superóxido Dismutasa (SOD) 56
3.4.2.2. Determinación de Glutatión Peroxidasa (GPx) 57
3.4.2.3. Determinación de Malondialdehído (MDA)..... 58
3.4.2.4. Cuantificación de la actividad enzimática catalasa (CAT) 58
3.4.2.5. Concentración de productos avanzados de la oxidación de proteínas 59
3.5. Análisis e interpretación de la información 59

CAPÍTULO IV: RESULTADOS…….60

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN……..……..76

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES .,...…….....84

CAPÍTULO VII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 85

ANEXOS…….94

ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

Tabla 01. Principales especies reactivas derivadas del oxígeno y del nitrógeno y sus correspondientes prorradicales 27
Tabla 02. Principales sistemas antioxidantes enzimáticos existentes en plantas..... 31
Tabla N° 03 Datos de recolección *Smallanthus sonchifolius*. 52
Tabla N° 04 Análisis fitoquímico de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*... 60
Tabla N° 05 Prueba de normalidad del FRAP *In vitro* de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*.. 61
Tabla N° 06 Prueba de ANOVA del FRAP *In vitro* de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*... 62
Tabla N° 07 Tabla N° 07 Prueba de normalidad del DPPH *In vitro* de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*.... 63
Tabla N° 08 Prueba de ANOVA del DPPH *In vitro* de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*.... 64
Tabla N° 09 Prueba de normalidad del ABTS *In vitro* de las hojas del *Smallanthus sonchifolius* 65
Tabla N° 10 Prueba de ANOVA del ABTS *In vitro* de las hojas del *Smallanthus sonchifolius* 66
Tabla N° 11 Resultado de la Actividad antioxidante por los métodos de FRAP, DPPH y ABTS de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de yacón equivalente a mM de Trolox... 67
Tabla N° 12 Análisis de varianza *In vivo* de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*…. .. 65

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 01. Las EROs, ERNs y su sistema de detoxificación (versión simplificada)..... 28
Figura 02. Fuentes de especies reactivas de oxígeno (ROS) en la cadena de transporte de electrones 35
Figura 03: Metabolismo de la fructosa 36
Figura 04: Diferencia metabólica entre la glucosa y fructosa 37
Figura 05: Diferencias metabólicas entre la glucosa y la fructosa 38
Figura N° 06 Vía metabólica de la fructosa..... 40
Figura 07. Principales vías del metabolismo de la fructosa..... 41
Figura 08. Principales fuentes de generación de las ROS 45
Figura N° 09 Diseño del experimento 56
Figura 10. Caja de bigote de los valores de la actividad antioxidante *In vitro* del FRAP 62
Figura 11. Caja de bigote de los valores de la actividad antioxidante *In vitro* del DPPH 65
Figura 12. Caja de bigote de los valores de la actividad antioxidante *In vitro* del ABTS 67
Figura 13. Resultado de la Actividad antioxidante del método del FRAP de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de yacón equivalente a mM de Trolox 68
Figura 14. Resultado de la Actividad antioxidante por los métodos de DPPH y ABTS de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de yacón equivalente a mM de Trolox 68
Figura 15. Glutatión reducido (mg %)..... 69
Figura N° 16 Superóxido dismutasa (U mL)..... 70
Figura N° 17 Catalasa (mg %)..... 70
Figura N° 18 Malondialdehído (uM)..... 71
Figura N° 19 Colesterol total (CT) (mg/dL)..... 72
Figura N° 20 Lipoproteínas de alta densidad (HDL) (mg/dL) 72
Figura N° 21 Triglicéridos (TRI) (mg/dL) 73
Gráfico N° 22 Glucosa (GLU) (mg/dL) 74
Gráfico N° 23 Urea (U) (UI/dL)..... 74

ÍNDICE DE ANEXOS

Pág.

Anexo N° 01 Certificación botánica……94
Anexo N° 02 Operacionalización de variables……95
Anexo N° 03 Matriz de consistencia……...96
Anexo N° 04 Tablas de resultados
Tabla N° 12 Glutatión reducido (mg %)……97
Tabla N° 13 Superóxido dismutasa (U mL)……97
Tabla N° 14 Catalasa (mg %)…….,……97
Tabla N° 15 Malondialdehído (uM)……98
Tabla N° 16 Creatinina (CT) (mg/dL)…….……..…..…98
Tabla N° 17 Lipoproteínas de alta densidad (HDL) (mg/dL)…….…98
Tabla N° 18 Triglicéridos (TRI) (mg/dL)…….…..….99
Tabla N° 19 Glucosa (GLU) (mg/dL)…….……99
Tabla N° 20 Urea (U) (UI/dL)…….…....…99
Tabla N° 21 análisis de varianza…….…..100
Anexo N° 05 Estudio fitoquímico de las hojas del *Smallanthus sonchifolius* (yacón).101
Anexo N° 06 Preparación del extracto para el tratamiento de las hojas del *Smallanthus sonchifolius* (yacón)…….…….….103
Anexo N° 07 Trabajo *In vivo* en el laboratorio de la UNMSM – Farmacología….,….104

RESUMEN

Objetivo: Demostrar el efecto antioxidante del extracto acuoso de las hojas del *Smallanthus sonchifolius* (yacón). *In vitro* e *In vivo*, frente al estrés oxidativo inducido por fructosa más colesterol en ratas. Método: Experimental, analítico y transversal; muestra vegetal: hojas de yacón; muestra biológica: 30 ratas hembras (*Rattus rattus*) de la cepa Holtzmann; la inducción y la reversión del estrés oxidativo *In vitro* a través del poder antioxidante de reducción férrica(FRAP), radical 2,2'-azino-bis-(3etilbenztiazolin-6-sulfonato de amonio) (ABTS), radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidraizil(DPPH), In vivo el modelo determinadores de marcadores del estrés oxidativo: glutatión reducido(GSH), malondialdehído(MDA), superóxido dismutasa(SODE), catalasa(CAT), Creatinina(CT), lipoproteínas de alta densidad(HDL), triglicéridos(TRI), glucosa(G), y urea(U), se administró oralmente colesterol=200mg/kg + fructosa=0,333g) - (CF) durante 42 días, luego por 15 días se dio el extracto acuosos de 50, 250 y 500 mg/kg. Resultados: Análisis fitoquímico de las hojas de yacón: aminoácidos libres, flavonoides, taninos, fenoles, ácidos grasos, triterpenos, esteroides y saponinas. El estudio *In vitro*: Las hojas de yacón redujo el FRAP con el extracto de 30 mg/mL= 0,997, DPPH a 10 mg/mL=1,031 y ABTS de 10 mg/mL=0,997 equivalentes en mM Trolox. *In vivo*: los parámetos y niveles bioquímicos encontrados fueron comprarados con los valores obtenidos a partir del grupo control, siendo para: (GSH) (mg %) = 24,66%(3,97veces); SODE (UmL) = 2087,17(3,13veces); CAT (mg%) = 0,51% (1,28veces); MDA(uM) = 26,26 (5,72veces); CT (mg/dL) = 153,67(0,76veces); HDL (mg/dL) = 27,17(1,17veces); TRI(mg/Dl) = 202,50(1,11veces); G(mg/dL)=93,67(1,06 veces) y U (UI/dL)=16,83(1,24veces), en ratas con inducción de estrés oxidativo por fructosa más colesterol.

Palabras clave: Antioxidante, Fructosa, Colesterol, *Smallanthus sonchifolius* (yacón).

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the antioxidant effect of the aqueous extract of Smallanthus sonchifolius (yacon) leaves. In vitro and in vivo, against oxidative stress induced by fructose plus cholesterol in rats. Methods: Experimental, analytical and cross-sectional; plant sample: yacon leaves; biological sample: 30 female rats (Rattus rattus) of Holtzmann strain; In vitro oxidative stress induction and reversal through ferric reducing antioxidant power(FRAP), 2,2'-azino-bis-(3ethylbenzthiazolin-6-ammonium sulfonate) radical (ABTS), 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) free radical, In vivo model determinants of oxidative stress markers: reduced glutathione(GSH), malondialdehyde(MDA), superoxide dismutase(SODE), catalase(CAT), Creatinine(CT), high density lipoproteins(HDL), triglycerides(TRI), glucose(G), and urea(U), cholesterol=200mg/kg + fructose=0,333g) - (CF) was orally administered for 42 days, then for 15 days aqueous extract of 50, 250 and 500 mg/kg was given. Results: Phytochemical analysis of yacon leaves: free amino acids, flavonoids, tannins, phenols, fatty acids, triterpenes, steroids and saponins. In vitro study: Yacon leaves reduced FRAP with extract of 30 mg/mL= 0,997, DPPH at 10 mg/mL=1.031 and ABTS of 10 mg/mL=0.997 mM Trolox equivalents. In vivo: the parameters and biochemical levels found were compared with the values obtained from the control group, being for: (GSH) (mg %) = 24.66%(3.97times); SODE (UmL) = 2087.17(3.13times); CAT (mg%) = 0.51% (1.28times); MDA(uM) = 26.26 (5.72times); TC (mg/dL) = 153.67(0.76times); HDL (mg/dL) = 27.17(1.17times); TRI(mg/dL) = 202.50(1.11times); G(mg/dL) = 93.67(1.06 times) and U (UI/dL) = 16.83(1.24times), in rats with oxidative stress induction by fructose plus cholesterol.

Key words: Antioxidant, Fructose, *Smallanthus sonchifolius* (yacon)

RESUMO

Objectivo: Demonstrar o efeito antioxidante do extracto aquoso de folhas de Smallanthus sonchifolius (yacon). In vitro e in vivo, contra o stress oxidativo induzido pela frutose mais o colesterol em ratos. Método: Experimental, analítico e transversal; amostra vegetal: folhas de yacon; amostra biológica: 30 ratos fêmeas (Rattus rattus) da estirpe Holtzmann; indução e inversão do stress oxidativo in vitro através do poder antioxidante redutor férrico(FRAP), radical 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzthiazolin-6-amónio sulfonato) (ABTS), radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil(DPPH), modelo in vivo determinantes dos marcadores de stress oxidativo: glutatião reduzido(GSH), malondialdeído(MDA), superóxido dismutase(SODE), catalase(CAT), creatinina(CT), lipoproteína de alta densidade(HDL), triglicérido(TRI), glucose(G), e ureia(U), colesterol=200mg/kg + frutose=0,333g) - (CF) foi administrado oralmente durante 42 dias, depois durante 15 dias foi administrado extracto aquoso de 50, 250 e 500 mg/kg. Resultados: Análise fitoquímica das folhas de yacon: aminoácidos livres, flavonóides, taninos, fenóis, ácidos gordos, triterpenos, esteróides e saponinas. Estudo in vitro: Yacon deixa FRAP reduzido com o extracto a 30 mg/mL= 0,997, DPPH a 10 mg/mL=1,031 e ABTS a 10 mg/mL=0,997 mM equivalentes de Trolox. In vivo: os parâmetros e níveis bioquímicos encontrados foram comparados com os valores obtidos do grupo de controlo, sendo para: (GSH) (mg %) = 24,66%(3,97 vezes); SODE (UmL) = 2087,17(3,13 vezes); CAT (mg%) = 0,51% (1,28 vezes); MDA(uM) = 26,26 (5,72 vezes); TC (mg/dL) = 153,67(0,76 vezes); HDL (mg/dL) = 27,17(1,17 vezes); TRI(mg/dL) = 202,50(1,11 vezes); G(mg/dL) = 93,67(1,06 vezes) e U (UI/dL) = 16,83(1,24 vezes), em ratos com indução de stress oxidativo por frutose mais colesterol.

Palavras-chave: Antioxidante, Frutose, *Smallanthus sonchifolius* (yacon).

INTRODUCCION

1.1 Situación Problemática

La medicina herbolaria, tradicional y/o complementaria no es nueva, es una actividad que lo practican las poblaciones de bajos recursos económicos o poblaciones rurales alejadas de las ciudades para el uso terapéutico, utilizando diferentes partes de la planta (hojas, raíces, tallo, corteza, etc.) y lo realizan en distintas formas de preparación, para prevenir, curar o como un coadyuvante en el tratamiento de diversas dolencias.

En el Perú, se llevó la reunión técnica en el 2018 de "plantas medicinales y Salud Pública: Pasado, Presente y Futuro", en la sede la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en el cual, se buscó mejorar los conocimientos de la fitoterapia, donde manifestaron que se está resolviendo como una terapéutica suave y no agresiva en el Perú, con márgenes terapéuticos amplios para tratar afecciones leves o moderadas, así como enfermedades crónicas, esto apunta a la articulación y complementariedad de la medicina herbolaria, tradicional y/o complementaria con la medicina académica en las prestadoras de servicio de salud. A pesar que se vienen realizando esfuerzos tanto de las organizaciones académico – científicas y no gubernamentales, se vienen dando inadecuada transferencia de saberes ancestrales que se vienen produciendo cada día, esta circulación masiva de información no verificada por medios de comunicación tradicionales y por las redes sociales, pueden entorpecer el esfuerzo y comprometer la salud de los usuarios.[1,2]

El hombre y las plantas medicinales siempre han convivido en la tierra desde su aparición, lo que pasa es que siempre el ser humano, se acostumbró acomodar las cosas y esto han ido cambiando de nombre como por ejemplo medicina herbolaria, tradicional y/o complementaria y difundidas a través de la cultura popular; las plantas medicinales siempre han dado resultados farmacológicos sorprendentes, ocupando un lugar destacado y durante mucho tiempo, fue el principal recurso terapéutico, lo han utilizado para tratar diversas enfermedades en la salud de las personas. El uso de las plantas es común y muchas veces, es la única alternativa terapéutica en gran parte de la población, el estudio de este tipo de terapia no es prioritario para algunos gobiernos de turno como solución a algunos de los problemas de salud, siendo muchas veces ignorado por el gobierno y la comunidad médica.

En la actualidad se puede observar la creciente atención que se presta a los beneficios para la salud de las plantas medicinales tiene su origen en la creciente tendencia de los consumidores a sustituir los compuestos sintéticos de los alimentos y los productos farmacéuticos por sus posibles alternativas naturales. Destacando los compuestos de las plantas que son los metabolitos secundarios como: fenólicos y flavonoides, debido a su actividad antioxidante, uno de los grupos más importantes de componentes bioactivos de las plantas medicinales. Se tiene como antecedentes un gran número de estudios para determinar los fitoquímicos y, en particular, los perfiles fenólicos de las plantas medicinales, su mecanismo de acción contra determinadas enfermedades, sus efectos beneficiosos para la salud, su seguridad y su potencial para ser utilizados en productos alimentarios, nutracéuticos y farmacéuticos.[3,4]

Se pensó en estas últimas décadas que la medicina moderna, donde, se han invertido millones de dólares en la industria farmacéutica iban a dar solución a la cura de todas las enfermedades. Pero, sin embargo, hoy en día se busca nuevos metabolitos secundarios en las plantas para crear nuevos medicamentos en tiempos de emergencia sanitaria mundial. El efecto antioxidante del extracto acuoso de las hojas del *S. sonchifolius*, dentro del organismo humano pasan a ser sustancias que retardan el comienzo o disminuyen la velocidad de oxidación de los componentes auto oxidables o alterar los sistemas bioquímicos, con la inhibición de la formación de radicales libres (RL).

En la actualidad una de las grandes preocupaciones en la medicina humana es el aumento significativo del número de pacientes con enfermedades que disminuyen la expectativa de vida y afectan su calidad, como es el caso de la diabetes, dislipidemias y cáncer de colon, entre otras enfermedades. Los investigadores describen que los tratamientos convencionales para estas enfermedades en algunos casos no son exitosos, lo que conlleva a empeorar la condición clínica o incluso, la muerte del paciente. Es así que, surge la necesidad de buscar otras opciones terapéuticas que conlleven a mejorar la condición clínica, que sean de fácil adherencia, y su consumo sea seguro y accesible para la población. Así mismo, apoyan al conocimiento del yacón como una planta medicinal con un amplio historial de consumo seguro y una gran evidencia científica que respalda su uso. Sus propiedades biológicas únicas, tales como antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes, inmunomoduladoras, prebióticas y anticancerígenas, entre otras, hacen de

esta planta, sea una promesa para la medicina tradicional humana.[5] Otro estudio atribuye la actividad antioxidante a la alta concentración de compuestos fenólicos presentes en hojas y raíces de yacón, tales como el ácido cafeíco, ácido ferúlico y el ácido clorogénico y sus derivados, entre los que se encuentran los "ácidos 3,4-dicafeoilquínico, 3,5-dicafeoilquínico", "4,5-dicafeoilquínico, 2,3,5-tricafeoilaltrárico, 2,4,5-tricafeoilaltrárico". Concluyendo que los extractos de hoja de yacón, particularmente el extracto rico en lactonas sesquiterpénicas, tiene un uso potencial como agente antiinflamatorio.[6]

Los compuestos derivados del metabolismo secundario de las plantas se denominan metabolitos secundarios, estos presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros; se encuentran en ciertas partes u órganos de la planta con mayor presencia, como en la flor, hoja, raíz o semilla. Las concentraciones de los compuestos fitoquímicos que se puedan encontrar en las plantas no son iguales, que, por razones de las influencias fisiográficas, ecológicas, edáficas, la época de recolección.[7]

La planta de yacón (*Smallanthus sonchifolius*), es una especie perenne de la familia Asteraceae originaria de las regiones andinas de América del Sur, es una fuente abundante de fructooligosacáridos (FOS). La investigación abordó el papel de la suplementación con yacón en la promoción de la salud y la reducción del riesgo de enfermedades crónicas. De acuerdo a las investigaciones realizadas en varios ensayos preclínicos y clínicos, la ingesta de FOS favorece el crecimiento de bacterias que promueven la salud al tiempo que reduce las poblaciones de bacterias patógenas. Finalmente, los productos finales de la fermentación de FOS por parte de la microbiota intestinal, los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), actúan como sustratos o moléculas señalizadores en la regulación de la respuesta inmunitaria, la homeostasis de la glucosa y el metabolismo de los lípidos. El resultado, deduce que están relacionados a los niveles glucémicos, el peso corporal y el riesgo de cáncer de colon.[8]

En la actualidad se conoce que un suministro sostenible de alimentos es una preocupación de salud pública y planetaria cada vez mayor influenciada por la cultura alimentaria, las

prácticas alimentarias y los patrones dietéticos. A nivel mundial, el consumo de alimentos vegetales que ofrecen beneficios fisiológicos y bioquímicos que viene incrementándose. En los últimos años, los productos elaborados a base de *Smallanthus sonchifolius,* tubérculos y hojas, por ejemplo, en forma de jarabe, polvo y té de hierbas, han ido surgiendo constantemente con evidencia científica para validar sus posibles declaraciones de propiedades saludables.[9]

En tiempos de pandemia, el uso de antioxidantes es prioritario, así como también, obtener plantas que nos puedan aportar en su composición fitoquímica metabolitos secundarios con efectos antioxidantes para la alimentación diaria. Las plantas vienen incorporándose nuevamente en el tratamiento de diferentes enfermedades crónicas como medicina alternativa, motivo para proponer y realizar la investigación tomando como objetivo general; Determinar el efecto antioxidante del extracto acuoso del *S. sonchifolius* frente al estrés oxidativo, inducida por fructosa más colesterol en ratas.

1.2 Formulación del problema

¿Tendrá actividad antioxidante la administración por vía oral del extracto acuoso de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* frente al estrés oxidativo inducido por fructosa más colesterol en ratas?

1.3 Justificación teórica

En los últimos años se ha observado un gran interés por volver a utilizar las plantas medicinales, el *Smallanthus sonchifolius* no es una excepción, ésta planta es muy buscada por la población para el tratamiento o mitigar la enfermedad de la diabetes, su cultivo se viene desarrollando localmente ingresando a los mercados populares como un medicamento popular tradicional, para las personas que tienen la enfermedad de la diabetes y trastornos digestivos y renales. Sin embargo, las propiedades medicinales de esta planta y sus alimentos procesados no han sido completamente establecidas. El autor de la investigación estudio los potentes efectos antioxidantes de las hojas de té de hierbas de yacón en diferentes modelos de radicales libres y un modelo reductor férrico. Un extracto de agua caliente exhibió el mayor rendimiento de polifenoles totales y efecto depurador en el radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) entre cuatro extractos preparados con agua caliente, metanol, etanol y acetato de etilo.[10]

Mediante las investigaciones de los fármacos convencionales utilizados en el tratamiento de la diabetes intentan mejorar la sensibilidad a la insulina, aumentar su producción y/o disminuir la cantidad de glucosa en la sangre. Sin embargo, además de los posibles efectos adversos, los fármacos sintéticos existentes tienen varias limitaciones.[11]

Las plantas medicinales han sido consideradas a través de los años como el origen o punto de partida del desarrollo de los medicamentos ya que han contribuido al descubrimiento de nuevas sustancias con actividad biológica y a la producción de fitoterápicos a su vez son la fuente de medicamentos más económica y de mayor disponibilidad para la mayoría de los países. Los conocimientos populares y científicos de las plantas medicinales han colaborado en gran medida con la atención primaria de salud, fundamentalmente en los países menos desarrollados, al constituir una fuente segura al alcance de la mayoría de las personas.[12,13] De acuerdo a los reportes estadísticos un gran número de especies vegetales son utilizados con fines medicinales para tratar diferentes patologías y entre ellas la diabetes. A su vez, para la OMS, considera que el uso de las plantas medicinales constituye una terapia natural, inocua, efectiva, con un costo racional y asequible a las poblaciones, por ende, para establecer el uso seguro es necesaria su correcta identificación. El estudio realizó la descripción de las plantas medicinales y fitoterápicos empleadas por pacientes con diabetes mellitus tipo 2; fueron 41 pacientes registrados en el Programa Nacional de Diabetes por consulta regular en enero del 2015. Más de la mitad de la población manifestó consumir algún tipo de planta medicinal para el tratamiento para la diabetes mellitus tipo 2.[14]

1.4 Justificación práctica

La flora mundial en la actualidad sobrepasa de las 250 000 especies vegetales, de los cuales el 10 % podemos encontrarlo en el Perú, distribuidas en sus diferentes microclimas. Encontrándose la mayor cantidad de flora en la Amazonía peruana, siendo el 30 % de origen endémico. Unas 1 408 especies identificadas para ser utilizados como plantas medicinales y otro grupo de especies que aún no están todavía identificadas, quedando como un recurso potencial por investigar en la industria farmacéutica. El Perú considerado como país megadiverso, con un espacio para la investigación científica, esto nos permite acceder a las plantas medicinales, contamos muchas especies que tienen propiedades farmacológicas muy prometedoras y que muchos de ellos se encuentran en

proceso de extinción por la presión de los bosques sin haber sido identificados ni estudiados, quien sabe, que ahí, se está perdiendo muchas especies medicinales que podrían muy bien curar el cáncer u otras enfermedades crónicas, un suministro de alimentos de calidad y con sostenibilidad al tiempo. Las prácticas alimenticias alienadas y los patrones dietéticos pobres no contribuyen a un buen estilo de vida alimentaria de calidad. El incremento del consumo de alimentos vegetales de origen orgánico de calidad que ofrecen beneficios antioxidantes, fisiológicos y bioquímicos. En la actualidad, los productos elaborados de yacón (tubérculos y hojas), por ejm: en forma de jarabe, polvo y té de hierbas, vienen surgiendo de manera constante como evidencian científica para validar sus posibles declaraciones de sus propiedades saludables del yacón.[15,16]

La actividad de los extractos de hojas de yacón, fue descrita en el trabajo donde les atribuyen no sólo a los compuestos fenólicos, sino también a otros fitoquímicos que contienen, y el efecto sobre el metabolismo de la glucosa podría estar mediado, aunque no necesariamente, por el efecto similar a la insulina o por la mejora del estado antioxidante. Además, describen que se presentaron en todos los casos, la combinación de la eliminación de radicales, la actividad citoprotectora y la actividad antihiperglicémica; concluye que las hojas del yacón sea un buen candidato para la prevención y el tratamiento de enfermedades crónicas que implican estrés oxidativo, en particular la diabetes mellitus.[17]

La información que se presenta, pretende precisar la actividad antioxidante del extracto acuoso de las hojas del *Smallanthus sonchifolius,* con el objetivo de ofrecer una posibilidad de tratamiento para el estrés oxidativo, que en la actualidad se presenta con mayor frecuencia el uso del yacón en los adultos y adulto mayor, así mismo, también prevcenir el envejecimiento prematuro y la muerte precoz de las células.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Demostrar el efecto antioxidante del extracto acuoso de las hojas del *Smallanthus sonchifolius (*yacón*). In vitro* e *In vivo,* frente al estrés oxidativo inducido por fructosa más colesterol en ratas.

1.5.2 Objetivos específicos

1. Analizar la composición química general del extracto acuoso de las hojas del *Smallanthus sonchifolius (*yacón*)* cultivado en la sierra por medio de un tamizaje fitoquímico, a fin de contribuir al conocimiento de sus condiciones de uso.

2. Demostrar el efecto antioxidante In *vitro* del extracto acuoso de las hojas del *Smallanthus sonchifolius (*yacón*).*

3. Verificar los parámetros bioquímicos de los antioxidantes *In vivo* del extracto acuoso de las hojas del *Smallanthus sonchifolius (*yacón*).*

4. Evaluar los niveles bioquímicos (glucosa, insulina, perfil lipídico, urea, creatinina, iones) en ratas con inducción de estrés oxidativo por fructosa más colesterol.

II. GENERALIDADES

2.1 Antecedentes de la investigación

2.1.1 Antecedentes nacionales

Para la presente investigación se consideró antecedentes nacionales:

Vargas – Tineo O. (2021) en su trabajo de investigación el efecto hipoglucemiante de *Moringa oleífera* (moringa) comparado con *Smallanthus sonchifolius.* En *Rattus norvegicus* con diabetes mellitus inducida*,* como lo hace notar en su objetivo la comparación del efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *M. Oleífera, S. Sonchifolius* y metformina en *Rattus norvegicus*, variedad albina, con diabetes mellitus inducida. Se observó la reducción de la glicemia en los tratamientos: para el caso de *M oleífera* (p= 0,009) y para el *S. Sonchifolius* encontró un p (p= 0,002), siendo semejante a la metformina (p=0,002); encontrando 313 mg/dL, 281,5 mg/dL y 415 mg/dL. Cuando compara la glicemia en los grupos tratados y control, observo que a las 24 horas y 4 días de tratamiento no hubo diferencia (p>0,05), mientras que el octavo (p<0,05) y décimo quinto día (p<0,01), los grupos tratados obtuvieron menor glicemia respecto al control, pero similar entre ellos. Confirma que el efecto hipoglucemiante comparado del extracto acuoso *S. Sonchifolius* y la metformina presentaron similar efecto hipoglucemiante en las ratas de experimentación con diabetes inducida.[18]

Zuloeta D. *et. al.* (2016) en su trabajo de investigación tuvo como objetivo el efecto hipoglucemiante del consumo de yacón "*Smallanthus sonchifolius"* en ratones diabéticos tipo 2 inducidos con aloxano, por consiguiente, consideró la efectividad del consumo de yacón sobre los niveles de glucosa en ratones albinos con diabetes mellitus tipo 2 inducidos con aloxano. Sustentando que, el grupo con tratamiento: el nivel de glucosa inicial inducida fue *135,30* mg/dL, (DS = 8,76) y después del tratamiento se redujo a 107,70 mg/dL, a un nivel de confianza del 99%, los resultados presentaron una diferencia estadística significativa respecto al valor tabulado de (p<0,1); en cuanto al análisis de la glucosa inicial y final del control fue 130,60 mg/dL, (DS = 12,31), 151,45 mg/dL, (DS=18,67), no hubo significancia. En el estudio anatomopatológico del páncreas de ratones albinos inducidos con aloxano para DM2, se demostró el efecto citotóxico y malformaciones de las células estructurales y destrucción de los islotes de Langerhans

"células alfa y beta". Confirmando, que cuando se realiza un consumo de 100 gramos de yacón en ratones albinos inducidos a DM2 disminuye durante un periodo de 34 días significativamente el nivel de la glicemia.[19]

Bermúdez L. (2015) en la investigación realizada describe el objetivo: evaluación fitoquímica y comparación del efecto hipoglucemiante de extracto acuoso de *Gentinella bicolor* (Wedd) Fabris ex J.S. Pringle G. *nítida, G. chamuchui y S. sonchifolius* en *Rattus*. El análisis del extracto acuoso obtenido a partir de *Gentinella bicolor,* a una dosis de 500mg/Kg de peso, tiene un efecto hipoglucemiante estadísticamente significativo mayor que el extracto acuoso obtenido a partir de *G. chamuchui*, G. *nítida y S. sonchifolius* a la misma dosis y que la glibenclamida fue una dosis de 10mg/Kg de peso, obteniéndose una disminución de la glucemia alrededor del 40%, el efecto hipoglucemiante demuestra que a partir del décimo cuarto día de experimentación con la administración de 500mg/Kg de peso del extracto acuoso obtenido a partir de la *Gentinella bicolor* fue superior al observado con la administración de 500mg/Kg de peso del extracto acuoso obtenido a partir de *G. chamuchui,* quien a su vez provoco un efecto hipoglucemiante mayor observado con la administración de 10mg/Kg de peso de glibenclamida.[20]

Manzur Ch. (2013) en su trabajo de investigación considera el objetivo: "actividad hipoglucemiante *In vivo* del extracto acuoso liofilizado de las hojas de yacón en ratas albinas de Holtzman – EsSalud – 2013" el trabajo realizado fue evaluar la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *S. sonchifolius* en ratas albinas sepa Holtzman con diabetes mellitus, inducida con aloxano. IMET – EsSalud, 2013. El método de inducción de diabetes experimental por Aloxano al 5% a dosis de 135 mg/Kg, en los animales se pudo experimentar el efecto hipoglucemiante y fue muy efectivo, la cual se validó la evaluación de la actividad hipoglucemiante de la especie vegetal con otros estudios. Cuando realizaron el trabajo de investigación con el extracto acuoso liofilizado de las hojas de yacón a dosis de 38mg/Kg de peso evidencio ser más efectiva que la dosis de 19mg/Kg de peso reduciendo los niveles séricos de glucosa en un porcentaje de 16,64% y 26,83% a las 24 horas en una comparación con el control positivo de glibenclamida 5mg/Kg de peso que fue de 12,8%.[21]

Zambrana S, *et. al.* (2021), realizaron la investigación: efectos reductores de la glucemia de las plantas nutracéuticas bolivianas. La prevalencia de la diabetes tipo 2 viene incrementándose en todo el mundo, por lo que es necesaria la búsqueda de nuevas terapias alternativas. De acuerdo al uso tradicional, seleccionamos cinco plantas bolivianas *Chenopodium quinoa* (CQ) *Amaranthus caudatus* (AC), *Chenopodium pallidicaule* (CP), *Lupinus mutabilis* (LM) y *Smallanthus sonchifolius* (SS) que se utilizan tradicionalmente para controlar la glicemia. Resultados: Los extractos de EtOH70 de todas las plantas mostraron un efecto reductor de la glucosa a la dosis más alta evaluada (2 000 mg/kg de peso vivo). Los extractos de EtOH70 mejoraron la tolerancia a la glucosa evaluada mediante el OGTT en ratones en ayunas durante 12 horas. Los extractos tienen diferentes efectos sobre la homeostasis de la glucosa, ya que sólo los extractos de AC, LM y CQ, pero no los de CP y SS, aumentaron la secreción de insulina, como se demostró en los islotes pancreáticos de los ratones. La caracterización cualitativa fitoquímica de los extractos de EtOH70 detectó ácidos fenólicos y flavonoides en AC, CP y CQ; alcaloides en LM y antocianidinas en SS. Ninguno de los extractos de EtOH70 ensayados mostró toxicidad aguda in vitro o in vivo en las concentraciones en las que presentan efectos de disminución de la glucosa. Conclusiones: Aquí informamos de que los extractos de AC, CQ, CP, LM y SS presentan un efecto reductor de la glucosa, mientras que sólo AC, CQ y LM estimulan directamente la secreción de insulina.[22]

2.1.2 Antecedentes internacionales

Así mismo, se consideró investigaciones internacionales como:

Khajehei F. (2017) en su trabajo de investigación expresa su impacto de la decocción asistida por el método óhmico en los componentes extraídos del yacón, comparación con la decocción convencional. Se utilizó HPLC-DAD para la identificación de los principales compuestos fenólicos y flavonoides individuales de las hojas de yacón. El investigador ratifica la interacción de tres vías de las variables del proceso "método de extracción por cultivar de yacón por edad de hojas" influyeron en el rendimiento de la extracción, TPC, TFC ABTS, y la actividad de barrido de radicales DPPH y FRAP, significativamente ($p<0,05$). El consumo de energía del proceso de extracción solo se vio afectado por el método de extracción ($p<0,005$) y se redujo a la mitad cuando se aplicó OH-DE. En comparación con al DE sola. Mantiene que la calidad fitoquímica de los extractos mejoró o fue comparable cuando se utilizó la OH-DE para la extracción. La

investigación realizada destaca que se determinó que las hojas de yacón contenían cantidades de ácido caseico, ácido clorogénico, ácido ferrulico, miricetina, acido p-cumarinico y rutina, mientras que las hojas de cultivar rojo tenían un mayor contenido de cada compuesto en comparación con la hoja del cultivar blanco.[23]

