



Efecto del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “mashua” sobre el deterioro de la memoria y lipoperoxidación inducida con fluoxetina en hígado en *Rattus rattus* var. *albinus* ooforectomizadas

Jocelin Cruz Olivera¹, Milton Eder Valverde Gómez¹, Roberto Ybañez Julca²

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 25/06/2017

Aprobado: 25/07/2017

Autor corresponsal

Roberto Osmundo Ybañez Julca
rybanez@unitru.edu.pe

Fuentes de financiamiento

Autofinanciado

Conflictos de interés

Ninguno

Citar como

Cruz Olivera J, Valverde Gómez ME, Ybañez-Julca RO. Efecto del extracto acuoso de *tropaeolum tuberosum* “mashua” sobre el deterioro de la memoria y lipoperoxidación inducida con fluoxetina en hígado en *Rattus rattus* var. *albinus* ooforectomizadas. Rev Peru Med Integrativa.2017;2(2):119-25.

Resumen

Objetivo. Evaluar el efecto del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “mashua” sobre el deterioro de la memoria y la lipoperoxidación inducida por fluoxetina en hígado en *Rattus rattus* var. *albinus* ooforectomizadas. **Materiales y métodos.** Estudio experimental. Se usaron 29 animales de experimentación intervenidos por seis semanas divididos en cinco grupos: Blanco (n=5), que no recibió ninguna intervención; Control (n=6), ratas con ooforectomía bilateral; Patrón (n=6), ratas ooforectomizadas a las cuales se les administró 20 mg/kg por vía oral de una solución de 0,15 % de fluoxetina (inductor de lipoperoxidación) por tres semanas, una vez al día; y finalmente los grupos Problema I (n=6) y II (n=6) que recibieron la misma intervención del grupo Patrón por tres semanas y, posteriormente, se les administró el extracto de *Tropaeolum tuberosum* “mashua” a una dosis de 1 g/kg en concentraciones de 10 y 20%. **Resultados.** Se encontró diferencias significativas en el grupo que recibió el extracto de *Tropaeolum tuberosum* al 10% en comparación con el que recibió solo fluoxetina (p=0,002). No se encontraron diferencias significativas entre grupos ni intra grupo en la evaluación sobre el deterioro de la memoria. **Conclusión.** Se observa una mejora en los estilos de vida después de la intervención de Reforma de Vida, principalmente en las dimensiones de Familia, Introspección y Nutrición/Alimentación en los adultos mayores miembros de los Círculos de Salud de los distritos de Alto Selva Alegre y Cayma en Arequipa, en el año 2016.

Palabras clave: Peroxidación de Lípido; Experimentación Animal; Plantas Medicinales (Fuente: DeCS)

Effect of *Tropaeolum tuberosum* “mashua” aqueous extract in memory impairment and lipid peroxidation induced by fluoxetine in ooforectomized *Rattus rattus* var *albinus*

Abstract

Objective. The objective of this research was to demonstrate the effect of aqueous extract of *Tropaeolum tuberosum* “Mashua” on memory impairment and lipid peroxidation induced liver fluoxetine and *Rattus rattus* var. *albinus* ooforectomizadas. **Material and methods.** Experimental research. This research was conducted in five groups, making a total of 29 specimens of the species females, in which only 24 of them were induced them to a process of menopause (ovariectomy). The groups were divided into: naïve, control which were administered fluoxetine 20 mg/kg at a concentration of 0.15 % for three initial weeks, problem 1 and 2, at a dose of 1 g / Kg at a concentration of 10 % and 2 g/kg at 20% concentration respectively. **Results.** Significant differences were found in the group receiving the 10%(1 g/kg. *Tropaeolum tuberosum* extract compared to that received only Fluoxetine (p = 0.002). There were no significant differences between groups or intra-group in the cognitive evaluation. **Conclusions.** The aqueous extract of 10% *Tropaeolum tuberosum* in doses of 1 g/kg has a decrease in the lipoperoxidation induced by Fluoxetine in *Rattus rattus* var. *albinus* ooforectomized.

Keywords: Lipoperoxidation, Animal Experimentation; Medicinal plants (Source: MeSH)

¹ Escuela de Farmacia y Bioquímica. Universidad Particular Antonio Guillermo Urrelo

² Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo.

