REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

"EFECTO ANTIOXIDANTE DE LA L-CARNITINA EN COMPARACION CON LA COENZIMA Q10 EN RATAS CON HIPERCOLESTEROLÉMIA EXPERIMENTAL"

Trabajo de Tesis presentado por las Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

CUNO CHIRE Eleana Judith.

HUANCA PACHA María Gloria.

Para optar el Título Profesional de:
QUIMICO FARMACEUTICO

Asesor:
Dr. JAIME CARDENAS GARCIA

AREQUIPA – PERU

2015

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INDICE **Pag.**

RESUMEN

ABSTRACT

CAPITULO I

INTRODUCCION 01

HIPOTESIS 04

OBJETIVOS 05

CAPITULO II

MARCO TEORICO 06

CONSIDERACIONES TEORICAS Y ANTECENTES

2. L-Carnitina.

2.1 Biosíntesis de la L-Carnitina.

2.2 Funciones fisiológicas de la L-Carnitina 08

2.3 Farmacocinética de la L-Carnitina 12

2.4 Toxicidad de la L-Carnitina. 13

2.5 Metabolismo de la L-Carnitina

2.6 Deficiencias de la L-Carnitina 14

2.7 Aplicaciones clínicas de la L-Carnitina 15

2.8 Dosificación de la L- Carnitina 16

2.9 Formas disponibles.

2.10 Contraindicaciones de la L-Carnitina 17

2.11 Efectos secundarios de la L-Carnitina.

3. Coenzima Q10.....18

3.1 Propiedades químicas de la Coenzima Q10.....20

3.2 Usos de la Coenzima Q10.....21

3.3 Composición de la capsula de la Coenzima Q10

3.4 Posología de la Coenzima Q10.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3.5 Efectos secundarios y contraindicaciones 22
3.6 Interacciones de la coenzima Q10 con otros medicamentos.

4. Acido ascórbico
4.1 Generalidades.
4.2 Estructura del ácido ascórbico
4.3 Propiedades del ácido ascórbico 23
4.4 Usos del ácido ascórbico

5. Radicales libres 24
6. Estrés oxidativo 26
7. Antioxidante 30
7.1 Clasificación de antioxidantes 31
7.2 Capacidad antioxidantes 35
7.3 Determinación de la capacidad antioxidante 36
7.3.1 CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity). 37
7.3.2 TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) 39

8. Hipercolesterolémia 40
8.1 Valores de colesterol 41
8.2 Tratamientos 42
8.3 Tratamiento dietético.
8.4 Tratamiento farmacológico

CAPITULO III

MATERIAL Y METODOS 43

3. Campo de investigación.
3.1 Ambito de estudio.
3.2 Tipo de estudio.
3.3 Unidades de estudio.
3.4 Distribución de las unidades de estudio.
3.5 Estrategia de recolección de datos 45

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3.5.1 Material biológico.
3.5.2 Obtención muestra.
3.5.3 obtención de suero
3.6 Material, equipos y reactivo 46
3.6.1 Material biológico.....
3.6.2 Material de laboratorio .....
3.6.3 Material anexo.....47
3.6.4 Equipos
3.6.5 Reactivos.
4. Técnicas y métodos 48
4.1 Inducción a hipercolesterolémia experimental (estrés oxidativo).
4.2 Determinación del colesterol total sérico 50
4.2.1 Fundamento.
4.2.2 Procedimiento.....51
4.3 Determinación de los niveles de malondialdehido (MDA) por el método de TBARS, en ratas con hipercolesterolémia experimental 52
4.3.1 Fundamento.
4.3.2 Procedimiento 53
4.4 Administración de tratamiento farmacológico a los 4 grupos en estudio ascórbico 54
4.5 Método de capacidad antioxidante por reducción de ion cúprico (CUPRAC)
4.5.1 Fundamento
4.5.2 Procedimiento 55
4.6 Preparación de la curva de calibración para determinar la capacidad antioxidante de L-Carnitina.....57

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION 59

4.1 Inducción de hipercolesterolémia experimental.
4.2 Determinación de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) por el

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

método de TBARS.....66

4.3 Evaluación de la disminución de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) en respuesta al tratamiento en el día 1-20-40 a cada grupo Experimental.....69

4.4 Evaluación de la disminución de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) en el día 1-20-40 en función al tiempo y tipo de tratamiento farmacológico.....79

4.5 Determinación de la capacidad antioxidante de la L-Carnitina……..86

CAPITULO V

Conclusiones..... 89

CAPITULO VI

Sugerencias..... 90

Bibliografía..... 91

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 2.1

Estructura química de la L-Carnitina 06

FIGURA N° 2.2

Biosíntesis de la L-Carnitina 07

FIGURA N° 2.3

Transporte de los ácidos grasos al interior de la mitocondria.....09

FIGURA N° 2.4

Fracciones de L-Carnitina libre y AcilCarnitina de cadena corta (ácido soluble)...13

FIGURA N° 2.5

Estructura química de la Coenzima Q10 18

FIGURA N° 2.6

Estructura química del ácido ascórbico 23

FIGURA N°2 7

Mecanismo de la peroxidación lipídica 30

FIGURA N° 2.8

Fundamento del método CUPRAC 37

FIGURA N°2.9

Reacción entre malondialdehido y ácido tiobarbitúrico 40

FIGURA N° 3.1

Pesado ratas y distribución de grupos.....43

FIGURA N° 3.2

Obtención de muestra sanguínea. 45

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FIGURA N° 3.3

Obtención de suero. 46

FIGURA N° 3.4

Procedimiento para la determinación de colesterol total sérico 51

FIGURA N° 3.5

Determinación de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) en suero, mediante el método de TBARS. 53

FIGURA N° 3.6

Suministración bucorogástrica de las muestras. 54

FIGURA N° 3.7

Preparación de la curva de calibración para ácido ascórbico 56

FIGURA N° 3.8

Preparación de la curva de calibración de L-Carnitina.....57

FIGURA N° 4.1

Efecto de la administración durante los 28 días de la tortilla lipídica al grupo hipercolesterolémico y de un placebo al grupo blanco……64

FIGURA N° 4.2

Comparación de la disminución de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) basal del día 1 de tratamiento farmacológico, para los 4 grupos en estudio 67

FIGURA N° 4.3

Comparación de la disminución de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) con L-Carnitina 34 mg/kg en los día 1-20 y 40 70

FIGURA N° 4.4

Comparación de la disminución de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) con L-Carnitina 69 mg/kg en los día 1-20 y 40 72

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

FIGURA N° 4.5

Comparación de la disminución de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) con CoenzimaQ10. 7 mg/kg en los día 1-20 y 40.....75

FIGURA N° 4.6:

Comparación de la disminución de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) en el grupo control en los día 1-20 y 40. 77

FIGURA N° 4.7

Comparación de la disminución de los niveles de MDA (expresado en nM/ml) en función al tiempo de tratamiento. 83

FIGURA N° 4.8

Comparación de la disminución de los niveles de MDA (expresado en nM/ml) en función al tipo de tratamiento como efecto antioxidante.....85

FIGURA N° 4.9:

Presentación de la curva de calibración para L- Carnitina, utilizando como estándar soluciones de ácido ascórbico a diferentes concentraciones.....87

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

INDICE DE TABLAS

TABLA N° 2.1

Propiedades físico-químicas del ácido ascórbico. 23

TABLA N°2.2

Principales radicales libres en el organismo. 25

TABLA N° 2.3

Antioxidantes sintéticos.....32

TABLA N° 2.4

Valores de lípidos en sangre a nivel informativo, el índice de castelli.....41

TABLA N° 3.1

Inducción a hipercolesterolémia experimental (estrés oxidativo) 49

TABLA N° 3.2

Procedimiento para la determinación de colesterol total sérico 51

TABLA N° 3.3

Preparación de la curva de calibración para ácido ascórbico. 56

TABLA N° 3.4

Preparación de la curva de calibración de L-Carnitina.....57

TABLA N° 4.1

Incremento de colesterol sérico durante los 28 días administración de la tortilla lipídica, para la inducción de hipercolesterolémia expresado en mg/dl 61

TABLA N° 4.2

Valores numéricos del grupo blanco (n=5 ratas) expresado en mg/dl.....63

TABLA N° 4.3:

Determinación de MDA basal día 1 (día 28).....66

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.4:

ANOVA para medir el MDA basal del día 1 de tratamiento farmacológico.....67

TABLA N ° 4.5:

Test de Tukey de los niveles de peroxidación lipídica MDA basal día 1

TABLA N° 4.6:

Administración de L-Carnitina 34 mg/kg.....69

TABLA N° 4.7

Evaluación de datos para L-Carnitina 34 mg/kg 71

TABLA N° 4.9

Administración de L-Carnitina 69 mg/kg.....72

TABLA N° 4.10

Evaluación de datos para L-Carnitina 69 mg/kg 73

TABLA N° 4.12

Administración de Coenzima Q10. 7 mg/kg.....74

TABLA N° 4.13

Evaluación de datos para Coenzima Q10. 7 mg/kg 75

TABLA N° 4.15

Administración de placebo 77

TABLA N° 4.16

Evaluación de datos para suero fisiológico 2 ml 78

TABLA N° 4.18

Disminución los niveles de peroxidación lipídica 80

TABLA N° 4.22

Preparación de la curva de calibración para L- Carnitina.....86

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

RESUMEN

La L-Carnitina es un derivado aminoácido presente en casi todas las especies animales y plantas. No es un elemento esencial, aunque el 75% de la cantidad requerida por el organismo procede de la dieta, el resto se sintetiza en el hígado, riñón y cerebro. La función principal de la L-Carnitina es ayudar al transporte de ácidos grasos al interior de las mitocondrias para su posterior oxidación y obtención de energía metabólica necesaria para las células.

El objetivo del presente estudio fue comparar el efecto antioxidante de la L-Carnitina versus similar efecto de la Coenzima Q10 en ratas hipercolesterolémicas inducidas experimentalmente, asumiendo como hipótesis que dicho antioxidante disminuye el estrés oxidativo midiendo los niveles de malondialdehido en suero, por el método de TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances).

En este estudio, se trabajó con 25 ratas, a las cuales se les determinó su colesterol basal, para poder inducirles a la hipercolesterolémia, posteriormente las 25 ratas fueron divididas en 5 grupos:

- Grupo Blanco, constituido por 5 animales de experimentación
- Grupo Control, constituido por 5 animales de experimentación.
- Grupo Patrón, constituido por 5 animales de experimentación.
- Grupo Experimental I, constituido por 5 animales de experimentación.
- Grupo Experimental II, constituido por 5 animales de experimentación.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Los grupos mencionados anteriormente fueron inducidos a hipercolesterolémia mediante la administración de una tortilla lipídica a base de seso de bovino y yema de huevo, por un periodo de 28 días.

Exceptuando al Grupo Blanco ya que dicho grupo fue referencial, al cual no se le indujo hipercolesterolémia por lo tanto no recibió tratamiento alguno. Finalizado el tiempo de los 28 días se demostró la eficiencia del método al alcanzar los grupos una hipercolesterolémia promedio de 108,05mg/dl superior significativamente de su valor inicial de 64,95mg/dl.

Posteriormente al Grupo Hipercolesterolémico, conformado por los Grupos Experimental I, Experimental II, Patrón y Control, se les dio inicio del tratamiento farmacológico por un periodo de 40 días más y paralelamente se midieron los niveles de malondialdehido por el método de TBARS para así demostrar la eficacia del tratamiento como efecto antioxidante.

- **Grupo Control** tratado con 2 mL. de suero fisiológico acompañada con su dieta de mantenimiento. Valor inicial de malondialdehido (MDA) = 2.91 nM/mL..
- **Grupo Patrón** tratado con 7 mg/kg Coenzima Q10 acompañada con su dieta de mantenimiento. Valor inicial de malondialdehido (MDA) = 2.81 nM/mL.
- **Grupo Experimental I** tratado con 34 mg/kg de L-Carnitina acompañada con su dieta de mantenimiento. Valor inicial de malondialdehido (MDA) = 2.74 nM/mL.
- **Grupo Experimental II** tratado con 69mg/kg de L-Carnitina acompañada con dieta de mantenimiento. Valor inicial de malondialdehido (MDA) = 2.88 nM/mL.

Los resultados obtenidos en los 4 grupos con los distintos tratamientos a diferentes dosis nos demostraron que los niveles de malondialdehido (estrés oxidativo) en el transcurso del tratamiento fueron disminuyendo siendo así:

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

- **Grupo Control** con su respectivo tratamiento no presenta una diferencia significativa en sus niveles de malondialdehido (MDA), por lo tanto su valor final de MDA = 2.67 ni/mL..

- **Grupo Patrón** presentó una disminución de sus niveles de malondialdehido con su respectivo tratamiento demostrando una diferencia significativa, por lo tanto su valor final de MDA = 1.28 nM/mL.

- **Grupo Experimental I** presentó una disminución de sus niveles de malondialdehido con su respectivo tratamiento demostrando una diferencia significativa, por lo tanto su valor final de MDA = 2.02 nM/mL.

- **Grupo Experimental II** presentó una disminución de sus niveles de malondialdehido con su respectivo tratamiento demostrando una diferencia significativa, por lo tanto su valor final de MDA = 1.60 nM/mL.

Por lo que se concluye que al hacer la comparación de manera simultánea de ambos tratamientos en los animales de experimentación con hipercolesterolémia inducida tal como lo plantea la hipótesis, la L-Carnitina a la dosis de 69 mg/kg de peso disminuye los niveles de estrés oxidativo y que a esta concentración su capacidad antioxidante es similar al efecto antioxidante de la Coenzima Q10 a la dosis de 7 mg/kg de peso.

Palabras clave: Antioxidante, Estrés oxidativo, Hipercolesterolémia, Radicales libres.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ABSTRACT

L-Carnitine is an amino acid derivative present in almost all animal and plant species. It is not an essential element, although 75% of the amount required by the organism comes from the diet, the rest is synthesized in the liver, kidney and brain. The main function of L-carnitine is to help the transport of fatty acids into mitochondria for further oxidation and production of cells required for metabolic energy.

The aim of this study was to "compare the antioxidant effect" of the L-Carnitine versus similar effect of Coenzyme Q10 in experimentally induced hypercholesterolemic rats, assuming the hypothesis that the antioxidant reduces oxidative stress by measuring serum levels of malondialdehyde by the TBARS method (Thiobarbituric acid reactive substances).

In this study, we worked with 25 rats, which were determined their baseline cholesterol to induce hypercholesterolemia, then the 25 rats were divided into 5 groups:

- White Group, consisting of five experimental animals.
- Control Group, consisting of five experimental animals.
- Pattern Group, consisting of five experimental animals.
- Experimental Group I. consisting of five experimental animals.
- Experimental Group II consisting of five experimental animals.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

The aforementioned groups were induced to hypercholesterolemia by administering a lipid tortilla (based on brains of cattle and egg yolk) for a period of 28 days.

Except the target group and that the group was referential, which will not induce hypercholesterolemia thus received no treatment.

It ended 28 days' time the efficiency of the method was demonstrated to reach average Hypercholesterolemia Groups 108,05mg / dl higher significantly from its initial value of 64,95mg / dl.

Following the Hypercholesterolemia Group, made up of the Experimental Groups I, II Experimental Pattern and Control, they were given start of drug treatment for a period of 40 days and parallel malondialdehyde levels were measured by the TBARS method in order to show treatment efficacy as an antioxidant effect.

- **Control Group** treated with 2 mL. of saline together with their maintenance diet. malondialdehyde (MDA) initial value = 2.91 nM / mL..
- **Group Treated** pattern 7mg / kg coenzyme Q10 together with their maintenance diet malondialdehyde (MDA) initial value = 2.81 nM/mL..
- **Experimental Group I** treated with 34 mg / kg of L-carnitine together with their maintenance diet. malondialdehyde (MDA) initial value = 2.74 nM/mL..
- **Experimental Group II** treated with 69mg / kg of L-carnitine together with maintenance diet. malondialdehyde (MDA) initial value = 2.88 nM/mL..

The results obtained in the four different treatment groups with different doses showed us that malondialdehyde levels (oxidative stress) in the course of treatment were still declining and :

- **Control Group** with their respective treatment no significant difference in levels of malondialdehyde (MDA), so the final value of MDA = 2.67 nM/l.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

- **Group present Pattern** decreased malondialdehyde levels with their respective treatment demonstrating a significant difference, therefore the final value of MDA = 1.28 nM/mL..

- **Experimental Group I** presented a decrease in malondialdehyde levels with their respective treatment demonstrating a significant difference, therefore the final value of MDA = 2.02 nM/mL..

- **Experimental Group II** presented a decrease in malondialdehyde levels with their respective treatment demonstrating a significant difference, therefore the final value of MDA = 1.60 nM/mL..

So it follows that by combining and making comparison simultaneously in both treatments in experimental animals with induced hypercholesterolemia as hypothesized, the L-Carnitine at a dose of 69 mg / kg is the suitable for lower levels of oxidative stress and that this concentration antioxidant capacity is similar to the antioxidant effect of Coenzyme Q10 at the dose of 7 mg / kg.