Sugahara Sh*, et. al.* (2015) en su trabajo de investigación "efectos antioxidantes de las hojas de té de hierba de yacón en múltiples ensayos de radicales libres y de poder reductor, especialmente en diferentes sistemas de generación de radicales aniónicos superóxidos", contrasto los potentes efectos antioxidantes de las hojas de té de hierbas de yacón en diferentes modelos de radicales libres y un modelo reductor férrico. El extracto de agua caliente exhibió el mayor rendimiento de polifenol total y efecto de barrido sobre el "radical 2,2-difenil-1-picrihidrazilo" (DPPH) para el trabajo de investigación se consideró cuatro extractos preparados con agua caliente, metanol, etanol y acetato de etilo. Cuando se realizaron las evaluaciones se encontraron similares resultados para los extractos de metanol, etanol y acetato de etilo, en cambio para el extracto acuoso ha destacado un mayor poder reductor preparado en agua caliente = 28,1 ug/mL, radical catiónico "2,2'-azinobis – ácido 3-etilvenzotiazolina-6-sulfónico", EC_{50} = 23,7 mg/mL, radical galvinoxilo (EC_{50} = 3,06 ug/mL) y radical catiónico clorpromazina EC_{50} = 475 ug/mL". Utilizando el extracto acuoso de las hojas de té de yacón se encontró el efecto de eliminación de radicales de anión superóxido (O_2^-) en los sistemas de ensayo de "metosulfato de fenazina-NADH-nitroazul tetrazolio" EC50=64,5 mg/mL y xantina oxidasa EC50=20,7 ug/mL, posteriormente, la incubación de células de neutrófilos humanos en presencia del extracto de hoja de té podría suprimir el O celular 2da generación de radicales IC_{50}=65,7 ug/mL en un modelo de células activadas con 12-miristrato, 13-acetato de forbol. Con estos resultados aseveran que las hojas de té de *S. sonchifolius* pueden ser una fuente antioxidante natural para la prevención de O_2^- trastornos mediados por radicales.[10]

Toro D, *et. al.* (2022) en Brasil desarrollo la investigación titulada caracterización fisicoquímica y sensorial del jugo mixto de yacón con propiedades bioactivas. Para ello desarrolló el estudio donde considero al jugo mixto sabroso, aceptable y funcional de piña (Ananas comosus var. Comosus), maracuyá (*Passiflora edulis flavicarpa degener*) y yacón (*Smallanthus sonchifolius*), con compuestos bioactivos y prebióticos

mejorados. La proporción ideal de fruta y yacón se obtuvo después de planificar una mezcla con seis formulaciones y de evaluar sus compuestos bioactivos y su perfil de ácidos orgánicos. La mejor evaluación sensorial de la formulación se realizó mediante la prueba Just-About-Right (JAR). Así mismo, encontraron como resultados que el jugo mixto elegido (M6- 30% piña, 45% maracuyá y 30% yacón), además, los resultados mostraron niveles elevados de actividad antioxidante (82,5% inhibición DPPH'), carotenoides (0,97 mg.100 [g.sup.-1]), y polifenoles totales (70,28 mg. [100 g.sup.-1]). Flavonoles totales (23,95 mg.100[g.sup.-1]), antocianinas totales (1,37mg.100 [g.sup.-1]), ácido gálico (3,13 [micro]g.[mL.sup.-1]), quercetina (2,25 [micro]g.[mL.sup.- 1]), ácido siríngico (1,01 [micro]g.[mL.sup.-1]), ácido cítrico (949,30 mg. 100g), ácido málico (140,35 mg.100[g.sup.-1]), y también se reportaron 0,58% de 'fibra dietética'. Sensorialmente, los consumidores percibieron alta acidez, sabor fuerte y una textura fibrosa, lo que podría haber afectado la aceptación global del jugo (6,0). Los resultados indicaron la factibilidad de obtener un jugo mixto funcional y apetecible usando yacón.[24] También, en otro estudio, hacen referencia que las hojas y raíces del yacón poseen diferentes actividades farmacológicos que mejoran las alteraciones metabólicas propias de la enfermedad.[25] Teniendo en cuenta a otras investigaciones mencionan a nivel *In vitro* la actividad antioxidante de los extractos de las hojas de yacón esto corrobora en otros ensayos bio-dirigidos que permitieron una contribución significativa a la actividad eliminadora de radicales detectada directamente en la placa de TLC rociada con "1,1-difenil-2-picrilhidrazilo" (DPPH),[26] donde se encuentras que el uso de hojas de *S. sonchifolius* en la dieta humana como un remedio potencial en la prevención de enfermedades crónicas causadas por radicales, mencionando como ejemplo, la arteriosclerosis.[27]

Ruso D, *et. al.* (2015) desarrollo la investigación de las Actividades antioxidantes y análisis cuali-cuantitativo de diferentes extractos de razas locales de *Smallanthus sonchifolius* de cinco razas locales de yacón, fueron investigadas en contenido fenólico total, actividad antioxidante y composición química de extractos de etanol (EE) y extractos de decocción (DE). Los resultados demostraron que los DE son ricos en ácidos fenólicos como el ácido cafeíco, mientras que los EE presentan una mayor cantidad de flavonoides, como "luteolina 3',7-O-diglucósido" y "luteolina 7-O-glucósido". Estos glucósidos flavonoides fueron identificados por primera vez en extractos de yacón, junto

con apigenina y luteolina. Para ello hacen mención el perfil fitoquímico que explica las diferentes actividades antioxidantes mostrados en el estudio. Las razas locales PER6-DE y PER4-DE mostraron la mayor actividad eliminadora de radicales y poder reductor relacionado con su contenido polifenólico.[28]

Ruso D, *et. at.* (2015) el objetivo desarrollado fue, perfil fitoquímico de extractos de metanol de hojas de catorce variedades locales de *Smallanthus sonchifolius* y sus actividades antioxidantes, anticolinesterásicas y antidiabéticas que podrían conducir al hallazgo de agentes más efectivos para el tratamiento y control de la enfermedad de Alzheimer y la diabetes. Considerando para su evaluación a la actividad antioxidante mediante diferentes pruebas: "poder reductor férrico" (FRAP), "2,2-difenil-1-picrilhidrazilo" (DPPH), captación de óxido nítrico (˙NO) y superóxido ($O_2^{\bullet}$-) y eliminación de lípidos, ensayos de inhibición de la peroxidación. La actividad anticolinesterasa se investigó mediante la cuantificación de las "actividades inhibidoras de la acetilcolinesterasa" (AChE) y la "butirilcolinesterasa" (BChE), mientras que la actividad antidiabética se investigó mediante pruebas de inhibición de α-amilasa y α-glucosidasa. Además, se ha evaluado los metabolitos secundarios mediante el cribado fitoquímico mediante un sistema de detector de matriz de diodos de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-DAD). Entre todos, el extracto de metanol de las variedades locales PER09, PER04 y ECU44 exhibió el índice de capacidad antioxidante relativa (RACI) más alto. Se encontró que ECU44 era rico en ácido 4,5-di-O-cafeoilquínico (CQA) y 3,5-di-O-CQA y mostró una buena inhibición de α-amilasa y α-glucosidasa, mostrando los valores IC50 más bajos.[29]

Ahangarpour A, *et. al*. (2019) realizo el trabajo de investigación propiedades antidiabéticas y antioxidantes de algunos fitoquímicos fenólicos, donde encontraron que los fenoles afectan la diabetes de diferentes maneras. CGA suprime la gluconeogénesis hepática a través de la inhibición de G6Pase y también es un sensibilizador de insulina que potencia la acción de la insulina. La curcumina reduce la resistencia a la insulina, por lo que disminuye los productos de AGE en la diabetes mellitus. Otro metabolito secundario identificado como el hidroxitirosol regula los canales de calcio que juegan un papel clave en la secreción de insulina. El resveratrol aumenta la estimulación de la captación de glucosa y la secreción de insulina. El CGA tiene una actividad antioxidante

similar a la vitamina E y el ácido elágico quizás sea incluso más potente que la vitamina E. Así mismo, mencionan que la curcumina inhibe la peroxidación de lípidos y elimina el anión superóxido y los radicales hidroxilos. La actividad antioxidante del hidroxitirosol protege a las células pancreáticas del daño y la muerte. El tratamiento con resveratrol disminuye significativamente el nivel de hemoglobina glucosilada. Además, concluyen que todos estos metabolitos secundarios tienen potentes efectos antidiabéticos y antioxidantes de diferentes maneras, como las propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas del ácido elágico, o las actividades antiangiogénicas y apoptogénicas de la curcumina.[30]

Broetto A, *et. al.* (2016) realizo la investigación titulada las capacidades antioxidantes *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de las raíces y las hojas de yacón. El trabajo de investigación describe dos extractos previnieron la hiperglucemia en ratas diabéticas. El hígado de ratas diabéticas presentó niveles elevados de proteínas carbonilos y ROS y actividad disminuida de enzimas antioxidantes. La administración de los extractos de raíces y hojas restauró los niveles de proteína carbonilo a la normalidad. Así mismo, describen que el extracto de raíz también restauró los niveles de ROS a la normalidad, pero el extracto de hoja no fue efectivo. El extracto de raíz también fue más eficaz para restaurar la actividad de al menos dos importantes enzimas antioxidantes "glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y glutatión peroxidasa". En cuanto a la carga antioxidante "que fue 17 veces menor en el tratamiento con extracto de raíz", la acción *in vivo* del extracto de raíz fue más efectiva que la del extracto de hoja para reducir el estrés oxidativo hepático que acompaña a la diabetes.[31]

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Breve historia y origen del *Smallanthus sonchifolius*

El *Smallanthus sonchifolius*, como lo hacen notar los reportes, fue cultivada por lo antiguos pobladores peruanos, el yacón es una planta originaria de la región andina. El estudio de las hojas de yacón se ha preparado como un té medicinal tradicional que puede ser útil contra enfermedades crónicas, como la diabetes y los trastornos renales. Por esta razón, las hojas de yacón han ganado recientemente la atención como remedio natural. En este sentido, varios estudios se han centrado en la actividad hipoglucemiante de las

hojas de yacón. Además, las investigaciones han demostrado que las hojas de yacón tienen propiedades antioxidantes, antifúngicas y pesticidas.[32]

Como se observa en muchos trabajos que abordan alimentos funcionales, son el foco de muchos estudios en todo el mundo. Esto se justifica por los efectos que tienen sobre la salud pública y por ende el interés por dilucidar los mecanismos involucrados en sus acciones. En la actualidad las discusiones sobre las propiedades funcionales atribuidas al yacón, considerado un alimento con múltiples funciones ya que posee compuestos bioactivos (sustancias antimicrobianas, antioxidantes y probióticas) que ejercen efectos benéficos en el organismo.[33]

A. Características del *Smallanthus sonchifolius*

Las actividades antioxidantes y antiinflamatorias de los compuestos vegetales son numerosos metabolitos secundarios y un complejo de iones metálicos que ejercen efectos antioxidantes, antiinflamatorios, anticancerígenos y otros efectos beneficiosos, como los compuestos polifenólicos han sido ampliamente estudiados por el efecto contra enfermedades crónico degenerativas que se les atribuye, posiblemente por su capacidad antioxidante. Esta revisión destaca las diferentes bioactividades de los flavonoides, las cromonas y las cumarinas y sus complejos de iones metálicos debido a las diferentes características estructurales. Además de conocer las propiedades antioxidantes más estudiadas de estos compuestos, se describe las fuentes exógenas y endógenas de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, los daños de los lípidos y proteínas mediados por el estrés oxidativo y las funciones protectoras de los sistemas de defensa antioxidantes, incluidos los antioxidantes derivados de plantas.[34]

Una de las características del extracto de las hojas del yacón con actividades biológicas debe conservarse, ya que pueden degradarse si se exponen a la luz o al calor. La investigación reporta los resultados de la formación de micropartículas del extracto de hoja de yacón con almidón de maíz modificado como agente encapsulado usando Extracción de Emulsiones en Fluido Supercrítico (SFEE). Las variables investigadas fueron la presión (9–13 MPa) y el caudal de emulsión (Q_E) (0,5–1,5 mL/min) sobre la eficiencia de encapsulación (EE) y el contenido de acetato de etilo residual. El EE más alto fue de 68,2 %, realizado a 9 MPa y Q_E de 1,5 mL/min. De acuerdo a los análisis

realizados mostraron que: (a) las partículas presentaban una característica amorfa; (b) no hubo degradación del extracto durante la encapsulación; (c) el SFEE mejoró la conservación de la actividad antioxidante de las muestras.[35]

B. Morfología del *Smallanthus sonchifolius*

La planta de yacón es una planta de raíz tuberosa andina que se considera un alimento funcional ya que contiene fructooligosacáridos (FOS), inulina y compuestos fenólicos,[35] puede medir de 0,7-2,5 metros de altura, de una semilla desarrolla con un solo tallo principal, en cambio sí proviene de propágulos puede contener varios tallos, cuenta con raíces fibrosas, los tallos son cilíndricos, pilosos y huecos, los colores varían de verde y/o con pigmentos purpura. Así mismo, las raíces de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) han sido cada vez más consumidas por la revelación de sus propiedades prebióticas y medicinales.[36] Igualmente, las hojas son opuestas de lámina triangular, de base hastada o corazonada con bordes dentados. La inflorescencia contiene una rama floral, está compuesta por un capítulo o cabezuela; además, las raíces de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) han sido cada vez más consumidas por la revelación de sus propiedades prebióticas y medicinales también reportan que el yacón, redujo la hiperglimia hasta normalizarla, equivalente al 20 % del valor inicial de la glicemia.[37]

Los flavonoides vegetales en los últimos años, se ha prestado más atención a las fuentes naturales de antioxidantes. Los flavonoides son sustancias naturales sintetizadas en varias partes de las plantas que presentan una alta capacidad antioxidante. Son una gran familia, presentando varias clases en base a su estructura básica. El metabolito secundario identificado como flavonoides tienen la capacidad de controlar la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) a través de las ROS depuradoras cuando se forman. Por lo tanto, estos compuestos antioxidantes tienen un papel importante en la tolerancia al estrés de las plantas y una alta relevancia en la salud humana, principalmente debido a sus propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas. Consecuentemente, los flavonoides tienen varias aplicaciones en la industria alimentaria como conservantes, pigmentos y antioxidantes, así como en otras industrias como la cosmética y la farmacéutica. Así mismo, la aplicación de flavonoides con fines industriales implica procesos de extracción con alta pureza y calidad. Se han desarrollado varias metodologías

destinadas a aumentar el rendimiento de extracción de flavonoides y ser respetuosas con el medio ambiente.[38]

C. Descripción de la especie del *Smallanthus sonchifolius*.

La especie *Smallanthus sonchifolius,* es conocida en el Perú con diferentes nombres como: "llacón", "yacón", "jacón", "aricoma", "yacuma", planta que se desarrolla hasta los 3000 m.s.n.m. en cuanto a su producción del tubérculo pueden pesar de 2kg por planta.[39]

D. Clasificación taxonómica del *Smallanthus sonchifolius*.

La clasificación taxonómica del *S. sonchifolius*. (yacón) Poepp. & Endl.) H. Rob. (yacón) es la siguiente:

REINO: PLANTAE
DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA
CLASE: MAGNOLIOPSIDA
ORDEN: ASTERALES
FAMILIA: ASTERACEAE
GÉNERO: *Smallanthus*
ESPECIE : *Smallanthus sonchifolius*[39]

E. Composición química de las hojas de yacón

Cuando realizaron la evaluación del efecto del extracto hidroetanólico de yacón sobre la hiperglucemia inducida por estreptozotocina (STZ) en ratas neonatas. Los resultados encontrados mostraron que el tratamiento con el extracto redujo los niveles de glucosa de las ratas diabéticas alimentadas y no cambió los niveles de glucosa de las ratas normales y diabéticas en ayunas. Además, también se observó que el tratamiento con el extracto redujo los niveles de glucosa en sangre de ratas diabéticas durante las pruebas de tolerancia a la glucosa oral e intravenosa. No hubo cambios en el peso corporal, las enzimas hepáticas o la mortalidad con el tratamiento con extracto de yacón. Cuando se realizó la evaluación de los metabolitos secundarios en el tamizaje fitoquímico reveló la presencia de ácido cafeíco, ácido clorogénico, ácido ferúlico y ácido gálico. Los autores concluyen en la investigación que el extracto de yacón reduce la hiperglucemia, posiblemente al mejorar la sensibilidad a la insulina a través de sus constituyentes fitoquímicos (compuestos fenólicos).[40.41]

El *Smallanthus sonchifolius*, comúnmente conocida como yacón, es una planta medicinal perteneciente a la familia Asteraceae utilizada en la medicina popular tradicional. Sus raíces y hojas han sido utilizadas por personas que padecen diabetes o diversos trastornos digestivos o renales. En la investigación realizada encontraron en el extracto acuoso la presencia de las lactonas sesquiterpénicas (STLs) enhidrina y el dímero enhidrofolina, como compuestos principales junto a los compuestos fenólicos. Así mismo, encontraron concentraciones crecientes del extracto indujeron un efecto citotóxico en las células CHO-K1 y HepG2. Se observó un aumento estadísticamente significativo en la frecuencia de MNi, NBUD y NPB en células CHO-K1, mientras que en las células HepG2 se observó un aumento de frecuencia estadísticamente significativo con tres de las cuatro dosis probadas para MNi y solo con la dosis más alta para NPB y NBU (efecto genotóxico). Concluyen en los resultados que demostraron la incapacidad del sistema metabólico para contrarrestar la inestabilidad genética, permitiendo el consumo seguro de las hojas como infusión de té al 2% en cantidades de hasta 250 mL/día.[42]

También evaluaron el potencial de los extractos de flores y hojas de yacón como fuente de compuestos antioxidantes. Se utilizaron tres procesos para preparar los extractos: infusión, decocción y extracción por solvente (metanol). Para evaluar estos extractos se utilizaron compuestos fenólicos totales (usando el método Folin-Ciocalteu), compuestos flavonoides totales (usando el método colorimétrico UV-vis) y actividad antioxidante (mediante ensayos DPPH y ABTS). Los compuestos fenólicos individuales encontrados en los extractos fueron caracterizados y cuantificados por HPLC-DAD. Cuando se realizó la extracción por decocción de las hojas mostró los valores más altos de fenoles y flavonoides totales, con 42,20 mgGAE/gdw y 39,71 mgRE/gdw, respectivamente. Ácido gálico (3,4, el ácido 5-trihidroxibenzoico) y la rutina (trihidroxidrato de quercetina-3-rutinósido) fueron los compuestos fenólicos más abundantes en los extractos de hojas (1,97 y 2,81 mg/gdw, respectivamente). La miricetina (3,3,4,5,7-hexahidroxiflavona) y el ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico) fueron los compuestos fenólicos que se encontraron en mayor cantidad en los extractos de flores (16,09 y 1,36 mg/gdw, respectivamente) y estos compuestos fueron identificados y cuantificados en este estudio por primera vez. La decocción de las hojas de yacón exhibió la mayor actividad antioxidante en el ensayo DPPH a EC50=220,50gdw. En el trabajo de investigación se encontró que la infusión de extracto de hojas mostró mayor actividad antirradical en los

ensayos ABTS que los otros extractos estudiados (422,13 μMequiv.Trolox/gpd). Los autores determinaron: compuestos fenólicos totales, los flavonoides totales y la actividad antioxidante de extractos de flores y hojas de yacón. Así mismo, los niveles más altos de compuestos fenólicos y flavonoides totales se encontraron en extractos de hojas de decocción. Otros componentes encontrados fueron el ácido gálico y la rutina; compuestos fenólicos más abundantes en los extractos de hojas. La miricetina y el ácido gálico fueron los compuestos fenólicos que se encontraron en mayor cantidad en los extractos de flores. La actividad antioxidante exhibida por la infusión y la decocción.[43]

E. Actividad antioxidante de las hojas de yacón

El efecto antioxidante del yacón (*Smallanthus sonchifolius*) tiene como característica que es una planta a base de hierbas y su raíz que se viene consumiendo históricamente como una verdura dulce en los Andes. La investigación establece que las hojas de yacón, cultivadas en Japón, como un alimento con beneficios para la salud, informaron los efectos antioxidantes de las hojas de té de yacón usando extractos concentrados. En este estudio, determinamos las condiciones óptimas para la extracción regular con agua caliente de hojas de té de yacón, destinadas al consumo normal, con el objetivo de una mayor actividad en varios ensayos de antioxidantes y contenido fenólico total (TPC). Se utilizó la metodología de superficie de respuesta para optimizar la extracción mediante un diseño compuesto central. La temperatura de extracción (rango de 75,0 a 96,0 °C) y el tiempo (de 2,00 a 5,50 min) se establecieron como las dos variables independientes. Basado en un valor de deseabilidad compuesto de 0,863.[44]

Otra investigación cuando realizaron la evaluación del contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de dos lotes de hojas calentadas y no calentadas del cultivar de yacón "Andes no yuki", cultivado en Japón. Las hojas de yacón liofilizadas calentadas a 160 °C durante 20 min y 100 °C durante 60 min tenían un contenido fenólico total de 1,96 a 9,69 veces mayor que el de las hojas no calentadas. Las hojas calentadas exhibieron una capacidad antioxidante de 1,98 a 4,07 veces mayor que la de las hojas no calentadas en tres ensayos diferentes de eliminación de radicales libres. Así mismo, cuando evaluaron las hojas calentadas fueron más eficientes para atenuar la producción de radical anión superóxido en las células granulocíticas humanas que las hojas no calentadas. El análisis de cromatografía líquida de alta resolución reveló que, en las hojas calentadas, el

contenido de ácido cafeíco era de 2,13 a 3,64 veces mayor y el contenido de ácido clorogénico fue ligeramente inferior al de las hojas no calentadas. Determinando que el procesamiento térmico puede afectar el contenido de componentes activos en las hojas de yacón, potenciando su capacidad antioxidante.[45]

Así mismo, desarrollaron otra investigación sobre las acciones anticancerígenas de los extractos de hojas de yacón compuestos principalmente por lactona sesquiterpénica se ensayaron *in vivo* con un modelo de ratón tumoral H22 y también se examinó la farmacocinética de los extractos. Alrededor de 200 mg kg^{-1} de los extractos mostraron una tasa de inhibición tumoral del 35,99 % y una regulación positiva de los niveles de IL-2 y una regulación negativa de TNF-α. En cuanto a la metodología utilizaron el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para el estudio de la farmacocinética de la enhidrina y la uvedalina del extracto con artemisinina como patrón interno después de la administración oral a la dosis de 200 y 100 mg kg^{-1}, respectivamente. Los resultados encontrados en la investigación fueron los parámetros farmacocinéticos se calcularon de la siguiente manera: La t_{max} para enhidrina y uvedalina es similar a 1,5±0 h en ambas dosis y la $C_{máx}$ para enhidrina y uvedalina fue 13,416±0,210 y 8313,31±0,23 mg mL^{-1} en dosis alta y 6,887±0,120 y 4231,45±0,17 mg mL^{-1} en dosis baja, respectivamente. Las AUC $_{0\rightarrow t}$ de enhidrina y uvedalina fueron 137,444±30,782 y 17345,375±613,231 mgL^{-1} h^{-1} en dosis alta y 43,426±19,663 y 8831,724±555,122mgL^{-1} h^{-1} en dosis baja, respectivamente. En cuanto a las conclusiones se exploró la acción anticancerígena de los extractos sesquiterpénicos de las hojas de yacón. Además, se desarrolló un método de HPLC simple y específico para la determinación de enhidrina y uvedalina del extracto de hojas de yacón en plasma de rata. Este estudio sentó las bases para una mayor utilización de las hojas de yacón.[46]

F. Estrés oxidativo de las hojas de *Smallanthus sonchifolius*

Así mismo, se investigó la eficiencia de extracción de los compuestos bioactivos de las hojas de yacón usando un fluido de extracción supercrítico con CO_2 + etanol ($scCO_2$+EtOH) y un método convencional. En cuanto a los análisis las corridas de scCO2+EtOH se realizaron bajo las siguientes condiciones: 30–70 °C, 15–25 MPa y variando la relación de masa (MR) de etanol (codisolvente) a sólido (materia prima). Para la evaluación de las extracciones se ajustaron a términos de rendimiento total de

extracción (X0), composición de ácidos grasos, contenido fenólico total (TPC) y actividad antioxidante (AA). Los resultados encontrados indican que $scCO_2$+EtOH presentó el mayor rendimiento de extracción 5,22 % en peso a 70 °C/25 MPa/MR 3:1. Se encontraron valores altos de TPC y AA en todos los extractos. Los investigadores encontraron los principales ácidos grasos insaturados en los extractos de hojas de yacón fueron los ácidos gamma-linolénico (ω-6), eicosapentaenoico (ω-3) y linoleico (ω-6).[47]

La definición actualizada del estrés oxidativo ha sido considerada como un mediador central en la progresión de la complicación diabética. Las especies de oxígeno reactivo intracelular (ROS) conducen al estrés oxidativo y se eleva desde las mitocondrias, así como por la activación de cinco vías principales: aumento del flujo de la vía del poliol, activación de la vía de la proteína quinasa C (PKC), aumento de la formación de extremo de glicación avanzada (AGE), actividad excesiva de la vía de la hexosamina y aumento de la producción de angiotensina II. El incremento de ROS a través de estas vías conduce a la disfunción de las células β y a la resistencia a la insulina, responsables del daño y la muerte celular. En cuanto a las investigaciones realizadas no solo destaca las fuentes de producción de ROS y su participación en la progresión de la diabetes, sino que también hace hincapié en las intervenciones farmacológicas y la focalización de ROS en la diabetes tipo 2.[48]

Las enfermedades cardiovasculares en la actualidad son la principal causa de muerte en todo el mundo, y la dislipidemia un importante factor de riesgo. La alimentación se reconoce como la intervención más importante en la prevención de las enfermedades y las plantas se consideran la mejor fuente de antioxidantes naturales. El yacón, tiene como principal carbohidrato de reserva los fructooligosacáridos. Además de estos compuestos, el yacón presenta una cantidad significativa de polifenoles tanto en las raíces como en las hojas. El extracto de yacón mostró una mejora del perfil glucémico y lipídico. La dieta hipercolesterolémica aumentó los niveles séricos de creatina quinasa, CK-MB y LDH, pero la administración del extracto disminuyó los niveles de estos marcadores de forma significativa en comparación con el grupo no tratado. Se observo que el extracto, redujo la peroxidación de lípidos, la carbonilación de proteínas y la frecuencia de micronúcleos inducidos por la hipercolesterolemia y aumentó las defensas antioxidantes (CAT, SOD, GPx, GSH, vitamina C, polifenoles) en la sangre. Además, la suplementación con Yacón

no mostró ningún efecto hepatotóxico ni nefrotóxico. Cuando se le administro una dieta hipercolesterolémica aumentó el proceso inflamatorio, evaluado a través de sus marcadores y la administración del extracto mejoró este parámetro. Encontrando también que la suplementación con la raíz de yacón controló el aumento de peso de los animales.[49]

Así mismo, cuando se amplía los conocimientos científicos del estrés oxidativo viene a ser la resultante de la acumulación de especies reactivas de oxígeno, nitrógeno y halógeno (ROS, RNS y RHS, respectivamente) provoca el daño de las células y las biomoléculas. Sin embargo, los organismos vivos han desarrollado los mecanismos de adaptación a las condiciones de estrés oxidativo, incluida la actividad del sistema antioxidante (AOS), que mantiene bajos los niveles intracelulares de RONS (ROS y RNS) y RHS. Considerando que los organismos vivos se han adaptado para usar bajas concentraciones de estos electrófilos para la regulación de las funciones celulares a través de modificaciones químicas postraduccionales reversibles de residuos de aminoácidos sensibles a redox en efectores intracelulares de vías de transducción de señales (proteínas quinasas y proteínas fosfatasas), factores de transcripción, etc. Un mecanismo de ajuste fino importante que asegura la participación de RONS y RHS en la regulación de procesos fisiológicos es la interconversión entre diferentes especies reactivas. La investigación realizada muestra que las redes complejas de tipos de RONS y RHS que interactúan y sus fuentes endógenas, como la familia NOX de NADPH oxidasas, los complejos I y III de la cadena de transporte de electrones mitocondrial, las NO sintasas, el sistema de monooxigenasa que contiene citocromo P450, la xantina oxidorreductasa y mieloperoxidasas. Destacando que los parámetros cinéticos de las reacciones que involucran RONS y RHS determinan los efectos de estas especies reactivas en las funciones celulares.[50]

La señalización de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y su papel en la función vascular tiene que ver mucho en las enfermedades cardiovasculares están asociadas y/o son causadas por el estrés oxidativo. Concepto utilizado mediante el uso del enfoque de eliminación genética de enzimas productoras de especies reactivas (prooxidantes), así como mediante la sobreexpresión de enzimas desintoxicantes (antioxidantes) de especies reactivas que conducen a una marcada reducción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (RONS). y en paralelo a una mejora de la gravedad de las

enfermedades. Considerando que el desarrollo y la progresión de las enfermedades cardiovasculares se ven agravados por la sobreexpresión de enzimas productoras de RONS, así como por la eliminación de enzimas antioxidantes desintoxicantes de RONS. Así mismo, describen que las consecuencias de la interacción (diafonía redox) del superóxido/peróxido de hidrógeno producido por las mitocondrias con otras enzimas productoras de ROS como las NADPH oxidasas (Nox) son de gran importancia. Las consecuencias para el desacoplamiento del óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) como, así como la regulación redox de la función/tono vascular en general (guanilil ciclasa soluble, endotelina-1, síntesis de prostanoides).[51]

La actividad depuradora de radicales libres y antilipoperoxidativas en los extractos de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* reconocen la presencia de protocatechuic (2,5 y 0,12 mg/g), ácido clorogénico (9,9 y 1,7 mg/m), ácido ferúlico (trazas) en las dos fracciones de estudio. Se mostraron una alta actividad antioxidante de DPPH (IC50=16,1 ±3,4 y 24,3 ± 2,7 ug/mL) y radical superóxido xantina/XOD (42,0 ± 20,3 y 34 ± 11,4 equivalente de SOD (U/mg), enfatiza que inhibieron la lipoperoxidación de las membranas subcelulares del hígado de rata y protegieron hepatocitos de rata contra la lesión oxidativa. Refieren también que el uso de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* en la dieta humana tiene efectos prometedores en la prevención de enfermedades crónicas causadas por los radicales libres.[52,53]

G. Importancia de los radicales libres

Las ERO son moléculas que contienen oxígeno y que se generan mediante reacciones redox durante el metabolismo celular, las cuales están compuestas por radicales y derivados no radicales, como el anión superóxido, el radical hidroxilo y el peróxido de hidrógeno, derivados en gran medida del metabolismo oxidativo en procesos fisiológicos y/o reacciones inflamatorias, Así mismo, los investigadores definen que el estrés oxidativo ocurre en muchas enfermedades autoinmunes, junto con la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS). Concordando que las fuentes de tales especies reactivas incluyen NADPH oxidasas (NOX), la cadena de transporte de electrones mitocondrial, óxido nítrico sintasas, nitrito reductasas y las enzimas productoras de sulfuro de hidrógeno cistationina-β sintasa y cistationina-γ liasa. También lo detallan que el superóxido sufre una reacción

de dismutación para generar peróxido de hidrógeno que, en presencia de iones de metales de transición (p. ej., iones ferrosos), forma el radical hidroxilo. La enzima mieloperoxidasa, presente en las células inflamatorias, produce ácido hipocloroso y, en individuos sanos, la producción de ROS y RNS por parte de las células fagocíticas es importante en la destrucción microbiana. Destacando en la investigación que las moléculas antioxidantes de bajo peso molecular como las enzimas antioxidantes, como la superóxido dismutasa, la catalasa, la glutatión peroxidasa y la peroxirredoxina, eliminan las ROS. Sin embargo, cuando la producción de ROS supera la protección antioxidante, se produce estrés oxidativo.[54]

Durante la vida de las células, varias moléculas biológicas participan en la transducción de señales y/o en el metabolismo energético. Además, las especies reactivas de oxígeno (ROS) son producidas por células vivas como subproducto metabólico celular normal. Bajo condiciones de estrés excesivo, las células producirán numerosas ROS, y los organismos vivos finalmente desarrollarán una serie de mecanismos de respuesta para adaptarse a la exposición a ROS y utilizarlos como moléculas de señalización. Las moléculas de ROS desencadenarían el estrés oxidativo en un mecanismo de retroalimentación que involucra muchos procesos biológicos, como la apoptosis, la necrosis y la autofagia. La producción abrumadora de ROS puede destruir la estructura de los orgánulos y las biomoléculas, lo que conduce a una respuesta inflamatoria que es un mecanismo subyacente conocido para el desarrollo de diabetes y cáncer. Las enzimas del citocromo P450 (CYP) se consideran marcadores del estrés oxidativo, pueden transformar metabolitos tóxicos en ROS, como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo, que pueden causar lesiones a nivel celular. Las células han desarrollado un sistema equilibrado para neutralizar las ROS adicionales, es decir, sistemas antioxidantes que consisten en antioxidantes enzimáticos como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasas (GPxs), tiorredoxina (Trx), así como los no -antioxidantes enzimáticos que colectivamente reducen el estado oxidativo.[55]