Introducción

La menopausia representa un evento significativo en la vida de cada mujer, que conlleva implicaciones médicas, psicosociales y culturales. El aumento en la expectativa de vida, principalmente en países industrializados donde la edad promedio alcanza los 80 años, ha llevado a que las mujeres pasen más de un tercio de sus vidas en estado posmenopáusico^(1,2). Aunque la menopausia es un período de transición normal, que abarca una etapa de desarrollo dentro del ciclo biológico, la declinación concomitante en las concentraciones endógenas de estrógenos puede afectar a distintas partes del organismo⁽³⁾.

En esta etapa, estos cambios en las mujeres pueden deberse a múltiples factores, uno de ellos es la formación de radicales libres o las especies reactivas del oxígeno (ERO) posiblemente debido a la disminución de las concentraciones de estrógeno circulantes en sangre periférica, los cuales bajan de 100-250 pg/mL, en la vida fértil, a 10 pg/mL⁽⁴⁾. Las bajas concentraciones de esta hormona pueden tener efectos prooxidantes, como, por ejemplo, ruptura del material genético, formación de aductos de ADN y oxidación de las bases⁽⁵⁾. Adicionalmente, se ha encontrado que las concentraciones séricas de citoquinas inflamatorias y de biomarcadores prooxidantes, tales como el glutatión, son más altos en mujeres en edad posmenopáusica que en mujeres en edad premenopáusica⁽⁶⁾.

Asimismo, la disminución de estrógenos y el aumento de estrés oxidativo han demostrado tener un papel importante en otras patologías que aumentan su prevalencia en el estado de menopausia, como: enfermedades cardiovasculares⁽⁷⁾, osteoporosis⁽⁸⁾ intensidad de síntomas como los bochornos⁽⁹⁾ o, incluso, la mortalidad global^(9,10). Frente a este problema, el organismo se protege utilizando sustancias denominadas “antioxidantes”, los cuales son compuestos que detienen el ataque y la formación de radicales libres dentro de la célula^(4,6).

Otro de los cambios poco estudiados en esta condición, es el efecto neurocognitivo que lleva consigo. Georgakis *et al.*, en una revisión sistemática, concluye que sí existe evidencia que sustente una asociación entre déficit de estrógenos y deterioro cognitivo⁽¹¹⁾. Un ensayo clínico recientemente realizado, concluye que, además, existe evidencia que sugiere qué tratamiento de reemplazo hormonal previene la reducción de la actividad de la corteza prefrontal medida por RMN⁽¹²⁾. Además, estudios en animales de experimentación^(13,14) sugieren que estos cambios se inician desde la etapa premenopáusica.

En el Perú encontramos una gran variedad de especies vegetales endémicas que son utilizadas por nuestras etnias originarias con fines curativos, y que han demostrado tener potencial antioxidante⁽¹⁵⁾. *Tropaeolum tuberosum* “mashua” es uno de los tubérculos más importantes después de la papa, el olluco y la oca; se cultiva en los valles húmedos de la zona andina de Perú, Colombia, Argentina, Ecuador y Bolivia⁽¹⁶⁾. Es una planta herbácea perenne, semirrastrera o trepadora, de la familia Tropaeolaceae, que alcanza los dos metros de altura, que produce tubérculos comestibles, perfumados y de sabor algo fuerte que miden entre 5 y 15 cm de largo⁽¹⁷⁾. Estudios previos *in vitro*⁽¹⁶⁻¹⁹⁾ han reconocido la capacidad antioxidante de este tubérculo debido a su alta concentración en compuestos fenólicos, antrocianinas y carotenoides.

Por ello, el objetivo del presente estudio es evaluar el efecto del extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* “mashua” sobre la memoria espacial y la lipoperoxidación inducida por fluoxetina en hígado en *Rattus rattus* var. albinus ooforectomizadas.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se utilizaron raíces tuberosas frescas de *Tropaeolum tuberosum* “mashua”, obtenido en el distrito de la Encañada, provincia de Cajamarca, departamento de Cajamarca – Perú. La especie fue certificada en el Herbario de la Universidad Nacional de Trujillo.