Keywords: Antioxidant, Oxidative stress, hypercholesterolemia, Free Radicals

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

CAPITULO I

1. INTRODUCCION

Según la OMS, se considera hipercolesterolémia uno de los principales factores de riesgo de morbi-mortalidad en el mundo, es una enfermedad mundial de alto índice de crecimiento; dicha enfermedad se da cuando el valor de colesterol en suero es igual o superior a 180 mg/dl.

Este aumento de la concentración de colesterol en sangre, que se asocia a problemas coronarios, depende de la dieta, el sexo, el estilo de vida y la síntesis endógena. En consecuencia, intervienen factores hereditarios y dietéticos, junto a otros relacionados con la actividad física. (1)

Para ello, se ha recurrido al uso de diferentes tratamientos tanto farmacológicos y tratamientos dietéticos, en estos últimos años el tratamiento con antioxidantes ha evolucionado para lo cual haremos uso de estos dos antioxidantes por lo tanto nos parece importante encaminar el objetivo terapéutico a la búsqueda de nuevas terapias que sean capaces no solo de disminuir las cifras de hipercolesterolémia, sino que además, posea una acción protectora frente al daño que se produce a nivel arterial y coronario.

El estrés oxidativo se define como una alteración del equilibrio prooxidante/antioxidante, en favor del primero Y más recientemente se afirma que el estrés oxidativo causante del envejecimiento no solo deriva de los radicales libres de oxígeno sino también de los efectos desorganizadores de otros productos tóxicos ligados a reacciones de oxidación, como el óxido nítrico y los aldehídos resultantes del antes mencionado proceso de peroxidación de los lípidos, señalándose que las mitocondrias actuarían como las principales dianas de dicho estrés. (2)

La ventaja de este proceso para la vida aerobia es un enlentecimiento de las reacciones de oxígeno con compuestos no radicales. La desventaja es que se forman especies reactivas de oxígeno, las cuales incluyen el anión superóxido, el radical hidroxilo y otras especies relacionadas. (3)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

En una célula normal existe un equilibrio apropiado entre prooxidantes y antioxidantes ya que son los que producen efectos tóxicos y genera patologías. Cuando el desbalance esta favor de los pro-oxidantes el disturbio se llama stress oxidativo, lo cual definimos prooxidantes como compuestos biológicos derivados del oxígeno o del óxido nítrico, llamados radicales libres, los cuales son muy inestables, y para estabilizarse dañan a estructuras lipídicas; y a los antioxidantes lo definimos como compuestos que forman parte del sistema de defensa celular. Colisionan con los radicales libres neutralizándolos y acelerando reacciones químicas que bloquean su acción. No obstante, este balance puede desplazarse hacia los prooxidantes cuando la producción de estas especies aumenta de modo considerable. El desbalance puede presentarse, además, cuando la concentración de antioxidantes disminuye, ya sea debido a una malnutrición como la hipovitaminosis E, o a un fallo funcional de alguna de las enzimas involucradas en la respuesta antioxidante del organismo. A todo este desequilibrio se le conoce como tensión oxidativa o estrés oxidativo y puede conducir a lesión grave si se manifiesta de forma masiva o prolongada. (3)

La Coenzima Q10 hasta hace 60 años atrás, era desconocida. Hoy además de atribuirle propiedades importantes para la prevención y tratamiento de diferentes patologías, los expertos afirman que la Coenzima Q10 estimula el sistema inmune, mejora el funcionamiento coronario, aumenta la energía celular y normaliza las constantes sanguíneas, entre otros efectos beneficiosos. Y todo ello sin efectos secundarios notables. Técnicamente es un potente antioxidante liposoluble conocido también como ubiquinona. Se la llama así porque es ubicua existe en todo los seres vivos y en todas las células del cuerpo humano y porque es una quinona. (23)

Su descubrimiento en 1957 se debe al doctor Fred Crane de la universidad Wisconsin (Estados Unidos). Al principio la considero poco importante, pero enseguida comprobó que era un nutriente necesario para el funcionamiento de todas y cada una de las células de nuestro cuerpo; que actúa como una coenzima en varios procesos enzimáticos clave en la producción de energía dentro de la célula y

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

que como antioxidante combate los efectos pernicioso de los radicales libres sobre nuestro organismo. (23)

Es tal su importancia que estudios posteriores a las del doctor Crane han demostrado que la vida humana no sería posible sin ella. La Coenzima Q10 es un antioxidante único en su género porque consigue penetrar en las diminutas fábricas de energía de las células, llamadas mitocondrias. (23)

Estudios recientes realizados en sangre y otros órganos involucrados en la hipertensión arterial, los científicos comprobaron que el efecto hipotensor de la L-Carnitina estaba acompañado de un aumento significativo en los mecanismos enzimáticos antioxidantes relacionados con el estrés oxidativo asociado a la hipertensión arterial, ya que este compuesto aumenta la capacidad antioxidante total del organismo, que se encuentra disminuida en la hipertensión arterial. (23)

En nuestra investigación evaluamos el efecto antioxidante de la L-Carnitina en comparación con la Coenzima Q10 con la finalidad de lograr la disminución de los niveles de oxidación a las ratas de experimentación a las cuales se les indujo a hipercolesterolémia ya que esta patología se encuentra asociada a un estrés oxidativo debido a un incremento de radicales libres lo que a su vez constituye un desencadenante a la presencia de otras patologías cardio y cerebrovasculares cuya incidencia, se ha elevado en nuestro medio.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

HIPOTESIS

Dado que La L-Carnitina se le atribuye efectos antioxidantes, es probable que posea efectos benéficos sobre la oxidación o llamado también estrés oxidativo que padecen los animales (ratas) de experimentación con hipercolesterolémia experimental.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

OBJETIVOS

1. Elaborar una dieta lipídica a base de seso de bovino y yema de huevo, para inducir hipercolesterolémia experimental en ratas de la especie (rattus norvegicus).

2. Cuantificar y estimar la presencia de estrés oxidativo una vez inducida la hipercolesterolémia, a través de la determinación del marcador oxidativo de malondialdehido (MDA) en suero de ratas.

3. Evaluar si la concentración de L-Carnitina a las dosis de 34 mg/kg y 69 mg/kg, ayuda a disminuir los niveles de malondialdehido en ratas hipercolesterolémicas.

4. Evaluar si la concentración de una dosis de 7 mg/kg de Coenzima Q10 ayuda a disminuir los niveles de malondialdehido en ratas hipercolesterolémicas.

5. Comparar el efecto de la mejor dosis de L-Carnitina como antioxidante frente al tratamiento con Coenzima Q10 mediante el marcador oxidativo de malondialdehido (MDA) en suero de ratas.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

CAPITULO II

MARCO TEORICO

CONSIDERACIONES TEORICAS Y ANTECENTES

2. L-CARNITINA

La L-Carnitina (3-hidroxi-4-trimetilaminobutirato) es una amina cuaternaria, soluble en agua y sintetizada por la mayor parte de los organismos eucarióticos (hígado, riñón y cerebro) a partir de dos aminoácidos esenciales: metionina y lisina. Es un compuesto anfótero, ya que presenta un grupo trimetilamonio y un grupo carboxilo aniónico; pertenece al grupo de la betaína. En ocasiones se la ha confundido con el ácido fólico (vitamina B_9). (4)

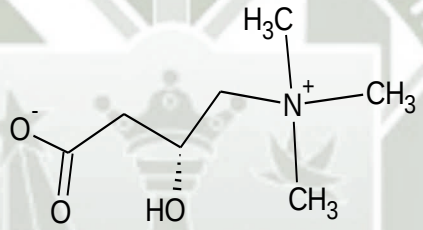


FIGURA N° 2.1: Estructura química de la L- Carnitina (4)

2.1 BIOSINTESIS DE LA L-CARNITINA

En muchas proteínas, los residuos de lisina pueden sufrir mono-di- y trimetilación. Al hidrolizarse estas proteínas, uno de los aminoácidos obtenidos es la N^6,N^6,N^6-trimetil lisina (**TML.**), que se emplea como precursor de la biosíntesis de Carnitina.

Por acción de la enzima trimetil lisina dioxigenasa (TML.-DO, EC 1.14.11.8) se hidroxila la posición 3 de la TML. para formar la 3-hidroxi-N^6,N^6-trimetil lisina (**HTML.**) en presencia de oxígeno diatómico como agente oxidante, α-cetoglutarato como aceptor de electrones, además de hierro (II) y ácido ascórbico como cofactores. (49)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Esta reacción es la única que se lleva a cabo en la mitocondria, mientras que las siguientes tienen lugar en el citosol. La HTML. sufre una condensación aldólica inversa para formar glicina y N^4,N^4,N^4-trimetilaminobutiraldehído (**TMABA**). En este paso se requiere la enzima hidroxitrimetil lisina aldolasa (**HTML.A)**, EC 4.1.2."X") y fosfato de piridoxal como cofactor. (49)

El grupo aldehído se oxida a ácido carboxílico para formar la γ-butirobetaína (**γBB**) gracias a la enzima trimetilaminobutiraldehído deshidrogenasa (TMABA-DH, EC 1.2.1.47), que requiere NAD^+ como aceptor de electrones. La γ-butirobetaína se hidroxila en la posición 3 para dar como producto final la Carnitina, reacción catalizada por la enzima butirobetaína dioxigenasa (γBB-DO, EC 1.14.11.1), que requiere hierro (II), 3-oxoglutarato y ácido ascórbico como cofactores. (49). En la **Figura N° 2.2** se explica a mayor detalle la biosíntesis.(49)

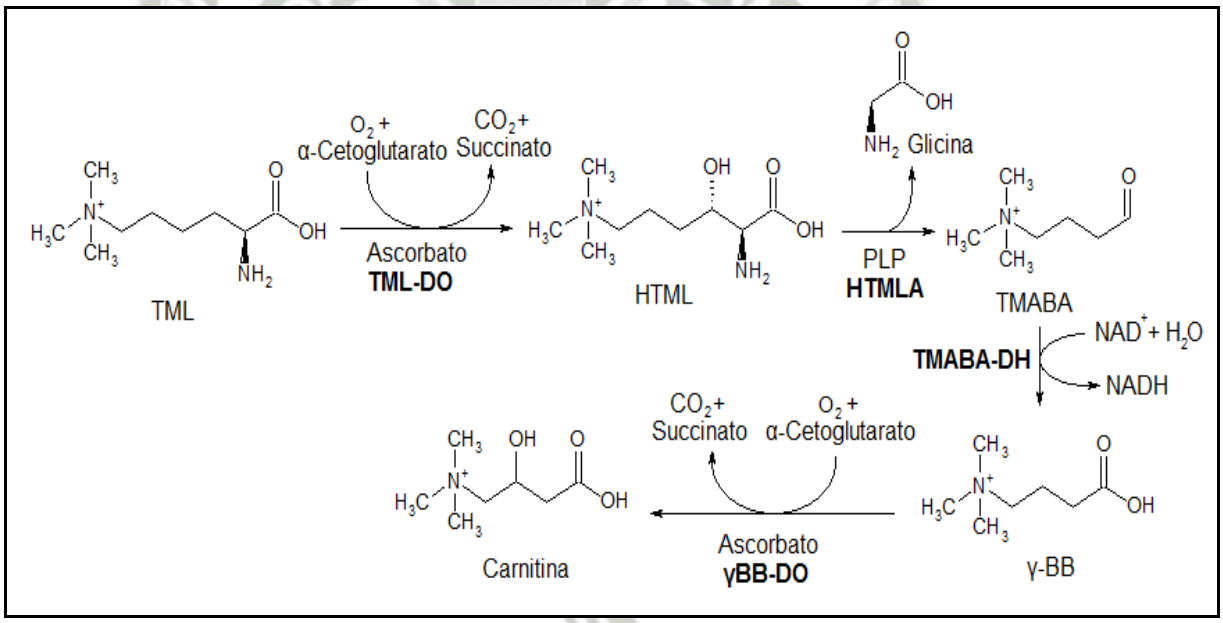


FIGURA N° 2.2: Biosíntesis de la L-Carnitina donde: TML. (trimetil lisina).- **TML. DO** (trimetil lisina dioxigensa) - **HTML. (**hidroxitrimetil lisina) – **TMABA** (trimetilaminobutiraldehído) - **HTML.A** (hidroxitrimetil lisina aldolasa)– **TMABA-DH** (trimetilaminobutiraldehído deshidrogenasa) – **γBB** (γ-butirobetaína) – **γBB-DO** (butirobetaína dioxigenasa).(49)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

2.2 FUNCIONES FISIOLOGICAS DE LA L-CARNITINA

Entre las funciones fisiológicas de la L- Carnitina se encuentra:

a) Mecanismo de acción del transportador de ácidos grasos al interior de la mitocondria:

Desde la mitad del siglo XX, muchos han sido los trabajos que han puesto de manifiesto la principal función de la L-Carnitina, que es el transporte de ácidos grasos de cadena larga hacia el interior de la mitocondria, donde tiene lugar la β-oxidación de los mismos para la formación de energía metabólica (5). Los ácidos grasos circulantes son transportados al citoplasma de las células en cantidades determinadas principalmente por su concentración en el plasma. Una vez en el interior celular, los ácidos grasos deben de atravesar la membrana mitocondrial. Para ello, deben ser primero activados conjugándose con el coenzima A (CoA), consumiéndose en esta reacción ATP (adenosin trifosfato) y siendo catalizada por la enzima Acil-CoA sintetasa que se encuentra en la membrana mitocondrial externa (6).

Los ácidos grasos de cadena larga activados (Acil-CoA) son incapaces de pasar al interior de la mitocondria sin el transportador de Carnitina, que es denominado Carnitina palmitoil transferasa I (CPT I), **Figura N° 2.3**. La CPT I, que es una proteína localizada en la membrana mitocondrial externa, cataliza la formación de AcilCarnitina, por unión del grupo acilo graso del Acil-CoA y el grupo hidroxilo de la L-Carnitina, liberándose en esta reacción CoA (7). La AcilCarnitina formada atraviesa la membrana mitocondrial externa, y pasa desde el espacio intermembrana hasta la matriz mitocondrial por difusión facilitada, gracias a la translocasa de AcilCarnitina/Carnitina, situada en la membrana mitocondrial interna (8).

Por último, el grupo acilo graso de la AcilCarnitina es transferido de nuevo a la coenzima A, en una reacción catalizada por la Carnitina palmitoil transferasa II (CPT II), liberándose Acil-CoA y L-Carnitina al interior de la matriz mitocondrial. La enzima CPT II se encuentra localizada en la cara interna de la membrana mitocondrial interna (9) (10). Finalmente, la Acil-CoA formada puede ya

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

incorporarse a la ruta de β-oxidación con objeto de obtener energía; por su parte, la L-Carnitina vuelve a penetrar en el espacio existente entre las membranas mitocondriales interna y externa mediante el transportador acilCarnitina/Carnitina translocasa, saliendo después al exterior mitocondrial por difusión simple. El proceso de entrada mediado por la L-Carnitina (más concretamente por el transportador CPT I) es limitante para la entrada de ácidos grasos de cadena larga en la mitocondria (3) y su oxidación. (6)

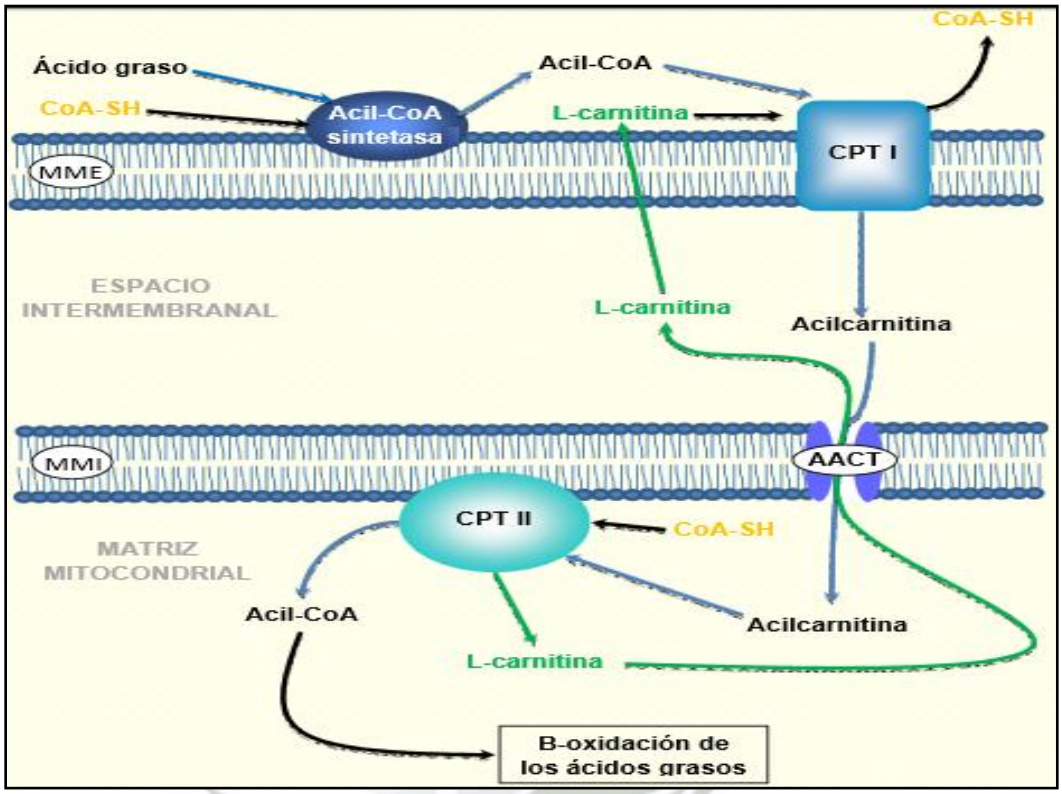


FIGURA N° 2.3: Transporte de los ácidos grasos al interior de la mitocondria, donde: CoA (coenzima A) – ATP (adenosin trifosfato) – CPT I (Carnitina palmitol transferasa I - CPT II (Carnitina palmitol transferasa II – MME (membrana mitocondrial externa) - MMI (membrana mitocondrial interna). (6)

b) Exportar derivados acilos de la mitocondria:

A menudo se pasa por alto que la L- Carnitina también sirve para exportar derivados acilos no metabolizados en la mitocondria, evitando su acúmulo dentro del orgánulo. (6)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

c) Restaurar niveles de CoA libre:

Cuando realizaban perfusiones con L-Carnitina, la concentración intracelular de las especies de Acil-CoA fue reducida de una forma dosis dependiente. (11)

También demostraron una reducción de Acil-CoA y AcilCarnitina en corazones isquémicos de perros tras la administración de L-Carnitina, con aumento en la producción de ATP en el miocardio. Ambos estudios revelaron que la reducción de Acil-CoA y AcilCarnitina inducida por L-Carnitina estaba acompañada por la restauración de los niveles normales de CoA libre.(6)

Esta habilidad de la L-Carnitina de reducir la concentración de los grupos acilos unidos a la coenzima A y restaurar los niveles de CoA libre para que puedan ser utilizados en próximas funciones metabólicas, es reconocida como la tercera acción importante de la L-Carnitina. (6)

d) Cetogénesis:

La L-Carnitina desempeña un papel importante en la cetogénesis, proceso por el que se suministra energía al corazón y al cerebro. (12) Como hemos mencionado, la enzima CPT I es el punto más importante en la regulación de la oxidación de los ácidos grasos. El Acil-CoA producido por la oxidación de los ácidos grasos en las mitocondrias puede ser completamente oxidado mediante el ciclo del ácido cítrico. Sin embargo, una fracción significante de este acil-CoA es convertido en acetoacetato o D-β-hidroxibutirato. (13)

Estos compuestos, junto con la acetona, son referidos como cuerpos cetónicos, que sirven como importantes combustibles metabólicos para muchos tejidos periféricos. Por ejemplo, el cerebro normalmente utiliza glucosa como fuente de energía (los ácidos grasos no pueden atravesar la barrera hematoencefálica), pero, durante ayuno prolongado, los cuerpos cetónicos son la mayor fuente de energía del cerebro. Los cuerpos cetónicos son los equivalentes hidrosolubles de los ácidos grasos. (8)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

e) En el ejercicio físico:

La L-Carnitina como ya se mencionó anteriormente es el principal sustrato de CPT I, así que también desempeña un importante papel en la regulación de la oxidación de las grasas durante el ejercicio. (14)

f) Participación en la transferencia de los productos de la β-oxidación peroxisomal

La L-Carnitina participa en la transferencia de los productos de la β-oxidación peroxisomal (incluyendo acetil-CoA) a la mitocondria, donde se produce su oxidación a CO_2 y H_2O en el ciclo del ácido cítrico. Otros estudios han demostrado la existencia en peroxisomas de hígado de una proteína idéntica a la proteína transportadora Acil graso-Carnitina/Carnitina mitocondrial, implicando a la Carnitina en el transporte de los ácidos grasos a través de la membrana peroxisomal. (3) (15) (8)

g) Otras funciones

- Modifican la apoptosis, uno de los principales determinantes de la miopatía del músculo esquelético en el fallo cardiaco. (16)
- Disminuir el daño orgánico oxidativo en modelos de animales con fallo renal crónico. (16)
- Actuar como antioxidante, aunque no está claro su mecanismo de acción al respecto.(17)
- Prevenir la acumulación tóxica de ácidos grasos en el interior de la mitocondria, ya que los expulsa en forma de ésteres de Carnitina. (18)
- Intervenir en la proliferación de linfocitos. (18)
- Intervenir en la transcripción nuclear en el cardiomiocito. (19)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- Actuar como un tampón del grupo acetilo al principio del ejercicio, cuando la tasa de generación de acetil-CoA es más elevada que su tasa de utilización por el ciclo de los ácidos tricarboxílicos. (8)

- Ejercer una acción neuromoduladora en tejidos animales de avanzada edad. (20)

Es importante reseñar que, según acabamos de mencionar, la L-Carnitina no sólo desempeña una función esencial en el metabolismo de los ácidos grasos para la obtención de energía metabólica, sino que además parece ser que ejerce una acción antioxidante y neuromoduladora.

2.3 FARMACOCINETICA DE LA L-CARNITINA

La L-Carnitina se puede administrar por vía oral o intravenosa. La biodisponibilidad después de una dosis oral es del 15-16%, alcanzándose las concentraciones máximas a las 3 horas. Las concentraciones plasmáticas de L-Carnitina después de un bolo intravenoso de 20 mg/kg en 3 minutos siguen un modelo bicompartimental. Después de una dosis I.V., aproximadamente el 76% de la L-Carnitina es eliminada en la orina en un plazo de 24 horas. La semi-vida de distribución es de 0.585 horas y la semi-vida de eliminación de 17.4 horas. (13)

En el compartimento central, la L-Carnitina se distribuye en los tejidos, si bien no parece entrar en los músculos, debido a que en este tejido, su recirculación es muy lenta. La LevoCarnitina no se une a las proteínas del plasma y el aclaramiento es de unos 4 L/hora. Después de la administración oral de Carnitina marcada con tritio, se recuperó en las orina y heces en 15 días entre el 58 y 56% de la radioactividad administrada. Las concentraciones máximas del producto marcado fueron detectadas a las 2-4.5 horas. (13)

El estado de equilibrio *("steady State")* se alcanza a los 4 días de la administración por vía oral de la L-Carnitina. Si las concentraciones plasmáticas de Carnitina superan la capacidad de reabsorción de los riñones (que se estima de 60 a 100 mol/L), el exceso es eliminado en la orina. (13)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

2.4 TOXICIDAD DE LA L-CARNITINA

No se ha establecido la ingesta máxima tolerable, en general la L-Carnitina es bien tolerado, con una suplementación de L-Carnitina mayor a 3000mg. al día. No se ha considerado necesaria la realización de estudios de carcinogénesis dado que la L-Carnitina es un producto natural, presente en todos los tejidos del organismo. (4)

Se han llevado a cabo estudios de toxicidad sobre la reproducción en ratas y conejos, con dosis 3.8 veces las dosis máximas utilizadas en el hombre, sin observarse ningún efecto teratogénico ni influencia alguna sobre la reproducción. (4)

2.5 METABOLISMO DE LA L-CARNITINA

El 75% de la cantidad de L-Carnitina requerida por el organismo proviene de la dieta (carne roja, huevos y productos lácteos). El resto se sintetiza endógenamente en el hígado y en menor cantidad en el riñón y cerebro, a partir de los aminoácidos lisina y metionina. La mayor parte de las reservas de L-Carnitina están en el músculo esquelético y cardiaco (hasta el 98%), mientras que en el hígado hay tan sólo del 1 al 6%. El fluido extracelular del individuo normal contiene menos del 6% del total de la L-Carnitina del organismo. La mayor parte de la L-Carnitina del organismo está en forma libre; el resto se presenta esterificado en forma de AcilCarnitinas de cadena corta y AcilCarnitinas de cadena larga, en la **Figura N° 2.4** observamos las fracciones de L-Carnitina.

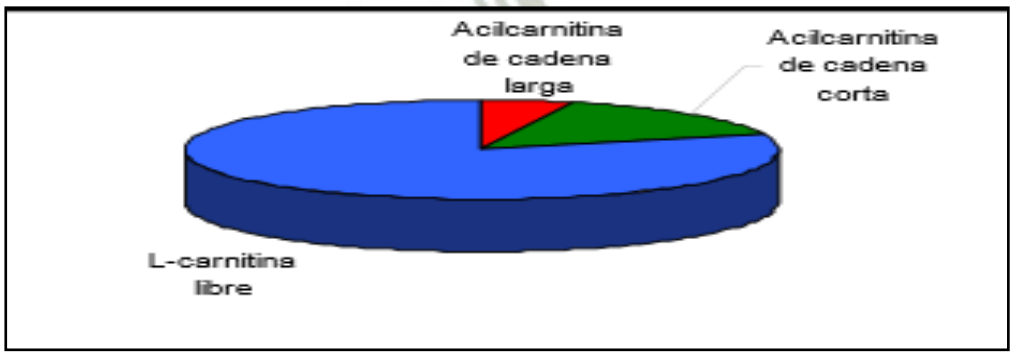


FIGURA N°2.4: fracciones de L-Carnitina libre como AcilCarnitina de cadena corta (ácido soluble), y AcilCarnitina de cadena larga (ácido insoluble) (21).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

La L-Carnitina no es considerada normalmente como un nutriente esencial, debido a que el organismo, es capaz de sintetizar las cantidades necesarias. Sin embargo, en el caso de los pacientes con tratamientos de hemodiálisis o con enfermedades cardiovasculares, sí se requiere un aporte exógeno de L-Carnitina ya que existe una demanda de ácidos grasos o deficiencia de Carnitina. (6)

2.6 DEFICIENCIAS DE LA L-CARNITINA

La deficiencia de L-Carnitina es un estado metabólico en el cual las concentraciones de Carnitina en el plasma o en los tejidos son menores a las requeridas para el funcionamiento normal del organismo.

Los efectos biológicos no son clínicamente significativos hasta que los niveles no se encuentran por debajo de un 10 y 20% de los valores considerados como normales. (22)

Los mecanismos por los que puede producirse una deficiencia de Carnitina son:

a) Reducción en la síntesis hepática y/o renal.

b) Aumento de la excreción renal.

c) Insuficiencia de la L- Carnitina en la dieta o mala absorción intestinal.

d) Producción excesiva de Carnitina esterificada, con una reducción importante de L-Carnitina libre.

Deficiencias de Carnitina se clasifican en:

a) Deficiencia primaria de Carnitina:

- Deficiencia muscular.
- Deficiencia sistémica.

b) Deficiencia secundaria de Carnitina

c) Deficiencia de enzima Carnitina palmitoil transferasa.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

2.7 APLICACIONES CLINICAS DE LA L-CARNITINA

Como se mencionó en un inicio la Carnitina no es considerada normalmente como un nutriente esencial, debido a que el organismo en condiciones normales es capaz de sintetizar las cantidades necesarias. Sin embargo, en la mayoría de patologías producidas por deficiencia de este compuesto está justificada una suplementación con L-Carnitina.

Las deficiencias de Carnitina afectan principalmente al músculo esquelético y al corazón, ya que su principal fuente de energía son los ácidos grasos.

Por esta razón, el tratamiento con L-Carnitina está especialmente indicado en enfermedades musculares y cardiovasculares.(8) Según el Vademécum Médico Internacional. (30)

Las aplicaciones clínicas de la L-Carnitina son:

a) Pérdida secundaria de Carnitina durante el tratamiento hemodialítico.

b) Miopatías y cardiomiopatías causadas por carencia de Carnitina.

c) Cardiomiopatías producidas por adriamicina y antidepresivos tricíclicos.

d) Isquemia miocárdica aguda y crónica: angina de pecho, secuelas de infarto de miocardio, insuficiencia cardiaca, corazón senil, cardiopatía congestiva, arritmias. (30)

En las tres primeras indicaciones mencionadas anteriormente, el tratamiento con L-Carnitina ayuda a paliar la sintomatología producida por la carencia de la misma. En el caso de las isquemias, el tratamiento mejora la recuperación delos pacientes, aliviando los síntomas, reduciendo el requerimiento de otros fármacos y disminuyendo la mortalidad.

Además de las indicaciones terapéuticas mencionadas, existen muchos estudios que sugieren el uso de L-Carnitina y algunos de sus acilderivados en otras patologías, ya sea en monoterapia o en combinación con otras sustancias. Así, países como

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Estados Unidos proponen en la actualidad el uso de L-Carnitina para el tratamiento de determinadas patologías y situaciones fisiológicas como: anorexia, desarrollo físico, enfermedades cardiovasculares, diabetes y resistencia a la insulina, efectos hepáticos, VIH e inmunidad, infertilidad masculina, fallo renal y diálisis. (30)

2.8 DOSIFICACION DE LA L- CARNITINA

Administración oral:

- **Adultos:** inicialmente se recomiendan 990 mg 2 o 3 veces al día, con las comidas dependiendo de la respuesta clínica.
- **Niños:** inicialmente, 50 mg/kg/día en dosis divididas. Estas dosis de pueden aumentar a 100 mg/kg/día dependiendo de la respuesta clínica.
- No se deben exceder los 4 g/día.(30)

Administración intravenosa:

- Adultos y niños: inicialmente, 50 mg/kg en un bolo de 2 a 3 minutos o por perfusión intravenosa. Las dosis siguientes deben ser de 50 mg/kg según las necesidades clínicas. Se han llegado a administrar 300 mg/kg/días. (30)

2.9 FORMAS DISPONIBLES DE LA L- CARNITINA

La L-Carnitina se consigue comercialmente en varias formas, entre las cuales se encuentran la L-Carnitina que es la forma de Carnitina preferida para el tratamiento de una gran cantidad de afecciones diferentes. Dada su toxicidad, se recomienda no utilizar D-Carnitina como suplemento dietético.

Otras formas conocidas son la L-AcetilCarnitina, utilizada frecuentemente en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y trastornos cardiovasculares, o la L-PropionilCarnitina empleada para tratar algunas enfermedades de carácter infeccioso. (30)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

2.10 CONTRAINDICACIONES DE LA L- CARNITINA

La L-Carnitina podría promover la aterosclerosis endurecimiento o la obstrucción de las arterias-, según una investigación realizada por investigadores de la Clínica Cleveland (EE.UU.) publicada por Nature Medicine. Dicho estudio muestra que las bacterias que residen en el tracto digestivo humano metabolizan la L-Carnitina, convirtiéndolo en trimetilamina-N-óxido (TMAO), un metabolito que está vinculado desde 2011 con el desarrollo de la aterosclerosis en seres humanos. La investigación también muestra que una dieta alta en L-Carnitina promueve el crecimiento de las bacterias que la metabolizan, lo que agrava el problema al producir aún más cantidades de TMAO que terminan por obstruir las arterias y desencadenar la enfermedad cardiovascular. (30)

No existen restricciones para su consumo durante el embarazo y la lactancia, ya que esta es una sustancia natural, cuya demanda se incrementa durante el embarazo y además, forma parte de la leche humana. Tampoco se han registrado alteraciones fetales.

Se han realizado estudios con dosis altas de L-Carnitina, 15 g/día, sin registrarse mutagénesis, teratogénesis ni carcinogénesis.

La L-Carnitina se puede tomar por vía oral y parenteral (intramuscular o intravenosa). La dosis habitual es de 50-100 mg/kg/día, tanto en niños como en adultos, distribuida en 2 o 3 tomas por día. (30)

2.11 EFECTOS SECUNDARIOS DE LA L-CARNITINA

a) Hipersensibilidad a algunos de sus componentes. Náuseas. Mareo. Vómitos, dolor abdominal.

b) Hiperhidrosis. Síntomas parecidos a la miastenia. Para contrarrestar estos efectos adversos se aconseja tomar la L-Carnitina con las comidas. (30)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

3. COENZIMA Q10

Las coenzimas Q son una familia de moléculas de color brillante (llamadas quinonas) muy abundantes en la naturaleza, pues forman parte de la cadena de reacciones que producen la energía en toda célula viva que respire oxígeno. En el organismo humano y en los mamíferos la más frecuente es la Coenzima Q10, mientras que en los restantes animales y en las plantas predominan otros tipos como la Q9, Q8, Q7, etc.

La molécula de las coenzimas Q está compuesta por una cabeza y una cola, en la que se repite un cierto número de veces la misma estructura química (10 veces en el caso de la Coenzima Q10. (23)

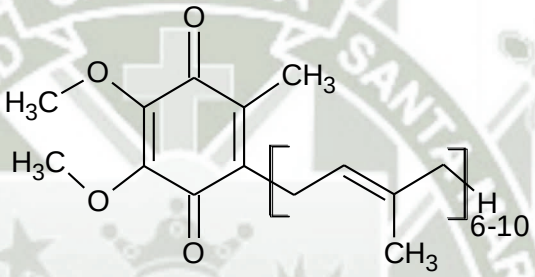


FIGURA N° 2.5: Estructura química de la coenzima Q10

La Coenzima Q10 (CoQ10), también llamada ubiquinona o vitamina Q10, es una sustancia de color anaranjado semejante a las vitaminas. Recordemos que éstas últimas son compuestos esenciales para el mantenimiento de la salud y la vida que el cuerpo humano no es capaz de fabricar por sí mismo, por lo que obligatoriamente deben formar parte de la dieta.