Anteriormente se consideraba que las ERO funcionaban como moléculas perjudiciales para los componentes celulares. Cuando se presentan altos niveles de ROS causan daños en el ADN, envejecimiento y un deterioro progresivo dependiente del tiempo de múltiples factores del sistema celular. Se ha considerado que las mitocondrias desempeñan un papel

clave en gran parte debido a su producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que da como resultado un daño en el ADN que se acumula con el tiempo y, en última instancia, provoca una falla celular. Los procesos metabólicos, incluidas las vías de detección de nutrientes y la función mitocondrial, se han convertido en importantes reguladores del envejecimiento. Las mitocondrias desempeñan un papel clave en gran parte debido a su producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que da como resultado un daño en el ADN que se acumula con el tiempo y, en última instancia, provoca una falla celular. La función mitocondrial está relacionado a la bioenergética y la apoptosis. Comprende muchos otros procesos biológicos claves, incluidos los siguientes: (i) procesos metabólicos complejos, (ii) señalización/comunicación intracelular y endocrina, y (iii) inmunidad/inflamación.[56]

Los daños en el ADN podrían repararse con una detención del ciclo celular en las células afectadas. Si el daño se repara eficazmente, las células pueden seguir sobreviviendo. Además, señalan que, si el daño es demasiado grave para ser reparado, las células pueden sufrir apoptosis y/o muerte celular. Sin embargo, muchas cuestiones relacionadas con las interacciones entre las MNP y los sistemas biológicos (células y tejidos) no están claras, en particular los efectos tóxicos de las MNP en los hepatocitos y otras células hepáticas. Algunas nanopartículas metálicas (MNP) pueden inducir una disminución de la tasa de supervivencia celular, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), daño mitocondrial, roturas de cadenas de ADN e incluso autofagia, piroptosis, apoptosis u otras formas de muerte celular.[57] Otros estudios han aceptado que las ERO también pueden desempeñar un papel crítico en los procesos fisiológicos. Las investigaciones realizadas respaldan el concepto de un "reóstato redox" en el que diferentes grados de ROS influyen en la energía celular y las vías de señalización intracelular para regular la expresión de ARNm y proteínas.[58]

H. Fuentes de las especies reactivas

Se define como especies reactivas de oxígeno (ROS) son moléculas capaces de existir de forma independiente, que contienen al menos un átomo de oxígeno y uno o más electrones desapareados. Este grupo incluye radicales libres de oxígeno, por ejemplo, radical anión superóxido, radical hidroxilo, radical hidroperoxilo, oxígeno singlete, así como radicales libres de nitrógeno. Si orientamos estas especies reactivas a condiciones fisiológicas, se

forman pequeñas cantidades de ROS durante los procesos celulares, como la respiración aeróbica o los procesos inflamatorios, principalmente en hepatocitos y macrófagos. Las especies reactivas de oxígeno son principalmente moléculas de señalización. Así mismo, inducen la diferenciación celular y la apoptosis, contribuyendo así al proceso natural de envejecimiento. También participan en las contracciones musculares, la regulación del tono vascular y determinan la actividad bactericida y bacteriostática.[59]

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) son fundamentales para que los macrófagos eliminen los microorganismos invasores. Las células no fagocíticas, las ROS desempeñan funciones esenciales en procesos diferentes a la eliminación de patógenos, como la transducción de señales, la diferenciación y la expresión génica. La acumulación excesiva de ROS por sus efectos perjudiciales, ahora existe una comprensión más profunda de sus funciones como moléculas de señalización. En definitiva, esto podría explicar el fracaso del enfoque farmacológico de "todo o nada" con antioxidantes globales para tratar varias enfermedades. Además, la NADPH oxidasa es la primera fuente de ROS que se ha identificado en los macrófagos. Las mitocondrias como un sitio crucial para la formación de ROS en estas células, principalmente debido a la fuga de electrones de la cadena respiratoria o a enzimas, como las monoaminooxidasas. Las fuentes intracelulares específicas de ROS influyen en los procesos celulares tanto en condiciones fisiológicas como patológicas para desarrollar terapias dirigidas a las redes de señalización oxidativa.[60]

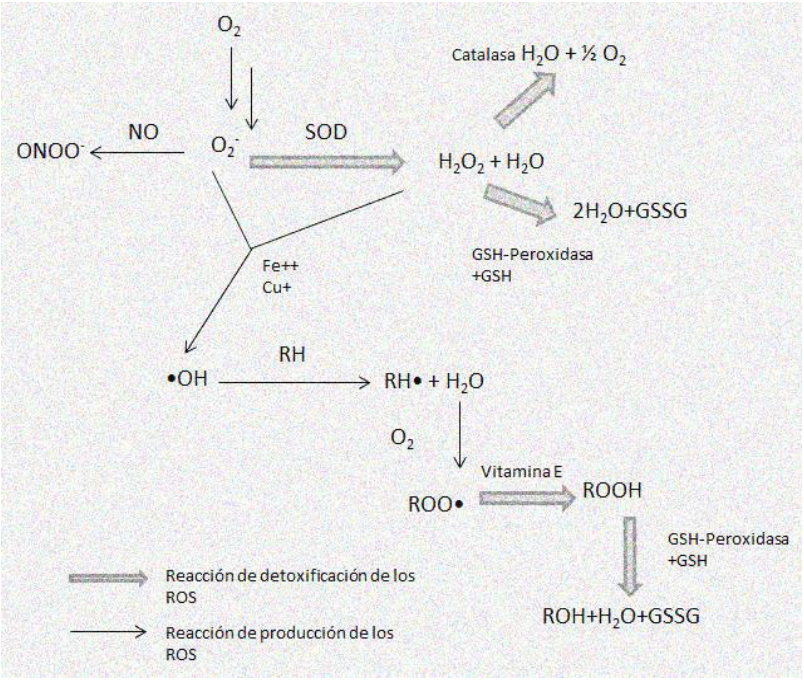
Tabla Nº 01 Principales especies reactivas derivadas del oxígeno y del nitrógeno y sus correspondientes prorradicales.

Especies reactivas derivadas del oxígeno	
Radical libre	**Prorradical**
Superóxido ($O_2^{\bullet}$)	Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)
Radical hidroxilo ($OH^{\bullet}$)	Ácido hipocloroso (HOCl)
Radical piróxilo ($R\text{-}O_2^{\bullet}$)	Ácido hipobromoso (HOBr)
Radical alcoxilo ($RO^{\bullet}$)	Ozono (O_3)
Hidroperoxilo ($HO_2^{\bullet}$)	Oxígeno singlete ($^1\Delta g$)
Especies reactivas derivadas del nitrógeno	
Radical libre	**Prorradical**
Óxido nítrico ($NO^{\bullet}$)	Ácido nitroso (HNO_2)

Dióxido de nitrógeno ($NO_2^{\bullet}$)	Catión nitrosilo (NO+)
	Anión nitrosilo (NO−)
	Tetróxido de dinitrógeno (N_2O_4)
	Trióxido de dinitrógeno (N_2O_3)
	Peroxinitrito ($ONOO^-$)
	Ácido peroxinitroso (ONOOH)
	Catión nitrilo ($NO_2^{\bullet}$)
	Alquil-peroxinitrito (R-OONO)

Fuente: Hernández - Rodríguez (2014)[68]

Los complejos de defensa vienen a ser compuestos neutralizantes de los radicales libres, estos compuestos fundamentalmente están formados por enzimas como: catalasa, glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa, transferrina o ceruloplasmina, los eliminadores y/o secuestrantes de radiales libres (scavenger) inhiben el inicio de la cadena redox y rompen su propagación, también encontramos a las vitaminas: vitamina A, C, E. Así como también compuestos fitoquímicos como los flavonoides (quercitina, catequina), antocianinas, carotenoides o ácidos fenólicos (ácido cafeíco y ácido clorogénico) así mismo, el ácido cafeico, el ácido gentísico y el ácido gálico mostraron las actividades antirradicales más altas con una estequiometría de 4 a 6 moléculas de DPPH* reducido por molécula de antioxidante.[61]



Fuente: De tursi (2011)[69]

Figura Nº 01 Las EROs, ERNs y su sistema de detoxificación (versión simplificada)

I. Definición de un Antioxidantes

Cuando se define el término "antioxidante" en muchas investigaciones lo consideran como una de las definiciones más confusas en las ciencias biológicas/médicas. En química, "antioxidante" se concibe simplemente como "un compuesto que elimina especies reactivas, principalmente aquellas derivadas del oxígeno", mientras que, en un contexto celular, la definición conceptual de un antioxidante es poco conocida. En la actualidad la población mundial suele consumir grandes cantidades de antioxidantes no recomendados clínicamente, basándose en la creencia de que el cáncer, la inflamación y las enfermedades degenerativas son provocadas por niveles elevados de oxígeno (o especies reactivas del oxígeno) y que, al bloquear la producción de especies reactivas, los desequilibrios/trastornos pueden prevenirse y/o incluso tratarse. De hecho, que la popularidad de estos productos químicos surge en parte de la desconfianza pública generalizada hacia la medicina alopática. De hecho, en los procesos metabólicos y bioquímicos se establecen que las especies reactivas de oxígeno desempeñan un papel doble en el tratamiento de diferentes trastornos, ya que pueden contribuir a la aparición y/o progresión de la enfermedad, pero también pueden desempeñar un papel clave en la prevención de la enfermedad[62] y para contrarrestar los efectos deletéreos de estas especies reactivas, el organismo dispone de agentes antioxidantes responsables del control homeostático de los RL y de lo que se conoce hoy en día como Fisiología Oxidativa.[63]

J. Sistemas antioxidantes enzimáticos

La investigación realizada en la acumulación de especies de oxígeno reactivo inducida por cromo mediante la alteración del sistema antioxidante enzimático y los cambios citotóxicos, genotóxicos, ultraestructurales y fotosintéticos asociados en las plantas. Las ROS inducidas por Cr, alteración inducida por Cr en el sistema antioxidante enzimático, peroxidación lipídica inducida por Cr y daño de la membrana celular, daño al ADN inducido por Cr y genotoxicidad, los cambios ultraestructurales inducidos por Cr a nivel celular y subcelular, y alteraciones inducidas por Cr en la fotosíntesis y el aparato fotosintético. Concluyendo la investigación los autores describen que las ROS inducidas por Cr y la supresión del sistema antioxidante enzimático en realidad median los cambios citotóxicos, genotóxicos, ultraestructurales y fotosintéticos inducidos por Cr en las plantas.[64]

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) de acuerdo a la teoría científica son especies químicas altamente reactivas que contienen oxígeno, controladas por sistemas de defensa antioxidantes tanto enzimáticos como no enzimáticos. A nivel del corazón, las ROS juegan un papel importante en la homeostasis celular, al modular la proliferación celular, la diferenciación y el acoplamiento excitación-contracción. El estrés oxidativo se produce cuando la producción de ROS supera la capacidad de amortiguación de los sistemas de defensa antioxidantes, lo que provoca anomalías celulares y moleculares y, en última instancia, una disfunción cardíaca. Concluyendo en investigador que las fuentes fisiológicas de ROS en el corazón, los mecanismos de lesión miocárdica están relacionadas con el estrés oxidativo y las implicaciones de los estudios experimentales y ensayos clínicos con terapias antioxidantes en enfermedades cardiovasculares.[65]

Ingerir vitamina E probablemente se pueda considerar como la mejor intervención por de acuerdo a los estudios científicos el uso de vitaminas antioxidantes como E y C puede aumentar la actividad del sistema de defensa antioxidante no enzimático y proteger el ADN del daño causado por la exposición a campos magnéticos de frecuencia extremadamente baja. Así mismo, también mencionan que tomar estas vitaminas no tiene ningún efecto sobre la apoptosis.[66]

Los antioxidantes endógenos más importantes que neutralizan a los radicales libres en un organismo aeróbico podemos encontrar en los vegetales, dentro de ese contexto se han estudiado a tres isómeros de enzimas del superóxido dismutasa. El compuesto posee zinc y cobre en la estructura del superóxido dismutasa (CuZnSOD) que se encuentra en el cloroplasto y citosol, peroxisomas y apoplasto de las células, cadena respiratoria mitocondrial, sistema de retículo-endoplasmático (RE), el segundo compuesto contiene hierro formando el FeSODs y el tercer compuesto contiene manganeso (MnSODs), el peróxido de hidrogeno producido por la superóxido dismutasa es desechado por la enzimas APX y CAT, la metalproteínas tetrámera peróxido de hidrogeno oxidorreductasa (CAT) es la responsable de catalizar la transformación de las moléculas de peróxido de hidrogeno en agua y oxigeno molecular.[67]

Los radicales libres tanto los que derivan del oxígeno (ROS) y del nitrógeno (RNS) son moléculas muy reactivas que pueden reaccionar con las macromoléculas de la célula y

provocarle un daño irreversible.[68] Los sistemas de protección antioxidante enzimático intervienen como diversos donadores electrónicos, especialmente compuestos fenólicos, para disminuir el peróxido de hidrógeno, a nivel de las células vegetales se describieron una gran cantidad de isoperoxidasas localizadas en las vacuolas y el apoplasto, esto se debe a los ciclos catalíticos, peroxidativo e hidroxílico, los cuales pueden desarrollar las especies activas de oxígeno (EAO) y normalizar las concentraciones de H_2O_2, estos sistemas enzimáticos y moléculas orgánicas como alguna vitaminas como la E, C, los betacarotenos y los flavonoides son de fuente exógena, los cuales podemos proveer en la dieta. En cuanto a los carotenos en algunas investigaciones confirman que son sustancia muy relacionadas con la vitamina A, debido a su gran liposolubilidad que intervienen prioritariamente en los compartimientos más hidrofóbicos, lo que facilita que penetran con una mayor facilidad. Las células vegetales tienen variables que actúan suprimiendo el EAO, Para contrarrestar los efectos deletéreos de estas especies reactivas, el organismo predispone de agentes antioxidantes responsables del control homeostático de los RL y de lo que se conoce hoy en día como Fisiología Oxidativa. como se explica en la tabla Nª 02.[69]

Tabla Nº 02 Principales sistemas antioxidantes enzimáticos existentes en las plantas

Sistema antioxidante	**Localización**	**Principal EAO**
Superóxido dismutasa ($O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-}$ H_2O_2 + O_2)	Cloroplasto. Citosol. Mitocondria Peroxisoma. Apoplasto	$O_2^{\cdot-}$
Ascorbato peroxidasa (2 AA + H_2O_2 → 2 MDA + 2 H_2O)	Cloroplasto. Citosol. Mitocondria Peroxisoma. Apoplasto	H_2O_2
Catalasa	Peroxisoma	H_2O_2
Peroxidasa	Pared celular. Vacuola	H_2O_2
Monodehidroascorbato reductasa (MDA + NAD(P)H → AA + NAD(P)	Cloroplasto. Mitocondria	
Dehidroascorbato reductasa (DHAR) (DHA +2 GSH → AA + GSSG)	Cloroplasto. Mitocondria	
Glutatión reductasa (GR) GSSG +NAD (P)H → 2GSH + NAD(P)	Cloroplasto. Mitocondria	
Glutatión Peroxidasa (H_2O_2 + 2 GSH → H_2O + GSSG)	Citosol	H_2O_2, ROOH
Ferritina (Fe + P → - Fe)	Citosol. Cloroplasto	
NADPH oxidasa	Mitocondria	
Oxidasa alternativa (AOX) (2 e^- + 2 H + O_2 → H_2O		
Peroxirreduxina (PrxR) (2P-SH + H_2O_2 → P-S-SP + 2 H_2O)	Cloroplasto	
Tiorredoxina (Trx) (P-S-S-P + 2H^+ → 2P-SH)	Cloroplasto	

Glutarredoxina (GLR)	Cloroplasto. Citosol. Mitocondria
(DHA + 2 GSH ⟶ AA + GSSG)	

Fuente: Obando L. 2020[67]

K. El colesterol y Niveles elevados

De acuerdo a las investigaciones desarrolladas el colesterol es un componente estructural importante de las membranas celulares que desempeña un papel importante en el mantenimiento de la permeabilidad y fluidez adecuadas de la membrana[70]. En condiciones fisiológicas, se evita que las células acumulen colesterol intracelular mediante una regulación precisa de la síntesis, la entrada y la salida de colesterol. Concordando con la información científica es que la "3-hidroxi-3-metilglutaril CoA" (HMG-CoA) reductasa es una enzima clave que regula y limita la tasa de síntesis; así mismo, de acuerdo a la teoría existente se especifica que el flujo de entrada de colesterol está mediado por el receptor de LDL y el flujo de salida está controlado principalmente por el transportador A1 del casete de unión a ATP (ABCA1). Además, consideran que los factores que comprometen estos mecanismos pueden conducir a una acumulación excesiva de colesterol, lo que a su vez puede conducir a una citotoxicidad caracterizada por una mayor necrosis y apoptosis de las células; el preacondicionamiento farmacológico y el posacondicionamiento con nicorandil disminuyeron la necrosis miocárdica inducida por isquemia/reperfusión (I/R) y la apoptosis de una manera dependiente de la concentración. Además, se logró una concentración óptima de preacondicionamiento y posacondicionamiento de nicorandil que se determinó que tiene efectos antiinfarto y antiapoptosis fue de 30 µmol/l, lo que redujo significativamente ($P<0,05$).[71]

En otra investigación reporta que el colesterol altera la mitofagia al afectar el reclutamiento de optineurina y el aclaramiento lisosomal en la enfermedad de Alzheimer en los **r**esultados encontró que en células SH-SY5Y enriquecidas con colesterol y neuronas primarias cultivadas, los niveles elevados del colesterol intracelular estimularon la acumulación de PINK1 mitocondrial y la formación de mitofagosomas desencadenada por Aβ al tiempo que afectaba la eliminación mediada por lisosomas. La recuperación de antioxidantes del agotamiento del glutatión mitocondrial (GSH) inducido por el colesterol impidió la formación de mitofagosomas, lo que indica la participación de ROS mitocondriales. Así mismo, curiosamente, cuando el colesterol cerebral se acumuló de

forma crónica en ratones “APP-PSEN1-SREBF2” envejecidos, el flujo de mitofagia se vio afectado en los primeros pasos de la vía, con un reclutamiento defectuoso del receptor clave de autofagia optineurina (OPTN). Las alteraciones sostenidas inducidas por el colesterol en ratones “APP-PSEN1-SREBF2” promovieron una acumulación dependiente de la edad de OPTN en agresomas positivos para HDAC6, que desapareció después del tratamiento in vivo con éster etílico de GSH (GSHee). Luego de los análisis en tejidos cerebrales post mortem de personas con EA confirmaron estos hallazgos, mostrando OPTN en estructuras similares a las agresivas que se correlacionaron con niveles altos de colesterol mitocondrial en las últimas etapas de la EA. Concluyendo que la investigación demuestra que la acumulación de colesterol intracelular reduce la eliminación de mitocondrias defectuosas y sugiere la recuperación de la homeostasis del colesterol y la eliminación mitocondrial de ROS como posibles objetivos terapéuticos para la EA.[72]

La desregulación de los lípidos es un factor de riesgo clásico para la enfermedad cardiovascular (CVD), recientemente realizaron la investigación donde detallaron la relación entre la dislipidemia y los insultos proinflamatorios ha llevado a una mayor comprensión de los efectos de la dislipidemia que predisponen a las enfermedades cardiovasculares. Estudiaron como objetivo la hiperlipidemia inducida por una dieta alta en grasas y colesterol alto (HFHC) causaría daño cardíaco y estudiar el papel potencial de la desregulación local de los lípidos cardíacos en la aparición de daño celular. Encontrando como resultados que la dieta HFHC aumentó los niveles séricos de colesterol y ácidos grasos libres (FFA) y provocó estrés oxidativo sistémico y estado proinflamatorio. La desregulación de los lípidos cardíacos, que se caracterizó por niveles elevados de colesterol y proteínas de unión a ácidos grasos (FABP) de adipocitos (A) y corazón (H), se produjo después de la dieta HFHC durante 4 semanas. El daño cardíaco fue más evidente con niveles elevados de H-FABP circulante, aumento de la fibrosis intersticial cardíaca y pérdida de troponina I. Así mismo, concluyeron que los datos mostrados de la dieta HFHC condujo a una desregulación de los lípidos cardíacos y sistémicos, acompañada de estrés oxidativo y proinflamatorio sistémico, y estos pueden finalmente cooperar para causar una serie de cambios patológicos del tejido cardíaco. Nuestros hallazgos sugieren que el mantenimiento de la regulación de los lípidos puede ser esencial en la prevención del daño cardíaco.[73]

L. La defensa antioxidante y su relación con diferentes enfermedades

Cuando se busca el tratamiento eficaz de la DM y la prevención de las complicaciones diabéticas pueden mejorarse mediante una mejor comprensión de la función antioxidante de las defensas intracelulares contra el estrés (OS). Así mismo, también se considera que el polimorfismo en los genes antioxidantes puede determinar los niveles de SO celular como función patogénica primaria en la DM y/o en sus complicaciones. La SOD-2 ha sido investigada en pacientes con varias enfermedades, incluyendo la DM tipo1 (T1DM) para determinar si los genotipos específicos tienen alguna influencia protectora en los mecanismos patogénicos en la DM y/o en varias complicaciones diferentes, incluyendo la retinopatía, la nefropatía y los controles diabéticos en comparación con los controles sanos normales. Consideran que en la actualidad ya se conoce la secuencia de orientación mitocondrial de SOD-2 (sustitución Ala -9 Val) es importante en la nefropatía diabética.[74]

La exposición a diversos mutágenos ambientales aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). El aumento de la producción de ROS con la consiguiente alteración del equilibrio oxidativo en la célula, denominado estrés oxidativo, perturba el metabolismo de las macromoléculas. Pero siempre lo relacionan que el estrés oxidativo conduce a diversas modificaciones de proteínas, lípidos y ADN que eventualmente pueden conducir a una lesión celular y un aumento del riesgo de enfermedad en humanos. El organismo tiene como principal antioxidante al glutatión (GSH) que juega un papel central en la defensa contra diferentes agresiones celulares. Por lo tanto, el nivel celular de concentración de GSH depende de la exposición al estrés oxidativo.[75]

M. Sistemas antioxidantes no enzimáticos

En la actualidad se abordan muchos temas, pero cuando se consideran los sistemas de defensa en las plantas tiene sistemas de defensa antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos complejos eficientes para evitar los efectos tóxicos de los radicales libres. Los cloroplastos y las mitocondrias son las dos principales fuentes de energía y sitios de generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) dentro de las células vegetales. Así mismo, los aminoácidos (AA) es el compuesto antioxidante más abundante y más estudiado. Puede donar electrones a una amplia gama de reacciones enzimáticas y no enzimáticas. La mayoría de los AA en las células vegetales es el resultado de la vía de Smirnoff-Wheeler, catalizada por la L-galactano-γ-lactona deshidrogenasa en las

mitocondrias de las plantas, y el resto se genera a partir del ácido D-galacturónico. En definitiva, mencionar la importancia de la vitamina E (α-tocoferol) que es un antioxidante soluble en lípidos eficaz que funciona como un "rompecadenas" durante la peroxidación lipídica en las membranas celulares y diversas partículas lipídicas, incluidas las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Funciona para interceptar los radicales peroxilo de lípidos (LOO) y para terminar la cadena de peroxidación de lípidos.[76]

Uno de los orgánulos citoplasmáticos más importantes que tenemos son las mitocondrias son la principal fuente de especies reactivas de oxígeno (ROS), la mayoría de ellas derivadas de la cadena respiratoria mitocondrial. Además, entre los numerosos sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos presentes en las mitocondrias, el glutatión mitocondrial (mGSH) surge como la principal línea de defensa para mantener el entorno redox mitocondrial adecuado. La capacidad del mGSH para actuar directamente o como cofactor en reacciones catalizadas por otras enzimas mitocondriales hace que su presencia sea fundamental para evitar o reparar modificaciones oxidativas que pueden conducir a la disfunción mitocondrial y posteriormente a la muerte celular. Considerando, que los trastornos redox mitocondriales juegan un papel central en muchas enfermedades, es de vital importancia albergar niveles óptimos de mGSH. Los investigadores enfatizaremos que la participación del mGSH como contribuyente a la progresión de la enfermedad en patologías tan diversas como la enfermedad de Alzheimer, la esteatohepatitis alcohólica y no alcohólica o la nefropatía diabética.[77]

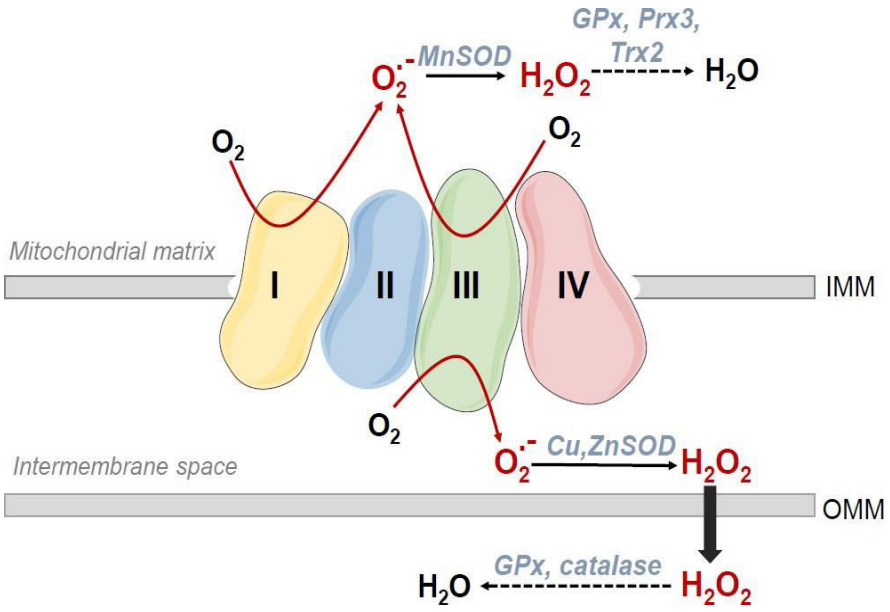


Figura 2. Fuentes de especies reactivas de oxígeno (ROS) en la cadena de transporte de electrones. Durante la respiración mitocondrial se producen reacciones parciales de reducción, principalmente de los complejos I y III que

provocan la acumulación de superóxido y peróxido de hidrógeno principalmente en la matriz mitocondrial. (Monteserrat M, *et. al.* 2020)[77]

N. Metabolismo de la fructosa

El consumo de la fructosa incrementa la producción de glucosa endógeno, a nivel de concentraciones plasmáticas de triglicéridos y lactato en ayuno y posprandiales, incrementado concentraciones de lípidos intrahepatocelulares esto está ligado a la "vía de la fructosa" en el hígado promueve el aumento de la DHA-P y en consecuencia el aumento de las concentraciones de piruvato y glicerol-3-fosfato, mientras el glicerol-3fosfofato actúa como esqueleto para la síntesis de TG, esto provocando que el piruvato deshidrogenasa PDH), cuando existe una alimentación con alto contenido de fructosa añadida puede causar efectos adversos, la fructosa estimula la lipogénesis de novo más que otras fuentes de carbohidratos.[78]

El metabolismo de la fructosa en su mayoría se metaboliza en el hígado y la otra parte repone el gasto de glucógeno hepático, así como también pasa a la síntesis de ácidos grasos, en cambio la ingesta de glucosa atraviesa el hígado y se dirige al musculo donde se descarga para producir CO_2, H_20 y ATP.[78]

El metabolismo de la fructosa se muestra en la figura Nº 3 y 4 donde se absorbe en el hígado por la vía porta, a bajas dosis por ejm. a una porción de fruta es posible que en el intestino actúa como un buffer.[72] en investigaciones realizadas en ratones encontraron que las dosis muy bajas de fructosa son captadas en un 90 % por el intestino. En el caso de consumo de altas dosis de fructosa como por ejemplo gaseosas o jugo de naranja recargan la absorción y el metabolismo de fructosa intestinal, lo que da como resultado que la fructosa llegue a la microbiota del colon y luego al hígado. En este proceso especifico el intestino delgado estaría protegiendo al hígado de la fructosa.[72] en la Figura Nº 05 se observa a la aldosa reductasa (AR) esta enzima no es muy activa a niveles normales de glucosa, pero en condiciones de hiperglicemia los niveles de la glucosa en los tejidos independientes de la insulina aumenta (hígado, endotelios, epitelio renal, etc.) en consecuencia se activa la vía del poliol donde la glucosa se transforma en sorbitol; el sorbitol deshidrogenasa (SDH) actúa sobre el sorbitol lo que da lugar a la formación de fructosa, utilizando reductores como la glutatión, un flujo excesivo por esta vía puede afectar potencialmente el equilibrio redox en la célula, cada aceleración de la vía del

poliol está implicada en la patogénesis de las complicaciones vasculares diabéticas a causa de la hiperglicemia, y por ende la producción endógeno de fructosa a nivel del hígado que no es despreciable.[78]

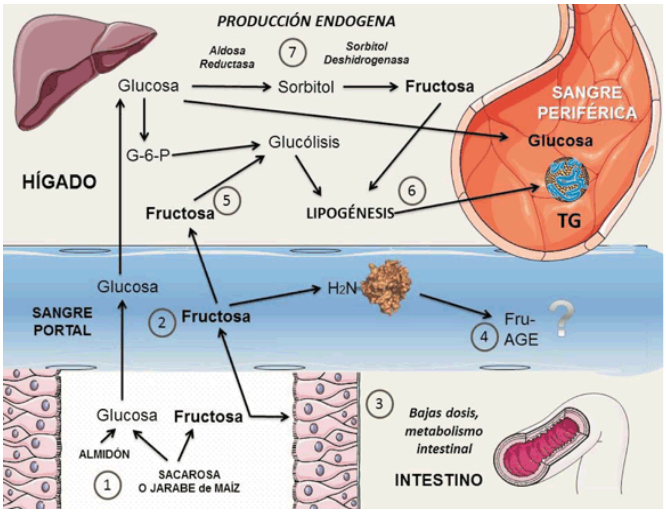


Figura Nº 03 Metabolismo de la fructosa (Gigliucci A. *et. al.* 2020)[78]

1.A mayor ingesta de fructosa, en forma de sacarosa o de sus derivados, se absorbe en su casi totalidad y termina en el hígado por la vía porta. 2. A bajas dosis es posible que el intestino actué como un buffer. 3. La fructosa es muy activa en la reacción de Maillard y puede formar productos de glicación avanzada (AGE) 4. El metabolismo hepático no regulado. 5. Favorece la lipogénesis. 6. Puede haber una fuente extra de fructosa, la fructosa endógena. 7. Por la vía de los polioles y a partir de la glucosa.