Preparación del extracto

Se procedió a realizar el lavado de los tubérculos y luego a triturarlos haciendo uso de una licuadora o un extractor, con el objetivo de obtener el mayor concentrado posible del principio activo (extracto matriz), el cual, posteriormente, fue filtrado quedando libre de impurezas. Luego, se procedió a preparar el extracto acuoso a distintas concentraciones, al 10 y 20 % v/v, tomándose 10 y 20 mL del extracto matriz y se aforó a 100 mL con agua destilada, el preparado se envasó en frascos ámbar y se conservó en refrigeración para evitar su oxidación. Este procedimiento se realizó interdiariamente, por un lapso de tres semanas, que fue lo que duró el proceso de administración.

Animales de experimentación

Se emplearon 29 especímenes de *Rattus rattus* var. albinus hembras prepúberas, adquiridas del Bioterio de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT) Trujillo – Perú, los cuales estuvieron bajo una alimentación balanceada

ad libitum y con las mismas condiciones ambientales. Los animales de experimentación fueron divididos en cinco grupos: Blanco (n=5), que no recibió ninguna intervención; Control (n=6), que fueron ooforectomizadas de forma bilateral; Patrón (n=6), ratas ooforectomizadas a las cuales se les administró 20 mg/kg por vía oral de una solución de 0,15% de fluoxetina (inductor de lipoperoxidación) por un lapso de tres semanas, una vez al día; y, finalmente, los grupos Problema I (n=6) y II (n=6) que recibieron la misma intervención del grupo Patrón por tres semanas y, posteriormente, se les administró el extracto de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" a una dosis de 1 g/kg en concentraciones de 10 y 20%, respectivamente por tres semanas más.

Se cumplió con lo establecido en la Declaración Sobre el Uso de Animales en la Investigación Biomédica ⁽²⁰⁾ de acuerdo a las directrices internacionales vigentes. Actualmente, en Perú, aún no se constituye la obligatoriedad de la aprobación por un comité institucional de ética animal, a pesar de ello, el presente estudio fue evaluado y supervisado por docentes expertos en el tema.

Determinación de la peroxidación lipídica en membranas de células hepáticas por la técnica de ácido tiobarbitúrico

El malondialdehído (MDA) se considera un producto secundario de la peroxidación lipídica y ha sido usado por mucho tiempo como un biomarcador para la peroxidación de los ácidos grasos omega-3 y omega-6 debido a su fácil reacción con el ácido tiobarbitúrico (ATB) ⁽²¹⁾. En el presente estudio, la determinación de MDA se realizó de acuerdo a lo mencionado por Ohkawa *et al.* ⁽²²⁾.

Se realizó el sacrificio de los animales de experimentación y, posteriormente, se extrajeron los hígados para suspenderlos en solución salina fisiológica y luego ser secados con papel adsorbente. Se trituró el hígado con ayuda de un mortero recubierto en hielo, homogenizando con tampón fosfato 50 mM pH 7,40 y se filtró 10 mL haciendo uso de una gasa. De lo filtrado, se tomó 450 µL al cual se adicionó 50 µL de *buffer* fosfato 50 mmol/L, a pH 7,4 y 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 10%.

Esta solución se centrifugó a 6000 rpm durante 10 min, se tomó 1 mL del sobrenadante y se adicionó 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) al 0,67 %. Dicha mezcla se calentó a 92 °C por 30 min para, posteriormente, enfriar en baño de hielo por 15 min. A continuación, se añadió 4 mL de N-butanol y piridina (15:1 v/v), se centrifugó a 3000 rpm por 10 min y se procedió a leer la absorbancia del sobrenadante en un espectrofotómetro UV/VIS Spectronic 20 modelo Genesys a 532 nm.

Curva de calibración

Se procedió a preparar una solución de ácido tiobarbitúrico (ATB) a una concentración de 0,8% (solución I) y una solución de malondialdehído (MDA) a una concentración de 2 nM/mL (solución II). Se calentó la mezcla a 92 °C por 30 min para, posteriormente, enfriar en baño de hielo por 15 min. Con los volúmenes de dilución que se mencionan en la Tabla 1 se procedió a elaborar la curva de calibración de forma similar a Tukožkan *et al.* ⁽²³⁾ con la ayuda de un espectrofotómetro UV/VIS Spectronic 20 modelo Genesys.