Pero esta definición se ha quedado ya anticuada, pues hoy se sabe que el organismo sí puede sintetizar algunas vitaminas como el ácido ascórbico (vitamina C) y el ácido nicotínico (vitamina B3). Del mismo modo, nuestro cuerpo puede también fabricar la Coenzima Q10 partiendo de los aminoácidos tirosina y fenilalanina. Pero el hecho importante es que muchas veces no la produce en cantidades suficientes para mantener la salud y la vitalidad que todos deseamos. (23)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Las coenzimas Q (CoQ) comprenden un grupo de moléculas diferenciadas que se identifican desde el coenzima Q1 al coenzima Q10. Se hallan contenidos en los alimentos que componen nuestra dieta de manera que todos los alimentos contienen alguna forma de CoQ. Por su ubicuidad (localización amplia) también se les denomina ubiquinonas. (23)

Las vitaminas constituyen los principales precursores de coenzimas. Las moléculas de piridoxina (B6), tiamina (1), riboflavina (B2), niacinamida (B3), ácido pantoténico (B5) y ácido fólico, a través de diversas reacciones, son fácilmente transformadas en coenzimas. (23)

El resultado de esta combustión (u oxidación) es una sustancia denominada adenosin trifosfato (ATP) que es la energía pura que la célula utiliza luego para llevar a cabo las múltiples reacciones químicas necesarias para la vida. Más del 95% del oxígeno que respiramos es empleado en dicha combustión, la cual tiene lugar en unos orgánulos celulares denominados mitocondrias, que se podrían equiparar a la caldera o a la cocina de la célula, ya que en ella los alimentos sin procesar son convertidos por la acción del oxígeno en energía pura directamente utilizable, es decir, en ATP. (23)

Esta conversión tiene lugar mediante una cadena de reacciones químicas en las que electrones y protones son transportados de unas moléculas a otras La Coenzima Q10, que es soluble en las grasas y puede por ello penetrar a través de las membranas celulares, juega un papel único e insustituible en ese transporte de electrones y protones, actuando como mensajero entre varias de las enzimas catalizadoras de esa cadena de reacciones químicas que ocurre en la mitocondria. Si comparamos a la célula con un motor que utilizara oxígeno para quemar los combustibles orgánicos procedentes del alimento, podríamos decir que la Coenzima Q10 es quien suministra la chispa que pone en marcha todo el proceso. Ninguna otra substancia puede ocupar su lugar. Sin ella no hay chispa, ni por lo tanto producción de energía. Y sin energía no hay vida y la célula muere.

De este modo, el transporte de partículas subatómicas mediante el cual es fabricada la ATP, depende de que los niveles de Coenzima Q10 en la membrana de la

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

mitocondria celular se mantengan óptimos. Teniendo en cuenta este papel tan fundamental que cumplen la producción de energía a nivel celular, es lógico pensar que cualquier deficiencia de Coenzima Q10 afectará a la capacidad del organismo para funcionar normalmente, alterando todos los procesos vitales que dependan de la energía, especialmente los relacionados con el trabajo mecánico, el transporte, los intercambios eléctricos y la biosíntesis, En los diversos tipos de coenzima Q pueden distinguirse por el número de cadenas isoprenoides que tienen. La coenzima Q más común en las mitocondrias humanas es la Q10. (23)

3.1 USOS DE LA COENZIMA Q10

Una importante área de estudio han sido las enfermedades cardiovasculares, donde se mostraba que la Coenzima Q10 mejoraba las enfermedades circulatorias del corazón, también la debilidad cardíaca y otras afecciones cardíacas. También favorece el trabajo del corazón, reduciendo la presión arterial. Los efectos positivos son sobre la calidad del esperma y sobre algunas células del sistema inmunológico. La protección contra los radicales libres, que disminuye a causa de las infecciones y las enfermedades inflamatorias, pero también a causa la sobrecarga de substancias nocivas, abriría otra área de aplicación de la Coenzima Q10, incluyendo el retraso del proceso de envejecimiento. Además, tiene un efecto positivo sobre el metabolismo de las grasas y de la glucosa. (23)

Estas deficiencias pueden reflejarse en una o más enfermedades, dependiendo de cuál sea la ubicación y el grado de deficiencia de Coenzima Q10. Por ello no debe sorprender que las deficiencias de Coenzima Q10 hayan sido relacionadas con situaciones tan diversas como el infarto, la angina de pecho, la hipertensión, la distrofia muscular, el cáncer, la diabetes, la obesidad, las enfermedades de las encías, la protección antioxidante, el sistema inmunológico, el funcionamiento del cerebro y el rendimiento deportivo está presente en todas y cada una de las células del cuerpo humano, cumpliendo un papel esencial en la producción de energía. Tal vez por ello sea en el corazón, precisamente el órgano que más energía consume y necesita, donde de un modo más rápido y espectacular se hacen sentir sus efectos. (23)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3.2 COMPOSICION DE LA CAPSULA DE LA COENZIMA Q10

Una cápsula contiene 30mg, 60mg, 100mg o 200mg de Coenzima Q10 de calidad farmacéutica. Otros componentes: harina de arroz, estearato de magnesio, gelatina. (23)

3.3 POSOLOGIA DE LA COENZIMA Q10

Las dosis terapéutica se ajustan de acuerdo sea el requerimiento de cada patología ya que muchos autores no coinciden con las dosis exacta. En un caso normal, tomar con abundante líquido, dependiendo de la edad.

a) 25–40 años desde 30mg/día.

b) 60 años desde 60mg/día.

c) Más de 60 años desde 120mg/día.

d) Dosis terapéutica entre 100 mg/día a 400 mg/día.

El efecto sinérgico ideal se produce con la combinación con Carnitina. La Coenzima Q10 es soluble en grasa, y se debería tomar con una comida aceitosa. También se puede tomar con un solo alimento, ricos en grasas, otra buena opción sería tomar un suplemento combinado de Coenzima Q10 con Vitamina E. No solo son buenos antioxidantes que luchan contra el daño de los radicales libres, pero la vitamina E es un aceite, lo que incrementa la absorción de la Coenzima Q10. (23)

3.4 EFECTOS SECUNDARIOS Y CONTRAINDICACIONES

No se ha observado ningún efecto secundario indeseado en el tratamiento con Coenzima Q10. Mientras que la Coenzima Q10 no tiene ningún efecto negativo sobre ninguna otra substancia, existen una serie de medicamentos que reducen significativamente la concentración de la Coenzima Q10 en el cuerpo.

Muchos inhibidores del colesterol perjudican la producción de Coenzima Q10 por parte del organismo. La toma de estos medicamentos debería ir acompañada del aporte suplementario de coenzima Q10. (23)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3.5 INTERACCIONES DE LA COENZIMA Q10 CON OTROS MEDICAMENTOS

a) **Warfarina:** El uso conjunto de warfarina (Coumadin) y Coenzima Q10 parece ser que disminuye el efecto anticoagulante de la warfarina.

b) **Inhibidores de la HMG-CoA reductasa (statinas):** Usados para reducir el colesterol en sangre, parece ser que también disminuyen la concentración plasmática de Coenzima Q10. (23)

4. ACIDO ASCORBICO

4.1 GENERALIDADES

a) El ácido ascórbico es reconocido por su acción antioxidante, se lo puede encontrar en varias frutas y vegetales, ya que éste puede ser sintetizado a partir de glucosa y galactosa en las plantas. (24)

b) La deficiencia de esta sustancia en el organismo de los seres vivos causa el escorbuto. La dosis diaria de ácido ascórbico recomendada para prevenir el escorbuto es de 60mg. (24)

c) Además, el ácido ascórbico actúa directamente con varias especies reactivas de oxígeno, además regenera a otros antioxidantes, por ejemplo a la vitamina E. (25)

d) El ácido ascórbico es la defensa más importante de los antioxidantes contra los radicales libres. (25) Adicionalmente, se conoce que le ácido ascórbico puede absorber la radiación ultravioleta y proteger así a las plantas de dicha radiación. (27)

4.2 ESTRUCTURA QUIMICA DEL ACIDO ASCORBICO

El ácido ascórbico es un ácido ligeramente más fuerte que el ácido acético, puesto que su pKa es de 4.2, frente a 4.8 del ácido acético al mismo tiempo, se lo considera como un reductor fuerte. Dicha propiedad se debe a la presencia de un

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

enediol y además a que el grupo hidroxi, presente en el carbono 3, puede ceder su protón. (27) (28)

La estructura del ácido ascórbico corresponde a una lactona de seis carbonos como se muestra en la **Figura N° 2.6.** (28)

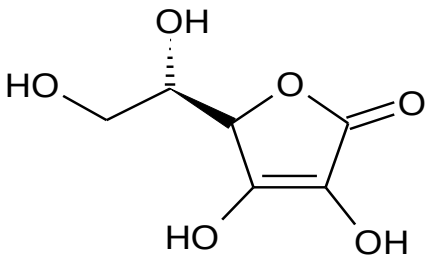


FIGURA N° 2.6: Estructura química del Acido Ascórbico

4.3 PROPIEDADES DEL ACIDO ASCORBICO

TABLA N° 2.1: propiedades físico-químicas del ácido ascórbico. (28)

Propiedad	Descripción
Fórmula Molecular	$C_6H_8O_6$
Masa Molecular	176,12g/mol
Apariencia y olor	Sólido blanco o amarillo, inodoro
Densidad	1.65g/cm^3
Punto de Fusión	190-192°C
Solubilidad en agua	80%, a 100°C; 40%, a 45°C

4.4 USOS DEL ACIDO ASCORBICO

El ácido ascórbico es utilizado como un indicador de la calidad nutricional de los alimentos procesados, esto se debe a su fácil degradación, por lo que se entiende que si en un alimento procesado existe la presencia de ácido ascórbico, todos los demás nutrientes estarán en buen estado. (24)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

El ácido ascórbico es un aditivo ampliamente utilizado en la industria alimenticia, por ejemplo, se añade a las conservas de frutas para que éstas no se oscurezcan, además que evita la corrosión de los envases metálicos. (29) También es utilizado en suplementos vitamínicos distribuidos por la industria farmacéutica. (28)

5. RADICALES LIBRES

Los Radicales libres son átomos, moléculas o sus fragmentos, con uno o más electrones desapareados capaces de tener una existencia independiente por un corto período de tiempo. Pueden ser tanto neutrales como tener un carácter aniónico o catiónico. (29)

Al poseer un electrón desapareado, son muy reactivos ya que tienden a robar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. (29)

Esto causa la oxidación de las moléculas cuyo electrón fue robado, por lo que los radicales libres son llamados oxidantes. Así mismo, otros metabolitos muy reactivos pueden ser formados a partir de los radicales libres. A menudo, estos pueden ser más reactivos o tóxicos que sus moléculas madre. Pudiendo así, crearse reacciones en cadena que den lugar a efectos biológicos lejos del sistema que originó el primer radical; un ejemplo lo constituye la peroxidación lipídica. (29)

Estas especies reactivas de oxígeno (ERO) son producidas en su mayoría por la mitocondria, ya que la respiración celular se realiza a ese nivel. El 90% del total del oxígeno inhalado se consume en la mitocondria y alrededor del 2% del oxígeno reducido se transforma en el radical superóxido (O_2). Otra fuente de este radical son los fagocitos activados que producen el superóxido como mecanismo protector frente a agentes u organismos extraños. Por otros mecanismos, el superóxido se transforma en el radical hidroxilo (HO), que es aún más reactivo que el anterior. Otro radical libre fisiológico es el nitróxido (NO), que se produce en el endotelio vascular como factor relajante. Este puede transformarse en peroxinitrito (ONOO) que contribuye en gran medida a lesiones de tipo oxidativo en múltiples enfermedades. (29)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Existen radicales libres derivados del oxígeno, nitrógeno o varios compuestos orgánicos. En la siguiente **Tabla N° 2.2**., se mencionan los principales radicales libres: (29)

TABLA N° 2.2: Principales Radicales Libres en el Organismo. (29)

Tipo	Radical Libre
Especies reactivas del Oxígeno	Anión superóxido (O_2) Radical hidroxil (HO-) Peróxido de hidrógeno (H_2O_2) Ácido hipocloroso (HOCl) Oxígeno singlete (O_2) Ozono (O_3)
Especies reactivas del Nitrógeno	Nitróxido (NO) Dióxido de nitrógeno (NOO) Peroxinitrito (ONOO)
Radicales orgánicos	Radical alcoxil (RO) Radical peroxil (ROO)

Los radicales libres se forman en reacciones bioquímicas de oxidación-reducción que ocurren en el metabolismo celular normal, muy influenciados por factores ambientales externos, tales como: (29)

- Los componentes del humo del cigarro.
- Los contaminantes ambientales.
- Las radiaciones Gamma.
- La luz ultravioleta.
- Compuestos tóxicos.
- Dietas desbalanceadas o pobres.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- Dietas hipercalóricas e hiperlipídicas.
- Ejercicio o trabajo extenuante.

El efecto de los radicales libres en los sistemas biológicos depende mayormente de la presencia de oxígeno. Por un lado, el oxígeno es esencial para la vida porque su reducción a agua es fundamental para la síntesis de un compuesto energéticamente rico en el organismo: ATP. (29)

Por otro lado, el oxígeno puede ser una fuente de producción de metabolitos reactivos extremadamente tóxicos. Los radicales libres y metabolitos reactivos pueden reaccionar rápidamente con moléculas biológicamente importantes, como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, causando un daño primario. (29)

De este modo, es importante que la formación y efecto de los radicales libres en procesos fisiológicos esté bajo el control de varios sistemas protectores, con el fin de evitar la actividad de los radicales libres en el lugar equivocado y dañar las propias moléculas importantes del cuerpo. (29)

Para ejercer este control, los sistemas protectores reducen la toxicidad de los metabolitos reactivos y radicales libres de la siguiente manera: (29)

- Mecanismos que previenen la formación de radicales libres.
- Sistemas que eliminan los radicales libres y metabolitos reactivos ya formados (antioxidantes).
- Sistemas de reparación que eliminan moléculas oxidadas dañadas.

6. ESTRES OXIDATIVO

El estrés oxidativo se puede definir como una perturbación del equilibrio entre prooxidantes y antioxidantes, con un desplazamiento a favor de los primeros, de modo tal que esta alteración da lugar a cambios en las biomoléculas y de hecho, a modificaciones funcionales en los lugares donde éstas se encuentren en un momento dado. (31)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

El estrés oxidativo puede resultar de diversas condiciones: (31)

- Producción aumentada de radicales libres, como en la hiperoxia; o la exposición a metabolitos tóxicos reactivos, como la activación de neutrófilos durante una inflamación.

- Niveles disminuidos de antioxidantes, por ejemplo elevada exposición de toxinas que llevan a la depleción de fuentes de antioxidantes.

A continuación se detalla el daño celular producido por las especies reactivas del oxígeno ocurre sobre diferentes macromoléculas:

a) Daño a Lípidos:

Aquí se produce el daño mayor denominado peroxidación lipídica, afecta a las estructuras o membranas biológicas típicamente consisten de una bicapa de fosfolípidos con ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS), y otros componentes lipídicos como el colesterol. (31)

Las cadenas laterales de los fosfolípidos son susceptibles al ataque de radicales libres, **la peroxidación lipídica** está caracterizada por un mecanismo de reacción en cadena, que tiene los siguientes pasos:

Paso 1: ***Iniciación:*** Los oxidantes atacan un grupo metileno (-CH2-) y remueve átomos de hidrógeno de la cadena lateral de PUFA. El carbono, del cual el átomo de hidrógeno fue removido, tiene ahora un electrón desapareado, convirtiéndolo en un radical libre. En ausencia de oxígeno, el radical de carbono sufre un reajuste molecular para formar un dieno conjugado. Sin embargo, en presencia de oxígeno, se combina con éste y produce un radical peroxil.

Paso 2: ***Propagación:*** Los radicales peroxil altamente reactivos pueden oxidar otros lípidos insaturados o atacar otras moléculas celulares como proteínas. El radical peroxil es capaz de sustraer hidrógenos de otra molécula lipídica y dar una variedad de hidroperóxidos lipídicos y peróxidos cíclicos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Los hidroperóxidos son relativamente hidrofílicos y pueden migrar a la superficie de la membrana para interaccionar con el agua, disrumpiendo así su estructura y fluidez. Disminuyen la actividad de enzimas ligadas a la membrana, alteran la actividad de receptores membranales, y la debilitan. Los hidroperóxidos son luego degradados para formar diversos productos incluyendo hidrocarbonos, alcoholes, éteres, epóxidos y una variedad de aldehído.

Paso 3: ***Terminación:*** La reacción en cadena se termina por interacciones entre los mismos radicales, o entre radicales y antioxidantes, dando lugar a productos no-radicales o radicales no-reactivos.