Ñ. Diferencia metabólica entre la glucosa y fructosa

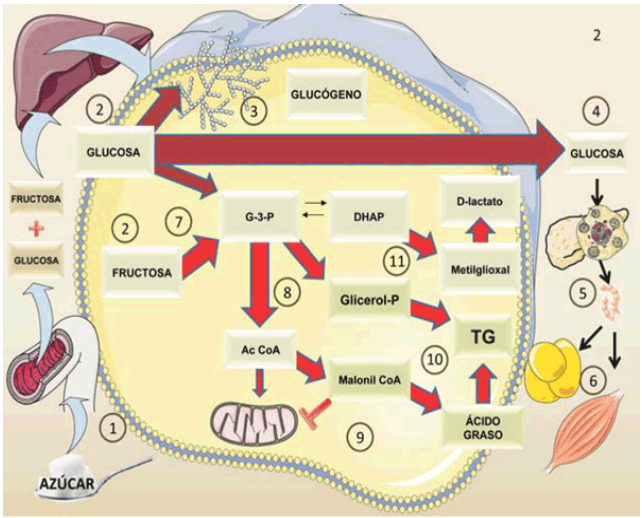


Figura Nº 04 "Diferencia metabólica entre la glucosa y fructosa". No se trata solo de calorías ni de todos los carbohidratos, sino de uno específico. La figura es el resumen en forma esquemática del metabolismo de 100 g de azúcar (50% de glucosa y 50 % de fructosa). Después de la digestión del azúcar. (Gigliucci A. *et. al.* 2020)[78]

1.Cuando la glucosa y fructosa ingresan a la vena porta en cantidades iguales. 2. En el hígado la glucosa se convertirá en glucógeno. 3. La mayor parte pasa al torrente sanguíneo. 4. Para alimentar los tejidos a medida que aumente la secreción de insulina. 5, la glucosa ingresa a los músculos y tejido adiposo. 6. La fructosa no abandona el hígado en su mayor parte, pero es rápidamente fosforila por la fructoquinasa C, evitando los pasos reguladores de glucolisis e inundando el sistema. 7. y 8. Los metabolitos atrapados tienen un solo destino, convertirse directamente o indirectamente en grasa por lipogénesis de novo. 9. y 10 el proceso disminuye la oxidación de AG por la mitocondria, ya que el malonil CoA inhibe el transporte de AG a la mitocondria. 9. Las triosas también se transforman en el metabolito tóxico metiglioxal, que puede detoxificarse a D-lactato. 11. Estos procesos tienen consecuencias deletéreas.[78]

En el hígado tenemos tres enzimas que van realizar el metabolismo de la fructosa. En la primera fase "la fructosa se fosforila a fructosa 1-fosfato (fructosa1-P) por la enzima fructoquinasa C (FFK C), también llamada cetohexoquinasa (KHK)". En la segunda fase "la fructosa-1-P luego se convierte en dihidroxiacetona-fosfato (DAHP) por la enzima aldosa B y luego el gliceraldehido-3-fosfato (G-3-P) a través de la trioquinasa". Las triosas participan en otras vías metabólicas como por ejm.; glucolisis, síntesis de lípidos, gluconeogénesis y glucogénesis figura Nº 4 y 5, porque es muy importante tener en cuenta que la fructosa saltea las dos etapas claves reguladas por la glucolisis (hexo o glucoquinasa y la fosfofructoquinasa), en consecuencia, usa pasos no regulados y esto permite flujos metabólicos deletéreos cuando hay exceso de sustrato,[79,80] además, de su fuente dietética, la fructosa se puede producir endógenamente en el cuerpo a partir de la glucosa a través de la activación de la ruta de los polioles.[81]

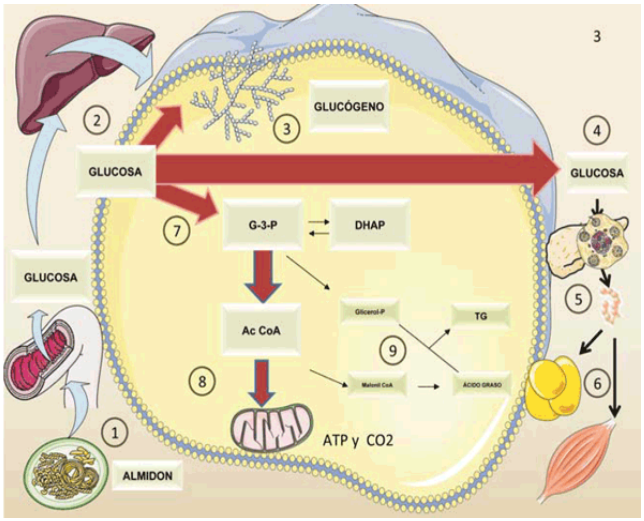


Figura Nº 05 "Diferencia metabólicas entre la glucosa y la fructosa". La figura es el resumen en forma esquemática del metabolismo de 100g de glucosa (de almidón). Después de la digestión del almidón. (Gigliucci A. *et. al.* 2020)[78]

1.La glucosa ingresa por la vena porta. 2. A nivel de hígado se convertirá en glucógeno. 3. Luego pasara la mayor parte al torrente sanguíneo. 4. Así alimentara a los tejidos a medida que aumenta la secreción de insulina. 5. La glucosa ingresa a los músculos y al tejido adiposos. 6. Se produce la glucolisis. 7. Como resultado produce piruvato y luego Ác. CoA mitocondrial. 8. Pequeñas cantidades de Ác. CoA sale de la mitocondria (a través del citrato) para convertirse en grasa. 9. Mediante el proceso de lipogénesis de novo (DNL).[78]

O. Metabolismo de la fructosa en el hígado

La fructosa es un potente nutriente hipogénico y adipogenico, se considera que es un derivado principalmente de la sacarosa y se metaboliza casi completamente en el hígado, en la "teoría encontramos que la respuesta hepática a los cambios en la composición y la velocidad de provisión de nutrientes se relaciona con su ubicación anatómica y las características fundamentales específicas de este órgano". Desde el punto de vista bioquímico y fisiológico se sabe que el "hígado", atreves de la vena porta, recibe el flujo de aminoácidos y azucares simples absorbidos, así como las hormonas pancreáticas y péptidos intestinales o incretinas y luego se dirige el musculo esquelético donde se degrada a CO_2, H_2O y ATP.[82,83]

Teniendo en cuenta que la ingesta de una dieta alta en fructosa disminuye las concentraciones circundantes de "insulina y leptina" y atenúa la supresión postprandial de la grelina, lo que podría contribuir al aumento de la ingesta de calorías, iniciándose el aumento de peso y la obesidad, ya que la grelina es el responsable de la estimulación de la ingesta de los alimentos, tal como se define que la "fructosa no produce una ingesta de glucosa, por tanto la "fructosa contribuirá en el aumento de tejido adiposo aun en ausencia de una ingesta calórica"; por otro lado, el uso de la administración suplementaria de antioxidantes para prevenir algunas enfermedades ha sido estudiado ampliamente. Las sustancias antioxidantes desempeñan una función fundamental en la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles.[82,84]

Lipogénesis de novo a partir de la fructosa. La fructosa se metaboliza casi completamente en el hígado, se utiliza en la reposición del glucógeno hepático y se realiza la síntesis de ácidos grasos, mientras una parte de la glucosa de la dieta atraviesa el hígado y el restante pasara hacia el musculo esquelético donde se degrada a CO_2, H_2O y ATP, considerando que a "nivel del tejido adiposo se convierte en glicerol fosfato para la síntesis de

triglicéridos y producción de energía". Los productos del metabolismo de la fructosa son el glucógeno hepático, los ácidos grasos y los triglicéridos. Se consideran que el metabolismo de la fructosa se divide en dos fases: 1. La síntesis de triosas "dihidroxiacetona fosfato (DHAP) y gliceraldehido-3P (G-3-P)". 2. Se convierte estas triosas en "glucógeno o en piruvato", entrando al ciclo tricarboxílicos se convertirá en citrato y se dirige hacia la síntesis de novo de los ácidos grasos (palmitato) la figura N° 06 observamos un esquema de como ocurre la lipogénesis de novo,[82] Además, los niveles de glucosa e insulina en plasma en ayunas aumentaron y la sensibilidad a la insulina disminuyó en los sujetos que consumían fructosa, pero no en los que consumían glucosa.[85] Por otro lado la falta de la enzima uricasa en los seres humanos impide que el ácido úrico se metabolice; en consecuencia, las concentraciones de ácido úrico en sangre se elevan por lo menos 10 veces más en relación con las concentraciones reportadas en otros mamíferos y, por lo tanto, el riesgo de desarrollar hiperuricemia incrementa potencialmente con el abuso crónico de la ingesta de bebidas con alto contenido de fructosa.[86]

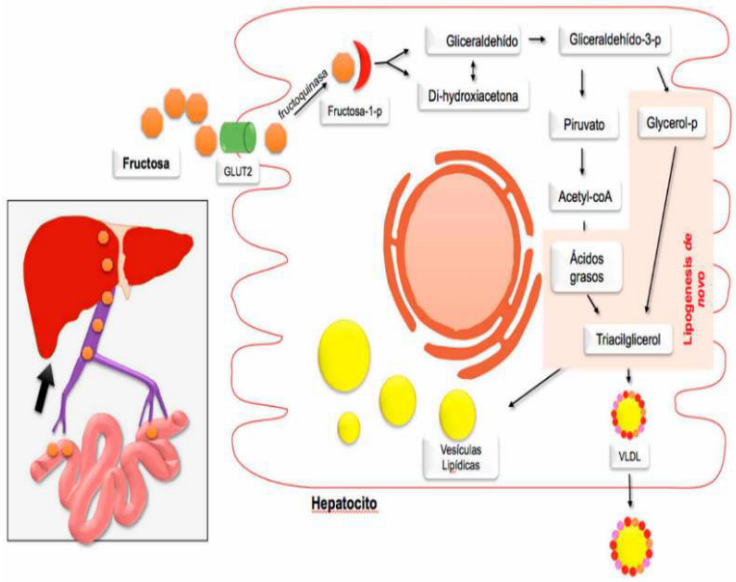


Figura N° 06 Via metabolica de la fructosa. "Metabolismo de fructosa cargada por su transportador GLUT2 del intestino hasta el hígado", donde se metaboliza y participa en el ciclo de Krebs, en condiciones de ingesta normal, o puede ser utilizado en la via de la lipogénesis de novo, se produce cuando existe una ingesta en exceso. (Carballo P, *et. al*. 2019)[82]

La "fructosa se absorbe más lentamente que la glucosa", aunque cuando es captada y metabolizada se realiza mucho más rápido por el hígado, el sistema activo enzimático o "via de la fructosa" para su metabolismo, constituido por las enzimas fructoquinasa (FQ),

aldosa B y trioquinasa. Como señala debido a la acción de este sistema enzimático, el postprandio) al 71% (etapa de ayuno) de la fructosa absorbida permanece en el hígado, confirmándose su transformación en un polisacárido de reserva, así mismo el glucógeno, constituye una fuente de energía para los hepatocitos. También mencionan que el remanente circula hacia el resto de los tejidos en una concentración plasmática muy baja (1.1 – 2.2 Mm).[78]

P. Fructosa sobrepeso y obesidad

La dificultad para poder controlar el consumo de la fructosa es que no produce sensación de saciedad después del consumo, esto permite el consumo incontrolado a diferencia de la glucosa que si manifiesta saciedad después del consumo. Teniendo en cuenta que la forma en que la fructosa aumente el apetito o disminuye la saciedad es "inducido una doble resistencia a la insulina y leptina", como se muestra en la figura N° 07, "la leptina es una hormona sintetizada principalmente en el tejido adiposo" esto se presenta de acuerdo a la circulación proporcional a la grasa corporal. También agrega que es un regulador clave de la ingesta de energía a través de una interacción con los centros hipotalámicos, lo que aumenta a la vez la saciedad y el gasto energético. La "obesidad siempre está relacionado al consumo de azúcar por la hiperinsulinemia" que induce a una "resistencia a la leptina en los centros hipotalámicos", por lo tanto, la respuesta de saciedad que se debe producir es inhibida, lo que resulta en un mayor consumo de alimentos.[78]

La fructosa es un nutriente fisiológico que, cuando se consume en exceso, puede tener efectos metabólicos adversos, Entonces el aumento de peso y la obesidad inducida en individuos estudiados con el uso de la fructosa podrían estar relacionados con la respuesta adictiva al consumo de azúcar, la reducción de ATP en el hígado y la promoción de la resistencia a la leptina,[87] así mismo, también se ha demostrado la presencia de "transportadores de fructosa específicos y enzimas que metabolizan la fructosa en el músculo esquelético, el cerebro, el corazón, el tejido adiposo y muchos otros tejidos".[88]

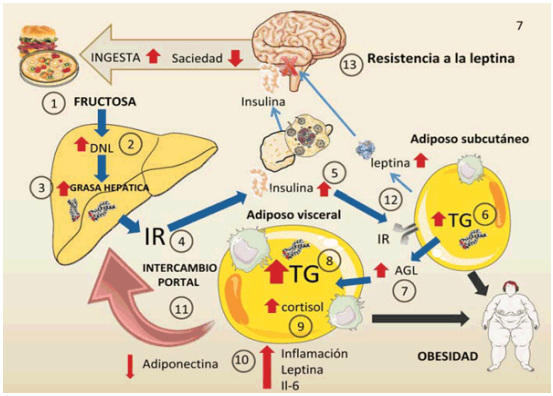


Figura N° 07 principales vías del metabolismo de la "fructosa que conduce a la resistencia a la insulina, síndrome metabólico y obesidad". Este diagrama es el resumen de los mecanismos claves a nivel sistémico. Las oleadas de fructosa (especialmente en forma líquida). (Gigliucci A. *et. al.* 2020)[78]

1. El incremento de la glucosa aumenta la secreción de insulina, aumenta la lipogénesis. 2. y la grasa hepática. 3. Estos a su vez generan insulino-resistencia (IR) hepática. 4. "La hiperinsulinemia se produce como un mecanismo de compensación". 5. "La grasa subcutánea, menos resistente a la insulina, acumula triglicéridos hepáticos (TG)". 6. Pero también aumenta la producción de ácidos grasos. 7. La grasa visceral capta los ácidos grasos y acumula TG, 8. "Aumenta de tamaño y se inflama, hace hipoxia, muere, atrae macrófagos y genera inflamación, la producción in situ de cortisol potenciada por la fructosa incremente este efecto". 9. La grasa visceral vuelca sus moléculas inflamatorias y ácidos grasos libres en la circulación portal. 10. Lo que aumenta la IR hepática, 11. "La grasa subcutánea y visceral aumenta la secreción de leptina, lo que llevaría a una disminución del apetito y a un mayor gasto de energía". 12. Sin embargo, la hiperinsulinemia conduce a una resistencia a la leptina del sistema nervioso central. Esto conduce a menos saciedad, aumenta la ingesta de alimentos y el ciclo continua. DBL: lipogénesis de novo; AGL: ácidos grasos libres.[78]

Q. Métodos para la medida de la capacidad antioxidante *In vitro*

Q.1 Determinación de la capacidad antioxidante. Eliminación de radicales libres mediante el uso del radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidraizil (DPPH)

Eliminación de DPPH, ABTS y especies reactivas de oxígeno (ROS) La capacidad antioxidante utilizando el método de eliminación de radicales libres de hidrato de 2,2-difenil-1picrilhidrazilo (DPPH) La capacidad de eliminación de radicales libres de DPPH se determinó según el método de Brand-Williams *et. al.* (1995). Se añadió un volumen de 0,5 mL de EEGP (0,4 g L^{-1}) o EEAP (0,4 g L^{-1}) a 0,3 mL de solución de radicales DPPH 0,5 mmol L^{-1} en etanol y 3 mL de etanol. La mezcla se incubó durante 45 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente y se midió la absorbancia a 517 nm con un espectrofotómetro. Para la curva de calibración se utilizó el estándar Trolox (15 a 100

μmol L^{-1}) y los resultados se expresaron como μmol de Trolox g^{-1} de muestra seca (μmol Trolox g^{-1}).[89,90]

Q.2 Ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP)

La actividad antioxidante por el método FRAP fue propuesta por Benzie & Strain (1996). El reactivo FRAP se obtuvo a partir de una mezcla de 25 mL de tampón acetato (0,3 mol L^{-1}), 2,5 mL de una solución de TPTZ (10 mmol L^{-1}) y 2,5 mL de FeCl3 (20 mmol L^{-1}). Se añadió una alícuota de 90 μL del EEGP (1,6 g L^{-1}) o del EEAP (1,6 g L^{-1}) a 3 mL de reactivo FRAP. La solución se homogeneizó y se mantuvo durante 30 minutos en un baño de agua a 37 °C y luego se midió la absorbencia en un espectrofotómetro a 595 nm. El blanco fue una solución de reactivo FRAP y la curva de calibración se realizó utilizando soluciones acuosas de sulfato ferroso (100 - 2000 μmol L^{-1}). Los resultados se expresaron como μmol de Fe^{2+} g^{-1} de muestra seca.[89,91]

Q.3 Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio) (ABTS)

Actividad antioxidante mediante el método de 2,2-azinobis-(3ethylbenzothiazoline)-6 sulphonicacid) (ABTS) La actividad antioxidante mediante el radical ABTS se realizó según lo sugerido por Re *et. al*. (1999). Inicialmente 7 mmol L^{-1} de solución de ABTS reaccionó con 140 mmol L^{-1} de persulfato de potasio y se incubó en la oscuridad a 25 °C durante 16 horas. El radical ABTS formado se diluyó con etanol hasta que la absorbancia alcanzó 0,700 ± 0,200 a 734 nm. La mezcla de reacción se produjo con 3,0 mL de la solución de ABTS y 30 μL de EEGP (0,4 g L^{-1}) o EEAP (0,4 g L^{-1}) y después de 6 min se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 734 nm. Se trazó la curva de calibración utilizando concentraciones que variaban de 100 a 2000 μmol L^{-1} de Trolox. Los resultados se expresaron en μmol de TEAC g^{-1} de muestra seca (TEAC: capacidad antioxidante equivalente de Trolox).[89,92]

R. Método para la medida de la capacidad antioxidante *In Vivo*

Los antioxidantes son moléculas capaces de prevenir o retardar la oxidación de moléculas biológicas como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, de tal manera que un antioxidante actúa principalmente gracias a su capacidad para reaccionar con los radicales libres, los antioxidantes son agentes químicos que tienen la capacidad reducir la carga global de las especies reactivas de un organismo, mediante la inhibición del proceso oxidativo. Por lo

que se refiere que los antioxidantes protegen las moléculas biológicas de diferentes mecanismos: neutralizando la EROs, disminuyendo la formación de EROs, uniéndose a metales pesados que podrían ser usados para formar EROs más peligrosas, reparando el daño cometido en los tejidos diana y destruyendo las moléculas dañadas y reparándolas por otras nuevas.[93]

Los organismos aerobios tienen un mecanismo de defensa antioxidante incluyen varios componentes, tanto endógenos "propios del organismo" como exógenos "obtenidos de la dieta" que funcionan de forma interactiva para neutralizar los radicales libres. Los compuestos endógenos como las células de los mamíferos poseen un sistema de defensa antioxidante de naturaleza tanto enzimática "enzimas antioxidantes" como no enzimática "glutatión" a fin de aumentar el equilibrio entre la producción y eliminación de las EROs.[93]

R.1 Sistemas enzimáticos

El sistema antioxidante (AOS) está definido por diferentes investigaciones científicas que siempre va mantener la concentración óptima de especies reactivas de oxígeno (ROS) en una célula y la protege contra el estrés oxidativo. En las plantas, el AOS consta de siete clases principales de enzimas antioxidantes, antioxidantes de bajo peso molecular (p. ej., ascorbato, glutatión y sus formas oxidadas) y sistemas de tiorredoxina/glutarredoxina que pueden servir como agentes reductores para las enzimas antioxidantes. Así mismo, se tiene que tener en cuenta el número de genes que codifican enzimas AOS varía entre clases, y las enzimas de la misma clase codificadas por diferentes copias de genes pueden tener diferentes localizaciones subcelulares, cargas funcionales y modos de evolución. También, contribuyen a la teoría de lo que revela que el sistema tiene muchas interacciones y vías de interacción entre sus componentes a nivel subcelular (antioxidantes, enzimas, nivel de ROS y regulación hormonal y transcripcional).[94]

La defensa antioxidante enzimática ocurre como una serie de reacciones redox para la eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS). También contribuye en la "desregulación de la maquinaria antioxidante" puede conducir a la sobreacumulación de ROS en las plantas, con consecuencias negativas tanto en términos de desarrollo de la planta como de resistencia a los desafíos ambientales. La "activación transcripcional de

las enzimas antioxidantes" acompaña la exposición a largo plazo de las plantas a condiciones ambientales desfavorables. Se conoce de acuerdo a la teoría la producción rápida de ROS requiere la movilización inmediata del sistema de defensa antioxidante, que puede ocurrir a través de señalización retrógrada, modificaciones basadas en redox y la fosforilación de enzimas desintoxicantes de ROS.[95]

R.2 Superóxido dismutasa (SOD)

El superóxido dismutasa (SOD) cuando se define científicamente se le reconoce como una enzima antioxidante funcional para las estrategias de defensa fisiológica en animales y plantas contra los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas por el estrés biótico y abiótico. La suplementación con SOD de plantas en la dieta de los mamíferos es un nuevo enfoque en términos de mejora de la salud frente a condiciones patológicas.[96] Los niveles de acción de los antioxidantes están dadas por las moléculas antioxidantes que constituyen la red de defensa antioxidante en los sistemas vivos actúan a diferentes niveles. Estos niveles pueden desenvolverse como prevención de radicales, de eliminación de radicales y de reparación de daños inducidos por radicales. Sobre la base de la línea de defensa, los antioxidantes pueden clasificarse como antioxidantes de primera línea de defensa, antioxidantes de segunda línea de defensa, antioxidantes de tercera línea de defensa y antioxidantes de cuarta línea de defensa, además, el papel y la eficacia de los antioxidantes de defensa de primera línea que incluyen básicamente la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPX) es importante e indispensable en toda la estrategia de defensa de los antioxidantes.[97]

La SOD señalan que cataliza la dismutación del anión superóxido, originando H_2O_2. Las metaloenzimas que tienen una amplia distribución en el organismo humano. Existen varias clases: las cuales tienen como cofactores diferentes átomos metálicos como "Zn, Cu, Fe, Mn o Ni", estos se localizan dentro de la célula, específicamente en el citosol y el espacio intermembranoso mitocondrial, cataliza la reacción de destrucción del anión superóxido, mediante la transformación de este en H_2O_2 "dismutación del O_2", puede ser destruido a su vez por la actividad de la catalasa o del glutatión peroxidasa, además, las ROS son capaces de inducir daño celular por oxidación de proteínas, inactivación de enzimas, alteraciones en la expresión génica y descomposición de biomembranas.[98]

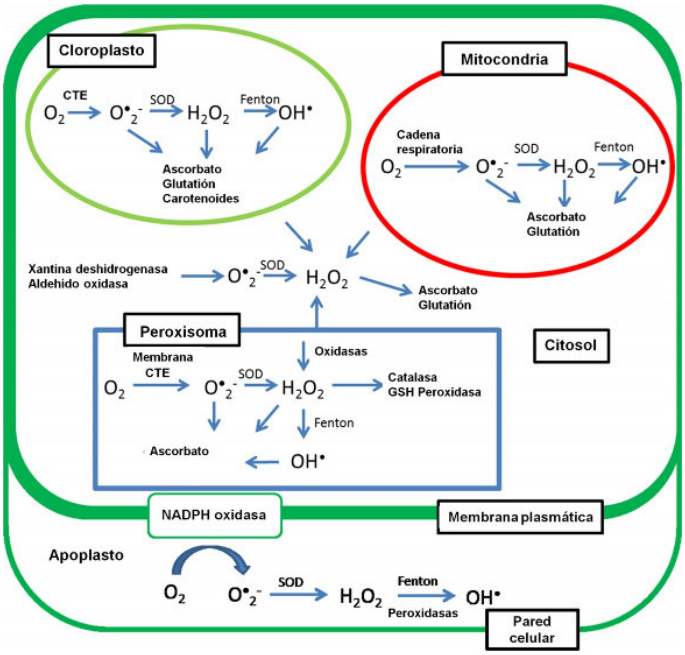


Figura N° 08. Esquema generalizado de una célula vegetal en donde se presentan las principales fuentes de generación de las ROS y las enzimas que participan en su eliminación. CTE: cadena de transporte de electrones. (Jajic I, *et. al.* 2015)[98]

R.3 Catalasa (CAT)

La catalasa es necesaria para el mantenimiento del peroxisoma durante la adipogénesis, por ello se dice que la catalasa se distribuye en los peroxisomas en condiciones redox normales y la actividad de la catalasa aumenta durante la diferenciación de "preadipocitos 3T3-L1 a adipocitos". Además, de acuerdo a la teoría los peroxisomas son responsables del metabolismo de los lípidos, el papel de la catalasa peroxisomal en el proceso de acumulación de lípidos sigue sin estar claro. En el estudio se observó un aumento de la actividad de la catalasa y la acumulación de lípidos durante la diferenciación de los preadipocitos. El silenciamiento de la catalasa por ARN de interferencia pequeño o el tratamiento con "3-amino-1,2,4-triazol" (3-AT), un inhibidor de la catalasa, dio como resultado una acumulación reducida de lípidos. La inhibición de la actividad de la catalasa en los peroxisomas aumenta el peróxido de hidrógeno ($H_2 O_2$), lo que resulta en una reducción del contenido de peroxisomas. También, en la investigación se observó que el H_2O_2 extracelular no influyó en la acumulación de lípidos durante la diferenciación. La aparición de autofagia claramente mejoró en las células tratadas con 3-AT. Spautin-1, un inhibidor del flujo de autofagia, protegido contra una reducción en la acumulación de lípidos por tratamiento con 3-AT. Concluyendo como evidencia la catalasa protege contra la degradación de los peroxisomas a través de la autofagia provocada por la generación

de H_2 O_2 en los peroxisomas. Estos resultados sugieren que la catalasa en los peroxisomas es crucial para la adipogénesis.[99]

R.4 Glutatión

La definición del glutatión (GSH) es el tiol no proteico más abundante presente en concentraciones milimolares en los tejidos de los mamíferos. Es considerado como un importante antioxidante intracelular, actúa como un regulador del estado "redox celular" que protege a las células del daño causado por los "peróxidos de lípidos", las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y los xenobióticos. Investigaciones recientes han destacado la importancia del GSH en las reacciones de transducción de señales clave como controlador de la "diferenciación celular, la proliferación, la apoptosis, la ferroptosis y la función inmunitaria". Así mismo, se consideran en las investigaciones los cambios moleculares en el sistema antioxidante de GSH y las alteraciones en la homeostasis de GSH se han implicado en la iniciación, progresión y respuesta al tratamiento del tumor. Por lo tanto, GSH tiene funciones tanto protectoras como patogénicas.[100]

R.5 Glutatión peroxidasa (GPX)

De acuerdo a las consideraciones de los estudios realizados el glutatión peroxidasa (GPx) actúa en coordinación con otras moléculas de señalización para ejercer su propia función antioxidante. Hemos demostrado los efectos protectores de GPx/GPx^{-1}, una enzima dependiente de selenio, en varios trastornos neurodegenerativos es decir, enfermedad de "Parkinson, enfermedad de Alzheimer, isquemia cerebral y trastornos convulsivos". Se menciona, que los hallazgos recientes indican que GPx^{-1} podría desempeñar un papel como neuromodulador en afecciones neuropsiquiátricas, como estrés, trastorno bipolar, esquizofrenia e intoxicación por drogas. En esta revisión, intentamos resaltar los escenarios mecanísticos mediados por el gen GPx/GPx^{-1} en el impacto de estos trastornos neurodegenerativos y neuropsiquiátricos, y esperamos brindar nuevos conocimientos sobre las intervenciones terapéuticas contra estos trastornos.[101]

R.6 Malondialdehido

La medición del contenido de malondialdehído (MDA) se ha utilizado durante mucho tiempo como un marcador de "peroxidación de lípidos" en estudios relacionados con el

estrés oxidativo y la señalización redox, especialmente en aquellos estudios centrados en las respuestas de las plantas al estrés abiótico y biótico. Una búsqueda de "malondialdehído" y "planta".[102]

S. Sistemas no enzimáticos no proteicos

S.1 Glutatión reducido (GSH)

El GSH es un tripéptido que se encuentra presente en elevadas concentraciones dentro del eritrocito (2mM); así mismo, está relacionado a las disfunciones redox y el estrés neurooxidativo que juegan un papel importante en la fisiopatología y progresión de la enfermedad de Parkinson (EP). El glutatión (GSH) y la proporción de glutatión reducido/oxidado "GSH/GSSG" se reducen en condiciones de estrés oxidativo y pueden conducir a un aumento de la toxicidad oxidativa. El GSH participa no solo en los procesos neuroinmunes y neurooxidativos, incluida la señalización redox de tiol, sino también en la proliferación y diferenciación celular y en la regulación de la muerte celular, incluidas las vías apoptóticas. También interviene en el metabolismo reducido de GSH y una proporción baja de "GSH/GSSG" después del estrés oxidativo se asocian con disfunciones mitocondriales y constituyen un factor crítico en los procesos neuroinflamatorios y neurodegenerativos que acompañan a la EP. Los investigadores encontraron como resultados muestran que los enfoques antioxidantes, incluidos los agentes neuroprotectores y antineuroinflamatorios, que neutralizan las especies reactivas del oxígeno, pueden tener eficacia terapéutica en el tratamiento de la EP y su progresión.[103]

El cuerpo humano siempre va depender del sistema de defensa antioxidante para neutralizar los niveles excesivos de especies reactivas de oxígeno. Este sistema consta de "antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, catalasa, peroxidasa, superóxido dismutasa y glutatión s-transferasa" como principales enzimas de defensa. Sin embargo, el "ácido ascórbico, el tocoferol y los compuestos fenólicos" se consideran ejemplos de antioxidantes no enzimáticos. En la actualidad existen diferentes investigaciones sobre los antioxidantes naturales en los alimentos y el desarrollo de nuevos ensayos ha provocado una reflexión crítica en este campo. Ha sido una práctica común identificar los beneficios para la salud de la actividad antioxidante a nivel celular con la capacidad

antioxidante de los alimentos medida in vitro. La preocupación y la importancia del uso de antioxidantes y sus efectos positivos sobre la calidad de los alimentos se ha demostrado en una gran variedad de alimentos y bebidas utilizando varios métodos para la detección de la oxidación de lípidos y proteínas o varios ensayos basados en transferencia de electrones o transferencia de átomos de hidrógeno. Existe la necesidad de estudios de detección para identificar el modo de acción de diferentes compuestos antioxidantes (además de enzimáticos y no enzimáticos, comparando entre compuestos antioxidantes sintéticos y naturales) mediante diferentes ensayos, además de resaltar la ventaja y la desventaja de ello.[104]

Cuando realizaron la evaluación de los pesos corporales e ingesta calórica similares en ambos grupos. Las ratas FRD tenían niveles séricos de glucosa, insulina y triglicéridos más altos, una proporción molar de insulina:glucosa, valores de HOMA-IR y tolerancia a la glucosa alterada, mientras que los niveles de expresión génica relativa de "CAT, CuZnSOD y GSHPx" eran significativamente más bajos. La expresión de proteínas CAT y CuZnSOD, la actividad CAT y el contenido de GSH también fueron menores, mientras que el contenido de carbonilo proteico fue mayor. Así mismo, cabe resaltar que no se registraron diferencias en la actividad de "CuZnSOD, MnSOD y GSHPx", el contenido de TBARS y la susceptibilidad de la membrana a la peroxidación lipídica. Considerando que en la evaluación se encontró que el contenido de glucógeno, lactato y triglicéridos y la actividad de "GK, G-6-Pase y G-6-PDH" fueron significativamente mayores en las ratas FRD. Concluyendo que, en presencia de estrés oxidativo, el hígado exhibe cambios en las rutas metabólicas de carbohidratos y lípidos que disminuirían la producción de especies reactivas de oxígeno y su efecto nocivo, lo que induciría poco impacto en los mecanismos antioxidantes específicos. Por ello este conocimiento, podría facilitar el diseño e implementación de estrategias para prevenir el daño hepático inducido por el estrés oxidativo.[105]

Los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante analizadas en dos lotes de hojas calentadas y no calentadas del cultivar de yacón en Japón. Las hojas de yacón liofilizadas calentadas a 160 °C durante 20 min y 100 °C durante 60 min tenían un contenido fenólico total de 1,96 a 9,69 veces mayor que el de las hojas no calentadas. Observando en los resultados que las hojas calentadas exhibieron una capacidad antioxidante de 1,98 a 4,07

veces mayor que la de las hojas no calentadas en tres ensayos diferentes de eliminación de radicales libres. Así mismo, las hojas calentadas fueron más eficientes para atenuar la producción de radicales anión superóxido en las células granulocíticas humanas que las hojas no calentadas. Después del análisis de "cromatografía líquida de alta resolución" reveló que, en las hojas calentadas, el contenido de ácido cafeico era de 2,13 a 3,64 veces mayor y el contenido de ácido clorogénico fue ligeramente inferior al de las hojas no calentadas. Concluyendo los investigadores que el procesamiento térmico puede afectar el contenido de componentes activos en las hojas de yacón, potenciando su capacidad antioxidante.[106]

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Tipo y diseño de la investigación

El diseño de la investigación es Experimental, analítico; el tipo de investigación es cuantitativa y el nivel es explicativo.

3.2 Materiales, equipos y reactivos

3.2.1 Material biológico

Para el ensayo experimental se usaron 30 animales hembras (*Rattus rattus*) var. Albinus de 8 semanas de edad con peso promedio 190 ± 10g de la cepa Holtzmann.

3.2.2 Material botánico

Hojas de *Smallanthus sonchifolius*

Materiales de laboratorio

- Material de vidrio
- Tubos de ensayos de vidrio
- Embudo de vidrio
- Beacker 250 mL
- Fiola de 100 mL
- Probeta 250 mL
- Gradilla de metal
- Frascos de vidrio color ámbar
- Cánulas para administración oral a ratas
- Balanza analítica al 0,001g (Metter Zurich)
- Estufa (Memmert)
- Refrigerador
- Glucómetro Accu-Chek Active (Laboratorios Roche)
- Kit Sistemas Elecsys 1010/2010 (Laboratorios Roche)
- Equipo de disección

3.2.3 Reactivos

- Kit de diagnóstico de Transaminasa TGO/TGP (Wiener lab)
- Kit de diagnóstico de Fosfatasa Alcalina (Wiener Lab)
- Kit de diagnóstico de Urea (Wiener Lab)
- Kit de diagnóstico de Creatinina (Valtek Diagnostics)
- Kit de diagnóstico de (Valtek Diagnostics)
- Kit de diagnóstico de Triglicéridos (Valtek Diagnostics)
- Tiras reactivas para medición de glucosa
- Alcohol al 80%

3.2.4 Equipos

- Equipo de HPLC Modelo; Agilent 1200 Dos módulos
- Espectrofotómetro UV-VIS Modelo: Agilent 8453
- Balanza analítica Modelo: Sartorius

3.2.5 Recursos físicos

El trabajo de investigación fue realizado utilizando la infraestructura instalada en el Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú.