Análisis del deterioro de memoria según el test de Morris

El test de Morris es un laberinto de agua, que fue diseñado por R.G. Morris para evaluar la memoria espacial en ratas ⁽²⁴⁾, y que consiste en una piscina circular llena de agua en la que se sitúa una plataforma que debe ser localizada por el animal. Con este test es posible valorar la memoria de referencia, cuando la plataforma permanece en el mismo lugar durante los ensayos; en cambio, cuando se cambia la plataforma de posición en cada ensayo, se evalúa la memoria de trabajo ⁽²⁵⁾. Estas pruebas fueron realizadas durante cuatro días, durante horas de la mañana (8-9 a.m.), en una piscina circular de 150 cm de diámetro y una profundidad de 50 cm, pintada de color negro que se usó para calcular la trayectoria y el tiempo (latencia) gastado para alcanzar una plataforma invisible (negra) colocada 1 cm debajo de la superficie del agua. Al quinto día, se procedió a retirar la plataforma y se calculó el número de cruces y el tiempo en segundos de permanencia en el cuadrante donde se encontraba dicha plataforma, con el objetivo de evaluar la memoria de referencia ⁽²⁶⁾.

Tabla 1. Volúmenes de dilución para curva de calibración de MDA y ATB (nM/mL)

Solución II Conc. Final (nM)	0	0,05	0,1	0,5	0,75	1	1,5	2	2,5	3
Solución I (µL)	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500
Solución II (µL)	0	25	50	250	375	500	750	1000	1250	1500
Agua destilada	1500	1475	1450	1250	1125	1000	750	500	250	0

Análisis estadístico

La comparación de las absorbancias y concentraciones de MDA obtenidas se evaluaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis usando la prueba de Dunnett como *post-hoc*. La evaluación de la fase de adquisición del test de Morris se realizó con ayuda del ANOVA de dos factores con medidas repetidas y, con respecto a la fase de retención, se realizó un análisis parecido al usado con la capacidad antioxidante. El análisis estadístico se realizó con ayuda del programa STATA v 12.0[®]. Se considera estadísticamente significativo un $p < 0,05$.

Resultados

Al evaluar las concentraciones de MDA por grupo de estudio, se encontró que el grupo Patrón tuvo las mayores concentraciones promedio, mientras que el grupo control que solo recibió ooforectomía tuvo los menores promedios.

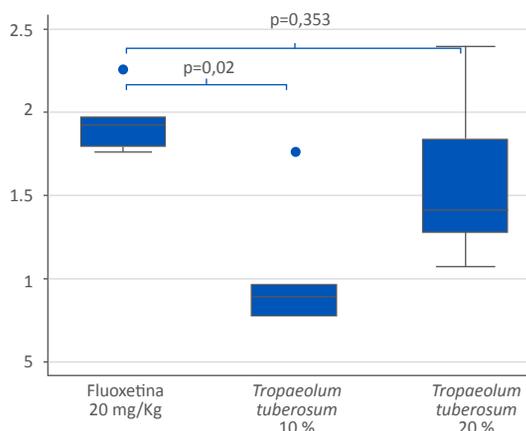
Se encontraron diferencias significativas entre las absorbancias y las concentraciones de MDA entre grupos ($p=0,005$, en ambos casos) (Tabla 2). Al realizar las comparaciones con respecto al patrón, solo se encontró diferencias significativas en el grupo que recibió el extracto de *Tropaeolum tuberosum* al 10% ($p=0,002$) (Gráfico 1).

Con respecto a la evaluación del deterioro de memoria, durante la fase de adquisición los tiempos de latencia oscilaron entre 27,2 y 75,2 s, en promedio, durante los cuatro días de estudio. Durante la fase de retención, el grupo al que se le administró *Tropaeolum tuberosum* al 10% obtuvo el mayor número de cruces y tiempo de retención (Tabla 3).

Al realizar el análisis por grupos, no se encontraron diferencias significativas en el tiempo de latencia ni entre grupos ($p=0,823$), ni intra grupos ($p=0,479$).

Tabla 2. Concentraciones de malondialdehído (MDA) y absorbancias por grupo de estudio

Grupo	Absorbancia (532 nm)	Concentración (nM/mL)
Blanco	0,071±0,03	1,33±0,31
Ooforectomía	0,019±0,03	0,85±0,35
Fluoxetina 20 mg/kg	0,136±0,01	1,93±0,72
<i>Tropaeolum tuberosum</i> 10%	0,035±0,02	0,99±0,15
<i>Tropaeolum tuberosum</i> 20%	0,096±0,02	1,56±0,19



(*) Prueba de Dunnett

Gráfico 1. Comparación de las concentraciones de malondialdehído (MDA) obtenidas en los grupos de estudio

Finalmente, al evaluar la fase de retención por grupos, se encontraron diferencias significativas en el número de cruces ($p=0,006$), específicamente al contrastar el grupo Blanco con el grupo que recibió el extracto de *Tropaeolum tuberosum* al 20% ($p=0,018$). A diferencia de ello, al evaluar el tiempo en segundos durante la fase de retención, no se encontraron diferencias significativas entre grupos ($p=0,136$) (Gráfico 3 A y B).