Generalmente, cualquier clase de radical alquil (radicales lipídicos libres) pueden reaccionar con un radical peroxil y originar una especie no-iniciadora y no- propagadora. También se acepta que la terminación de la peroxidación lipídica se logra por la reacción de un radical peroxilo con un alfa-tocoferol, el cual es la principal molécula lipofílica que "rompe cadenas" en las membranas celulares. Además también pueden ocurrir enlaces entre peróxidos lipídicos y proteínas de membrana.

b) Daño a Proteínas:

Hay oxidación de un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina, y metionina; además se forman entrecruzamientos de cadenas péptidas, y por ultimo hay formación de grupos carbonilos. (31)

c) Daño al Acido Desoxirribonucleico (ADN):

Ocurren fenómenos de mutaciones y carcinogénesis, hay perdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen especifico, modificaciones oxidativas de las bases, delecciones, fragmentaciones interacciones estables ADN- proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan genes. (31)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

d) Daño a Carbohidratos:

Los carbohidratos son dañados por los radicales libres en menor proporción que otras moléculas. Azúcares tales como la glucosa, el manitol o ciertos desoxiazúcares pueden reaccionar con el radical HO para producir sustancias reactivas. Así mismo, los polisacáridos pueden sufrir el ataque de los radicales libres, en este caso, fragmentándose a unidades más sencillas. Se ha demostrado que el ácido hialurónico se despolimeriza en presencia de concentraciones elevadas de radicales hidroxil, provocando un descenso de la viscosidad del líquido sinovial de las articulaciones. (31)

Una mayor o menor intensidad del **stress oxidativo** durante la vida puede influenciar negativa o positivamente en el envejecimiento del organismo, dependiendo de la disposición genética, así como de los factores dietéticos y del estilo de vida. (31)

Un fuerte **stress oxidativo** en el organismo puede participar en el principio o desarrollo de muchas enfermedades. Por ejemplo: enfermedades neurodegenerativas, Parkinson, Alzheimer, aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes mellitus, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, retinopatía, enfermedades psíquicas, etc. (31)

Se ha postulado que la inducción o inhibición de la proliferación celular depende del balance entre oxidantes y antioxidantes en la célula. Un ambiente más reductor en la célula (balance a favor de los antioxidantes) estimula la proliferación, característico de células cancerígenas. Un ambiente oxidante lleva a apoptosis, y si es más oxidante aún, a necrosis. (31)

La comprensión de los mecanismos por los cuales se mantiene una "capacidad buffer redox" intracelular, podría contribuir al desarrollo de drogas cancerígenas preventivas y terapéuticas. (31)

En la **Figura N° 2.7** se esquematiza el mecanismo de la peroxidación lipídica.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

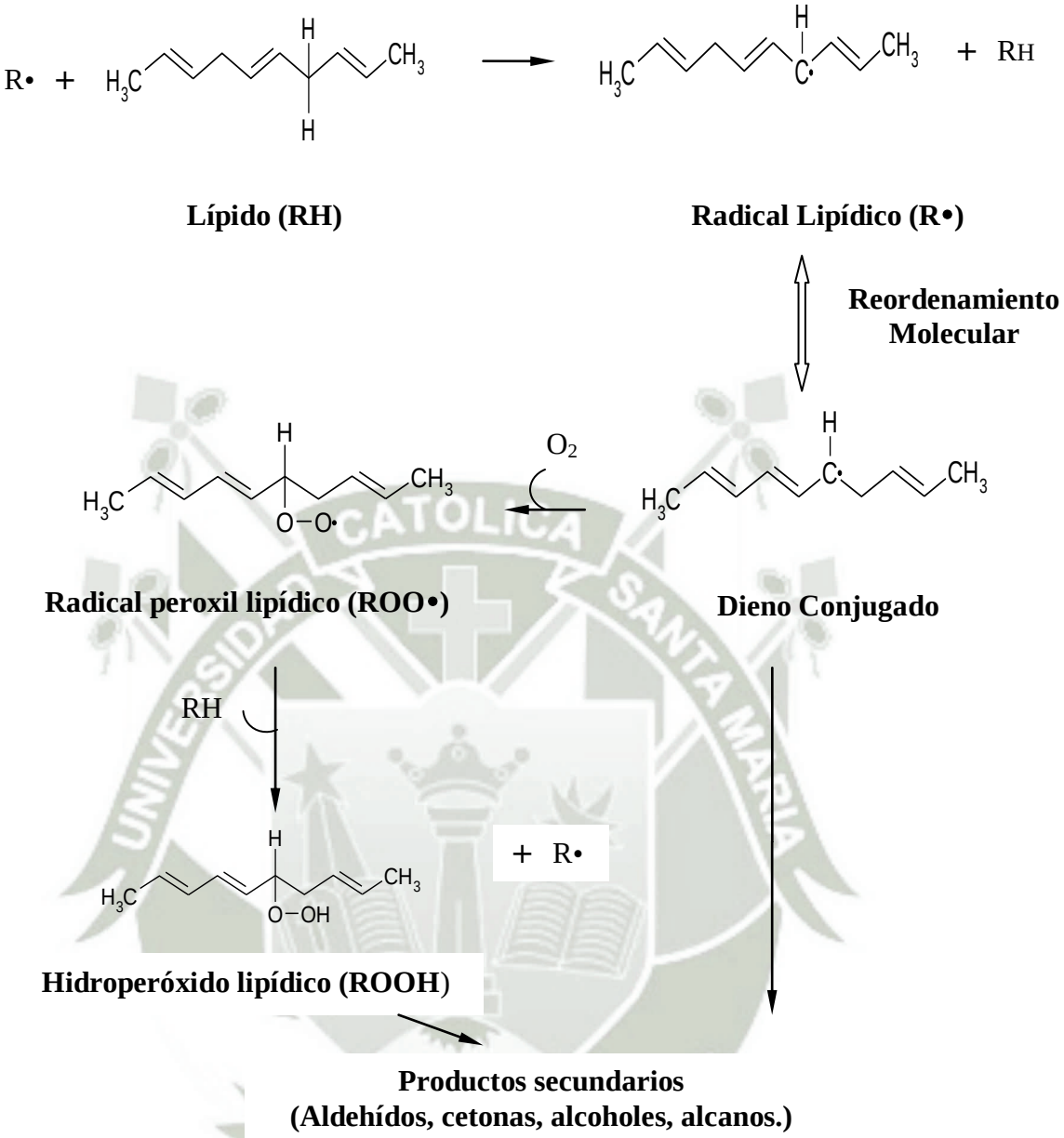


FIGURA N° 2.7: Mecanismo de la peroxidación lipídica. (31)

7. ANTIOXIDANTE

Se define como antioxidante a toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones, con respecto a las de un sustrato oxidable (biomoléculas), retarda o inhibe la oxidación de dicho sustrato. (32)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Los antioxidantes son capaces de estabilizar o desactivar los radicales libres antes de que ataquen las células. Los antioxidantes son absolutamente críticos para el mantenimiento celular óptimo y el sistema y bienestar saludable. (32)

El antioxidante al reaccionar con el radical libre (RL) le sede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un RL libre, con escasos o nulos efectos tóxicos y que en algunos casos como la vitamina E, pueden regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes. Tienen diferentes mecanismos de acción de los radicales libres y/o especies reactivas (sistema de prevención), otros inhiben la acción de los radicales libres (Sistema barredor) y otros favorecen la reparación y la reconstitución de las estructuras biológicas dañadas (sistema de reparación), cada antioxidante posee una afinidad hacia un determinado radicales libres o hacia varios, puede actuar en los diferentes procesos de la secuencia oxidativa y tener más de un mecanismo de acción. Los antioxidantes se clasifican ENDOGENOS, fabricados por la propia célula, y EXOGENOS, que ingresan al organismo a través de la dieta o de suplementos con formulaciones antioxidantes. (33)

7.1 CLASIFICACION DE ANTIOXIDANTES

Existen muchos tipos de clasificación de antioxidantes, pero para simplificar dicha clasificación, se definen tres tipos de antioxidantes que engloban las demás clasificaciones que se mencionarán más adelante: (36)

- ***Antioxidantes Preventivos,*** son los que evitan la iniciación de la propagación de la reacción del radical en la cadena. Pertenecen a este grupo, los metales quelantes y descomponedores de peróxido.

- ***Antioxidantes Rompe-cadenas (chain-breaking),*** reaccionan con un compuesto reactivo, ya formado y lo transforman en uno menos reactivo; poniendo fin a la reacción en cadena.

- ***Antioxidantes reparadores,*** actúan una vez producido el daño, se encuentran dentro de este grupo las fosfolipasas, proteasas, enzimas reparadoras de ADN y transferasas. Reparan el daño y reconstituyen tejidos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Existen también otro tipo de clasificaciones más específicas, como las que se mencionan a continuación: (34)

I. ANTIOXIDANTES SINTETICOS

Los antioxidante naturales o sintéticos, son necesarios para la conservación de los alimentos, provocando el retardo del deterioro, rancidez y decoloración que resultan de la autooxidación. Los antioxidantes sintéticos son los más utilizados por la industria alimenticia debido a su alto grado de estabilidad, eficacia y ventaja económica.(36)

TABLA N° 2.3: Antioxidantes Sintéticos. (36)

Antioxidantes Sintéticos	
Antioxidantes Sintéticos Primarios Previenen la formación de radicales libres.	• Eliminadores de Radicales libres. Ej.: BHA, BHT, TBHQ, propilgalato. • Captadores de Oxígeno. Ej.: Sulfitos, glucosa oxidasa, ascorbil palmitato. • Agentes Quelantes. Ej.: EDTA, ácido tartárico, ácido cítrico.
Antioxidantes Sintéticos Secundarios Descomponen los hidroperóxidos formados durante la oxidación de lípidos, convirtiéndolos en productos estables.	• Ej.: Ácido Tiodipropiónico, Dilauril tiodipropionato.

II. SEGUN SU NATURALEZA: (34)

a) Antioxidantes Enzimáticos

- Superóxido dismutasa (SOD)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- Catalasa (CAT)
- Glutation peroxidasa (GPx)
- Glutation reductasa (GR)

b) Antioxidantes No Enzimáticos

i. Antioxidantes Metabólicos:

- Glutation reducido (GSH)
- Acido Lipoico
- L-arginina.
- Coenzima Q10.
- Melatonina.
- Acido Úrico.
- Bilirrubina.
- Proteínas quelantes de metales.
- Transferrina, etc.

ii. Antioxidantes con función nutritiva:

- Vitamina E.
- Vitamina C ó ácido ascórbico.
- Carotenoides.
- Trazas de metales (Selenio, Manganeso, Zinc).
- Flavonoides.
- Omega-3.
- Omega-6.
- Acidos grasos, etc.

III. SEGUN SU FUENTE DE ORIGEN (36)

a) **Antioxidantes de origen endógeno**

- Bilirrubina.
- Glutation.
- Acido Lipoico.
- N-acetil cisteína.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- NADPH y NADH.
- Coenzima Q10.
- Acido Úrico.
- Enzimas (SOD, CAT, GPx, GR)

b) Antioxidantes de origen exógeno

- Vitamina C.
- Vitmaina E.
- Betacaroteno y otros carotenoids.
- N-acetil cisteína.
- Flavonoides (polifenoles)

c) Proteínas captadoras de metales

- Albúmina.
- Ceruloplasmina
- Ferritina.
- Mioglobina.
- Transferrina.

IV. SEGUN SU MECANISMO DE ACCION (36)

a) Sistemas catalíticos para neutralizar o desviar los ROS

- SOD.
- CAT.
- GPx.

b) Captación o Inactivación de iones metálicos previniendo la producción de ROS, mediante la reacción de Haber-Weiss

- Ferritina.
- Ceruloplasmina.

c) Auto-suicida y rompedores de cadena, destruyendo los ROS

- Vitamina C.
- Vitamina E.
- Acido Úrico.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- Glutatión.
- Flavonoides

d) Captación de los ROS

- Carotenoides.
- Antocianinas.

7.2 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La capacidad antioxidante es una medida de la cantidad (en moles) de determinados radicales libres atrapados por una muestra. Las mediciones del rendimiento de la capacidad antioxidante son la cantidad de una mezcla heterogénea de antioxidantes la capacidad total o habilidad atrapadora neta de la muestra.

La capacidad antioxidante de una muestra será diferente de acuerdo con los diferentes oxidantes con los que se mide. Las reacciones entre diferentes antioxidantes y oxidantes tienen diferentes velocidades constantes, y por lo tanto varía la capacidad antioxidante total.

También debe tenerse en cuenta que los métodos de medición analíticos y las condición es en que se ha producido el análisis, puede conducir a resultados variables para el mismo tipo de alimento. (37)

Los antioxidantes pueden desactivar los radicales principales por dos mecanismos:

a) **Transferencia de átomos de hidrógeno (HAT**): Mide la clásica habilidad de los antioxidantes para reprimir los radicales libres por donación de hidrógeno. (37)

b) **Transferencia de electrones individuales (SET):** Detectan la habilidad de un potencial antioxidantes para transferir un electrón para reducir cualquier compuestos, incluyendo metales, carbonilo y radicales. (37)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

7.3 DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Existen diversos métodos para medir o determinar la capacidad antioxidante de un compuesto; éstos difieren en el agente oxidante o sustrato que utilicen, en la medida del punto final, en la técnica de instrumentación utilizada y en las posibles interacciones de la muestra con el medio de reacción. Además los objetivos de los métodos son diversos, por ejemplo, se mide la resistencia de un alimento a la oxidación, la evaluación cuantitativa del aporte de sustancias antioxidantes o la evaluación de la capacidad antioxidante en suero o plasma una vez ingerido el alimento. (35)

El creciente interés por los posibles efectos beneficiosos de los antioxidantes ha hecho que se desarrollen una gran capacidad de métodos para determinar la capacidad antioxidante de extractos de alimentos. Sin embargo, es difícil que llegue a ser posible evaluar la capacidad antioxidante de una muestra por un solo método, en vez de por la combinación de varios, como se hace en la actualidad. Los antioxidantes pueden ejercer su acción mediante mecanismos muy diversos, pueden suprimir la generación de los primeros radicales que inician el daño oxidativo, capturar radicales libres, quelar metales, formar complejos, reducir algunos compuestos, inducir la actividad de sistemas biológicos antioxidantes y en un mismo alimento puede haber mezclas de diferentes antioxidantes con distintos mecanismos de acción y entre los que, además, se pueden establecer reacciones sinérgicas, por lo que serán necesarios distintos análisis para poder considerar los posibles mecanismos de acción de todos los antioxidantes presentes en un alimento. (40, 41, 38)

Por todas estas razones, un gran número de autores han planteado la necesidad de combinar más de un método de medida en la determinación de la capacidad antioxidante de un alimento. (38, 42, 43, 39)

Como se explicó existen diferentes métodos para determinar la capacidad antioxidante, pero solo mencionaremos dos métodos, los cuales se basan en comprobar cómo un agente oxidante, induce daño oxidativo en un sustrato oxidable, daño que será inhibido o reducido en presencia de una sustancia

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

antioxidante. Esta inhibición es proporcional a la capacidad antioxidante del compuesto a determinar. (35)

7.3.1 CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity)

Este método, utiliza el Cu^{+2} y la neocuproína, para reaccionar con el compuesto en estudio formando un quelato coloreado de Cu^{+1}: [Cu^{+1}-Nc], el cual es soluble en agua y en medios orgánicos. Esta reacción se lleva a cabo a pH 7, controlado por el buffer acetato de amonio. El quelato formado con el cobre reducido es medido a 450nm. Normalmente, la formación de este complejo se completa en 30 minutos. Sin embargo, antioxidantes de reacción lenta necesitan de incubación a temperatura elevada para completar su oxidación (50°C por 20 minutos). (44)

El mecanismo de acción del método CUPRAC se explica en la **Figura N° 2.8** (46).