3.3 Metodología experimental

Para el análisis fitoquímico de la investigación se utilizó las pruebas cualitativas para los metabolitos secundarios del extracto acuoso de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*.

3.3.1 Técnicas de recolección de muestras de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob.

Las hojas del *Smallanthus sonchifolius* (yacón) se recolectó tomando en consideración la edad aproximadamente de 07 meses, hojas sanas, libres de hongos y maduras, provienen de la provincia de Chupaca, a 3 263 de altitud, Región Junín.

Tabla N° 03 Datos de recolección *Smallanthus sonchifolius*

Departamento	Junín
Provincia	Chupaca
Distrito	Chupaca
Habitad	Cultivo
Nombre común	Yacón
Altitud	3,263 msnm
Fecha	Marzo/2016
Colector	Ivar Jines Lavado Morales

Fuente: Elaboración propia - 2021

3.3.2 Preparación del Extracto para el Estudio fitoquímico

La hoja de yacón se estabilizó a través de un proceso de atomizado a partir del cual se procedió a la preparación de acuerdo a la técnica de la Dra. Miranda M. & Cuellar A. publicado en su Manual de Prácticas de Laboratorio: "Farmacognosia y Productos Naturales.[107]

El agua extrae los principios hidrosolubles, debido a su elevada polaridad que tiene como disolvente, por ello se fraccionó ya que el diluyente es capaz de extraerlos en formas ionizadas. El agua destilada se utilizó en un volumen de tres veces el residuo sólido y se dejó en maceración durante 72 horas siendo agitado cada cierto tiempo. Luego se filtró y se pasó a medir el volumen y se calculó la concentración, obteniéndose el III extracto en agua destilada (EAD), luego se sacó y se pesó y se desechó del residuo sólido. Posteriormente el extracto acuoso ha sido sometido a la secuencia de pruebas fitoquímicas.

Para ellos se pasaron a fraccionarlos y se utilizó 6 mL en tres analitos de dragendorff, mayer y Wagner (para determinar alcaloides), 2 mL de ensayo de cloruro férrico (para compuestos fenólicos), para identificar la presencia de flavonoides se utilizó 2 mL de shinoda, para el reconocimiento de azucares reductores se utilizó 2 mL de Fehling, luego se utilizó 10 mL de ensayo para mucilagos, 2 mL de espuma y de 1 a 2 gotas de ensayos para principios amargos, donde se procedió a un análisis cualitativo de los extractos de la hoja de yacón.

3.4 Ensayo experimental de inducción y reversión al estrés oxidativo *In vitro* e *In vivo*

Para el trabajo experimental se realizaron el manejo de las muestras en el Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UNMSM. Los experimentos utilizados en este trabajo, fueron:

3.4.1 Determinación de los antioxidantes *In vitro*

La metodología para el in vitro fue mediante el método a través del "poder antioxidante de reducción férrico" [FRAP], "radical 2,2´-azino-bis-(3-etilbenztiazolin-6-sulfonato de amonio" [ABTS], "radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidraizil" [DPPH].

3.4.1.1 Método del poder antioxidante de reducción férrico" [FRAP]

El análisis realizado para el poder antioxidante de reducción férrico planteado por[89] con algunas innovaciones. Se realizó la preparación de las diluciones del extracto acuoso del yacón, el reactivo utilizado fue fresco constituido por 25 mL de buffer de acetato de sodio 300 nM a un pH 3,6 en 2,5 mL del complejo "férrico-2, 4, 6-tripiridil-s-triazina" (TPTZ) 10 nM disuelto en HCl 40 nM y 2,5 mL de cloruro férrico + 6 moléculas de agua. El método utilizado fue las curvas de calibración de las soluciones en relación al trolox en concentraciones entre 100 a 1500 µM. se utilizó 900 mL del reactivo FRAP, se acondiciono 30 µL de solución trolox. Se observó la absorbancia a 593 nM cada 5 segundos durante 4 minutos. Se realizaron diluciones adecuadas y su actividad se midió de igual que para los patrones, excepto que el tiempo de incubación necesario para llegar a la máxima respuesta fue de 2 horas el resultado se expresó en µmol trolox /g fracción comestible. Estos procedimientos fueron para todos las diluciones y las muestras, realizando las repeticiones por triplicado.

3.4.1.2 Método de inhibición frente al radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidraizil [DPPH]

En método de inhibición frente al radical libre "2,2-difenil-1-picrilhidraizil" fue propuesto por[90] con algunas innovaciones. Para ello se utilizó las diluciones del extracto acuoso de yacón el cual se preparó con una solución stock de DPPH 0,6 nM en metanol, y se almaceno a -20ºC en la oscuridad. Cada vez que era necesario se preparaba una solución de trabajo por duración de la solución stock con metanol hasta obtener una

absorbancia de 1,1 ± 0,023 a 515 nM. Se prepararon las curvas de calibración de trolox con concentraciones entre 100 a 1500 µM. se tomaron 975 µL del reactivo de DPPH a temperatura ambiente. Se adicionaron 25 µL de solución de trolox. Se observó la absorbancia a 515 nm cada 5 segundos durante 7 minutos. El matraz quedo cubierto con papel de aluminio parta evitar la presencia de la luz. La actividad antioxidante de las muestras se midió de igual forma que para los patrones, excepto que el tiempo total de medida fue de 20 minutos. La evaluación de la actividad antioxidante del extracto etanólico de yacón, se manipulo con una celda de cuarzo al que se adicionó 2,9 mL del radical libre "2,2-difenil-1-picrilhidraizil" y se elevó su absorbancia posteriormente donde se adicionaron 0,1 mL de una dilución del extracto etanólico de yacón, esta mezcla se dejó reposando por 30 minutos en la oscuridad. Posteriormente se ha leído la absorbancia a 517 nM en un espectrofotómetro UV/VISS. Los resultados fueron expresados en µmoles trolox/g fracción comestible y expresados como la capacidad antioxidante equivalente en nM de Trolox el cual fueron exportados a un Excel a una curva de calibración. En particular este radical tiene un electrón desapareado y presenta un color violeta el cual cambia a amarillo pálido en presencia de una sustancia antioxidante, se midió esta reacción en un espectrofotómetro. La comparación de los resultados se extrajo los valores de la muestra en la curva estándar para expresar la actividad antioxidante en relación a los nM de Trolox.

3.4.1.3 Método del radical 2,2´-azino-bis-(3-etilbenztiazolin-6-sulfonato de amonio" [ABTS]

El método ABTS según lo formulado por[91], se ha empleado la capacidad antioxidante del $ABTS^+$ y su disposición de retener radicales de larga vida. Las diluciones del extracto acuoso del yacón se prepararon a una solución compuesta por ABTS 7 nM y "persulfato de potasio" 0,45 nM. La mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 16 horas a temperatura ambiente. La solución stock se almaceno a -20 ºC en la oscuridad. Cuando era necesario se diluía la solución stock con etanol hasta alcanzar una absorbancia entre 0,680 ± 0,020 a una absorbancia de 734 nM. Se preparó las curvas de calibración con trolox a concentraciones entre 250 a 1500 µM. se utilizó 1000 µL del reactivo catión radical $ABTS^+$ y se incubo a 30 ºC, una vez alcanzada la temperatura de incubación se observó a 10 µL de solución de Trolox. La absorbancia de la mezcla de reacción se observó a 734 nM cada 5 segundos durante 6 minutos a 30 ºC, para los extractos del yacón

se realizó las diluciones y en lugar de los 10 µL de trolox se adiciono 10 µL de extracto de yacón previamente diluido. Para los extractos el tiempo fue de 45 minutos para obtener una medida estable en la absorbancia. En la evaluación de la actividad antioxidante se tomó 2 mL del radical "2,2´-azino-bis-(3-etilbenztiazolin-6-sulfonato de amonio" en una cubeta y se procedió a cuantificar su absorbancia inicial a 734 nM con el equipo termostatizado a 37ºC a continuación se procedió añadir 50 µL de una de las diluciones del extracto etanólico de yacón el cual se mantuvo en baño maría asemejando una temperatura corporal, seguido se realizó la mezcla durante 10 segundos en un vortex, pasado los 4 minutos de incubación se procedió a evaluar la absorbancia final a 734 nM. El resultado se expresó en µmoles trolox/g fracción comestible y se analizó de la misma forma que el extracto de yacón, en el cual fue reportado en las diferentes curvas de calibración en concentraciones de Trolox. Las muestras fueron analizadas por triplicado.

3.4.2 Metodología experimental para *In vivo*

La metodología *In vivo* fue el modelo: determinadores de marcadores del estrés oxidativo: glutatión reducido (GSH). MDA (malondialdehído), superóxido dismutasa (SODE), catalasa (CAT), total (CT), lipoproteínas de alta densidad (HDL), triglicéridos (TRI), glucosa (G) y urea (U) en ratas con inducción de estrés oxidativo por fructosa más colesterol.

Para el ensayo experimental del efecto antioxidante de las hojas de yacón se usó 30 ratas hembras (*Rattus rattus*) de 8 semanas de edad con peso promedio 190 ± 10g cepa Holtzmann, procedentes del bioterio de la Universidad Nacional La Molina (UNALM). Los animales se aclimataron en el Bioterio de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), por 7 días y se les peso semanalmente. Siendo colocadas en jaulas individuales con una temperatura ambiental que oscilo entre 20° y 23°C. se les alimento con dieta obtenida de la UNALM y agua y *ad libitum*, en condiciones ambientales estandarizadas. Los animales tuvieron libre acceso tanto al agua como al alimento. Se mantuvieron en una habitación a temperatura y humedad controladas, dotada de un sistema de iluminación regulable que se estableció un ciclo de luz/oscuridad (12h/12h) constante. Y para ello se desarrolló el diseño experimental.

Luego los treinta animales se agruparon al azar en cinco grupos diferentes con seis ratas en cada grupo:

Grupo 1: control: recibió solución salina (2 mL/kg por vía oral)

Grupo 2: 200mg/kg + fructuosa 2 mL 60% (C-F) de peso corporal por vía oral

Grupo 3: administración por 5 semanas C-F, luego a la 7ma y 8va semana administración de extracto 50 mg/kg (EAY) de peso corporal por vía oral)

Grupo 4: C-F administración por 5 semanas C-F, luego a la 7ma y 8va semana administración de extracto 250 mg/kg (EAY) de peso corporal por vía oral)

Grupo 5: Administración por 5 semanas C-F, luego a la 7ma y 8va semana administración de Extracto 500 mg/kg (EAY) de peso corporal por vía oral)

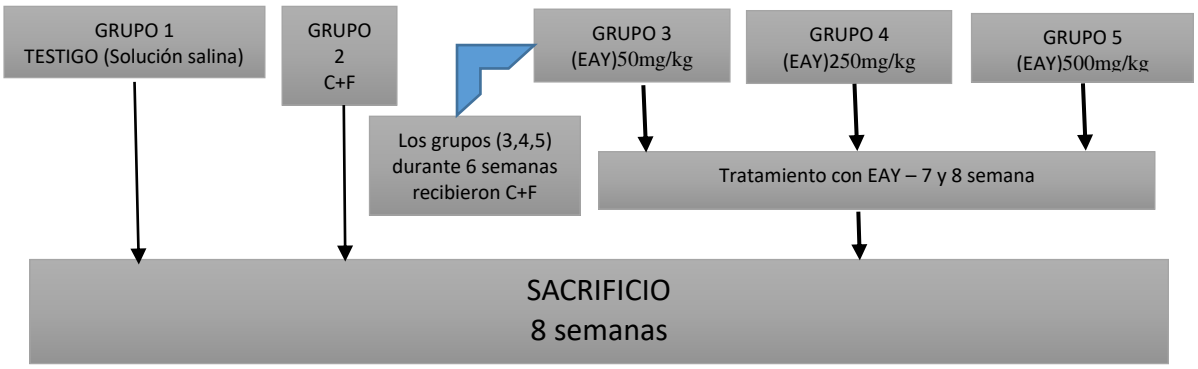


Figura N° 09 Diseño del experimento: grupos experimentales y dietas empleadas en el estudio de la capacidad de reversión del estrés oxidativo.
Fuente: Elaboración propia.

EAY = Extracto acuoso de yacón
C-F = fructosa = 0,333g + colesterol = 200mg/kg)

Criterios de exclusión

Ratas machos (*Rattus rattus*) de la cepa Holtzmann

3.4.2.1 Determinación de la capacidad antioxidante de la Superóxido dismutasa (SOD)

El SOD se determinó basado en el trabajo de Mc Cord y Fridovich, se utilizó el kit de análisis RANSOD.[106] para la determinación del SOD para ello se fundamenta en función de la superóxido dismutasa este es acelerado por la disimulación de un radical tóxico, el radical superóxido (O^{2-}) producido durante el proceso oxidativo energético, en peróxido de hidrogeno y oxígeno molecular, para ello se utilizó el método de la xantina y xantina

oxidasa (XOD) para formar radicales superóxido, el cual reaccionó con cloruro de "2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolio" (INT) para formar un colorante formazan rojo. Se midió la actividad de la SOD por el grado de inhibición de esta reacción. Se utilizó como reactivo: Sustrato mixto (xantina + ITN), solución diluyente buffer fosfato 0,01 mol pH 7,0 solución estándar (patrón), xantina oxidasa.

El procedimiento que se utilizo es la longitud de onda 505 nm en una cubeta 1 cm de espesor a una temperatura de 37ºC donde se realizó la mezcla y las lecturas de absorbancia cada 30 segundos hasta cumplir los 3 minutos. Para esto se tomó 10 µL de eritrocitos lavado y se hemolizó con 1 ml de agua bidestilada fría. Luego se tomó 0,1 mL de lisado y se diluyo con e ml de buffer fosfato 0,01 mol/L, pH 7,0, luego se realizó los cálculos de todos los índices, tanto de los patrones como de las muestras diluidas, que fue convertido a porcentajes del índice del blanco y sustraídos del 100 % para obtener el porcentaje de inhibición para cada patrón frente a $\log_{10}$, concentración del estándar en unidades SOD/mL. Se "utilizó el porcentaje de inhibición de la muestra para obtener las unidades de SOD de la curva patrón. Así como también se realizó la conversión a unidades de SOD/g de hemoglobina".[108]

3.4.2.2 Determinación de glutatión peroxidasa (GPx)

Para la determinación de la "glutatión peroxidasa" se consideró que la enzima se encargue de catalizar la reacción de H_2O_2 con GSH. La actividad de la GPx selenio-dependiente se calculó mediante el seguimiento del decremento continuo en la concentración de NADPH al mantener constantes los niveles de GSH y al usar H_2O_2 como sustrato.[109] Se analizó la absorbancia a 340 nm cada 3 s durante 40 s y se calculó el ΔA_{340}. Además, se corrieron simultáneamente dos blancos, uno sin H_2O_2 y otro sin muestra. Se tuvo en consideración el consumo basal de NADPH (0,25 mM), se determinó en un buffer de fosfatos (50 mM) que contenía azida de sodio (2 mM), glutatión (5 mM), glutatión reductasa (GR) 1,5 U mL^{-1}) y la muestra eritrocitaria. Luego se pasó a evaluar la actividad enzimática donde se calculó mediante el coeficiente de extinción molar de Glutation pereoxidasa (340 ηm = $6,22x10^3$ M^{-1}. cm^{-1}) y NADPH es inmediatamente convertido en forma reducida con una oxidación concomitante de NADPH en $NADP^+$ y se expresó en miliunidades de GPx mg proteína^{-1}. Así mismo, se

consideró que la unidad de GPx se define como la cantidad de enzima necesaria para oxidar 1 µmol de NADPH por minuto.

3.4.2.3 Determinación del malondialdehído (MDA)

La determinación del MDA se utilizó el fundamento del MDA se basa en la medición espectrofotométrica de sustancia reactivas como el "ácido tiobarbitúrico" con modificaciones descritas en el trabajo de Hong, se adicionó NaOH para separar el MDA unido a las proteínas, las sustancia reactante con el ácido tiobarbitúrico reaccionaron formando un compuesto coloreado, dicha sustancia fue calculado usando el coeficiente de extinción molar 1,56 x 10^5 M^{-1} x cm^{-1}, teniendo en consideración que el ácido tiobarbitúrico reaccionó con el reactivo "Buril hidroxi tolueno" (BHT) para prevenir la autooxidación volátil de bajo peso molecular, por lo cual se realizó el calentamiento en viales con tapa para evitar pérdidas en el análisis.[110,111]

El reactivo utilizado fue el NaOH al 12,5 N, "Butil hidroxi tolueno" (BHT) al 0,2% de solución, ácido tricloroacético (TCA) al 18 % de solución y el "ácido tiobarbitúrico" (TBA) al 0.6 % de solución. Para ellos se consideró en el procedimiento la longitud de onda: 532 nm, en una cubeta 1 cm de espesor y a una temperatura de 60ºC y 95ºC, en cuanto al procesamiento de la muestra: se dejó reposar en baño de hielo por 15 minutos, luego se tomó 0,5 mL para la determinación de MDA, el resto de la hemolisis se utilizó para determinar los gramos de hemoglobina por litro de muestra diluida.[110,111]

3.4.2.4 Cuantificación de la actividad enzimática catalasa (CAT)

Se ha considerado para el análisis de la catalasa se tomó como referencia el estudio de Hugo Aebi,[112] el cual se fundamente en que el "H_2O_2", en el rango ultravioleta, muestra un continuo incremento de absorción al disminuir la longitud de onda, la descomposición del H_2O_2, provoco en seguida directamente por la disminución en la absorbancia a 240 nM. Así mismo, se tuvo en consideración la diferencia en absorbancia por unidad de tiempo está dada por la actividad de la catalasa. Por otro lado, se utilizó los reactivos para el buffer fosfato 50 nM de pH 7,0, la solución H_2O_2 nM, se diluyo a 0,34 mL de H_2O_2 al 30 % con buffer fosfato para mL. En cuanto al procedimiento se utilizó 10 µL de eritrocitos lavado, que se hemolizarón con 2 mL de agua destilada, luego se tomó 50 µL del lisado para el análisis del eritrocito lavado, pasando a ser una solución diluida,

además, para ello se tomó una longitud de onda de 240 nm en una cubeta de 1 cm de espesor y a una temperatura ambiente (25ºC).[112]

3.4.2.5 Parámetros bioquímicos (glucosa, triglicéridos y urea)

Así mismo se realizó la disminución de los diferentes parámetros bioquímicos "glucosa, triglicéridos y urea" en la sangre de los distintos grupos experimentales tanto en el modelo de la dieta rica en fructosa más colesterol en las ratas, tratadas o no con el extracto acuoso de las hojas de yacón.

3.5 Análisis e interpretación de la información

La muestra vegetal se realizó mediante el análisis fitoquímico de las hojas del yacón se realizó el método cualitativo del Scrining fitoquímico.

En la parte experimental *In vitro* el análisis de los resultados, se utilizó el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) v25. Los resultados fueron evaluados con estadísticas que fueron asociados entre Curva de calibraciones de Trolox por el método de FRAP, DPPH, ABTS con el Coeficiente de correlación lineal el cual nos permite medir el grado de relación de homogeneidad.

En la parte experimental *In vivo* los resultados de la actividad antioxidante aportan resultados en 9 variables en ANOVA mediante los intervalos de confianza. Para el análisis de los resultados, se utilizó el SPSS, v25. Los resultados fueron evaluados con la Media, Desviación estándar, Intervalo de confianza, prueba de F y la prueba de significancia de la normalidad de Shapiro-Wilk se determinó las diferencias significativas entre grupo. Mediante los gráficos se observa la dispersión de cada una de las variables bioquímicas en cada uno de los grupos y el control, el valor de $p<0,05$. Los resultados se muestran en las tablas y gráficos

El trabajo de investigación está articulado al Instituto de Ética en Salud de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

4.1 Análisis fitoquímico de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*

Tabla N° 04 Análisis fitoquímico de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*

REACTIVO	RECONOCIMIENTO	RESULTADO	PRESENCIA
Ninhidrina	Grupo de aminos libres	Azul violáceo	(++)
Borntrager	Quinonas	Rosada o roja	(-)
Shinoda	Flavonoides	Naranja	(++)
Cloruro férrico ($FeCl_3$)	Compuestos fenólicos	Verde	(++)
Sudán III	Compuestos grasos	Rojo	(++)
Dragendorff	Alcaloides	Naranja	(-)
Wagner	Alcaloides	Marrón	(-)
Mayer	Alcaloides	Precipitado rosado	(-)
Liebermann-Bouchard	Triterpenos y esteroides	Verde intenso	(++)
Ensayo de la espuma	Saponinas	Formación de espuma	(+)

(+++) Abundante; (++) bastante; (+) poco; (-) nada

Fuente: Elaboración propia - 2021

De acuerdo a la tabla N° 04 el análisis fitoquímico del extracto de las hojas del yacón para el presente trabajo de investigación se obtuvo los siguientes resultados donde se apreciar la presencia de grupo de aminos libres, flavonoides, compuestos fenólicos, Compuestos grasos y triterpenos y esteroides con una aproximación de bastante (++), también se obtuvo saponinas en una apreciación de poco (+), en tanto que los alcaloides estuvieron ausentes.

4.2 Ensayo de resultados de la actividad antioxidante *In vitro*

4.2.1 Prueba de normalidad del FRAP *In vitro*

Tabla N° 05 Prueba de normalidad del FRAP *In vitro* de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*

Antioxidante		Kolmogorov-Smirnov[a]			**Shapiro-Wilk**		
	Concentración	Estadístico	gl	Sig.	**Estadístico**	**gl**	**Sig.**
FRAP	30 mg/mL	0,353	3	.	**0,824**	**3**	**0,174**
	15 mg/mL	0,253	3	.	**0,964**	**3**	**0,637**
	7,5 mg/mL	0,253	3	.	**0,964**	**3**	**0,637**
	3,75 mg/mL	0,314	3	.	**0,893**	**3**	**0,363**
	1,875 mg/mL	0,253	3	.	**0,964**	**3**	**0,637**

Fuente: Elaboración propia - 2021

Pruebas de Normalidad para el FRAP se describen las dos pruebas de normalidad, la de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. La muestra de la investigación es menor a 50 es por eso que optamos por la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk.

Según la teoría nos indica que si el "p-valor es menor a 0,05" podemos decir que nuestra prueba no proviene de una distribución normal y si en nuestra prueba el "p-valor es mayor a 0,05" podemos confirmar que nuestra muestra si proviene de una distribución normal.

En la tabla N° 05 de normalidad de la concentración de 30 mg/mL el p-valor (p-valor 0,174); 15 mg/mL (p-valor 0,637); 7,5 mg/mL (p-valor 0,637); 3,75 mg/mL (p-valor 0,363) y 1,875 mg/mL (p-valor 0,637) podemos confirmar que nuestros resultados p-valor es mayor a 0,05 por lo tanto, los resultados del ensayo presentan distribución normal.

Para la determinación la contrastación de la presente hipótesis específica se usó el estadístico de prueba de ANOVA, pruebas estadísticas paramétricas, ya que la distribución de los resultados es normal.

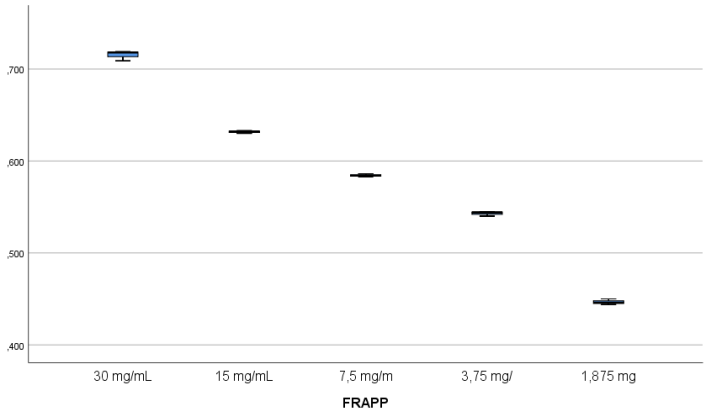
4.2.2 Prueba de ANOVA de la actividad antioxidante *In vitro del FRAP*

Tabla N° 06 Prueba de ANOVA del FRAP *In vitro* de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*

Antioxidante	Concentración	Estadístico			Desv. Error
FRAP	30 mg/mL	Media		0,71533	0,0031
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,70165	
			Límite superior	0,72901	
		Desv. Desviación		0,005508	
	15 mg/mL	Media		0,63167	0,0008
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,62787	
			Límite superior	0,63546	
		Desv. Desviación		0,001528	
	7,5 mg/mL	Media		0,58433	0,0008
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,58054	
			Límite superior	0,58813	
		Desv. Desviación		0,001528	
	3,75 mg/mL	Media		0,54300	0,0015
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,53643	
			Límite superior	0,54957	
		Desv. Desviación		0,002646	
	1,875 mg/mL	Media		0,44667	0,0017
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,43908	
			Límite superior	0,45426	
		Desv. Desviación		0,003055	

Fuente: Elaboración propia - 2021

En la tabla Nº 06 del FRAP, los resultados de los valores del p - valor de la actividad antioxidante en el ANOVA dieron como resultado un valor menor a 0,05 ($p<0,05$) (estadísticamente significativo) por lo tanto los valores de la actividad antioxidante fueron menores en comparación con el control negativo (agua), por consiguiente, en el extracto acuoso se determinó la actividad antioxidante en las concentraciones de 30 mg/mL con un (IC al 95% 0,71533 ± 0,70165); 15mg/mL con un (IC al 95% 0,62787 ± 0,63546); 7,5 mg/mL con un (IC al 95% 0,58054 ± 0,58813); 3,75 mg/mL con un (IC al 95% 0,53643 ± 0,54957) y 1,875 mg/mL con un (IC al 95% 0,43908 ± 0,45426) *In vitro*.



Fuente: Elaboración propia - 2021

Figura Nº 10 Caja de bigote de los valores de la actividad antioxidante *In vitro* del FRAP

En la figura N° 11 de caja de bigote de los valores de la actividad antioxidante del ABTS, se puede observar que el resultado que el mayor efecto antioxidante se obtuvo con la concentración de extracto acuoso de 30mg/mL.

4.2.3 Prueba de normalidad del DPPH *In vitro*

Tabla N° 07 Prueba de normalidad del DPPH *In vitro* de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*

		Kolmogorov-Smirnov[a]			**Shapiro-Wilk**		
	Concentración	Estadístico	gl	Sig.	**Estadístico**	**gl**	**Sig.**
DPPH	10 mg/mL	0,364	3	.	**0,800**	**3**	**0,114**
	5 mg/mL	0,175	3	.	**1,000**	**3**	**1,000**
	2,5 mg/mL	0,253	3	.	**0,964**	**3**	**0,637**
	1,25 mg/mL	0,314	3	.	**0,893**	**3**	**0,363**
	0,625 mg/mL	0,253	3	.	**0,964**	**3**	**0,637**

Fuente: Elaboración propia - 2021

Pruebas de Normalidad para el DPPH se describen las dos pruebas de normalidad, la de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. El tamaño de la muestra de la investigación es menor a 50 es por eso que optamos por la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk.

Según la teoría nos indica que si el "p-valor es menor a 0,05" podemos decir que nuestra prueba no proviene de una distribución normal, si en nuestra prueba el "p-valor es mayor a 0,05" podemos confirmar que nuestra muestra si proviene de una distribución normal.

En la tabla N° 07 de normalidad de la concentración de 10 mg/mL el p-valor (p-valor 0,114); 5 mg/mL (p-valor 1,000); 2,5 mg/mL (p-valor 0,637); 1,25 mg/mL (p-valor 0,363) y 0,625 mg/mL (p-valor 0,637) podemos confirmar que nuestros resultados p-valor es mayor a 0,05 por lo tanto, los resultados del ensayo presentan distribución normal.

4.2.4 Prueba de ANOVA de la actividad antioxidante *In vitro del DPPH*

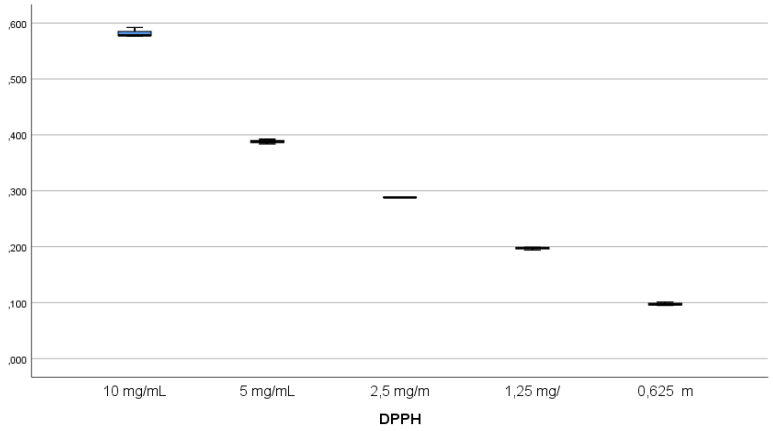
Tabla N° 08 Prueba de ANOVA del DPPH *In vitro* de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*

Antioxidante	Concentración	Estadístico			Desv. Error
DPPH	10 mg/mL	Media		0,58233	0,004842
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,56150	
			Límite superior	0,60317	
		Desv. Desviación		0,008386	
	5 mg/mL	Media		0,38800	0,002309
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,37806	
			Límite superior	0,39794	
		Desv. Desviación		0,004000	
	2,5 mg/mL	Media		0,28833	0,000333
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,28690	
			Límite superior	0,28977	
		Desv. Desviación		0,000577	
	1,25 mg/mL	Media		0,19700	0,001528
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,19043	
			Límite superior	0,20357	
		Desv. Desviación		0,002646	
	0,625 mg/mL	Media		0,09767	0,001764
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,09008	
			Límite superior	0,10526	
		Desv. Desviación		0,003055	

Fuente: Elaboración propia - 2021

En la tabla Nº 08 del DPPH, los resultados de los valores del p - valor de la actividad antioxidante en el ANOVA dieron como resultado un valor menor a 0,05 ($p<0,05$) (estadísticamente significativo) por lo tanto los valores de la actividad antioxidante fueron menores en comparación con el control negativo (agua), por consiguiente, en el extracto acuoso se determinó la actividad antioxidante en las concentraciones de 10 mg/mL con

un (IC al 95% 0,56150 ± 0,60317); 5mg/mL con un (IC al 95% 0,37806 ± 0,39794); 2,5 mg/mL con un (IC al 95% 0,28690 ± 0,28977); 1,25 mg/mL con un (IC al 95% 0,19043 ± 0,20357) y 0,625 mg/mL con un (IC al 95% 0,09008 ± 0,10526) *In vitro*.



Fuente: Elaboración propia - 2021

Figura Nº 11 Caja de bigote de los valores de la actividad antioxidante *In vitro* del DPPH

En la figura N° 12 de caja de bigote de los valores de la actividad antioxidante del DPPH, se puede observar que el resultado que el mayor efecto antioxidante se obtuvo con la concentración de extracto acuoso de 10mg/mL.

4.2.5 Prueba de normalidad del ABTS *In vitro*

Tabla N° 09 Prueba de normalidad del ABTS *In vitro* de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*

		Kolmogorov-Smirnov[a]			**Shapiro-Wilk**		
	Concentración	Estadístico	gl	Sig.	**Estadístico**	**gl**	**Sig.**
ABTS	10 mg/mL	0,253	3	.	**0,964**	**3**	**0,637**
	5 mg/mL	0,253	3	.	**0,964**	**3**	**0,637**
	2,5 mg/mL	0,253	3	.	**0,964**	**3**	**0,637**
	1,25 mg/mL	0,343	3	.	**0,842**	**3**	**0,220**
	0,625 mg/mL	0,211	3	.	**0,991**	**3**	**0,817**

Fuente: Elaboración propia - 2021

Pruebas de Normalidad para el ABTS se describen las dos pruebas de normalidad, la de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. El tamaño de la muestra de la investigación es menor a 50 es por eso que optamos por la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk.

Según la teoría nos indica que si el "p-valor es menor a 0,05" podemos decir que nuestra prueba no proviene de una distribución normal, si en nuestra prueba el "p-valor es mayor a 0,05" podemos confirmar que nuestra muestra si proviene de una distribución normal.

En la tabla N° 09 de normalidad de la concentración de 10 mg/mL el p-valor (p-valor 0,637); 5 mg/mL (p-valor 0,637); 2,5 mg/mL (p-valor 0,637); 1,25 mg/mL (p-valor 0,220) y 0,625 mg/mL (p-valor 0,817) podemos confirmar que nuestros resultados p-valor es mayor a 0,05 por lo tanto, los resultados del ensayo presentan distribución normal.