Discusión

El presente estudio muestra que el extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* al 10% tiene una buena actividad antioxidante, disminuyendo la producción de derivados de la peroxidación lipídica. Durante la búsqueda de información no se encontraron estudios previos con modelos experimentales *in vivo* que puedan ser usados como comparación para el presente estudio. Estudios previos realizados por Chirinos *et al.* (18); y Campos *et al.* (17) en modelos

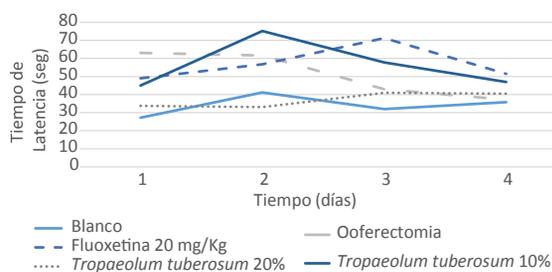


Gráfico 2. Tiempo de latencia por grupos de estudio obtenidos por el test de Morris

Tabla 3. Evaluación de memoria espacial mediante el test de Morris por grupo de estudio

Grupo	Fase de adquisición-tiempo de latencia (s)				Fase de retención	
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Número de cruces	Tiempo (s)
Blanco	27,2±27,3	41,2±41,2	32,0±19,9	35,8±44,9	10,8±3,6	29,0±6,7
Ooforectomía	63,1±38,0	61,6±29,9	43,0±35,2	37,2±29,1	11,8±2,7	25,8±6,8
Fluoxetina 20 mg/kg	49,0±36,6	56,8±33,3	71,3±10,7	51,5±19,4	8,1±3,7	28,5±20,0
<i>Tropaeolum tuberosum</i> 10%	45,0±23,1	75,2±39,4	57,8±40,0	47,0±30,2	12,5±1,6	31,6±3,7
<i>Tropaeolum tuberosum</i> 20%	33,8±21,3	33,1±25,7	41,0±23,1	40,5±17,7	5,5±2,1	19,5±7,3

in vitro (método ABTS) ya sugerían que por la alta presencia de fenoles y antrocianinas, la capacidad antioxidante de este tubérculo estaba determinada hasta en un 19% por la fracción lipofílica.

Chirinos *et al.* ⁽¹⁶⁾, en el año 2007, también analizaron la relación de la concentración de fenoles en extractos metanólicos de *Tropaeolum tuberosum* con el porcentaje de inhibición de peroxidación lipídica en la membrana celular del eritrocito, así como la disminución de la oxidación del LDL mediante el uso del método TBARS; en este estudio se encontró que los flavonoides como la quercetina, catequina y delphinidina-3-glucosido llegan a lograr inhibiciones cercanas al 100%. Otros estudios realizados con el método DPPH ^(19,27), refuerzan la idea de que los fenoles y, específicamente, los flavonoides serían los principales compuestos involucrados en la acción antioxidante de este tubérculo.

De forma similar, tampoco se encontraron estudios similares que evalúen el efecto de *Tropaeolum tuberosum* en la cognición o desempeño mental de animales de

experimentación. Sin embargo, el aumento de los niveles de concentración y/o memoria está registrado como uno de los usos tradicionales de esta especie vegetal en estudios etnobotánicos previos ^(28,29). Si bien el presente trabajo no encontró diferencias significativas con respecto al basal en la evaluación por el test de Morris en animales de experimentación, se debe tener en consideración que esta es una exposición aguda, y que tampoco se encontraron diferencias significativas entre los ratones blanco y los ooforectomizados, por lo que los resultados obtenidos podrían ser a causa del modelo o de la brevedad de la exposición. Se recomienda que estudios futuros podrían evaluar exposiciones mayores a 4 semanas para determinar si existe un efecto en la cognición en animales de experimentación.