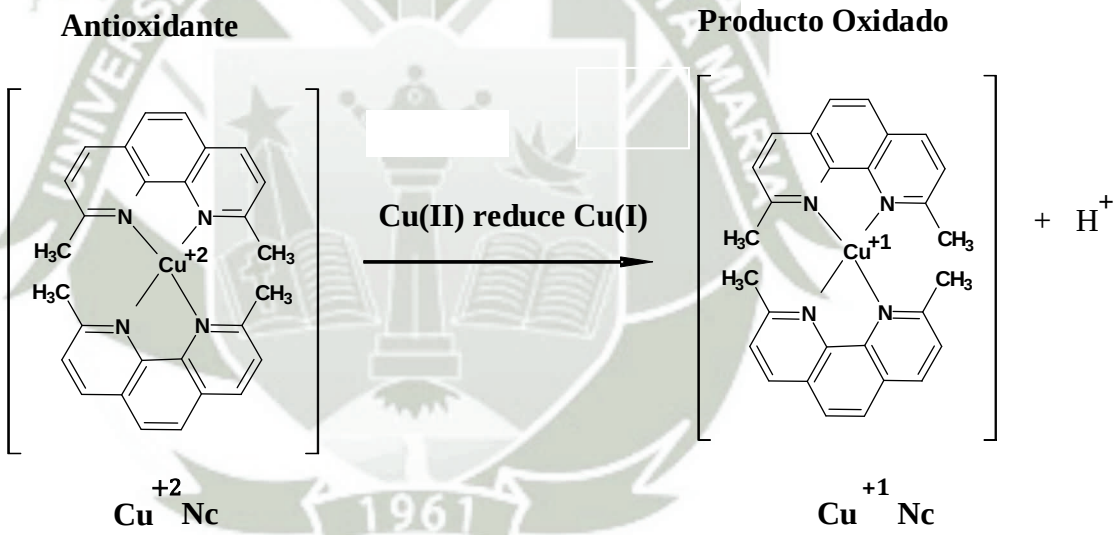


FIGURA N° 2.8: Fundamento del método CUPRAC. (44)

El método CUPRAC presenta ventajas sobre otros métodos para evaluar la capacidad antioxidante: (44)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

a) El reactivo CUPRAC es lo suficientemente rápido para oxidar antioxidantes que otros métodos no detectan, como lo son los antioxidantes que poseen grupos tiol.

b) El reactivo CUPRAC es más estable y accesible que otros reactivos de radicales cromogénicos.

c) El equipo usado para la lectura de los resultados está disponible en la mayoría de laboratorios.

d) La reacción redox que da lugar al complejo coloreado de Cu+1 es relativamente insensible a parámetros adversos como el aire, luz solar, tipo de solvente y pH, los cuales afectan a reactivos como el DPPH.

e) Las gráficas de concentración vs. Absorbancia del método CUPRAC son perfectamente lineales dentro de un amplio rango de concentración, a diferencia de otros métodos que generan curvas polinomiales.

f) Los valores de Actividad Antioxidante Total (TAC) encontrados por CUPRAC son perfectamente aditivos. Por ejemplo: la TAC de una mezcla polifenólica es igual a la suma de la TAC de sus constituyentes fenólicos.

g) Este método involucra una mínima preparación de muestra, por lo que el procedimiento experimental es flexible para la automatización.

h) La reacción redox se lleva a cabo a un pH cercano al fisiológico y los protones liberados son tamponados por el buffer acetato de amonio.

i) El método puede medir simultáneamente antioxidantes hidrofílicos y lipofilicos.

j) Dado que el ión Cu^{+1} producido como producto de la reacción redox está en estado quelado (Cu^{+1}-Nc), no puede actuar como un pro-oxidante, por lo tanto no se podría producir un error negativo en la determinación antioxidante por efectos del Cu^{+1}.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

7.3.2 TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances)

La utilización de la reacción con TBARS para medir la peroxidación lipídica se remonta al año 1944 cuando Kohn y Liversedge (1944) observaron que tejidos animales incubados aeróbicamente con TBARS producían un color rosado. Bernheim y colaboradores (1948) descubrieron que el color rosado se debía a un complejo formado por productos de oxidación de ácidos grasos no saturados y TBARS. Yu y Sinnhuber (1957) reportaron que malondialdehido (MDA) era la principal sustancia reactiva al TBARS, aunque más tarde otros investigadores informaron que otros productos de oxidación podían estar involucrados, como aldehídos no saturados (por ej.: 4-hidroxialquenales) y varios precursores de estas sustancias no volátiles no identificados. (45)

La principal sustancia reactiva al TBA, el malondialdehido, es un dialdehído de tres carbonos altamente reactivo, generado como uno de los principales bioproductos de la peroxidación de ácidos grasos polinsaturados y también durante el metabolismo de ácido araquidónico para la síntesis de prostaglandinas. MDA puede combinarse con diversos grupos funcionales de proteínas, lipoproteínas, ARN y ADN. La determinación de los niveles de MDA en materiales biológicos es un método conveniente, sensible y ampliamente utilizado para estimar cuantitativamente la extensión de la peroxidación lipídica. Se han descripto diversas técnicas para determinar MDA, como el ensayo de TBARS espectrofotométrico, HPLC y cromatografía gaseosa. La determinación de MDA por este último precisa de su derivatización. (46)

El método espectrofotométrico del TBARS es el más comúnmente utilizado para la cuantificación de malondialdehido (MDA). La reacción ocurre por ataque del MDA sobre el grupo metileno activo del TBARS, en la **Figura N° 2.9** observamos cómo es que ocurre la reacción; donde Un mol de MDA reacciona con dos moles de TBARS en medio ácido y a alta temperatura. (46)

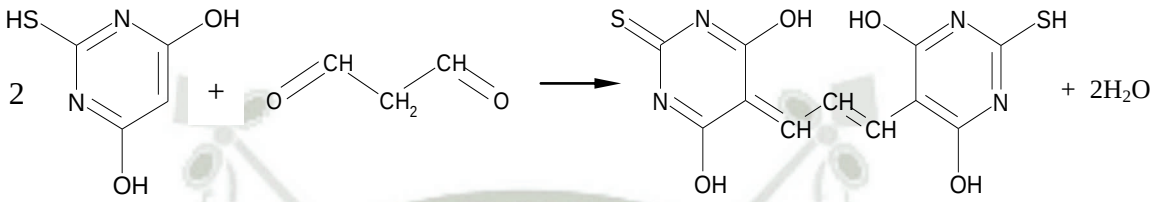
La velocidad de esta reacción depende de la concentración de TBA, la temperatura y el pH. El pigmento generado posee un pico máximo de absorbancia a 532-535 nm y otro secundario a 245-305 nm. (46)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

El ensayo de TBARS puede determinarse también por un procedimiento espectrofluorométrico, dado que el espectro de excitación del pigmento TBARS-MDA posee un máximo a 532 nm. La especificidad de este método es similar al del método espectrofotométrico, debido a que otros compuestos originados en la degradación de peróxidos lipídicos también pueden generar fluorescencia. (46)



Ácido Tiobarbitúrico **Malondialdehido** **MDA-TBARS2**

FIGURA N° 2.9: Reacción entre malondialdehido y ácido tiobarbitúrico (46).

El principal problema con el ensayo de TBARS es su falta de especificidad. TBA reacciona con una variedad de aldehídos, no sólo con aquellos formados como resultado de la peroxidación lipídica sino también con glucosa, desoxirribosa, ácido ascórbico, homocisteína y algunos aminoácidos tales como, prolina, arginina y glutamato, por esta razón el análisis en fluidos biológicos por este método resulta complejo. Otra limitación del ensayo de TBARS es que el MDA y otros productos de cadena corta no son estables por largos períodos de tiempo. Esto se debe a que la oxidación de estos compuestos genera alcoholes y ácidos orgánicos que no son determinados por el ensayo de TBARS (46).

8. HIPERCOLESTEROLEMIA

Se considera hipercolesterolémia cuando el valor de colesterol en suero es igual o superior a 240 mg%. Por lo tanto, la hipercolesterolémia consiste en la presencia de colesterol en sangre por encima de los niveles considerados normales. Este aumento de la concentración de colesterol en sangre, que se asocia a problemas coronarios, depende de la dieta, el sexo, el estilo de vida y la síntesis endógena. En consecuencia, intervienen factores hereditarios y dietéticos, junto a otros relacionados con la actividad física. (47)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

8.1 VALORES DE COLESTEROL

Los dos componentes más importantes de la medición de colesterol son el LDL (lipoproteína de baja densidad) y el HDL (lipoproteína de alta densidad). LDL y HDL transportan el colesterol en la sangre. LDL transporta mucho colesterol, depositando grasas en las paredes de las arterias y contribuyendo a enfermedades cardíacas. HDL tiene el efecto opuesto. Limpia las arterias y elimina del cuerpo el exceso de colesterol, reduciendo del riesgo de enfermedad cardiaca. LDL se llama a veces el colesterol malo y HDL el colesterol bueno. Es bueno tener un nivel bajo de LDL y un nivel alto de HDL. (48)

La repercusión de tener estos valores fuera de los rangos deseables significa que el colesterol puede depositarse en las paredes arteriales, donde contribuye a la formación de placas de grasa en las mismas, relacionándose positivamente con el riesgo de cardiopatía coronaria.(48)

Los valores de LDL y HDL pueden ser dosados en sangre. En la **Tabla N° 2.4** se consignan los valores respectivos:

TABLA N° 2.4: Valores de lípidos en sangre. A nivel informativo, el índice de castelli se calcula: (colesterol total / HDL total) indicador de riesgo de cardiopatía coronaria. (48)

Lípidos	mg./día Deseables	mg./día Límite	mg./día Elevado
Colesterol	<200	200-239	>240
Triglicéridos	<200		
LDL	<130	130-159	>160
HDL Femenino	>45		<35
HDL Masculino	>40		
Colesterol/HDL Femenino	<4.5	(índice de Castelli)	
Colesterol/HDL Masculino	<5.0		

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

8.2 TRATAMIENTOS

Generalmente todas las personas que sufren hipercolesterolémia deben realizar un tratamiento dietético para reducir el nivel de colesterol-LDL, aumentar su actividad física y eliminar los factores de riesgo que puedan favorecer el desarrollo de patologías asociadas. (47)

El tratamiento farmacológico se reserva para los pacientes que tienen un riesgo muy elevado de padecer enfermedades cardiovasculares, formas graves de hipercolesterolémia, dislipidemias secundarias graves o que no han respondido al tratamiento dietético. Una vez establecido el tratamiento hay que realizar controles periódicos de la concentración de colesterol en sangre. (47)

8.3 TRATAMIENTO DIETETICO

Su principal objetivo es evaluar los hábitos alimenticios del paciente y establecer una dieta individualizada en cuyo cumplimiento deben implicarse seriamente no sólo el paciente sino también los médicos y la familia del afectado. (47) De esta manera se intenta alcanzar el máximo cumplimiento del tratamiento. Una vez identificados los alimentos con alto contenido en grasas saturadas y colesterol que ingiere habitualmente el enfermo, se evalúan otros factores de riesgo modificables que puedan asociar la hipercolesterolémia con otras patologías. (47)

La dieta debe ser pobre en grasas saturadas y colesterol, rica en ácidos grasos monoinsaturados, fibra vegetal e hidratos de carbono. Generalmente la dieta reduce en un 30 % la ingesta de grasas, sustituyendo el consumo de grasas saturadas por el de insaturadas. Asimismo, deben controlarse otros factores como el sobrepeso o la diabetes. (47)

8.4 TRATAMIENTO FARMACOLOGICO

Las sustancias más utilizadas para reducir la concentración de colesterol en sangre son las resinas, el ácido nicotínico y las estatinas. Asimismo, pueden utilizarse derivados del ácido líbrico, probucol o la terapia hormonal sustitutiva con estrógenos. Cada uno de estos medicamentos tiene un efecto ligeramente distinto. En algunos casos es posible que se recete más de1 medicamento (47)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

CAPITULO III

MATERIAL Y METODOS

3. CAMPO DE INVESTIGACION

3.1 AMBITO DE ESTUDIO

El presente trabajo de Investigación se llevó a cabo en el laboratorio H-101 y el bioterio de la Universidad Católica de Santa María.

3.2 TIPO DE ESTUDIO

El presente estudio es cuantitativo, experimental, transversal y comparativo.

3.3 UNIDADES DE ESTUDIO

Dicha investigación se manejó con una muestra constituida por 25 ratas albinas machos de la especie ***'Rattus Norvegicus'*** con un peso promedio entre 300 a 350g, de 3 meses de edad, aparentemente sanas, obtenidas del bioterio de la Universidad Católica de Santa María.

FIGURA N° 3.1: Pesado de ratas y distribución de grupos.

3.4 DISTRIBUCION DE LAS UNIDADES DE ESTUDIO

Los animales de experimentación y la muestra biológica se distribuyeron en las siguientes unidades:

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

A) GRUPO BLANCO: constituido por 5 animales (ratas) de experimentación aparentemente sana a las cuales no se les indujo a hipercolesterolémia por lo tanto su dieta normal fue de 30g. de concentrado Tomasino® y agua *ad libitum,*

B) GRUPO HIPERCOLESTEROLEMICO: Constituido por 20 animales de experimentación. Se les provoco hipercolesterolémia experimental mediante la administración de una dieta lipídica (tortillas a base de seso de bobino y yema de huevo) y agua *ad libitum* durante un periodo de 28 días.

Finalizado el tiempo, los animales (ratas) fueron distribuidas al azar, aleatoriamente en 4 subgrupos, de la siguiente manera:

a) GRUPO CONTROL: Constituido por 5 animales de experimentación hipercolesterolémicas a los cuales no se les administró tratamiento farmacológico el cual fue reemplazándolo por un placebo (2 mL. de suero fisiológico) y su dieta de mantenimiento que fue de 30g. de alimento concentrado Tomasino®, y agua *ad libitum,* esta dieta alimenticia fue la misma durante todo el proceso de experimentación.

b) GRUPO EXPERIMENTAL I: Lo conformaron 5 animales de experimentación hipercolesterolémicas las cuales si recibieron tratamiento farmacológico suministrándole por vía bucorogastrica una dosis de L-Carnitina de 34 mg/Kg de peso diluido en 2mL. de suero fisiológico acompañado de su dieta de mantenimiento que fue de 30g. de alimento concentrado Tomasino®, su agua *ad libitum* de durante, 40 días.

c) GRUPO EXPERIMENTAL II: También constituido por 5 animales de experimentación hipercolesterolémicas las cuales si recibieron tratamiento farmacológico suministrándole por vía bucorogástrica a una doble dosis de L-Carnitina de 69 mg/Kg de peso diluido en 2 mL. de suero fisiológico acompañado de su dieta de mantenimiento que fue de 30g. de alimento concentrado Tomasino®, y agua *ad libitum,* durante 40 días.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

d) GRUPO PATRON: También conformado por 5 animales de experimentación hipercolesterolémicas las que recibierón por vía bucorogástrica, un tratamiento farmacológico constituido por Coenzima Q10 en una dosis de 7 mg/kg de peso diluido en 2mL. de suero fisiológico, acompañado de su dieta de mantenimiento que fue de 30g. de alimento concentrado Tomasino®, y agua *ad libitum,* durante 40 días.

Las dosis de tratamiento farmacológico de la L-Carnitina fueron determinadas en los estudios piloto que se realizaron con anterioridad.

3.5 ESTRATEGIA DE RECOLECCION DE DATOS

3.5.1 MATERIAL BIOLOGICO

Los animales fueron colocados en jaulas independientes manteniéndose las condiciones ambientales adecuadas de una temperatura de 21ºC, humedad 30% con periodos de luz y oscuridad de 12 horas.

3.5.2 OBTENCION MUESTRA

Previa a la obtención del suero se tuvo que obtener muestra sanguínea, para ello se recurrió a la técnica Dartman que consiste en la obtención de sangre del seno retro orbitario por punción capilar a nivel ojo interno del animal, recolectando 1mL.. de sangre en tubos de Ependorf de 2 mL.. de capacidad**.**

La muestra se dejó reposar por 20 minutos aproximadamente, luego se procedió a centrifugar para la obtención del suero. (50)

FIGURA N° 3.2: Obtención muestra sanguínea.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

3.6 MATERIAL, EQUIPOS Y REACTIVO

3.6.1 MATERIAL BIOLOGICO

El material biológico lo constituyo el suero obtenido de las muestras sanguíneas de las 25 animales de experimentación.

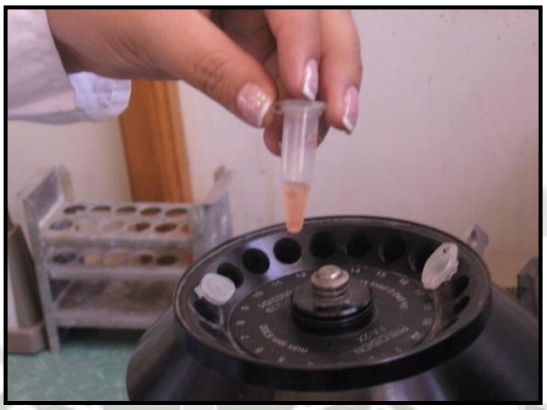


FIGURA N° 3.3: Obtención de suero.

3.6.2 MATERIAL DE LABORATORIO

- Pipetas de 0.1, 0.5, 1, 5 y 10 mL..
- Probetas de 100 mL..
- Termómetro de 100 ºC
- Fiolas de 25mL..
- Tubos de ensayo de 15 y 100 mL. Pírex
- Gradillas
- Vaso de precipitados 150 mL.. Pírex y 250 mL. Pirex
- Espátula.
- Capilares de extracción no heparinizados.
- Erlenmeyers de 250 y 500 mL..
- Vagueta
- Lunas de reloj.
- Pizetas.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3.6.3 MATERIAL ANEXO

- Algodón torundas.
- Marcador
- Barbijos.
- guantes quirúrgicos estériles.
- Guantes de látex.
- franela.
- Escobillas.
- Jaulas metálicas estándar para ratas.
- Bebederos y comederos para ratas.
- Frascos de vidrio para la mezcla de los fármacos.
- Jeringas de 5mL..
- Sonda metálica bucorogástrica.
- Tubos de Ependorf capacidad para 2 mL..(Merck).

3.6.4 EQUIPOS

- Balanza analítica. Marca sartorius werke AG (Made in Germany) Unimatic CL41).
- Centrifuga. Internacional micro-capillary. Modelo MB.
- Micropipetas automáticas (Gilson) de 10, 500 y 1000 ul.
- Espectrofotómetro (Gilford Bob McCormack Stasas III.
- Celdas de cuarzo para espectrofotómetro.
- Microlab 200 con Software V.1.00 Merck
- Refrigeradora. Modelo FR-093-R Daewoo
- Equipo de baño maría. M LW AchtungWB2 N°4569.