4.2.6 Prueba de ANOVA de la actividad antioxidante *In vitro del ABTS*

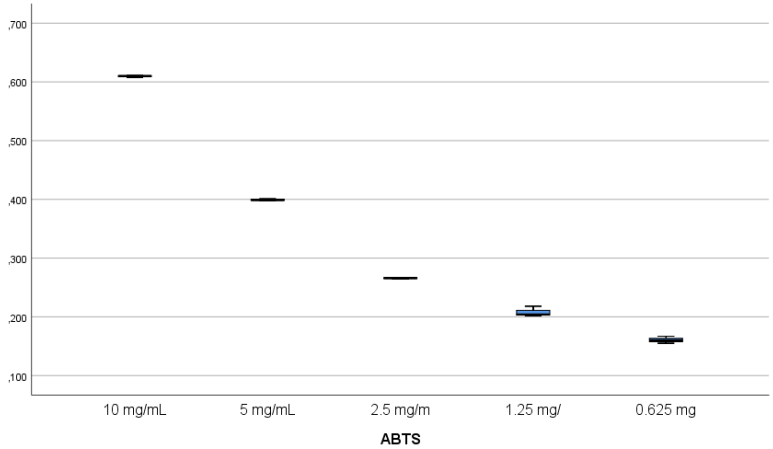
Tabla N° 10 Prueba de ANOVA del ABTS *In vitro* de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*

Antioxidante	Concentración	Estadístico			Desv. Error
ABTS	10 mg/mL	Media		0,60967	0,000882
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,60587	
			Límite superior	0,61346	
		Desv. Desviación		0,001528	
	5 mg/mL	Media		0,39933	0,000882
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,39554	
			Límite superior	0,40313	
		Desv. Desviación		0,001528	
	2,5 mg/mL	Media		0,26567	0,000882
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,26187	
			Límite superior	0,26946	
		Desv. Desviación		0,001528	
	1,25 mg/mL	Media		0,20800	0,005033
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,18634	
			Límite superior	0,22966	
		Desv. Desviación		0,008718	
	0,625 mg/mL	Media		0,16067	0,003480
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	0,14569	
			Límite superior	0,17564	
		Desv. Desviación		0,006028	

Fuente: Elaboración propia - 2021

En la tabla Nº 10 del ABTS, los resultados de los valores del p - valor de la actividad antioxidante en el ANOVA dieron como resultado un valor menor a 0,05 ($p<0,05$) (estadísticamente significativo) por lo tanto los valores de la actividad antioxidante fueron

menores en comparación con el control negativo (agua), por consiguiente, en el extracto acuoso se determinó la actividad antioxidante en las concentraciones de 10 mg/mL con un (IC al 95% 0,60587 ± 0,61346); 5mg/mL con un (IC al 95% 0,39554 ± 0,40313); 2,5 mg/mL con un (IC al 95% 0,26187 ± 0,26946); 1,25 mg/mL con un (IC al 95% 0,18634 ± 0,22966) y 0,625 mg/mL con un (IC al 95% 0,14569 ± 0,17564) *In vitro*.



Fuente: Elaboración propia - 2021

Figura Nº 12 Caja de bigote de los valores de la actividad antioxidante *In vitro* del ABTS

En la figura N° 12 de caja de bigote de los valores de la actividad antioxidante del ABTS, se puede observar que el resultado que el mayor efecto antioxidante se obtuvo con la concentración de extracto acuoso de 10mg/mL.

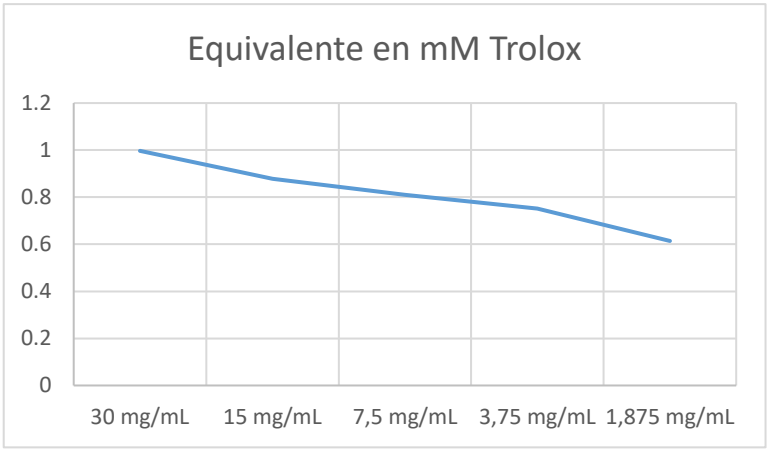
4.2.7 Resultado de la Actividad antioxidante por los métodos de FRAP, DPPH y ABTS

Tabla Nª 11 Resultado de la Actividad antioxidante por los métodos de FRAP, DPPH y ABTS de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de yacón equivalente a mM de Trolox.

FRAP		DPPH		ABTS	
Concentración del extracto	Equivalente en mM Trolox	Concentración del extracto	Equivalente en mM Trolox	Concentración del extracto	Equivalente en mM Trolox
30 mg/mL	0,997	10 mg/mL	1,031	10 mg/mL	0,948
15 mg/mL	0,878	5 mg/mL	0,676	5 mg/mL	0,595
7,5 mg/mL	0,81	2,5 mg/mL	0,493	2,5 mg/mL	0,372
3,75 mg/mL	0,751	1,25 mg/mL	0,326	1,25 mg/mL	0,275
1,875 mg/mL	0,614	0,625 mg/mL	0,145	0,625 mg/mL	0,197

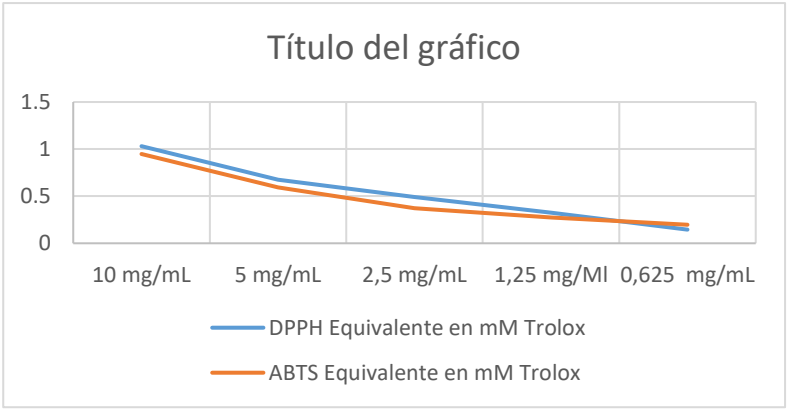
Fuente: Elaboración propia - 2021

La Actividad antioxidante por los métodos de FRAP, DPPH y ABTS de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de yacón equivalente a mM de Trolox, también se puede ver que la mayor actividad antioxidante tuvo en el caso del FRAP de 30 mg/mL a 0,997 equivalente en mM Trolox, para el DPPH de 10 mg/mL tuvo 1,031 equivalente en mM Trolox y para el ABTS de 10 mg/mL tuvo 0,948 equivalente en mM Trolox.



Fuente: Elaboración propia – 2021

Figura Nª 13 Resultado de la Actividad antioxidante del método del FRAP de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de yacón equivalente a mM de Trolox.



Fuente: Elaboración propia - 2021

Figura Nª 14 Resultado de la Actividad antioxidante por los métodos de DPPH y ABTS de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de yacón equivalente a mM de Trolox.

En la figura Nº 14 y 15 de los tres métodos se puede visualizar la misma tendencia de la actividad antioxidante tanto para FRAP, DPPH y ABTS de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de yacón equivalente a mM de Trolox, para el FRAP en la concentración del extracto de 30 mg/mL fue 0,997 de Equivalente en mM Trolox, para DPPH para 10 mg/mL fue 1,031 de Equivalente en mM Trolox y por último para ABTS para 10 mg/mL fue 0,948 de Equivalente en mM Trolox.

4.3 Resultados de la Actividad antioxidante *In vivo*

Los resultados de la actividad antioxidante *In vivo* aportan resultados en 9 variables *en* ANOVA: Glutatión reducido (GSH), Superóxido Dismutasa (SODE), Catalasa (CAT), Malondialdehído (MDA), Creatinina (CT), Lipoproteínas de alta densidad (HDL) (mg/dL), Triglicéridos (TRI) (mg/dL), Glucosa (GLU) (mg/dL) y Urea (U) (UI/dL.

4.3.1 Determinación de Glutatión reducido (mg %) en sangre de rata

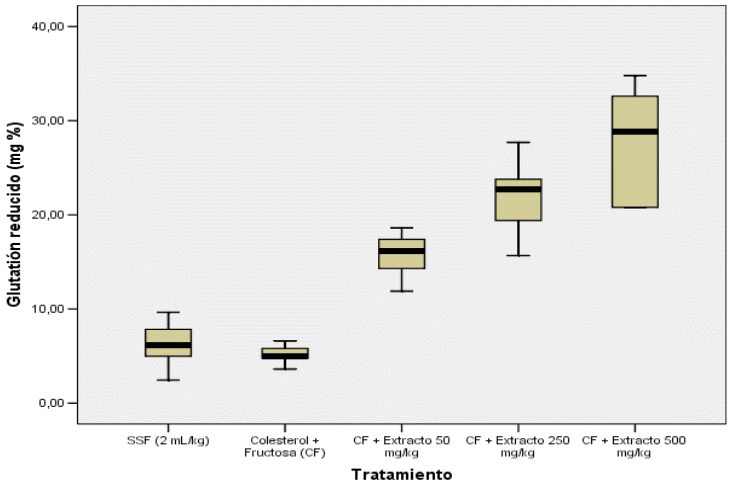


Figura 15. Glutatión reducido (mg %) en sangre de rata
Fuente: Elaboración propia - 2021

Cuando observamos la figura N° 15 para la Glutatión reducido (mg %), y se determina el IC al 95 % la mayor actividad antioxidante tuvo el Suero Fisiológico (SSF) 3,6±8,8 con una media 6,21, Colesterol + Fructosa (CF) 4,1±6,2 con un a media 5,14, CF + Extracto 50 mg/kg 13,2±18,3 con una media 15,7, CF + Extracto 250 mg/kg 17,7±26,3 con una media 21,99 y CF + Extracto 500 mg/kg de 21,62±33,95 con una media de 27,78 a diferencia de los demás extractos. Anexo: Tabla N° 12.

4.3.2 Determinación de Superóxido dismutasa (U mL), en sangre de rata

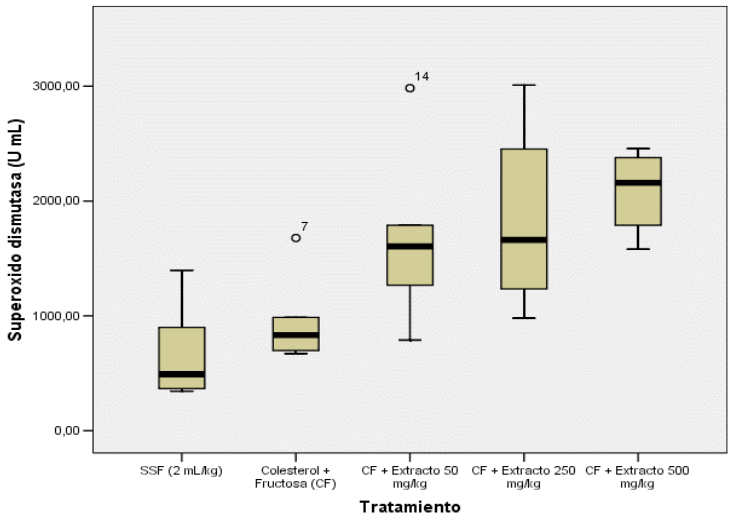


Figura N° 16 Superóxido dismutasa (U mL), en sangre de rata
Fuente: Elaboración propia – 2021

Cuando observamos la figura N° 16 para Superóxido dismutasa (U mL), y se determina el IC al 95 % la mayor actividad antioxidante tuvo el Suero Fisiológico (SSF) 235,4±1097,0 con una media 666,17, Colesterol + Fructosa (CF) 557±1344 con un a media 950,50, CF + Extracto 50 mg/kg 902,8±2443,8 con una media 1673,33, CF + Extracto 250 mg/kg 1001,90±2665,10 con una media 1833,50 y CF + Extracto 500 mg/kg de 1714,9±2459,4 con una media de 2087,17. Anexo: Tabla N° 13.

4.3.3 Determinación de Catalasa (mg %), en sangre de rata

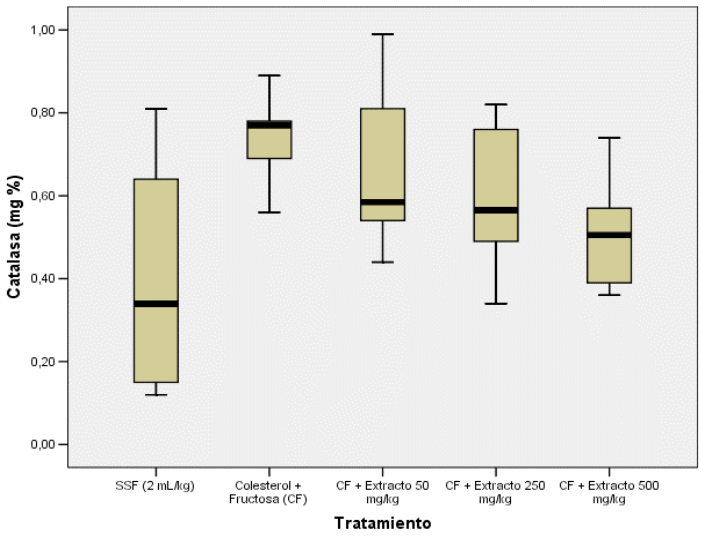


Figura N° 17 Catalasa (mg %), en sangre de rata
Fuente: Elaboración propia – 2021

Cuando observamos la figura N° 17 para la Catalasa (mg %), y se determina el IC al 95 % la mayor actividad antioxidante tuvo el Suero Fisiológico (SSF) 0,1±0,7 con una media 0,40, Colesterol + Fructosa (CF) 0,6±0,9 con un a media 0,74, CF + Extracto 50 mg/kg 0,4±0,9 con una media 0,66, CF + Extracto 250 mg/kg 0,4±0,8 con una media 0,59 y CF + Extracto 500 mg/kg de 0,4±0,7 con una media de 0,51. Anexo: Tabla N° 14.

4.3.4 Determinación de Malondialdehído (uM) en sangre de rata

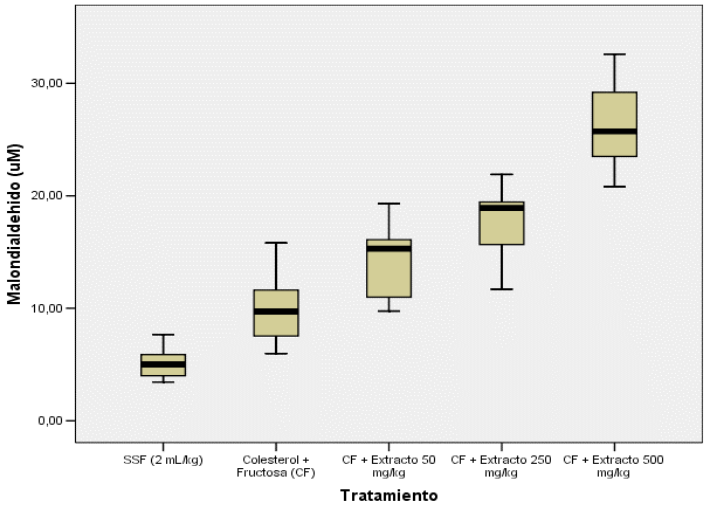


Figura N°18 Niveles de Malondialdehído (uM) en sangre de rata
Fuente: Elaboración propia – 2021

Cuando observamos la figura N° 18 para el Malondialdehído (uM), y se determina el IC al 95 % la mayor actividad antioxidante tuvo el Suero Fisiológico (SSF) 3,5±6,8 con una media 5,17, Colesterol + Fructosa (CF) 6,5±13,7 con un a media 10,07, CF + Extracto 50 mg/kg 10,8±18,2 con una media 14,46, CF + Extracto 250 mg/kg 14,0±21,5 con una media 17,75 y CF + Extracto 500 mg/kg de 21,7±30,8 con una media de 26,26. Anexo: Tabla N° 15

4.3.5 Determinación de Colesterol total (CT) (mg/dL) en sangre de rata

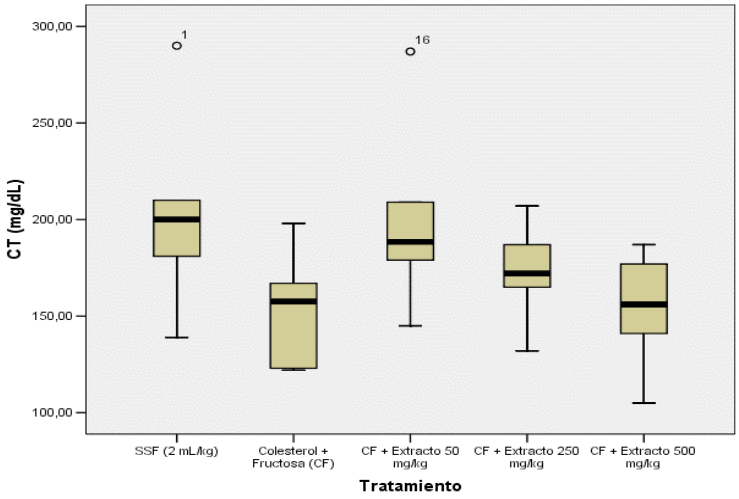


Figura N° 19 Colesterol total (CT) (mg/dL) en sangre de rata

Fuente: Elaboración propia – 2021

Cuando observamos la figura N° 19 para el colesterol total (CT) (mg/dL), cuando se determina el IC al 95 % la mayor actividad antioxidante tuvo el Suero Fisiológico (SSF) 151,5±255,2 con una media 203,33, Colesterol + Fructosa (CF) 123,7±184,7 con un a media 154,17, CF + Extracto 50 mg/kg 149,4±249,6 con una media 199,50, CF + Extracto 250 mg/kg 146,2±198,8 con una media 172,50 y CF + Extracto 500 mg/kg de 122,4±184,9 con una media de 153,67. Anexo: Tabla N° 16.

4.3.6 Determinación de Lipoproteínas de alta densidad o HDL (mg/dL), en sangre de rata

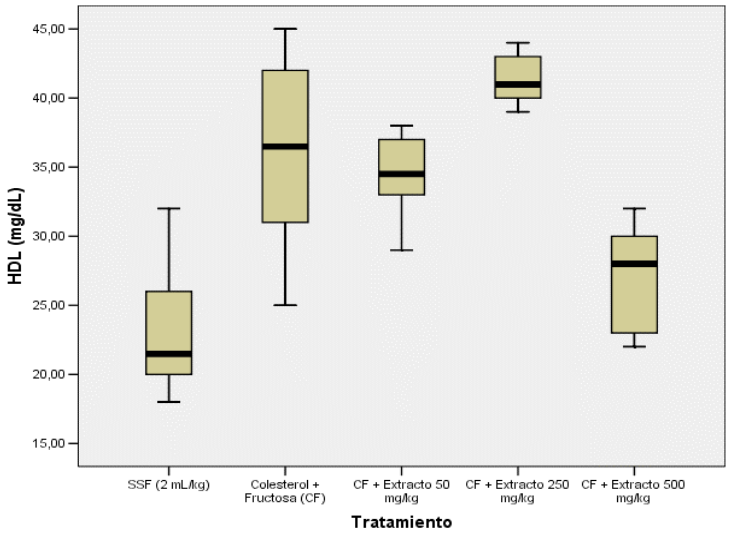


Figura N° 20 Lipoproteínas de alta densidad o HDL (mg/dL), en sangre de rata

Fuente: Elaboración propia – 2021

Cuando observamos la figura N° 20 para la Lipoproteínas de alta densidad (HDL) (mg/dL), cuando se determina el IC al 95 % la mayor actividad antioxidante tuvo el Suero Fisiológico (SSF) 17,8±28,5 con una media 24,17, Colesterol + Fructosa (CF) 28,0±44,0 con un a media 36,0, CF + Extracto 50 mg/kg 31,0±37,7 con una media 34,33, CF + Extracto 250 mg/kg 39,4±43,3 con una media 41,3 y CF + Extracto 500 mg/kg de 23,1±31,3 con una media de 27,17. Anexo: Tabla N° 17.

4.3.7 Determinación de Triglicéridos o TRI (mg/dL) en sangre de rata

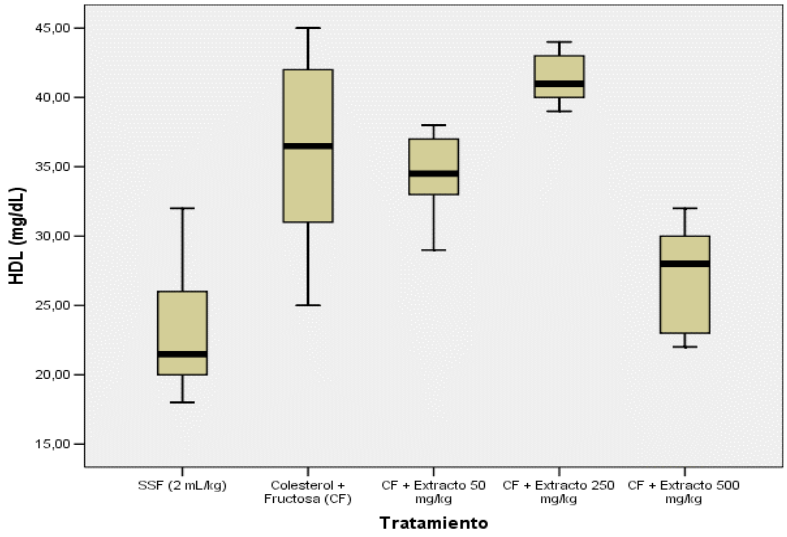


Figura N° 21 Triglicéridos o TRI (mg/dL) en sangre de rata
Fuente: Elaboración propia – 2021

Cuando observamos la figura N° 21 para los Triglicéridos (TRI) (mg/dL), cuando se determina el IC al 95 % la mayor actividad antioxidante tuvo el Suero Fisiológico (SSF) 164,2±201,4 con una media 182,83, Colesterol + Fructosa (CF) 153,3±185,4 con un a media 169,3, CF + Extracto 50 mg/kg 124,1±199,2 con una media 161,67, CF + Extracto 250 mg/kg 131,9±194,1 con una media 163,00 y CF + Extracto 500 mg/kg de 172,3±232,7 con una media de 202,50. Anexo: Tabla N° 18.

4.3.8 Determinación de Glucosa o GLU (mg/dL), en sangre de rata

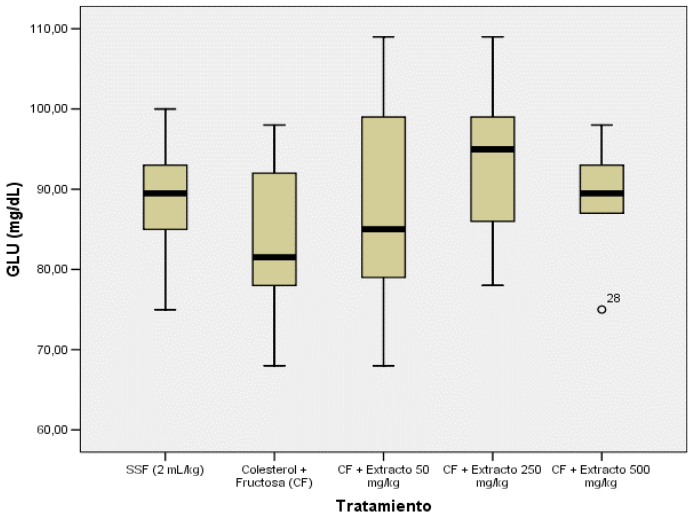


Figura N° 22 Glucosa o GLU (mg/dL), en sangre de rata
Fuente: Elaboración propia – 2021

Cuando observamos la figura N° 22 para la Glucosa (GLU) (mg/dL), cuando se determina el IC al 95 % la mayor actividad antioxidante tuvo el Suero Fisiológico (SSF) 79,8±97,5 con una media 88,65, Colesterol + Fructosa (CF) 71,9±94,4 con un a media 83,17, CF + Extracto 50 mg/kg 72,2±102,8 con una media 87,50, CF + Extracto 250 mg/kg 82,3±105,1 con una media 93,67 y CF + Extracto 500 mg/kg de 80,5±96,8 con una media de 88,67. Anexo: Tabla N° 19.

4.3.9 Determinación de Urea (U) (UI/dL), en sangre de rata

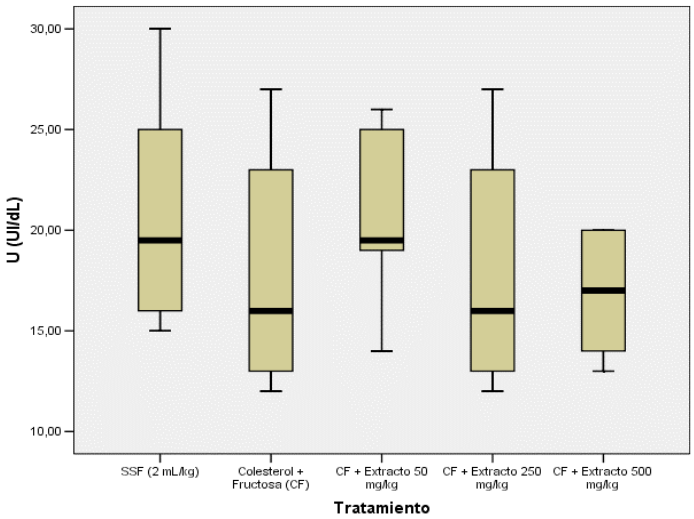


Figura N° 23 Urea (U) (UI/dL), en sangre de rata
Fuente: Elaboración propia – 2021

Cuando observamos la figura N° 23 para la Urea (U) (UI/dL), cuando se determina el IC al 95 % la mayor actividad antioxidante tuvo el Suero Fisiológico (SSF) 14,8±26,8 con una media 20,83, Colesterol + Fructosa (CF) 11,5±24,2 con un a media 17,83, CF + Extracto 50 mg/kg 15,9±25,1 con una media 20,50, CF + Extracto 250 mg/kg 11,5±24,2 con una media 17,83 y CF + Extracto 500 mg/kg de 13,5±20,2 con una media de 16,83. Anexo: Tabla N° 20.

Tabla N° 12 Análisis de varianza *In vivo* de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*

		Suma de cuadrados	df	MEDIA	F	Sig.
Glutatión reducido (mg %)	Entre grupos	2320,07	4,00	580,02	45,11	0,000
	Dentro de los grupos	321,44	25,00	12,86		
Superóxido dismutasa (U mL)	Entre grupos	8799101,47	4,00	2199775,37	6,87	0,001
	Dentro de los grupos	8009666,00	25,00	320386,64		
Catalasa (mg %)	Entre grupos	0,42	4,00	0,10	2,84	0,046
	Dentro de los grupos	0,92	25,00	0,04		
Malondialdehido (uM)	Entre grupos	1532,51	4,00	383,13	32,89	0,000
	Dentro de los grupos	291,26	25,00	11,65		
CT (mg/dL)	Entre grupos	13710,47	4,00	3427,62	2,42	0,075
	Dentro de los grupos	35412,50	25,00	1416,50		
HDL (mg/dL)	Entre grupos	1254,87	4,00	313,72	13,95	0,000
	Dentro de los grupos	562,33	25,00	22,49		
TRI (mg/dL)	Entre grupos	7006,47	4,00	1751,62	2,48	0,070
	Dentro de los grupos	17673,00	25,00	706,92		
GLU (mg/dL)	Entre grupos	336,33	4,00	84,08	0,73	0,580
	Dentro de los grupos	2878,33	25,00	115,13		
U (UI/dL)	Entre grupos	76,53	4,00	19,13	0,71	0,595
	Dentro de los grupos	676,83	25,00	27,07		

Fuente: Elaboración propia – 2021

CAPÍTULO V. DISCUSION

La composición fitoquímica general del extracto acuoso de las hojas del yacón cultivado en la sierra, mostramos en la tabla N° 04 los siguientes resultados: presencia del grupo de aminos libres, flavonoides, compuestos fenólicos, compuestos grasos, triterpenos, esteroides, saponinas. Coincidiendo con otros estudios realizados en el análisis del estudio fitoquímico a nivel cualitativo en el extracto acuoso de las hojas del yacón.[22,23,27,43,45,47] También, refieren de haber encontrado principales compuestos fenólicos y flavonoides individuales de las hojas de yacón; aunque no es tema del trabajo pero se da a conocer en la investigación realizada donde destaca que se determinó que las hojas de yacón contenían cantidades de ácido caseico, ácido clorogénico, ácido ferrulico, miricetina, acido p-cumarinico y rutina.[23,40,41]

En cuanto el efecto antioxidante *In vitro* del extracto acuoso de las hojas de yacón, se realizó el análisis mediante tres métodos:

Para la evaluación estadística primero se realizó la Pruebas de Normalidad donde se describen dos pruebas de normalidad, la de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. El tamaño de muestra del estudio es menor de 50 unidades muestrales por eso se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. Indica que si el "p-valor es menor a 0,05" podemos decir que la prueba no proviene de una distribución normal, si en nuestra prueba el "p-valor es mayor a 0,05" podemos confirmar que nuestra muestra si proviene de una distribución normal.

En la tabla N° 05 de normalidad de la concentración de 30 mg/mL el p-valor (p-valor 0,174); 15 mg/mL (p-valor 0,637); 7,5 mg/mL (p-valor 0,637); 3,75 mg/mL (p-valor 0,363) y 1,875 mg/mL (p-valor 0,637) podemos confirmar que nuestros resultados p-valor es mayor a 0,05 por lo tanto, los resultados del ensayo presentan distribución normal.

Para la determinación la contrastación de la presente hipótesis específica se usó el estadístico de prueba de ANOVA, pruebas estadísticas paramétricas, ya que la distribución de los resultados es normal. En la tabla Nº 06 del FRAP, los resultados de los valores del p - valor de la actividad antioxidante en el ANOVA dieron como resultado

con un valor menor a 0,05 (p<0,05) (estadísticamente significativo) por lo tanto los valores de la actividad antioxidante fueron menores en comparación con el control negativo (agua), por consiguiente, el extracto acuoso del tiene actividad antioxidante en las concentraciones de 30 mg/mL con un (IC al 95% 0,70165 ± 0,72901) y DS = 0,006; 15mg/mL con un (IC al 95% 0,62787 ± 0,63546) y DS = 0,002; 7,5 mg/mL con un (IC al 95% 0,58054 ± 0,58813) y DS =0,003; 3,75 mg/mL con un (IC al 95% 0,53643 ± 0,54957) y DS = 0,003 y 1,875 mg/mL con un (IC al 95% 0,43908 ± 0,45426) y DS = 0,003, *In vitro*.

En la figura N° 10 de caja de bigote de los valores de la actividad antioxidante del ABTS, se puede observar que el resultado que el mayor efecto antioxidante se obtuvo con la concentración de extracto acuoso de 30mg/mL.

En la tabla N° 07 de normalidad de la concentración de 10 mg/mL el p-valor (p-valor 0,114); 5 mg/mL (p-valor 1,000); 2,5 mg/mL (p-valor 0,637); 1,25 mg/mL (p-valor 0,363) y 0,625 mg/mL (p-valor 0,637) podemos confirmar que nuestros resultados p-valor es mayor a 0,05 por lo tanto, los resultados del ensayo presentan distribución normal.

En la tabla Nº 08 del DPPH, los resultados de los valores del p - valor de la actividad antioxidante en el ANOVA dieron como resultado un valor menor a 0,05 (p<0,05) (estadísticamente significativo) por lo tanto los valores de la actividad antioxidante fueron menores en comparación con el control negativo (agua), por consiguiente, el extracto acuoso del tiene actividad antioxidante en las concentraciones de 10 mg/mL con un (IC al 95% 0,56150 ± 0,60317) y DS =0,008; 5mg/mL con un (IC al 95% 0,37806 ± 0,39794) y DS =0,004; 2,5 mg/mL con un (IC al 95% 0,28690 ± 0,28977) y DS =0,0006; 1,25 mg/mL con un (IC al 95% 0,19043 ± 0,20357) y DS = 0,003 y 0,625 mg/mL con un (IC al 95% 0,09008 ± 0,10526) y DS = 0,003, *In vitro*.

En la figura N° 11 de caja de bigote de los valores de la actividad antioxidante del DPPH, se puede observar que el resultado que el mayor efecto antioxidante se obtuvo con la concentración de extracto acuoso de 10mg/mL.

En la tabla N° 09 de normalidad de la concentración de 10 mg/mL el p-valor (p-valor 0,637); 5 mg/mL (p-valor 0,637); 2,5 mg/mL (p-valor 0,637); 1,25 mg/mL (p-valor 0,220) y 0,625 mg/mL (p-valor 0,817) podemos confirmar que nuestros resultados p-valor es mayor a 0,05 por lo tanto, los resultados del ensayo presentan distribución normal.