Se concluye que el extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* al 10% en dosis de 1 g/kg peso tiene efectos de disminución en la peroxidación lipídica inducida por fluoxetina en *Rattus rattus* var. albinus ooforectomizadas; sin embargo, no se encontró ningún efecto en la evaluación de memoria espacial en este modelo de experimentación.

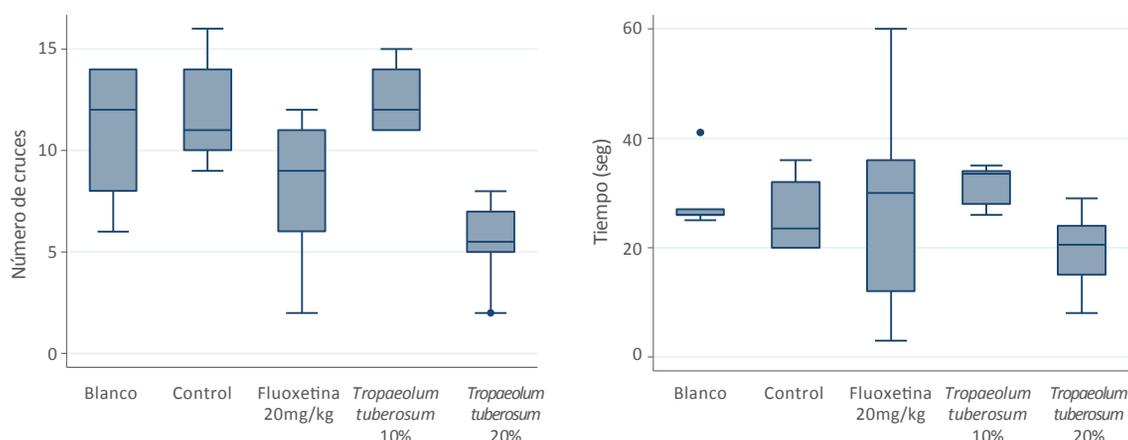


Gráfico 3. Fase de retención en el test de Morris. A) Número de cruces por grupo de estudio; B) Tiempo en segundos por grupo de estudio