3.6.5 REACTIVOS

- Metanol
- Kit para análisis de colesterol total. Lab. Valtek.
- Kit para análisis de MDA de Lab. Veaner, basado en la lectura de T-BARS.
- Ácido tricloroacetico CCl_3COOH (15% v/v).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- Ácido tiobarbiturico $C_4H_4N_2O_2S$ (0.37 v/v).
- Ácido clorhídrico HCL (25%) (Fisher).
- Ácido clorhídrico HCL (37%) (Fisher).
- Ácido ascórbico P.A (Merck)
- Ácido acético glacial Q.P. (Fisher)
- Alcohol etílico 96° Q.P
- Acetato de etilo Q.P.(Merck)
- Buffer acetato de amonio pH 7.
- Cloruro ce cobre (II) Q.P. (Merck)
- Hexano Q.P (Merck)
- Hidróxido de amonio Q.P. (Merck)
- Neocuproine (2,9 dimetil – 1,10 fenantrolina) P.A (Merck)
- Colesterol PA.
- Suero fisiológico (NaCl 0.9%).
- Agua destilada.

4. TECNICAS Y METODO

4.1 INDUCCION A HIPERCOLESTEROLEMIA EXPERIMENTAL (ESTRES OXIDATIVO)

Conocidos los pesos de las 20 ratas de experimentación se procedió a determinar en todos ellos, el colesterol basal

Seguidamente para poder inducir a la hipercolesterolémia (estrés oxidativo) recibieron una tortilla lipídica elaborada a base de seso de bovino y yema de huevo, dejando en claro que el tiempo de inducción de hipercolesterolémia duro 28 dias.

En la **Tabla N° 3.1** observamos la alimentación, inducción y tratamiento de las ratas.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 3.1: Inducción a hipercolesterolémia experimental (estrés oxidativo)

	28 Días de inducción de hipercolesterolémia (estrés oxidativo 0 - 28)	**40 días más de tratamiento farmacológico (28 - 68)**
Grupo Experimental I (5 ratas)	Alimentación con tortillas lipídicas a base de sesos de bovino, yema de huevo y agua *ad libitum.*	Alimento procesado 30 g. de concentrado TOMASINO®, L-Carnitina 34 mg/kg. y agua *ad libitum.*
Grupo Experimental II (5 ratas)	Alimentación con tortillas lipídicas a base de sesos de bovino, yema de huevo y agua *ad libitum.*	Alimento procesado 30 g. de concentrado TOMASINO®, L-Carnitina 69 mg/kg. y agua *ad libitum.*
Grupo Patrón (5 ratas)	Alimentación con tortillas lipídicas a base de sesos de bovino, yema de huevo y agua *ad libitum.*	Alimento procesado 30 g. de concentrado TOMASINO®, Coenzima Q10. 7 mg/kg. y agua *ad libitum.*
Grupo Control (5 ratas)	Alimentación con tortillas lipídicas a base de sesos de bovino, yema de huevo y agua *ad libitum.*	Alimento procesado 30 g. de concentrado TOMASINO®, placebo y agua *ad libitum.*

FUENTE: Elaboración propia

La presencia de seso de bovino estimula la síntesis de colesterol gracias a su alto contenido de ácido mirístico.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Antes de iniciar con la alimentación rica en grasa (seso de vaca y yema de huevo) se tomó una muestra de sangre de cada rata (1.5 mL.), para obtener dichas muestras, las 25 ratas se encontraban en ayunas.

TOMASINO® es el nombre comercial de la comida procesada, que se les da usualmente las ratas, es un concentrado solido el cual está compuesto: maíz, trigo cebada, subproductos del trigo, torta de soya, soya integral, harina de pescado, cloruro de sodio, carbonato de calcio y fosfato dicálcico.

Cumplido el tiempo (28 días) se determinó previo ayuno el nivel de colesterol sérico en todos los animales y a su vez con la misma muestra y en el mismo día se midió los niveles de malondialdehido.

4.2 DETERMINACION DEL COLESTEROL TOTAL SERICO

4.2.1 FUNDAMENTO

El colesterol se determina por acción de las enzimas Colesterol ester hidrolasa y Colesterol oxidasa. La primera libera el colesterol de los ésteres de colesterol, y la segunda oxida el colesterol libre produciéndose peróxido de hidrógeno, el cual en presencia de la enzima peroxidasa reacciona con el sistema cromogénico dando origen a un compuesto coloreado que se absorbe a 505 nm. (48)

$$\text{Colesterol ester} \xrightarrow{\text{CEH}} \text{Colesterol + ácidos grasos}$$

$$\text{Colesterol + } O_2 \xrightarrow{\text{CHOD}} \text{Colest-4-en-3-ona + } H_2O_2$$

$$2H_2O_2\text{+4-AAP+p-HBA} \xrightarrow{\text{PA P}} \text{Comp. Coloreado +}4H_2O$$

FUENTE: determinación fotométrica de Colesterol total en suero o plasma. (48)

En la **Tabla N° 3.2 se** muestra la preparación del Reactivo de Trabajo: El reactivo se provee listo para su uso. El reactivo con el tiempo puede tomar un leve color rosado que no afecta los resultados. Descartar el reactivo si su absorbancia contra blanco de agua es superior a 0.4 D.O. a 505 nm.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 3.2: procedimiento para la determinación de colesterol total sérico

	Blanco	Calibrador	Muestra
Muestra (mL.)	--	--	0.01
Calibrador (mL.)	--	0.01	--
Reactivo (mL.)	1.00	1.00	1.00
Mezclar e incubar 10 minutos a 37ºC ó 10 minutos a temperatura ambientes (> 20ºC). Leer las absorbancias llevando a cero el espectrofotómetro con el blanco de reactivo. El color resultante es estable por a lo menos treinta minutos.			

FUENTE: Determinación fotométrica de Colesterol total en suero o plasma.

El procedimiento finalizo con la determinación del Malondialdehido a 4 °C.

4.2.2 PROCEDIMIENTO

Cumplidas las 12 horas de ayuno, se procedió a extraer mediante el empleo de un capilar no heparinizado, la sangre del ángulo interno del ojo consiguiéndose un volumen aproximado de 1 mL. Una vez obtenida la sangre sin anticoagulante, se centrifugó durante 5 minutos a 3.000 r.p.m., finalizado el tiempo se extrajo 10 µl. de suero mediante una micropipeta, el que fue depositado en un tubo de ensayo que contenía el reactivo enzimático para la determinación de colesterol. Luego de 10 minutos de incubación a 37°C se efectuó la lectura en unidades de absorbancia a 505nm. de longitud de onda.

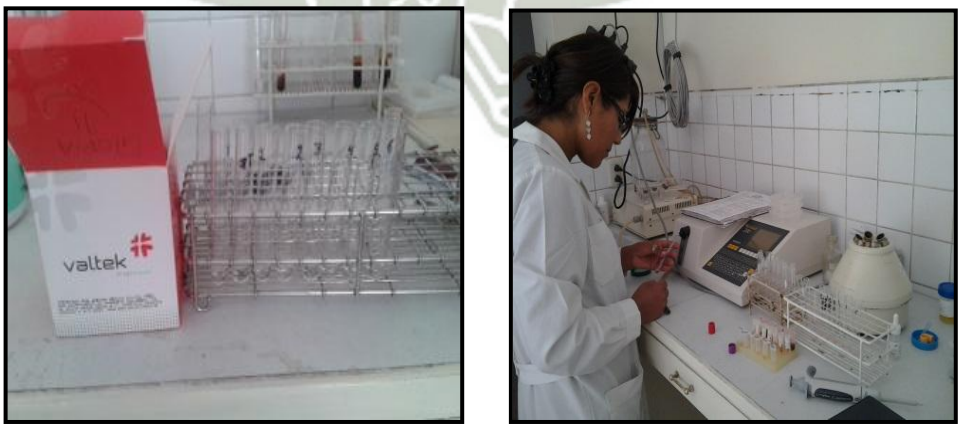


FIGURA N° 3.4: Procedimiento para la determinación de colesterol total sérico

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

4.3 DETERMINACION DE LOS NIVELES DE MALONDIALDEHIDO (MDA) POR EL METODO DE TBARS, EN RATAS CON HIPERCOLESTEROLEMIA EXPERIMENTAL

4.3.1 FUNDAMENTO

Los ácidos grasos, altamente insaturados, son muy susceptibles a la oxidación siendo los productos primarios de esta oxidación, los lípidos hidroperóxidos que pueden ser detectados por métodos químicos.

Durante los estados posteriores de la oxidación generalmente están presentes los productos secundarios de la oxidación y por lo tanto, indican una historia de oxidación. Estos productos comprenden aldehídos, cetonas, ácidos grasos de cadena corta y otros; muchos de los cuales tienen olores y sabores desagradables. Algunos de los productos secundarios de la oxidación aldehídica reaccionan con el ácido tiobarbitúrico, formando un producto de coloración rojiza que puede ser determinado mediante espectrofotometría. (46)

Para evaluar los niveles de peroxidación lipídica o malondialdehido en ratas con hipercolesterolémia experimental, se ha elegido el método de TBARS (Tiobarbituric Acid Reactive Substances). Mediante este método se determinó los niveles de malondialdehido en el suero de ratas. Usando este principio, pueden medirse las sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBARS) tales como los compuestos carbonílicos como el malondialdehido (MDA). La determinación de estas sustancias reactivas al (TBARS) como el malondialdehido, basado en que el ácido tiobarbitúrico reacciona con el grupo aldehído del malondialdehido, forma un aductor (TBARS-MDA) cromóforo rosado que presenta un máximo de absorción a 532 nm (46)

Este es el método más usado para la estimación de la degradación de lípidos en alimentos y sistemas biológicos y constituye el patrón de oro, cuando se trata de probar el papel de los oxidantes en algún tipo de daño celular (44)

El MDA es un dialdehído volátil generado por descomposición de hidroperóxidos, aldehídos y otros derivados carbonílicos. (46)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

4.3.2 PROCEDIMIENTO

Los niveles de lipohidroperóxidos fueron analizados en suero mediante la determinación del malondialdehido (MDA).

La medición del estado antioxidante total que refleja el equilibrio dinámico entre el sistema antioxidante y la producción de especies reactivas de oxígeno será medido en **suero sanguíneo.** Para esta medición de la capacidad antioxidante, no existe una técnica única, y generalmente debe utilizarse índices que son interpretados de acuerdo con el tipo de muestra y método usado para su evaluación.

Se tomó 0,5 mL. de suero extraído mediante centrifugación a 3.000 rpm durante 10 minutos, luego fue incubada con una mezcla de 45µl de ácido tricloracético (15 % p/v), 500µl de una solución de ácido tiobarbitúrico (0.37 %p/v) y 500µl de una solución de ácido clorhídrico (25%). seguidamente se calentó la solución durante 20 min en baño María a 100 °C, se le adiciono 2,5 mL. de n-butanol procediendo a su centrifugación a 3.000 rpm durante 10 min. La absorbancia del sobrenadante fue leída a 532 nm contra un blanco de n-butanol (46).

FIGURA N° 3.5: Determinación de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) en suero, mediante el método de TBARS.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

4.4 ADMINISTRACION DE TRATAMIENTO FARMACOLOGICO A LOS 4 GRUPOS EN ESTUDIO

La administración de las distintas dosis de tratamiento farmacológico se realizó por vía bucorogástrica, pudiéndose observar en la **Figura N° 3.6** mediante una sonda de acero inoxidable, de manera diaria y a la misma hora, durante 40 días, excepto el día domingo ya que tanto su alimentación y las dosis de tratamiento farmacológico es duplicada el día sábado.

FIGURA N° 3.6: Suministración bucorogástrica de las muestras.

4.5 METODO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR REDUCCION DE ION CUPRICO (CUPRAC)

Es un método espectrofotométrico para la evaluación de la capacidad antioxidante total, ya que su reacción se realiza a un pH cercano a lo fisiológico, además es fácilmente, estable, selectivo y con respuesta a todos los antioxidantes, siendo un ensayo de capacidad antioxidante basado en transferencia electrónica (56)

4.5.1 FUNDAMENTO

Es un ensayo de capacidad antioxidante basado en la transferencia electrónica que implica una reacción REDOX con el oxidante (también la sonda para monitorear la reacción) como un indicador del punto final de la reacción. (56)

Oxidante + e^- del antioxidante ⟶ Oxidante reducido + Antioxidante oxidado

(Antioxidante = sonda)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Donde el cambio en color del Oxidante es proporcional a la concentración total de antioxidante

4.5.2 PROCEDIMIENTO

Para la aplicación correcta de la técnica se preparó previamente los reactivos.

a) Reactivos

- Cloruro de Cobre Dihidratado: solución 1 x 10^{-2} M en etanol. Se preparó disolviendo 42.6175 mg de $CuCl_2$. $2H_2O$ en agua hasta un volumen de 25 mL.
- Neocuproína: solución 7.5 x 10^{-3} M en etanol. Se preparó disolviendo 39.0506 mg de Nc con etanol al 96% y llevándola a un volumen final de 25 mL..
- Acetato de Amonio: solución buffer 1 M a pH 7.
- Ácido ascórbico: solución 2 x 10^{-4} M en etanol.

b) Preparación y procedimiento de la curva de calibración de ácido ascórbico

- Se dispuso de una batería de 6 tubos y se colocó en cada uno de ellos las siguientes soluciones en el orden mencionado: 2 mL. de la solución de cloruro de cobre, 2 mL. del buffer acetato de amonio, 2 mL. de la solución de neocuproína.
- Se añadió 0.5 mL., 1 mL., 2 mL., 3 mL. y 4 mL. de la solución de ácido ascórbico a los tubos 1, 2, 3, 4 y 5, respectivamente.
- Se añadió 4 mL., 3.5 mL., 3 mL., 2 mL. y 1 mL. de agua a los tubos Blanco, 1, 2, 3 y 4, respectivamente.
- El tubo blanco no contiene ácido ascórbico.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 3.3: Preparación de la curva de calibración para ácido ascórbico.

Reactivos	Tubos de Ensayo					
	Blanco	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**
Buffer CH_3COONH_4	2 mL.	2 mL.	2 mL.	2 mL.	2 mL.	2 mL.
$CuCl_2$	2 mL.	2 mL.	2 mL.	2 mL.	2 mL.	2 mL.
Neocuproína	2 mL.	2 mL.	2 mL.	2 mL.	2 mL.	2 mL.
Ácido Ascórbico 0.0002M	-	0.5 mL.	1 mL.	2 mL.	3 mL.	4 mL.
Agua	4 mL.	3.5 mL.	3 mL.	2 mL.	1 mL.	-

FUENTE: Elaboración propia.

FIGURA N° 3.7: Preparación de la curva de calibración para ácido ascórbico

- Se dejó reposar la batería de tubos a temperatura ambiente y en la oscuridad, por 30 minutos.

- Se leyeron las absorbancias a 450 nm en el espectrofotómetro.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

4.6 PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION PARA DETERMINAR LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE L-CARNITINA

TABLA N° 3.4. Preparación de la curva de calibración de L-Carnitina.

• Reactivos	Tubos	
	Blanco	**Muestra**
Buffer CH_3COONH_4	2 mL.	2 mL.
$CuCl_2$	2 mL.	2 mL.
Neocuproína	2 mL.	2 mL.
Solución L-Carnitina 1.2% P/V	-	0.1 mL.
Agua	4 mL.	3.9 mL.

FUENTE: Elaboración propia.

FIGURA N° 3.8: Preparación de la curva de calibración de L-Carnitina

- Se pesó 300 mg de L-Carnitina a la que le añadimos agua destilada hasta enrasarlo en una fiola de 25mL., de donde se obtuvo una solución al 1.2% (p/v) la que posteriormente se protegió de la luz, en frascos ámbar y almacenadas bajo refrigeración.

- Se dispuso de una batería de 3 tubos y se colocó en cada uno de ellos las siguientes soluciones en el orden mencionado: 2 mL. de la solución de

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

cloruro de cobre, 2 mL. del buffer acetato de amonio, 2 mL. de la solución de neocuproína.

- Se añadió 0.1 mL. de la solución de L-Carnitina preparada anteriormente.
- Se añadió 3.9 mL. de agua a los tubos y finalmente se añadió 4mL. de agua al tubo Blanco.
- El tubo blanco no contiene la solución de L-Carnitina.
- Se utilizó un método espectrofotométrico, en el que se realizarán mediciones a una longitud de onda de 450nm, las que se harán después de 30 minutos de reposo de los tubos en la oscuridad.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

En el presente trabajo de investigación se determinó el efecto de la capacidad antioxidante de la L- Carnitina, en comparación con la coenzima Q10, en suero de ratas con hipercolesterolémia, mediante la determinación de los niveles de peroxidación lipídica o malondialdehido (MDA) utilizando el método TBARS (Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico).

Posteriormente, se determinó la capacidad antioxidante de la L- Carnitina, mediante el método de CUPRAC (Capacidad Antioxidante de Reducción del Ión Cúprico).