En la tabla Nº 10 del ABTS, los resultados de los valores del p - valor de la actividad antioxidante en el ANOVA dieron como resultado un valor menor a 0,05 ($p<0,05$) (estadísticamente significativo) por lo tanto los valores de la actividad antioxidante fueron menores en comparación con el control negativo (agua), por consiguiente, el extracto acuoso tiene actividad antioxidante en las concentraciones de 10 mg/mL con un (IC al 95% 0,60587 ± 0,61346) y DS =0,002; 5mg/mL con un (IC al 95% 0,39554 ± 0,40313) y DS =0,002; 2,5 mg/mL con un (IC al 95% 0,26187 ± 0,26946) y DS =0,002; 1,25 mg/mL con un (IC al 95% 0,18634 ± 0,22966) y DS =0,009 y 0,625 mg/mL con un (IC al 95% 0,14569 ± 0,17564) y DS =0,006, *In vitro*.

En la figura N° 12 de caja de bigote de los valores de la actividad antioxidante del ABTS, se puede observar que el resultado que el mayor efecto antioxidante se obtuvo con la concentración de extracto acuoso de 10mg/mL.

Por ello, la Actividad antioxidante por los métodos de FRAP, DPPH y ABTS de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de yacón equivalente a mM de Trolox, se observa en las figuras Nº 13 y 14 de los tres métodos con la misma tendencia de la actividad antioxidante tanto para FRAP, DPPH y ABTS, para el FRAP en la concentración del extracto de 30 mg/mL fue 0,997 de Equivalente en mM Trolox, para DPPH para 10 mg/mL fue 1,031 de Equivalente en mM Trolox y por último para ABTS para 10 mg/mL fue 0,948 de Equivalente en mM Trolox. Y analizando los tres métodos no presentaron diferencias significativas ($p<0,05$) por lo que los resultados del efecto antioxidante son muy homogéneos.

La correlación positiva es igual para el FRAP y DPPH con una ligera diferencia a comparación de ABTS siendo estadísticamente homogénea alrededor de la ecuación de regresión para los tres métodos, estos resultados obtenidos nos permiten comparar con Khajehei F. (2017) El investigador ratifica la interacción de tres vías de las variables del

proceso “método de extracción por cultivar de yacón por edad de hojas” influyeron en el rendimiento de la extracción, TPC, TFC ABTS, y la actividad de barrido de radicales DPPH y FRAP, significativamente ($p<0,05$)[23]. Sugahara Sh*, et. al.* (2015) también encontraron similares resultados para los extractos de metanol, etanol y acetato de etilo, en cambio para el extracto acuoso ha destacado un mayor poder reductor preparado en agua caliente = 28,1 ug/mL, radical catiónico 2,2’-azinobis – ácido 3-etilvenzotiazolina-6-sulfónico, EC_{50} = 23,7 mg/mL, radical galvinoxilo (EC_{50} = 3,06 ug/mL) y radical catiónico clorpromazina EC_{50} = 475 ug/mL”.[10] Ruso D, *et. at*. (2015) en la muestra con el extracto de metanol de las variedades locales PER09, PER04 y ECU44 exhibió el índice de capacidad antioxidante relativa (RACI) más alto.[28,29] De Andrade F, (2014) con la extracción por decocción de las hojas mostró los valores más altos de fenoles y flavonoides totales, con 42,20 mgGAE/gdw y 39,71 mgRE/gdw, respectivamente. Ácido gálico (3,4, El ácido 5-trihidroxibenzoico) y la rutina (trihidroxidrato de quercetina-3-rutinósido) fueron los compuestos fenólicos más abundantes en los extractos de hojas (1,97 y 2,81 mg/gdw, respectivamente).[43] Por otro lado, también Vargas – Tineo O. (2021) Confirma que el efecto hipoglucemiante comparado del extracto acuoso *S. Sonchifolius* y *el M oleífera,* y la metformina presentaron similar efecto hipoglucemiante de las ratas de experimentación con diabetes inducida.[18] Así mismo, Zuloeta D. *et. al.* (2016) trabajando con un estudio anatomopatológico del páncreas de ratones albinos inducidos con aloxano para DM2, se demostró el efecto citotóxico y malformaciones de las células estructurales y destrucción de los islotes de Langerhans “células alfa y beta”. Reafirmándose, que cuando se realiza un consumo de 100 gramos de yacón en ratones albinos inducidos a DM2 disminuye durante un periodo de 34 días significativamente el nivel de la glicemia.[19] coincidiendo el efecto antioxidante de las hojas de yacón con la investigación.

Con respecto a los parámetros bioquímicos de los antioxidantes *In vivo* del extracto acuoso de las hojas del yacón, los resultados obtenidos *In vivo* en las ratas a nivel de grupos confirman su efecto antioxidante mediante la Glutatión reducido (GSH) (mg %)= valor promedio testigo 6,21 entre el valor al C-F + Extracto 500 mg/kg = 24,66 % (3,97 veces), SODE (UmL) = valor promedio testigo 666,21 entre el valor al C-F + Extracto 500 mg/kg = 2087,17 (3,13veces); CAT (mg%) = valor promedio testigo 0,4 entre el valor al C-F + Extracto 500 mg/kg = 0,51% (1,28 veces), MDA (uM) = valor promedio testigo

4,59 entre el valor al C-F + Extracto 500 mg/kg = 26,26 (5,72 veces), CT (mg/dL) = valor promedio testigo 203,33 entre el valor al C-F + Extracto 500 mg/kg = 153,67 (0,76 veces), HDL (mg/dL) = valor promedio testigo 23,17 entre el valor al C-F + Extracto 500 mg/kg = 27,17 (1,17 veces), TRI (mg/Dl) = valor promedio testigo 182,83 entre el valor al C-F + Extracto 500 mg/kg = 202,50 (1,11 veces), G (mg/dL) = valor promedio testigo 88,67 entre el valor al C-F + Extracto 500 mg/kg = 93,67 (1,06 veces) y U (UI/dL) = valor promedio testigo 20,83 entre el valor al C-F + Extracto 500 mg/kg 16,83 (1,24 veces); ($p<0,05$). a diferencia de los demás extractos. Anexo: Tabla N°12. Se observó en la Figura N°16 para Superóxido dismutasa (U mL), y se determina el IC al 0,95% la mayor actividad antioxidante tuvo el CF + Extracto 250 mg/kg de 1001,92 ± 2665,08 con una media de 1833,50 a diferencia del extracto CF + Extracto 500 mg/kg de 1714,89 ± 2459,44 con una media de 2087,17. Anexo: Tabla N°13. Se observó en la figura N°17 para la Catalasa (mg%), y se determina el IC al 95% la mayor actividad antioxidante tuvo el CF + Extracto 50 mg/kg de 0,44 ± 0,87 con una media de 0,66 a diferencia del extracto Fructuosa + colesterol (CF) de 0,63 ± 0,86 con una media de 0,74. Anexo: Tabla N°14. Se observó en la figura N° 18 para el Malondialdehído (uM), y se determina el IC al 95% la mayor actividad antioxidante tuvo el CF + Extracto 500 mg/kg de 21,70 ± 30,83 con una media de 26,26 a diferencia de los demás extractos. Anexo: Tabla N°18. Estas similitudes se pueden verificar con Manzur Ch. (2013) el extracto acuoso liofilizado de las hojas de yacón a dosis de 38mg/kg de peso evidencio ser más efectiva que la dosis de 19mg/kg de peso reduciendo los niveles séricos de glucosa en un porcentaje de 16,64% y 26,83% a las 24 horas en una comparación con el control positivo de glibenclamida 5mg/kg de peso que fue de 12,8%.[21] Ahangarpour A, *et. al.* (2019) concluyen que todos estos metabolitos secundarios tienen potentes efectos antidiabéticos y antioxidantes de diferentes maneras, como las propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas del ácido elágico, o las actividades antiangiogénicas y apoptogénicas de la curcumina.[30] Broetto A, *et. al.* (2016) menciona en el estudio que realizó que el extracto de raíz también fue más eficaz para restaurar la actividad de al menos dos importantes enzimas antioxidantes (glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y glutatión peroxidasa). En cuanto a la carga antioxidante (que fue 17 veces menor en el tratamiento con extracto de raíz), la acción *in vivo* del extracto de raíz fue más efectiva que la del extracto de hoja para reducir el estrés oxidativo hepático que acompaña a la diabetes.[31] Ueda Y, *et. al.* (2019) en las hojas calentadas, el contenido de ácido cafeíco era de 2,13 a 3,64 veces mayor y el contenido

de ácido clorogénico fue ligeramente inferior al de las hojas no calentadas. Determinando que el procesamiento térmico puede afectar el contenido de componentes activos en las hojas de yacón, potenciando su capacidad antioxidante.[45] acercándose a la similitud a los estudios realizados se puede mencionar que se liofilizó las hojas de yacón para ser aplicado a las ratas en el experimento *In vivo*, al mismo tiempo revisando la teoría de la glucolisis y su inhibición por el extracto acuoso de yacón podría aumentar la glucemia por disminuir el uso de la glucosa por las células hepáticas, enmascarando así su efecto antidiabético inhibidor de la gluconeogénesis.

Las principales funciones de la vía de las pentosas fosfato es generar poder reductor en forma de NADPH, lo cual ayuda a la regeneración del glutatión, especialmente para combatir el estrés oxidativo en la diabetes mellitus 2, a consecuencia de la activación de la vía de las pentosas fosfato, el extracto acuoso de yacón muy posible ha incrementado los niveles hepáticos de la glutatión reducida (GSH) y disminuyo el glutatión oxidado (GSSG) y la relación GSSG/GSH, por ello se mejoró el estrés oxidativo en la resistencia a la insulina inducida por una dieta rica de fructosa más colesterol. Donde las células han desarrollado un sistema equilibrado para neutralizar las ROS adicionales, es decir, sistemas antioxidantes que consisten en antioxidantes enzimáticos como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasas (GPxs), tiorredoxina (Trx), así como los no -antioxidantes enzimáticos que colectivamente reducen el estado oxidativo,[55] cabe destacar que el extracto acuoso de yacón también causo un incremento de GSH en IC=20,8 ± 34,8 en ratas, así demostrándose que posee propiedades antioxidantes ante sus características antidiabéticas.

El metabolismo de la fructosa en su mayoría, se metaboliza en el hígado y la otra parte repone el gasto de glucógeno hepático, así como también pasa a la síntesis de ácidos grasos, en cambio la ingesta de glucosa atraviesa el hígado y se dirige al musculo donde se descarga para producir CO_2, H_20 y ATP.[78] en cambio los productos del metabolismo de la fructosa son el glucógeno hepático, los ácidos grasos y los triglicéridos.[85] La activación de la vida de pentosas fosfato por el extracto acuoso de yacón cuando son alimentadas a las ratas y que estas hayan sido sometidas a una alimentación de fructosa + colesterol conduce a una normalización de los niveles de glutatión y su manifestación será la mejora del estrés oxidativo en la resistencia a la insulina. Ver anexo N°23. Existe

la necesidad de estudios de detección para identificar el modo de acción de diferentes compuestos antioxidantes (además de enzimáticos y no enzimáticos, comparando entre compuestos antioxidantes sintéticos y naturales) mediante diferentes ensayos, además de resaltar la ventaja y la desventaja de ello,[105] cuando se describe que el consumo de fructosa + colesterol aumenta la lipogénesis de novo, promoviendo eficientemente la deposición de lípidos en el tejido adiposo blanco, produciendo una dislipidemia y la alteración de la remodelación de las lipoproteínas y la disminución de la sensibilidad a la insulina.

En cuanto a los niveles bioquímicos (glucosa, insulina, perfil lipídico, urea, total) en ratas con inducción de estrés oxidativo por la fructuosa más colesterol encontrados en los grupos de animales sometidos a un estrés oxidativo, después de haber sido inducidos al estrés oxidativo con el colesterol + fructuosa y luego revertir el estrés oxidativo con el extracto de las hojas de *S. sonchifolius* se realizó la comparación con el grupo control (suero fisiológico), observando en la Figura N° 19 para el total (CT) (mg/dL), cuando se determina el IC al 95% la mayor actividad antioxidante tuvo el CF + extracto 50 mg/kg de 149,43 ± 249,57 con una media de 199,50 a diferencia del extracto CF + extracto 250 mg/kg de 146,17 ± 198,83 con media de 172,50. Anexo: Tabla N°16. Cuando observamos la Figura N° 20 para las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (mg/dL), cuando se determina el IC al 95% la mayor actividad antioxidante tuvo el CF + extracto 250 mg/kg de 39,38 ± 43,29 con una media de 41,33 a diferencia de los demás extractos. Anexo: Tabla N°17. Cuando observamos la Figura N° 21 para los triglicéridos (TRI) (mg/dL), cuando se determina el IC al 95% la mayor actividad antioxidante tuvo el CF + extracto 500 mg/kg de 172,33 ± 232,67 con una media de 202,50 a diferencia de los demás extractos. Anexo: Tabla N° 18. Cuando observamos la Figura N° 22 para la glucosa (GLU)/mg/dL), cuando se determina el IC al 95% la mayor actividad antioxidante tuvo el CF + extracto 250 mg/kg de 82,27 ± 105,06 con una media de 93,67 a diferencia de los demás extractos. Anexo: Tabla N° 22. Cuando observamos la Figura N° 23 para la Urea (U) (UI/dL), cuando se determina el IC al 95% la mayor actividad antioxidante tuvo el CF + extracto 50 mg/kg de 15,87 ± 25,13 con una media de 20,50 a diferencia de los demás extractos. Anexo: Tabla N°20. Todo esto se produce cuando las especies de oxígeno reactivo intracelular (ROS) conducen al estrés oxidativo y se eleva desde las mitocondrias, así como por la activación de cinco vías principales: aumento del flujo de

la vía del poliol, activación de la vía de la proteína quinasa C (PKC), aumento de la formación de extremo de glicación avanzada (AGE), actividad excesiva de la vía de la hexosamina y aumento de la producción de angiotensina II. El incremento de ROS a través de estas vías conduce a la disfunción de las células β y a la resistencia a la insulina, responsables del daño y la muerte celular.[48] Pero con los resultados encontrados y coincidencias con el estudio de Vargas – Tineo O. (2021) Se observó la reducción de la glicemia en los tratamientos: para el caso *S. Sonchifolius* encontró un p (p= 0,002), siendo semejante a la metformina (p=0,002); encontrando 313 mg/dL, 281,5 mg/dL y 415 mg/dL. Cuando se compara la glicemia en los grupos tratados y control, observo que a las 24 horas y 4 días de tratamiento no hubo diferencia (p>0,05), mientras que el octavo (p<0,05) y décimo quinto día (p<0,01), los grupos tratados obtuvieron menor glicemia respecto al control, pero similar entre ellos. Zuloeta D. *et. al.* (2016) los resultados muestran que el grupo con tratamiento el nivel de glucosa inicial inducida fue 135,30 mg/dl, reducido a 107,70 mg/dL, a un nivel de confianza al 99 %, presentó diferencia estadística significativa respecto al valor tabulado de (p<01). La glucosa inicial y final del control fue 130,60 mg/dL y 151,45 mg/dL respectivamente. Ueda Y, *et. al.* (2019) Las hojas de yacón liofilizadas calentadas a 160 °C durante 20 min y 100 °C durante 60 min tenían un contenido fenólico total de 1,96 a 9,69 veces mayor que el de las hojas no calentadas. Las hojas calentadas exhibieron una capacidad antioxidante de 1,98 a 4,07 veces mayor que la de las hojas no calentadas en tres ensayos diferentes de eliminación de radicales libres.[45] Zambrana S, *et. al.* (2021) encontraron en los extractos de EtOH70 mejoraron la tolerancia a la glucosa evaluada mediante el OGTT en ratones en ayunas durante 12 horas. La caracterización cualitativa fitoquímica de los extractos de EtOH70 detectó ácidos fenólicos y flavonoides en *Amaranthus caudatus* (AC), *Chenopodium pallidicaule* (CP) y *Chenopodium quinoa* (CQ); alcaloides en *Lupinus mutabilis* (LM) y antocianidinas en *Smallanthus sonchifolius* (SS). Ninguno de los extractos de EtOH70 ensayados mostró toxicidad aguda in vitro o in vivo en las concentraciones en las que presentan efectos de disminución de la glucosa. Concluyendo que el extracto de yacón presenta un efecto reductor de la glucosa y concordando con la investigación que cuando se calienta el extracto de las hojas de yacón se incrementa el poder antioxidante.[22]

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

Se ha demostrado el efecto antioxidante del extracto acuoso de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* al ser administrado por vía oral en ratas con estrés oxidativo por fructosa más colesterol. Estos resultados corroboran que las hojas de yacón es un buen candidato para su uso como complemento alimenticio en la prevención de enfermedades crónicas que motivan el estrés oxidativo.

El análisis fitoquímico del extracto de las hojas del *Smallanthus sonchifolius* reveló la presencia del grupo de aminos libres, flavonoides, compuestos fenólicos, compuestos grasos, triterpenos - esteroides y saponinas.

El extracto acuoso de mayor actividad antioxidante *In vitro* fue el CF + Extracto 500 mg/kg a diferencia de los demás parametros del extracto acuoso de las hojas del *Smallanthus sonchifolius*.

Los parámetros bioquímicos encontrados *In vivo* fueron mediante el IC95% con CF + Extracto 500 mg/kg, quienes comparados con los valores obtenidos a partir del grupo control, reportan para (GSH) (mg %) = 24,66%(3,97veces); SODE (UmL) = 2087,17(3,13veces); CAT (mg%) = 0,51% (1,28veces); MDA(uM) = 26,26 (5,72veces); en ratas con inducción de estrés oxidativo por fructosa más colesterol.

A nivel bioquímico, el extracto acuoso de las hojas *Smallanthus sonchifolius,* incrementó los niveles de insulina y se registró con un IC95%, así comparandose los valores obtenidos a partir del grupo control, siendo para: CT (mg/dL) = 153,67(0,76veces); HDL (mg/dL) = 27,17(1,17veces); TRI(mg/Dl) = 202,50(1,11veces); G(mg/dL) = 93,67(1,06 veces) y U (UI/dL) = 16,83(1,24veces), en ratas con inducción de estrés oxidativo por fructosa más colesterol.

CAPITULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OPS/PER. Situación de las plantas medicinales en Perú, Grupo técnico de expertos en plantas medicinales. 2018. OPS/OMS. Lima-Perú. [Internet]. OPS; Recuperado de: https://iris.paho.org/handle/10665.2/50479
2. Maldonado C, Paniagua N, Bussmann R, Zenteno F, Fuentes A. La importancia de las plantas medicinales, su taxonomía y la búsqueda de la cura a la enfermedad que causa el coronavirus. (COVID-19). [Internet]. Ecología en Bolivia. 2020[consultado 2020 Nov 22];55(1):1-5. Disponible en: URL: http://www.scielo.org.bo/pdf/reb/v55n1/v55n1_a01.pdf
3. Farzaneh V, Carvalho I. A review of the health benefit potentials of herbal plant infusions and their mechanism of actions. Ind. Crops Prod. 2015, 65, 247–258. http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.057
4. Ribas-Agustí A, Martín-Belloso O, Soliva-Fortuny R, Elez-Martínez P. Food processing strategies to enhance phenolic compounds bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2017, 1–18. doi: 10.1080/10408398.2017.1331200.
5. Caballero L, Colonia A. Yacón como planta promisoria en el manejo de enfermedades. [Internet]. FUNANDI. 2018[consultado 2019 Set 22];20(36):145-157. Disponible en: URL: https://www.redalyc.org/journal/2390/239059788010/htmL/
6. Oliveira R, Chagas-Paola D, Secatto A, Gasparoto T, Faccioli L, *et. al.* Topical anti-inflammatory activity of yacon leaf extracts. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2013; 23(3): 497-505. https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000032
7. Maldonado C, Barnes C, Cornett E, Holmfred S, Hansen C. et. al. Phylogeny predicts the quantity of antimalarial alkaloids within the iconic yellow Cinchona Bark (Rubiaceae: *Cinchona calisaya*). Frontiers en plant Science. 2017;8(391):1-16. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00391
8. Caetano B, Moura N, Almeida A, Dias M, Sivieri K, Barbisan L. Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) como complemento alimenticio: beneficios de los fructooligosacáridos que promueven la salud. Nutrientes. 2016:8 (7): 436. doi: 10.3390/nu8070436.
9. Yan M, Welch R, Rush E, Xin W. Un alimento sano sostenible; Efectos sobre la salud y posibles aplicaciones dietoterapéuticas del yacón. Nutrientes. 2019:11(11): 2632. doi: 10.3390/nu11112632.
10. Sugahara S, Ueda Y, Fukuhara K, Kamamuta Y, Matzuda Y. Efectos antioxidantes de las hojas de té de hierbas de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en multiples ensayos de radicales libres y de poder reductos, especialmente en diferentes sistemas de generación de radicales libres anionicos soperóxido. 2015;80(11):C2420-C2429. https://doi.org/10.1111/1750-3841.13092
11. Arumugam G, Manjula P, and Paari N. Una revisión: Plantas medicinales antidiabéticas utilizadas para la diabetes mellitus. Journal of Acute Disease. 2013:2(3):196-200. doi:10.5672/FC.2173-9218. (2015/Vol7).004.05
12. Maidana G, González Y, Degen R. Plantas medicinales empleadas por pacientes diabéticos en Paraguay. Rev. Infarma. 2016:27(4);70-77. Doi: 10.18004/Mem.iics/1812-9528/2018.016(02)06-011
13. Soria N, Ramos P. Uso de plantas medicinales en la Atención Primaria de Salud en Paraguay: algunas consideraciones para su uso seguro y eficaz. Mem Salud

[Internet] Inst Investig 2015:13(2):08-17. doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2015.013(02)08-017
14. Acosta-Recalde P, Zully G, Macarena G, Samaniego L. Uso de plantas medicinales y fitoterápicos en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud. 2018:16(2);6-11. Doi: 10.18004/Mem.iics/1812-9528/2018.016(02)06-011
15. Bussmann R, Sharon D. Plantas Medicinales de los Andes y la Amazonía – La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú. [Internet]. Trujillo. Centro William L. Brown – Jardin Botánico de Missouri. Editorial Rainer W. Bussmann – Douglas Sharon. 2015. [consultado 2021 Ago 18];.Disponible en: URL: file:///C:/Users/GIGABYTE/Downloads/plantasmedicinales_espaol_secure%20(1).pdf
16. Yan M, Welch R, Rush E, Xiang X, Wang X. Un producto alimenticio saludable y sostenible; Efectos sobre la salud y posibles aplicaciones dietéticas del yacón. 2019.1(11):2632. DOI: 10.3390 / nu11112632.
17. Valentova K, at. Al. The effect of *Smallanthus sonchifolius* leaf extract on rat hepatic metabolism. Cell Biol Toxicol. 2004;20(2):109-120. DOI: 10.1023/b:cbto.0000027931.88957.80
18. Vargas-Tineo O, Segura-Muñoz D, Becerra-Gutiérrez L, Amado-Tineo J, Silva-Díaz H. en su estudio Efecto hipoglicemiante de *Moringa oleifera* (moringa) comparado con *Smallanthus sonchifolius* (yacón*) en Rattus norvegicus* con diabetes *mellitus* inducida. Lima- Perú. *Rev. Perú. med. exp. Salud.* **2021:***37(3)07-09. http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2020.373.5275*
19. Zuloeta D. Mejía A. Efecto hipoglucemiante del consumo de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en ratones diabéticos tipo 2 inducidos con aloxano, Lima -2015. Tesis. Universidad Peruana Unión. Lima – Perú. DOI**:** https://doi.org/10.17162/rccs.v9i1.549
20. Bermúdez L. Evaluación fitoquímica y comparación del efecto hipoglucemiante de extractos acuosos de Gentianella bicolor (Wedd.) Fabris ex J.S. *Pringle, Gentianella nitida*, *Gentianella chamuchui* y *Smallanthus sonchifolius* en Rattus. 2015. [Tesis doctoral]. Universidad Nacional de Trujillo - Perú. Disponible en: URL:https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1033/Ludisleydis%20Bermudez%20Diaz%20-%20Cs.%20Biomedicas.pdf?sequence=1&isAllowed=y
21. Manzur Ch. Actividad hipoglicemiante *In vivo* del extracto acuoso liofilizado de hojas de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en ratas albinas de Holtzman - EsSalud – 2013. [Tesis de Pregrado]. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana URL: https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/4291/Charly_Tesis_Titulo_2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y
22. Zambrana S, Mamani O, Canaviri M, Gutierrez M, Cartina S, *et. al.* Efectos reductores de la glucemia de las plantas nutracéuticas bolivianas. Ars Pharm. 2021;62(1):52-65. doi: 10.30827/ars.v62i1.15456
23. Khajehei F, Niakousari M, Seidi M, Merkt N, Claupein W. *et. al.* Impact of Ohmic-Assisted Decoction on Bioactive Components Extracted from Yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp.) Leaves: Comparison with Conventional Decoction. Molecules. 2017;23;22(12):2043. doi:10.3390/molecules22122043.
24. Toro D, Leite de Andrade L, Montenegro T, Da Silva D, Gomes T, Souza de Limas G. Caracterización fisicoquímica y sensorial del jugo mixto de yacón con propiedades bioactivas.[Internet] Ciência Rural 2022[consultado 2020 Jul 12];52(6). https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210140.

25. Sánchez S, Genta S. Yacón un potencial producto natural para el tratamiento de la diabetes. [Internet]. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. [Internet]. Universidad de Santiago de Chile. 2007[consultado 2021 Jul 10];6(5):162-164. Disponible en: URL: https://www.redalyc.org/pdf/856/85617508014.pdf
26. Simonovska B, Vovk I, Andrnsek S, Valentona K, Ulrichova J. Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. J Chromatogrr A 2003;1016:89-98. doi: 10.1016/s0021-9673(03)01183-x.
27. Valentova K, Ladislav C, Muck A, Ulrichova J, Simanek V. Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. Eur J. Nutr 2003;42:61-66. doi: 10.1007/s00394-003-0402-x.
28. Ruso D, Malafronte N, Frescura D, Imbrenda G, Faraón Y, Milella L, *et. al*. Actividades antioxidantes y análisis cuali-cuantitativo de diferentes extractos de razas locales de *Smallanthus sonchifolius* [(Poepp. y Endl.) H. Robinson]. Res. de producción nacional. 2015;29(17):1673-7. doi: 10.1080/14786419.2014.990906.
29. Ruso D, Valentão P, Andrade P, Fernández E, Milella L. Evaluación de las actividades antioxidantes, antidiabéticas y anticolinesterásicas de variedades locales de *Smallanthus sonchifolius* y correlación con sus perfiles fitoquímicos. Int J Mol Sci. 2015:16 (8): 17696-718. doi: 10.3390/ijms160817696.
30. Ahangarpour A, Sayahi M, Sayahi M. Las propiedades antidiabéticas y antioxidantes de algunos fitoquímicos fenólicos. Diabetes Metab Syndr. 2019:13(1):854-857. doi: 10.1016/j.dsx.2018.11.051.
31. Broetto A, Marques M, Wundt N, Moreira J, Vizioli C, Amado B. Las capacidades antioxidantes in vitro de los extractos hidroalcohólicos de las raíces y las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) no se corresponden con su acción antioxidante in vivo en ratas diabéticas. Scientific Research Publishing, 2016:4(15), 13. http://dx.doi.org/10.4236/jbm.2016.42003.
32. Valderrama M. Manual del Cultivo de yacón. [Internet]. Pymagros. Cajamarca-Perú. Edición. 2006[consultado 2020 Jun 15]; 47p. Disponible en: URL: http://www.asocam.org/sites/default/files/publicaciones/files/74455093814a213d6976637f4f71ad5f.pdf
33. De Almeida P, Abranches, M, de Luces C, Yacón (*Smallanthus sonchifolius*): un alimento con múltiples funciones. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2015, 55, 32–40. DOI: 10.1080/10408398.2011.645259
34. Mercado-Mercado G, De la Rosa L, Wall-Medrano A, López J, Álvarez-Parrilla E Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. 2013;28(1):36-46. https://dx.doi.org/10.3305/nh.2013.28.1.6298.
35. Choque G, da Silva W, Marostica M, Pastore G. Yacón (*Smallanthus sonchifolius*): A Functional Food. Plant Foods Hum Nutr 2013;68(3):222-228. DOI: 10.1007/s11130-013-0362-0
36. Kamimura G. Isolamento, purificação e caracterização da peroxidase de yacón (*Smallanthus sonchifolius*). [Tesis de Maestría]. Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006. URL: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/88623/kamimura_gkf_me_arafcf.pdf?sequence=1&isAllowed=y
37. Castañeda B, Castro de la Mata R, Manrique R, Ibánez L, Fujita R, Barnett, *et al.* Estudio fitoquímico y farmacológico de 4 plantas con efecto hipoglicemiante. Horiz Med. 2008;8(1):6-34. https://medicina.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2008_1/Art1_Vol08_N1.pdf

38. Días M, Pinto D, Silvas A. Flavonoides Vegetales: Características Químicas y Actividad Biológica. Moléculas. 2021; 26 (17): 5377. doi: 10.3390/moléculas26175377.
39. Charcape M, Palacios C, Mostacero J. Plantas medicinales nativas de la región Piura. [Internet].Ed. JDE & SERVICE. Piura – Perú. IRCTI. Gobierno Regional. 2010[consultado 2021 Set 15]. Disponible en: URL: https://www.researchgate.net/publication/322287490
40. Salvatierra D. Determinación de la composición química proximal, carbohidratos totales, azúcares libres y fructanos del tipo inulina – fructooligosacáridos del yacón (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson). [Tesis de Pre Gardo]. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima-Perú. 2015. URL**:** https://hdl.handle.net/20.500.12866/668
41. Baroni S, Ambrosio de Rocha B, Oliveira de Melo J, Comar J, Caparroz-Assef S, Bersani-Amado C. Extracto hidroetanólico de *Smallanthus sonchifolius* hojas mejora la hiperglucemia de ratas diabéticas neonatales inducidas por estreptozotocina. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2016:9(5);432-436. https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.03.033
42. Moreira R, Redko F, Ulloa J, Flor S, Tulino M, Muschiette L, et. al. Evaluación toxicogenética de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) como medicina herbaria. Etnofarmaco. 2020:15;257:112854. doi: 10.1016/j.jep.2020.112854.
43. De Andrade F, De Souza R, Ellendersen N, Masson L. Perfil fenólico y actividad antioxidante de extractos de hojas y flores de yacón (*Smallanthus sonchifolius*). Cultivos y productos industriales. 2014:62;499–506. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.025
44. Ueda Y, Tsutsumi S, Matsuda Y. Optimización de la extracción con agua caliente de hojas secas de té de hierbas de yacón: actividades antioxidantes mejoradas y contenido fenólico total mediante la metodología de superficie de respuesta. 2019:25(1):131-139. DOI: 10.3136 / fstr.25.131
45. Ueda Y, Matsuda Y, Murata T, Hoshi Y, Kabata-Kiyotaka, Ono M, et. al. Aumento del contenido fenólico y capacidad antioxidante de las hojas calentadas de yacón (*Smallanthus sonchifolius*). 2019:83(12);2288-2297. https://doi.org/10.1080/09168451.2019.1644151
46. Bai J, Suo T, Wei X, Dou P, Ran X, *et. al.* Acción anticancerígena y farmacocinética de extractos de lactona sesquiterpénica de hojas de yacón. 2017:13(1);74-82. DOI: 10.3923/ijp.2017.74.82
47. Cruz N, Fetzer L, Do Amaral W, De Andrade F, Corazza, L, & Masson, L Actividad antioxidante y perfil de ácidos grasos de extractos de hojas de yacón obtenidos mediante solvente supercrítico de CO2 + etanol. *Revista de fluidos supercríticos.* 2019:*146;* 55–64 https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.01.007
48. Panigrahy K, Bhatt R, Kumar A. Especies reactivas de oxígeno: fuentes, consecuencias y terapia dirigida en la diabetes tipo 2. Revista de focalización de drogas. Taylor y Francis Ltd. 2017:25(2);93-101. DOI : 10.1080/1061186X.2016.1207650
49. Martínez P, Maurer P, Cocco B, Pinto R, Da Costa A. Evaluación de los efectos hipoglucémicos, hipolipidémicos y antioxidantes in vivo de los extractos hidroalcohólicos de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*). 2015;7(1):A64. http://www.dmsjournal.com/content/7/S1/A64
50. Moldogazieva T, Mokhosoev M, Mel'nikova I, Zavadskiy P, Kuz'menko N, Terentiev A. Carácter dual de especies reactivas de oxígeno, nitrógeno y halógeno: fuentes endógenas, interconversiones y neutralización. *Bioquímica*