Referencias bibliográficas

- Gómez Martínez A, Mateos Ramos A, Lorenzo Díaz M, Simón Hernández M, García Núñez L, Cutanda Carrión B. Representaciones socioculturales sobre la menopausia: Vivencias del proceso en mujeres residentes en Albacete (España). *Index Enferm.* septiembre de 2008;17(3):159–63.
- Malacara JM. Los factores psicosociales en la menopausia. *Rev Endocrinol Nutr.* 2006;14(3):137–40.
- Nelson HD. Menopause. *Lancet Lond Engl.* 1 de marzo de 2008;371(9614):760–70.
- Cervellati C, Bergamini CM. Oxidative damage and the pathogenesis of menopause related disturbances and diseases. *Clin Chem Lab Med CCLM.* 2015;54(5):739–753.
- Wang Z, Chandrasena ER, Yuan Y, Peng K, van Breemen RB, Thatcher GRJ, et al. Redox cycling of catechol estrogens generating apurinic/aprimidinic sites and 8-oxo-deoxyguanosine via reactive oxygen species differentiates equine and human estrogens. *Chem Res Toxicol.* 16 de agosto de 2010;23(8):1365–73.
- Doshi SB, Agarwal A. The role of oxidative stress in menopause. *J -Life Health.* 2013;4(3):140–6.
- Schierbeck LL, Rejnmark L, Tofteng CL, Stilgren L, Eiken P, Mosekilde L, et al. Effect of hormone replacement therapy on cardiovascular events in recently postmenopausal women: randomised trial. *BMJ.* 9 de octubre de 2012;345:e6409.
- Weitzmann MN, Pacifici R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. *J Clin Invest.* mayo de 2006;116(5):1186–94.
- Canderelli R, Leccesse LA, Miller NL, Unruh Davidson J. Benefits of hormone replacement therapy in postmenopausal women. *J Am Acad Nurse Pract.* diciembre de 2007;19(12):635–41.
- Grady D, Rubin SM, Petitti DB, Fox CS, Black D, Ettinger B, et al. Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann Intern Med.* 15 de diciembre de 1992;117(12):1016–37.
- Georgakis MK, Kalogirou EI, Diamantaras A-A, Daskalopoulou SS, Munro CA, Lyketsos CG, et al. Age at menopause and duration of reproductive period in association with dementia and cognitive function: A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology.* noviembre de 2016;73:224–43.
- Girard R, Météreau E, Thomas J, Pugeat M, Qu C, Dreher J-C. Hormone therapy at early post-menopause increases cognitive control-related prefrontal activity. *Sci Rep.* 21 de marzo de 2017;7:44917.
- Koebele SV, Mennenga SE, Hiroi R, Quihuis AM, Hewitt LT, Poisson ML, et al. Cognitive changes across the menopause transition: A longitudinal evaluation of the impact of age and ovarian status on spatial memory. *Horm Behav.* enero de 2017;87:96–114.
- Bimonte-Nelson HA, Francis KR, Umphlet CD, Granholm A-C. Progesterone reverses the spatial memory enhancements initiated by tonic and cyclic oestrogen therapy in middle-aged ovariectomized female rats. *Eur J Neurosci.* julio de 2006;24(1):229–42.
- Berłowski A, Zawada K, Wawer I, Paradowska K. Antioxidant Properties of Medicinal Plants from Peru. *Food Nutr Sci.* 26 de julio de 2013;04(08):71.
- Chirinos R, Campos D, Costa N, Arbizu C, Pedreschi R, Larondelle Y. Phenolic profiles of andean mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers: Identification by HPLC-DAD and evaluation of their antioxidant activity. *Food Chem.* 1 de febrero de 2008;106(3):1285–98.
- Campos D, Noratto G, Chirinos R, Arbizu C, Roca W, Cisneros-Zevallos L. Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (*Solanum* sp.), mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas). *J Sci Food Agric.* 15 de agosto de 2006;86(10):1481–8.
- Chirinos R, Pedreschi R, Cedano I, Campos D. Antioxidants from Mashua (*Tropaeolum tuberosum*) Control Lipid Oxidation in Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) Oil and Raw Ground Pork Meat. *J Food Process Preserv.* 1 de diciembre de 2015;39(6):2612–9.
- Inostroza LA, Castro AJ, Hernández EM, Carhuapoma M, Yuli RA, Collado A, et al. Actividad antioxidante de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón (mashua) y su aplicación como colorante para yogur. *Cienc E Investig.* 2 de agosto de 2017;18(2):83–9.
- The World Medical Association. Declaración de la AMM sobre el Uso de Animales en la Investigación Biomédica [Internet]. 2016 [citado 2 de marzo de 2017]. Disponible en: <https://www.wma.net/es/polices-post/declaracion-de-la-amm-sobre-el-uso-de-animales-en-la-investigacion-biomedica/>
- Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:360438.

22. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* junio de 1979;95(2):351–8.
23. Tukožkan N, Erdamar H, Seven I. Measurement of Total Malondialdehyde in Plasma and Tissues by High-Performance Liquid Chromatography and Thiobarbituric Acid Assay. *Firat Med J.* 2006;11(2):88–92.
24. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods.* mayo de 1984;11(1):47–60.
25. Rubio J, Qiong W, Liu X, Jiang Z, Dang H, Chen S-L, *et al.* Aqueous Extract of Black Maca (*Lepidium meyenii*) on Memory Impairment Induced by Ovariectomy in Mice. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM.* 2011;2011:253958.
26. Delascio Lopes C, Sinigaglia-Coimbra R, Mazzola J, Camano L, Mattar R. Neurofunctional Evaluation of Young Male Offspring of Rat Dams with Diabetes Induced by Streptozotocin. *ISRN Endocrinol* [Internet]. 2011;2011. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3262641/>
27. Junes Olivera R. Evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* y efecto regenerador *in vivo* de una crema cosmética con extracto liofilizado de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón). Repos Tesis - UNMSM [Internet]. 2017 [citado 15 de septiembre de 2017]; Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/6193>
28. De-la-Cruz H, Vilcapoma G, Zevallos PA. Ethnobotanical study of medicinal plants used by the Andean people of Canta, Lima, Peru. *J Ethnopharmacol.* 4 de mayo de 2007;111(2):284–94.
29. Manrique I, Arbizu C, Vivanco F, Gonzales R, Ramirez C, Chavez O, *et al.* *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav.: Catálogo de la colección de germoplasma de mashua conservada en el Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima: International Potato Center; 2013. 123 p.