(Moscú). Editorial. 2020:85;56-78
Pléyades. https://doi.org/10.1134/S0006297920140047
51. Daiber A, Di Lisa F, Oelze M, Kröller-Schön S, Steven S, *et. al.* iafonía de las mitocondrias con la NADPH oxidasa a través de la señalización de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y su papel en la función vascular. Br J Pharmacol. 2017:174(12):1670-1689. doi: 10.1111/bph.13403
52. Valentova K, at. Al. The effect of *Smallanthus sonchifolius* leaf extract on rat hepatic metabolism. Cell Biol Toxicol. 2004;20(2):109-120. doi: 10.1023/b:cbto.0000027931.88957.80.
53. Valentova K, Sersen Fr, Ulrichova J. Actividades depuradoras de radicales y anti-lipoperoxidativas de los extractos de hojas de *Smallanthus sonchifolius*. 2005;53(14):5577-82. doi:10.1021/jf050403o
54. Smallwood J, Nissim A, Knight R, Whiteman M, Haigh R, et. al. Estrés oxidativo en enfermedades reumáticas autoinmunes. *Biología y Medicina de Radicales Libres*. Biol. Med. 2018:125; 3–14. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.05.
55. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma, X. Los antioxidantes mantienen la homeostasis redox celular mediante la eliminación de especies reactivas de oxígeno**.** Cell. Physiol. Biochem. 2017: 44(2); 532–553. doi: 10.1159/000485089
56. Son M, Lee C. Las mitocondrias: reguladores multifacéticos del envejecimiento. BMB Rep. 2019:52(1); 13–23. doi: 10.5483/BMBRep.2019.52.1.300.
57. Yao Y, Zang Y, Qu J, Tang M, Zhang T. La toxicidad de las nanopartículas metálicas en el hígado: los daños subcelulares, los mecanismos y los resultados**.** Int. J. Nanomed. 2019:14;8787–8804. doi: 10.2147/IJN.S212907.
58. Meijles N, Zoumpoulidou G, Markou T, Rostron A, Patel R, *et. al.* El "reóstato redox" de los cardiomiocitos: Señalización redox a través del eje AMPK-mTOR y regulación de la expresión de genes y proteínas que equilibran la supervivencia y la muerte. J. Mol. Cell. Cardiol. 2019:129;118–129. doi: 10.1016/j.yjmcc.2019.02.006
59. Jakubczyk K, Dec K, Kałduńska J, Kawczuga D, Kochman J, Janda K. Reactive oxygen species - sources, functions, oxidative damage.[Internet]. Pol Merkur Lekarski. 2020 Apr 22[consultado 2021 Jul 10];48(284):124-127. PMID: 32352946 URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32352946/
60. Canton M, Sánchez - Rodríguez R, Spera I, Venegas F, Favia M, *et. al.* Especies reactivas de oxígeno en macrófagos: fuentes y objetivos. 2021:12;734229.1-13. DOI : 10.3389/fimmu.2021.734229.
61. Brand-Williams W, Cuvelier E, Berset C. Use a of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Food Sci. Tecnol. 1995,25(1):25-30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5
62. Salehi B, Martorell M, Arbiser L, Sureda A, Martins N, *et. al.* Antioxidantes: ¿actores positivos o negativos? *Biomoléculas*. MDPI AG. 2018:8;124;1-11. https://doi.org/10.3390/biom8040124
63. De Tursi C. Marcadores de estrés oxidativo en la obesidad mórbida y su modulación tras cirugía bariatrica. [Tesis de Doctoral]. Universitat de Valencia Servei de Publicacions. 2011. Disponible en: URL: https://www.tdx.cat/handle/10803/80906
64. Wakeel A, Xu M, Gan Y. Acumulación de especies de oxígeno reactivo inducida por cromo mediante la alteración del sistema antioxidante enzimático y los cambios citotóxicos, genotóxicos, ultraestructurales y fotosintéticos asociados en las plantas. Int.J.Mol.Sci. 2020:21(728);2-19. DOI : 10.3390/ijms21030728

65. D'Oria R, Schipani R, Leonardini A, Natalicchio A, Perrini S, *et. al.* El papel del estrés oxidativo en la enfermedad cardíaca: de la respuesta fisiológica al factor de lesión. Medicina Oxidativa y Longevidad Celular. Hindawi limitada. 2020:11;1-29. https://doi.org/10.1155/2020/5732956
66. Bagheri M, Khanjani N, Atashi A, Norouzi P, Mirbadie R. *et. a*l. El efecto de la vitamina E y C en los índices de ensayo del cometa y la apoptosis en trabajadores de centrales eléctricas: un ensayo clínico controlado aleatorio doble ciego. c[Internet]. Investigación de mutaciones: toxicología genética y mutagénesis ambiental. 2020[consultado 2021 Set 15];503150;*850 – 851*. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2020.503150
67. Obando L. Evaluación de la actividad antioxidante y anticolagenasa del latex de *Croton lechleri* y elaboración de una crema dermocosmética. [Tesis de Maestría]. UNMSM. Lima Perú. URL: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/14894?show=full
68. Hernández- Rodríguez S, Gutiérrez-Salinas J, García-Ortiz L, Mondragón-Terán P, Sotero-García S, Nuñez-Ramos N. Estrés oxidativo y nitrosativo como mecanismo de daño al hepatocito producido por el metabolismo del etanol. [Internet]. Med Int Mex 2014[consultado 2021 Set 15];30:295-308. URL: https://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2014/mim143i.pdf
69. De Tursi C. Marcadores de estrés oxidativo en la obesidad mórbida y su modulación tras cirugía bariatrica. [Tesis de Doctoral]. Universitat de Valencia Servei de Publicacions. 2011. URL: https://www.tdx.cat/handle/10803/80906
70. Subczynski WK, Pasenkiewicz-Gierula M, Widomska J, Mainali L, Raguz M. Colesterol alto/colesterol bajo: efectos en las membranas biológicas: una revisión. Cell Biochem Biophys. 2017;75:369–85. doi: 10.1007/s12013-017-0792-7.
71. Li W, Wu N, Shu W, Jia D, Jia P. El precondicionamiento farmacológico y el poscondicionamiento con nicorandil atenúan la necrosis miocárdica inducida por isquemia/reperfusión y la apoptosis en ratas hipercolesterolémicas. Exp Ther Med. 2015;10(6):2197–2205. doi: 10.3892/etm.2015.2782.
72. Roca-Agujetas V, Barbero-Camps E, De dios C, Podlesniy P, Abadín X, et. al. El colesterol altera la mitofagia al afectar el reclutamiento de optineurina y el aclaramiento lisosomal en la enfermedad de Alzheimer. Mol neurodegenerador. 2021; 16 (1): 15. doi: 10.1186/s13024-021-00435-6.
73. Han Q, Yeung S, *et al.* Desregulación de los parámetros de lípidos cardíacos en un modelo de rata inducido por una dieta rica en grasas y colesterol. *Lípidos Salud Dis.* 2018:17;255. https://doi.org/10.1186/s12944-018-0905-3
74. Houldsworth A. Una revisión del papel de la superóxido dismutasa de manganeso mitocondrial en trastornos humanos, como la diabetes. Revista de Endocrinología y Diabetes. 2016:3(3);1-5. DOI: http://dx.doi.org/10.15226/2374-6890/3/3/00151
75. Domijan A, Gajski G, Periaca M, *et. al.* Evaluación del estado oxidativo y la frecuencia de daño del ADN de referencia en voluntarias sanas. [Internet]. En Handbook on Oxidative Stress New Research. Nova Science Publishers. Inc. 2012[consultado 2021 Mar 11];363–379). Disponible en: https://www.mendeley.com/catalogue/f0ed8718-6dec-31ab-8605-62a9e2df6190
76. Sujatha K, Priyanka A. Sistema de defensa antioxidante no enzimático en plantas. [Internet]. Revista de Farmacognosia y Fitoquímica. 2019[consultado 2021 Set 15];8(2S)929-932. https://www.mendeley.com/catalogue/92a95e16-587d-3b5b-a88e-a121d8d52843/

77. Monteserrat M, de Gregorio E, de Dios C, Roca-Agujetas V, Cucarull B, *et. al.* Glutatión mitocondrial: conocimientos recientes y papel en la enfermedad. [Internet]. 2020[consultado 2021 Jul 18]9;909;1-21 MDPI. https://doi.org/10.3390/antiox9100909
78. Gugliucci A, Rodríguez-Mortera R. Fructuosa, un factor clave modificable en la patogenia del syndrome metabólico, la esteatosis hepática y la obesidad. 2020. Rev Med. Urug. Vol.36,N°4 Montevideo Dic.2020. Epub 01-Dic-2020. Recuperado de: http://dx.doi.org/10.29193/rmu.36.4.10
79. Gugliucci A. Formation of fructose-mediated advanced glycation end products and their roles in metabolic and inflamatory diseases. Adv Nutr 2017;8(1):54-62.
80. Castro M. Estrés oxidativo hepático en ratas con insulinorresistencia inducida por dieta rica en fructuosa y su remisión por administración de Ácido α Lipoicolic. [Tesis de Doctoral]. España: Universidad Nacional De La Plata. 2012. URL: http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/25074
81. Andrés-Hernando A, Johnson RJ, Lanaspa MA, Producción endógena de fructosa: ¿qué sabemos y qué relevancia tiene? Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2019;22(4):289-94. DOI: 10.1097/MCO.0000000000000573
82. Carvallo P, Carvallo E, Barbosa-da-Silva S, Mandarín-de-Lacerda C, Hernández A, Del Sol M. Efectos metabólicos del consumo excesivo de fructuosa añadida. 2019,37(3):1058-1066. Int J. Morphol. doi.org/10.4067/S0717-95022019000301058
83. López A, Carlos A, Lazarova Z, Bañuelos R, Sánchez S. Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades. [Internet]. Revista Anacem. México. 2012[consultado 2021 Set 15];6(1):48-53. Disponible en: URL: https://www.imbiomed.com.mx/articulo.php?id=83189
84. Hernández R. Efectos de la quercetina sobre las alteraciones en el comportamiento y estrés oxidativo inducidas por rayos x en ratas. [Tesis doctoral]. España: Universidad de León. España. 2013. DOI: 10.18002/10612/2683
85. Stanhope K, Schwarz J, Keim N, Griffen S, Bremer A, *et. al.* El consumo de bebidas endulzadas con fructosa, no endulzadas con glucosa, aumenta la adiposidad visceral y los lípidos y disminuye la sensibilidad a la insulina en humanos con sobrepeso/obesidad. [Internet]. 2009[consultado 2021 Set 15];19(5);1322-1334. https://doi.org/10.1172/JCI37385
86. Loza S, Baiza L, Ibañez M, Cruz M, Diazs M. Alteraciones moleculares inducidas por fructosa y su impacto en las enfermedades metabólicas. [Internet]. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2018[consultado 2020 Oct 12];56(5):491-504. URL: https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2018/im185j.pdf
87. Tappy L. Fructose metabolism and noncommunicable diseases: recent findings and new research perspectives. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2018;21(3):214-22. doi: 10.1097/MCO.0000000000000460.
88. Francey C, Cros J, Rosset R, Creze C, Rey V, Stefanoni N, et al. The extrasplanchnic fructose escape after ingestion of a fructuose-glucose drink: an exploratory study in healthy humans using a dual fructuose isotope method. Clin Nutr ESPEN 2019,29:125-32. doi: 10.1016/j.clnesp.2018.11.008.
89. Brand-Williams W, Cuvelier ME & Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Sci Technol 1995:28: 25-30. http://radio.cuci.udg.mx/bch/EN/Manuals/Techniques/DPPH-original_LebensWissTechnol_1995-v28-p25.pdf

90. Benzie IFF & Strain JJ. The Ferric reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power": The FRAP assay. Anal Biochem 1996:239(1): 70-76. DOI: 10.1006/abio.1996.0292
91. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M & Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med 1999:26(10): 1231-1237. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10381194/
92. Sánchez C. Capacidad de la silibinina de revertir las alteraciones metabólicas y el estrés oxidativo en ratas con resistencia a la insulina inducida por una dieta rica en fructuosa. [Tesis Doctoral]. Universidad de Salamanca. Facultad de Farmacia. España;2011. Disponmible en: URL: https://gredos.usal.es/handle/10366/110568
93. Bobrovskikh A, Zubairova U, Kolodkin A, y Doroshkov A. Compartimentación subcelular del sistema antioxidante de la planta: una descripción integrada. PeerJ . PeerJ Inc. 2020:1-27 https://doi.org/10.7717/PEERJ.9451
94. Dvořák P, Krasylenko Y, Zeiner A, Šamaj J, akáč, T. Señalización hacia enzimas de eliminación de especies reactivas de oxígeno en plantas. Fronteras en la ciencia de las plantas. Frontiers Media SA. 2021:11;1-24. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.618835
95. Stephenie S, Chang P, Gnanasekaran A, Esa N, Gnanaraj C. Una idea sobre la superóxido dismutasa (SOD) de las plantas para mejorar la salud de los mamíferos. Revista de Alimentos Funcionales. Elsevier Ltd. 2020:68;103917 https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103917
96. Ighodaro M, Akinloye A. Antioxidantes de defensa de primera línea-superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPX): Su papel fundamental en toda la red de defensa antioxidante. Revista de Medicina de Alejandría, 2018:*54* (4),287–293. https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001
97. Lustig RH. Fructose and nonalcoholic fatty liver disease. J Calif Dent Assoc,2016;44(10):613-7. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Lustig+RH&cauthor_id=29035477
98. Jajic I, Sarna T, Strzalka K. Senescencia, estrés y especies reactivas de oxígeno. 2015:4(3):393-411. DOI: 10.3390/plantas4030393
99. Nitta Y, Muraoka-Hirayama S, Sakurai K. La catalasa es necesaria para el mantenimiento del peroxisoma durante la adipogénesis. Biochimica et Biophysica Acta - Biología molecular y celular de los lípidos. 2020:1865 (8). https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158726
100. Kennedy L, Sandhu K, Harper E, Cuperlovic-culf M. Papel del glutatión en el cáncer: de los mecanismos a las terapias. Biomoléculas. MDPI AG. 2020:10;1429:1-28. https://doi.org/10.3390/biom10101429
101. Sharma G, Shin J, Sharma N, Nah Y, Mai N. *et. al.* Glutatión peroxidasa-1 y neuromodulación: Nuevos potenciales de una vieja enzima. Toxicología Alimentaria y Química. Elsevier Ltd. 2021:148;111945. https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111945
102. Morales, M., & Munné-Bosch, S. Malondialdehído: Hechos y artefactos. Fisiología vegetal. Sociedad Americana de Biólogos de Plantas. 2019:180;1246-1250. https://doi.org/10.1104/pp.19.00405
103. Bjørklund, G., Peana, M., Maes, M., Dadar, M. y Severin, B. (2021, 1 de enero). El sistema de glutatión en la enfermedad de Parkinson y su progresión. Revisiones de neurociencia y biocomportamiento. Elsevier Ltd.2021:120;470-478. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.10.004

104. Shalaby, A. (2013). Compuestos antioxidantes, ensayos de determinación y modo de acción. Revista Africana de Farmacia y Farmacología. 2013:7(10);528–539. https://doi.org/10.5897/ajpp2013.3474
105. Francini F, Castro C, Schinella G, García ME, Maiztegui B, Raschia MA, Gagliardino J. Massa M. *Changes induced by a FRD on the hepatic metabolism and the antioxidant system*. Life Sciences 2013;86:965-971. DOI: 10.1016/j.lfs.2010.05.005
106. Yuto U, Matsuda Y, Murata T, Hoshi Y, Kabata K. et.al. Increased phenolic content and antioxidant capacity of the heated leaves of yacon (*Smallanthus Sonchifolius*). 2019. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry.2019;83:(12):2288-2297. Recuperado de: https://doi.org/10.1080/09168451.2019.1644151
107. Miranda M. & Cuellar A. Manual de prácticas de farmacognosia. Empresa Editorial Poligráfica Félix Varela. Edici ón N° 1. 2014. Cuba. Recuperado de: https://www.uv.mx/qfb/files/2020/09/Guia-de-Farmacognosia.pdf
108. Roberts C, Sindhu K. "Oxidative stress and metabolic syndrome". Life Sci 2009,84(21-22), 705-712. DOI: 10.1016 / j.lfs.2009.02.026.
109. Folhe, L., Gunzler, W.A. Assays for glutathione peroxidase. Methods Enzymol. 1984;105: 114-120. DOI: 10.1016/s0076-6879(84)05015-1.
110. Miller N, Catherine A, Rice-Evans. Factores que influyen en la actividad antioxidante determinada por el ensayo $ABTS^+$ Radical Catión, Free Radical Research,1997;26:(3):195-199, Doi: 10.3109 / 10715769709097799
111. Ahumada O, Bardakles M. Perfil enzimático antioxidante en habitantes de Nueva Cajamarca – San Martín. Tesis.2011. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú. Disponible en : http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/2272/Ahumada_do.pdf?sequence=1&isAllowed=y
112. Abi H. Catalase *in vitro*. En: Packer, L. Methods in enzymology, Oxygen radicals in biological systems. Academic Press, Inc. E.U.A. 1984;105:121-126. DOI: 10.1016/s0076-6879(84)05016-3

Anexo N° 01 Certificación botánica

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "YACÓN" proporcionado por el Sr. IVAR JINES, LAVADO MORALES, estudiante y tesista del doctorado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, ha sido estudiada científicamente y determinada como ***Smallanthus sonchifolius*** y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae
Género:	***Smallanthus***
Especie:	***Smallanthus sonchifolius*** (Poepp. & Endl.) H. Rob.

Se expide la presente certificación a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Lima, 30 diciembre 2020

Blgo. Hamilton Beltrán

Hamilton Wilmer Beltran Santiago
Biologo - Botánico
CBP. 2719

Anexo N° 02 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

VARIABLE	TIPO DE VARABLE	OPRERACIONALIZACION	CATEGORIZACION O DIMENSIONES	INDICADOR	NIVEL DE MEDICION	UNIDAD DE MEDIDA	INDICE	VALOR
VARIABLE INDEPENDIENTE	Cualitativa nominal	Se realiza el extracto y se liofiliza	Extracto acuoso de las hojas de yacón	Concentración optima	Razón	mg/mL	100%	30
VARIABLE DEPENDIENTE	Cuantitativa continua	Tanto GSH como GSSG se determinan mediante un método fluorimétrico (Hissin y Hilf, 1976)	Marcadores del estrés oxidativo	Concentración de glutatión (GSSG)	Razón	(mg %)	100%	6
	Cuantitativa continua	Tanto GSH como GSSG se determinan mediante un método fluorimétrico (Hissin y Hilf, 1976)		Concentración de glutatión oxidado reducido (GSH)	Razón	(mg %)	100%	6
	Cuantitativa continua	Determinada utilizando el ensayo de la riboflavina-o-dianisidina descrito por Paynter		Superóxido dismutasa (SOD)	Razón	(U mL)	100%	6
	Cuantitativa continua	Este método de cuantificación empleado, descrito por Aebi		Catalasa (CAT)	Razón	(mg %)	100%	6
	Cuantitativa continua	determinación se realiza sobre plasma con la ayuda de un kit proporcionado por Randox®		Medida de estado antioxidante total	Nominal	< 1%, comúnmente 1-1,000 mg/L	100%	6
	Cuantitativa continua	Método ELISA		Producción de especies reactivas de oxígeno (ROS)	Nominal	Radicales libres y peróxidos	100%	6
	Cuantitativa continua	Determinada en todas las muestras de suero por medio de la técnica de reacción del ácido tiobarbitúrico		Malondialdehído	Razón	(uM)	100%	6

Anexo N° 03 MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO: Efecto antioxidante del extracto acuoso de las hojas del *Smallanthus sonchifolius* (yacón) sobre el estrés oxidativo inducido por fructosa más colesterol en ratas

<table>
<tr><th>PROBLEMA</th><th>OBJETIVO GENERAL</th><th>HIPOTESIS</th><th>VARIBLES</th><th>DIMENSIONES</th><th>INDICADORES</th></tr>
<tr><td rowspan="11">¿La administración por vía oral del extracto acuoso de las hojas de Smallanthus sonchifolius es un antioxidante frente al estrés oxidativo inducido por fructosa más colesterol en ratas?</td><td>Demostrar el efecto antioxidante del extracto acuoso de las hojas del Smallanthus sonchifolius (yacón). In vitro e In vivo, frente al estrés oxidativo inducido por fructosa más colesterol en ratas.</td><td rowspan="11">La dieta rica en fructosa más colesterol en ratas normales induce rápidamente alteraciones metabólicas. el hígado afronta inicialmente una sobrecarga metabólica inducida por una DRF generando el estrés oxidativo</td><td>VARIABLE INDEPENDIENTE</td><td>Extracto acuoso de las hojas de yacón</td><td>Concentración óptima</td></tr>
<tr><td>OBJETIVOS ESPECIFICOS</td><td rowspan="10">VARIABLE DEPENDIENTE</td><td rowspan="10">In vitro

In vivo
Marcadores del Estrés Oxidativo</td><td>FRAP, ABTS y DPPH.</td></tr>
<tr><td rowspan="9">1. Analizar la composición química general del extracto acuoso de las hojas del Smallanthus sonchifolius (yacón). Cultivado en la sierra por medio de un tamizaje fitoquímico, a fin de contribuir al conocimiento de sus condiciones de uso.

2. Demostrar el efecto antioxidante In vitro del extracto acuoso de las hojas del Smallanthus sonchifolius (yacón).

3. Verificar los parámetros bioquímicos de los antioxidantes In vivo del extracto acuoso de las hojas del Smallanthus sonchifolius (yacón).

4. Evaluar los niveles bioquímicos (glucosa, insulina, perfil lipídico, urea, creatinina, iones) en ratas con inducción de estrés oxidativo por fructosa más colesterol.</td><td>Concentración de glutatión (GSSG)</td></tr>
<tr><td>Concentración de glutatión oxidado reducido (GSH)</td></tr>
<tr><td>Superóxido dismutasa (SOD)</td></tr>
<tr><td>Catalasa (CAT)</td></tr>
<tr><td>medida de estado antioxidante total</td></tr>
<tr><td>Compuestos grasos no esteroides (AGNE)</td></tr>
<tr><td>Producción de especies reactivas de oxígeno (ROS)</td></tr>
<tr><td>Malondialdehído</td></tr>
</table>

Anexo N° 04 Tablas de resultados

Tabla N° 12 Glutatión reducido (mg %)

DESCRPCIÓN	CONCENTRACIÓN	MEDIA	DS	Std, Error de la media	95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA		MINIMO	MAXIMO
					BAJA	ALTA		
Glutatión reducido (mg %)	SSF (2 mL/kg)	6,21	2,25	1,01	3,62	8,80	2,45	9,65
	Fructosa + colesterol (CF)	5,14	0,92	0,41	4,08	6,20	3,63	6,62
	CF + Extracto 50 mg/kg	15,75	2,19	0,98	13,24	18,26	11,90	18,60
	CF + Extracto 250 mg/kg	21,99	3,76	1,68	17,67	26,31	15,67	27,70
	CF + Extracto 500 mg/kg	27,78	5,36	2,40	21,62	33,95	20,80	34,80

Fuente: Elaboración propia - 2021

Tabla N° 13 Superóxido dismutasa (U mL)

DESCRPCIÓN	CONCENTRACIÓN	MEDIA	DS	Std, Error de la media	95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA		MINIMO	MAXIMO
					BAJA	ALTA		
Superóxido dismutasa (U mL)	SSF (2 mL/kg)	666,17	374,75	167,59	235,36	1096,98	345,00	1398,00
	Fructosa + colesterol (CF)	950,50	342,32	153,09	556,97	1344,03	672,00	1678,00
	CF + Extracto 50 mg/kg	1673,33	670,22	299,73	902,85	2443,82	789,00	2983,00
	CF + Extracto 250 mg/kg	1833,50	723,37	323,50	1001,92	2665,08	980,00	3009,00
	CF + Extracto 500 mg/kg	2087,17	323,83	144,82	1714,89	2459,44	1580,00	2456,00

Fuente: Elaboración propia - 2021

Tabla N° 14 Catalasa (mg %)

DESCRPCIÓN	CONCENTRACIÓN	MEDIA	DS	Std, Error de la media	95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA		MINIMO	MAXIMO
					BAJA	ALTA		
Catalasa (mg %)	SSF (2 mL/kg)	0,40	0,26	0,12	0,10	0,70	0,12	0,81
	Fructosa + colesterol (CF)	0,74	0,10	0,05	0,63	0,86	0,56	0,89
	CF + Extracto 50 mg/kg	0,66	0,19	0,08	0,44	0,87	0,44	0,99

	CF + Extracto 250 mg/kg	0,59	0,16	0,07	0,40	0,78	0,34	0,82
	CF + Extracto 500 mg/kg	0,51	0,13	0,06	0,37	0,66	0,36	0,74

Fuente: Elaboración propia – 2021

Tabla N° 15 Malondialdehido (uM)

DESCRPCIÓN	CONCENTRACIÓN	MEDIA	DS	Std, Error de la media	95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA		MINIMO	MAXIMO
					BAJA	ALTA		
Malondialdehido (uM)	SSF (2 mL/kg)	5,17	1,41	0,63	3,54	6,79	3,45	7,67
	Fructosa + colesterol (CF)	10,07	3,13	1,40	6,47	13,66	5,98	15,81
	CF + Extracto 50 mg/kg	14,46	3,21	1,44	10,77	18,15	9,76	19,30
	CF + Extracto 250 mg/kg	17,75	3,27	1,46	13,99	21,51	11,70	21,90
	CF + Extracto 500 mg/kg	26,26	3,97	1,77	21,70	30,83	20,80	32,60

Fuente: Elaboración propia – 2021

Tabla N° 16 total (CT) (mg/dL)

DESCRPCIÓN	CONCENTRACIÓN	MEDIA	DS	Std, Error de la media	95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA		MINIMO	MAXIMO
					BAJA	ALTA		
CT (mg/dL)	SSF (2 mL/kg)	203,33	45,12	20,18	151,46	255,21	139,00	290,00
	Fructosa + colesterol (CF)	154,17	26,54	11,87	123,65	184,68	122,00	198,00
	CF + Extracto 50 mg/kg	199,50	43,56	19,48	149,43	249,57	145,00	287,00
	CF + Extracto 250 mg/kg	172,50	22,90	10,24	146,17	198,83	132,00	207,00
	CF + Extracto 500 mg/kg	153,67	27,19	12,16	122,40	184,93	105,00	187,00

Fuente: Elaboración propia – 2021

Tabla N° 17 Lipoproteínas de alta densidad (HDL) (mg/dL)

DESCRPCIÓN	CONCENTRACIÓN	MEDIA	DS	Std, Error de la media	95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA		MINIMO	MAXIMO
					BAJA	ALTA		
HDL (mg/dL)	SSF (2 mL/kg)	23,17	4,63	2,07	17,84	28,49	18,00	32,00
	Fructosa + colesterol (CF)	36,00	6,93	3,10	28,04	43,96	25,00	45,00
	CF + Extracto 50 mg/kg	34,33	2,92	1,31	30,97	37,70	29,00	38,00
	CF + Extracto 250 mg/kg	41,33	1,70	0,76	39,38	43,29	39,00	44,00
	CF + Extracto 500 mg/kg	27,17	3,58	1,60	23,05	31,28	22,00	32,00

Fuente: Elaboración propia – 2021

Tabla N° 18 Triglicéridos (TRI) (mg/dL)

DESCRPCIÓN	CONCENTRACIÓN	MEDIA	DS	Std, Error de la media	95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA		MINIMO	MAXIMO
					BAJA	ALTA		
TRI (mg/dL)	SSF (2 mL/kg)	182,83	16,18	7,24	164,23	201,43	156,00	200,00
	Fructosa + colesterol (CF)	169,33	13,97	6,25	153,27	185,40	151,00	191,00
	CF + Extracto 50 mg/kg	161,67	32,65	14,60	124,13	199,20	120,00	204,00
	CF + Extracto 250 mg/kg	163,00	27,09	12,11	131,86	194,14	131,00	209,00
	CF + Extracto 500 mg/kg	202,50	26,24	11,74	172,33	232,67	176,00	243,00

Fuente: Elaboración propia – 2021

Tabla N° 19 Glucosa (GLU) (mg/dL)

DESCRPCIÓN	CONCENTRACIÓN	MEDIA	DS	Std, Error de la media	95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA		MINIMO	MAXIMO
					BAJA	ALTA		
GLU (mg/dL)	SSF (2 mL/kg)	88,67	7,67	3,43	79,84	97,49	75,00	100,00
	Fructosa + colesterol (CF)	83,17	9,77	4,37	71,93	94,40	68,00	98,00
	CF + Extracto 50 mg/kg	87,50	13,30	5,95	72,21	102,79	68,00	109,00
	CF + Extracto 250 mg/kg	93,67	9,91	4,43	82,27	105,06	78,00	109,00
	CF + Extracto 500 mg/kg	88,67	7,09	3,17	80,52	96,81	75,00	98,00

Fuente: Elaboración propia – 2021

Tabla N° 20 Urea (U) (UI/dL)

DESCRPCIÓN	CONCENTRACIÓN	MEDIA	DS	Std, Error de la media	95% INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA		MINIMO	MAXIMO
					BAJA	ALTA		
U (UI/dL)	SSF (2 mL/kg)	20,83	5,21	2,33	14,84	26,82	15,00	30,00
	Fructosa + colesterol (CF)	17,83	5,52	2,47	11,49	24,18	12,00	27,00
	CF + Extracto 50 mg/kg	20,50	4,03	1,80	15,87	25,13	14,00	26,00
	CF + Extracto 250 mg/kg	17,83	5,52	2,47	11,49	24,18	12,00	27,00
	CF + Extracto 500 mg/kg	16,83	2,91	1,30	13,49	20,18	13,00	20,00

Fuente: Elaboración propia – 2021

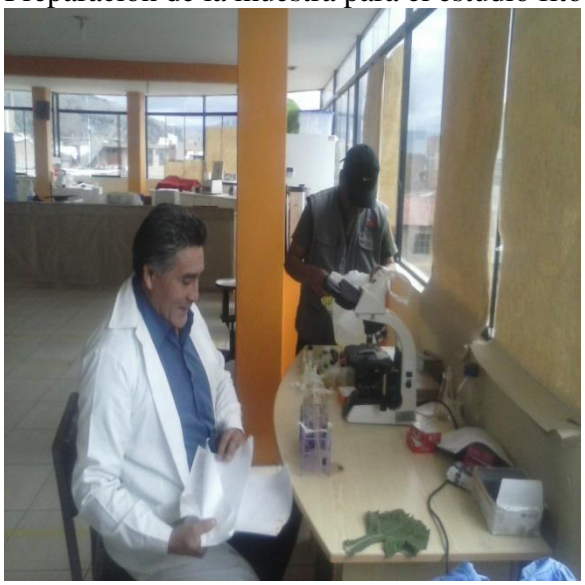
Tabla N° 21 análisis de varianza

		Suma de cuadrados	df	MEDIA	F	Sig,
Glutatión reducido (mg %)	Entre grupos	2320,07	4,00	580,02	45,11	0,000
	Dentro de los grupos	321,44	25,00	12,86		
Superóxido dismutasa (U mL)	Entre grupos	8799101,47	4,00	2199775,37	6,87	0,001
	Dentro de los grupos	8009666,00	25,00	320386,64		
Catalasa (mg %)	Entre grupos	0,42	4,00	0,10	2,84	0,046
	Dentro de los grupos	0,92	25,00	0,04		
Malondialdehido (uM)	Entre grupos	1532,51	4,00	383,13	32,89	0,000
	Dentro de los grupos	291,26	25,00	11,65		
CT (mg/dL)	Entre grupos	13710,47	4,00	3427,62	2,42	0,075
	Dentro de los grupos	35412,50	25,00	1416,50		
HDL (mg/dL)	Entre grupos	1254,87	4,00	313,72	13,95	0,000
	Dentro de los grupos	562,33	25,00	22,49		
TRI (mg/dL)	Entre grupos	7006,47	4,00	1751,62	2,48	0,070
	Dentro de los grupos	17673,00	25,00	706,92		
GLU (mg/dL)	Entre grupos	336,33	4,00	84,08	0,73	0,580
	Dentro de los grupos	2878,33	25,00	115,13		
U (UI/dL)	Entre grupos	76,53	4,00	19,13	0,71	0,595
	Dentro de los grupos	676,83	25,00	27,07		

Fuente: Elaboración propia – 2021

Anexo N° 05 Estudio fitoquímico de las hojas del *Smallanthus sonchifolius* (yacón)

Preparación de la muestra para el estudio fitoquímico



Reactivos para el estudio fitoquímico



Análisis de acuerdo a la marcha fitoquímica extracto etéreo



Análisis de acuerdo a la marcha fitoquímica extracto alcohólico



Análisis de acuerdo a la marcha fitoquímica extracto acuoso



La marcha fitoquímica concluidas de los extractos



Anexo N° 06 Preparación del extracto para el tratamiento de las hojas del *Smallanthus sonchifolius* (yacón)

Liofilizado del extracto a 40°C





Muestra liofilizada (se pulveriza la muestra) para la administración



Anexo N° 07 Trabajo *In vivo* en el laboratorio de la UNMSM - Farmacología

Muestra de ratas



Muestras de grupos de seis ratas



Control de peso de las ratas



Alimentación de las ratas con colesterol más Fructosa