A su vez se tuvo en cuenta que para hacer el siguiente trabajo, debemos de contar con animales de experimentación *(ratas de la especie norvegicus)* aparentemente sanas, considerando como valores normales una hipercolesterolémia de 50 a 86 mg/dl y como valores patológicos una Hipercolesterolémia superiores a 86mg/dl.

En este capítulo presentamos todos los procesos experimentales realizados y una vez que hemos obtenido los datos numéricos necesarios procederemos a ordenar y tabular los resultados y poder discutir los datos obtenidos con los diferentes grupos experimentales. Tanto las tablas como los gráficos, se estructuraron en base al promedio ±, el error estándar de la media.

Las tablas incluyen los resultados de análisis estadísticos como el análisis de varianza incluyendo el grado de significancia, siendo este de 95% de confianza.

4.1 INDUCCION DE HIPERCOLESTEROLEMIA EXPERIMENTAL

A. GRUPO HIPERCOLESTEROLEMICO

Este proceso duro 28 días y los niveles de colesterol total fueron expresados en mg/dl.

Para nuestro procedimiento se les determinó su colesterol basal sérico al grupo hipercolesterolémico (n=20 ratas) el día 1, dicha muestra se extrae 10 min antes de

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

la administración de la tortilla lipídica, este mismo procedimiento se efectúa el día 14 y 28 de toma muestra.

En la **Tabla N° 4.1** y en la **Figura N° 4.1** los resultados demostrarón que transcurridos los 28 días en que se administró la tortilla lipídica, los niveles de colesterol sérico del grupo denominado Hipercolesterolémia (n=20 ratas) se incrementaron significativamente ($p<0,05$) hasta alcanzar para el último día 28, la media de 108,05 mg/dl de colesterol sérico en relación a su valor inicial donde la media fue de 64.95 mg/dl de colesterol sérico.

Entonces podemos apreciar que existe diferencia significativa ($p<0,05$) en el incremento de hipercolesterolémia antes y después de los 28 de administración de la dieta lipídica.

Estos resultados, nos demuestran que las condiciones ambientales, temperatura, humedad así como el hacinamiento y al posible estrés al que fueron sometidas las ratas debido a su manipulación y estadía en el bioterío, no influyeron sobre la concentración de colesterol sérico.

Tomando en cuenta que no se halló información bibliográfica sobre los valores normales de colesterol e hipercolesterolémia en ratas, en nuestro trabajo investigación nos basamos en el aumento de colesterol que existe entre el día 1 (Basal), día 14, y el día 28 en la cual se concluyó con la alimentación rica en colesterol.

Haciendo una comparación del mismo procedimiento con otras fuentes de estudio, este aumento de colesterol se debe a la alimentación lipídica basada en seso de bovino y yema de huevo como lo señala ChePiu Carpio y Herrera Herrera. en su investigacion “Efecto del extracto etanólico de Zea mayz L. “Maíz” Variedad morado a diferentes concentraciones sobre la capacidad antioxidante del suero de ratas,. Arequipa – 2008 y Pauccara Hilario, Tania Verónica: “Evaluación Del Efecto Hipolipemiante De Los Extractos De Las Semillas De Salvia Hispánica L. (Chía) Administrado En Animales De Experimentación Y Determinación De La Capacidad Antioxidante In Vitro”. Arequipa – 2014 (51) (52)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.1: **Incremento de colesterol sérico durante los 28 días administración de la tortilla lipídica, para la inducción de hipercolesterolémia expresado en mg/dl.**

N° Ratas	Basal Día 1	Día 14	Día 28
1	69	75	100
2	70	83	103
3	66	81	108
4	68	89	107
5	64	92	101
6	67	88	100
7	70	93	112
8	67	98	115
9	65	93	110
10	71	99	110
11	65	87	111
12	72	84	107
13	61	98	109
14	57	99	113
15	59	96	111
16	59	95	107
17	61	88	104
18	60	85	112
19	63	88	105
20	65	96	116
PROMEDIO	**64.95**	**90.35**	**108.05**

FUENTE: elaboración propia.

Entonces podemos decir que gracias a la alimentación de la tortilla lipídica a base de seso de bovino y yema de huevo, se incrementó los niveles de colesterol en el grupo Hipercolesterolémia (n=20ratas), dando como evidencia directa la comparación de los valores numéricos desde el día 1 (colesterol basal) hasta el día 28.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

EVALUACION DE LOS DATOS DE COLESTEROL DEL GRUPO HIPERCOLESTEROLEMICO (N=20)

Después de la administración de la tortilla lipídica se evaluó la concentración de colesterol en día 1 basal, en el día 14 y 28. Para hacer nuestro "t" pareado se tomó en cuenta el día 1 y 28 de toma de muestra.

i. Prueba "t" pareado

Ho: [la concentración de colesterol del basal día 1] = [a la concentración de colesterol del día 28].

H_1: [la concentración de colesterol del basal día 1] ≠ [a la concentración de colesterol del día 28].

ii. Evaluación de datos

Estadístico **t** : 27.09

Valor crítico : 2.09

P (T<=t) dos colas: $1.20 * 10^{-6}$

GRUPO HIPERCOLESTEROLEMICO	*BASAL DIA 1*	*DIA 28*
Media	64.95	108.05
Varianza	19.3131579	22.4710526
Observaciones	20	20
Coeficiente de correlación de Pearson	-0.21209418	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	19	
Estadístico t	**-27.0911027**	
P(T<=t) una cola	6.0234E-17	
Valor crítico de t (una cola)	1.72913279	
P(T<=t) dos colas	**1.2047E-16**	
Valor crítico de t (dos colas)	**2.09302405**	

FUENTE: Elaboración propia.

iii. Discusión

Se puede apreciar que el valor critico es 2.09, mientras que el valor experimental es de 27.09, lo que nos indica que se acepta la H_1 (P=1.20).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

iv. Conclusión

Por lo tanto podemos concluir que en el grupo hipercolesterolémico (n=20 ratas) si se encuentra diferencia estadística significativa, con un nivel de confianza del 95%, donde se demuestra el incremento de colesterol entre la media basal del dia1 teniendo como promedio global 64.95 mg/dl en comparación con la media del día 14 teniendo como promedio global de 90.35 mg/dl **y** la media del día 28 teniendo como promedio global de 108.05 mg/dl, demostrando así que la dieta lipídica incrementa los niveles de colesterol total en el transcurso de los días de inducción.

B. GRUPO BLANCO

Los niveles de colesterol total fueron expresados en mg/dl. Por su parte el Grupo Blanco (n=5 ratas) las cuales no se les indujo a hipercolesterolémia, en lugar de su dieta lipídica, la dieta normal para este grupo fue de 30 gr. de concentrado Tomasino® y agua *ad libitum* durante todo el proceso.

TABLA N°4.2: **valores numéricos del grupo blanco (n=5 ratas), las cuales no se les indujo a hipercolesterolémia expresado en mg/dl.**

N° Ratas	basal día 1	día 14	día 28
1	69	68	66
2	65	64	66
3	66	68	68
4	69	70	71
5	72	70	69
Promedio	**68.2**	**68**	**68**

FUENTE: elaboración propia.

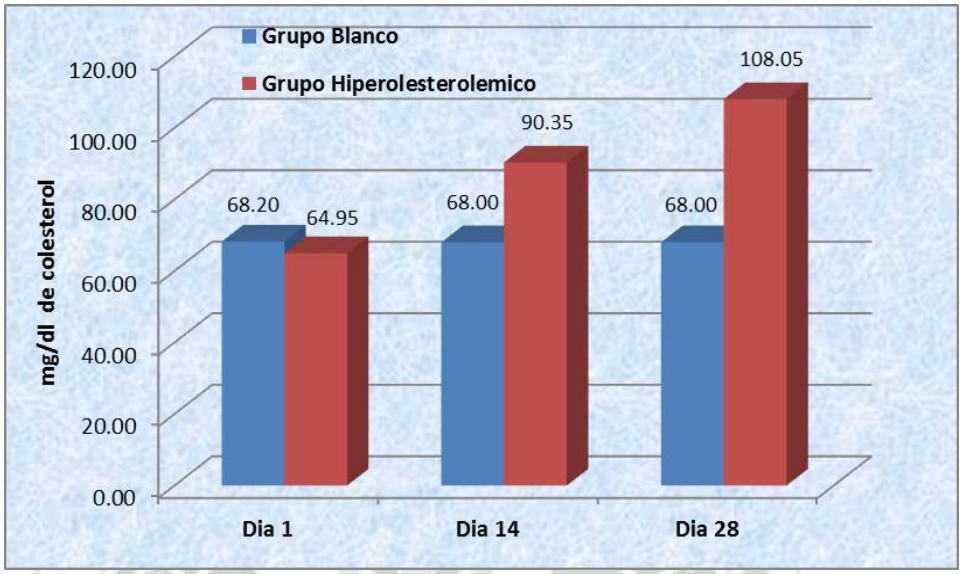
En la **Tabla N° 4.2 y** en la **Figura N° 4.1** los resultados demostraron que los niveles de colesterol séricos del grupo denominado blanco (n=5 ratas) no mostraron incremento alguno desde el día 1 hasta el día 28 de toma de muestra, donde la media del día 28 es de 68.0 mg/dl de colesterol sérico en relación a su valor inicial donde la media fue de 68.2 mg/dl de colesterol sérico, lo que nos demuestra que no hay diferencia significativa alguna ($p>0.05$).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Por lo que podemos señalar que el concentrado de tomasino® y agua *ad libitum* durante todo el proceso no altero los niveles séricos de colesterol manteniéndose estables.



FUENTE: elaboración propia.

Figura N° 4.1 Efecto de la administración durante los 28 días de la tortilla lipídica al grupo hipercolesterolémico y de un placebo al grupo blanco.

Estos resultados, nos demuestran que en ambos grupos las condiciones ambientales, temperatura, humedad así como el hacinamiento y al posible estrés al que fueron sometidas las ratas debido a su manipulación y estadía en el bioterío, no influyeron sobre la concentración de colesterol sérico.

EVALUACION DE LOS DATOS DE COLESTEROL DEL GRUPO BLANCO (N=5)

Después de la administración del concentrado Tomasino® y agua *ad libitum* se evaluó la concentración de colesterol en día 1 basal, en el día 14 y 28. Para hacer nuestro "t" pareado se tomó en cuenta el día 1 y 28 de toma de muestra.

i. Prueba "t" pareado

Ho: [la concentración de colesterol del basal día 1] = [a la concentración de colesterol del día 28].

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

H_1: [la concentración de colesterol del basal día 1] ≠ [a la concentración de colesterol del día 28].

ii. Evaluación de datos

Estadístico t : 0.17

Valor crítico : 2.77

P (T<=t) dos colas : 0.87

GRUPO BLANCO	*BASAL DÍA 1*	*DÍA 28*
Media	68.2	68
Varianza	7.7	4.5
Observaciones	5	5
Coeficiente de correlación de Pearson	0.46717659	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	**0.17277369**	
P(T<=t) una cola	0.43560966	
Valor crítico de t (una cola)	2.13184678	
P(T<=t) dos colas	**0.87121932**	
Valor crítico de t (dos colas)	**2.77644511**	

FUENTE: Elaboración propia.

iii. Discusión

Se puede apreciar que el valor critico es 2.77, mientras que el valor experimental es de 0.17, lo que nos indica que se acepta la Ho (P=0.87). Por lo tanto podemos concluir que en el grupo blanco (n=5 ratas) no se encuentra diferencia estadística significativa, con un nivel de confianza del 95%

iv. Conclusión

Demostramos que los niveles lipídicos entre la media del día 1 basal se obtuvo como promedio global 68.02 mg/dl en comparación con la media del día 14 teniendo como promedio global de 68.00 mg/dl **y** la media del día 28 teniendo como promedio global de 68.00 mg/dl, demostrando así que el consumo de

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

concentrado de tomasino no presenta ningún tipo de alteración en los niveles lipídicos que se mantiene dentro del rango normal.

4.2 DETERMINACION DE LOS NIVELES DE PEROXIDACION LIPIDICA (MDA) POR EL METODO DE TBARS EN EL PRIMER DIA DE ANALSIS.

Los niveles de peroxidación lipídica fueron expresados en nM/mL de Malondialdehido**.**

Una vez terminado toda la tabulación de datos del grupo hipercolesterolémico (n=20 ratas) el día 28 aprovechando que es la última toma de muestra sanguínea sérica, procedemos el mismo día a la distribución aleatoriamente, es decir se formó 4 subgrupos de 5 ratas cada uno para así poder determinar el nivel de peroxidación lipídica o malondialdehido (MDA) que será tomado en el (día 28) como el día 1 basal y los resultados lo demostramos en la siguiente **Tabla N° 4.3**

TABLA N°4.3: Determinación de MDA basal día 1 (día 28) expresado en nM/mL.

Experimental I (L-Carnitina 34 mg/kg.)	**Experimental II** (L-Carnitina 69 mg/kg.)	**Patrón** (Coenzima Q10. 7 mg/kg.)	**Control** (placebo: 2 mL. de suero fisiológico)
N=5 ratas	N=5 ratas	N=5 ratas	N=5 ratas
2.4	2.68	2.41	2.72
2.7	3.14	2.5	3.01
2.8	2.84	2.64	3.06
2.5	2.94	3.3	2.7
3.3	2.8	3.21	3.08

FUENTE: elaboración propia.

Como primer paso cada grupo experimental está conformado por 5 ratas a las cuales se procedieron a evaluar el día 1 basal (día 28) los niveles de peroxidación lipídica incrementado a cada grupo en estudio.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Como segundo paso una vez conocido los valores numéricos incrementados del malondialdehido (MDA), procedemos a dar inicio con sus respectivos tratamientos farmacológicos al Grupos Experimental I, Experimental II, Patrón y Control, lo que se resume en la **Tabla N° 4.3.** Estos datos se evaluaron utilizando ANOVA de una sola vía cuyos resultados se reflejan en la **Tabla N° 4.4**

TABLA N° 4.4: evaluación de datos para MDA día 1 de toma de muestra. utilizando ANOVA de una sola vía.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.089055	3	0.029685	0.33	0.8035
Intra grupos	1.4378	16	0.0898625		
Total (Corr.)	1.52685	19			

De estos resultados la razón-F, que en este caso es igual a 0.33 y que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05 indican que los grupos son homogéneos por lo tanto no existe una diferencia estadísticamente significativa y los resultados se resumen en la siguiente **Tabla N° 4.5**

TABLA N° 4.5: Test de Tukey de los niveles de peroxidación lipídica MDA basal día 1 (nM/mL.).

Día 1° de tratamiento farmacológico	Casos (ratas)	Media	Grupos Homogéneos
Experimental I (l- Carnitina 34 mg/kg)	5	2.74	X
Patrón (coenzima Q10 mg/kg)	5	2.812	X
Experimental II (l-Carnitina 69 mg/kg)	5	2.88	X
Control (suero fisiológico 2 mL.)	5	2.914	X

FUENTE: Elaboración propia.

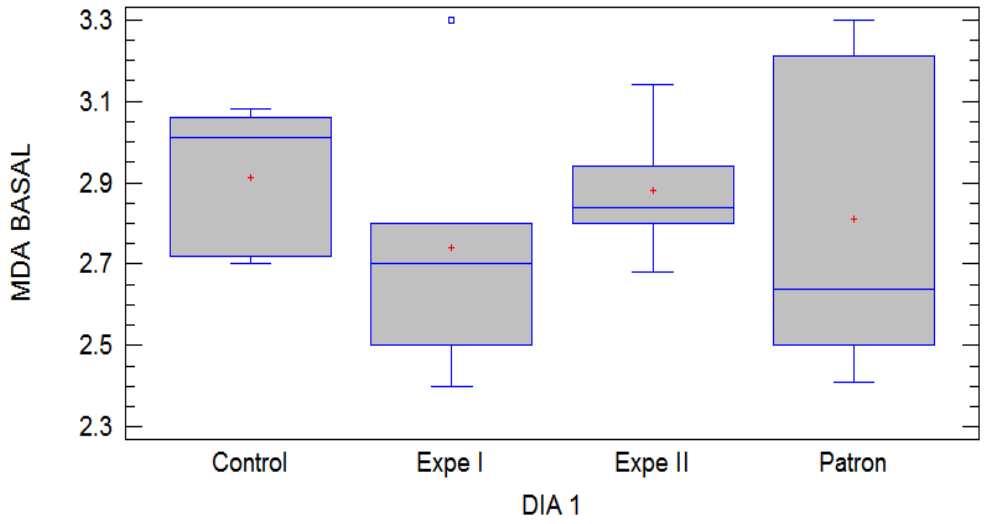
Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. En la parte superior de la tabla se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. Por lo tanto no existe diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

Los resultados de la **Tabla N° 4.5** se puede observar mejor en la **Figura N° 4.2**



FUENTE: elaboración propia.

FIGURA N° 4.2: comparación del incremento de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) basal del día 1 de tratamiento farmacológico, para los 4 grupos en estudio.

En esta **Figura N° 4.2** observamos que los niveles de MDA tiene como promedio para el Grupo Experimental I 2.74 nM/mL., para el Grupo Experimental II 2.88 nM/mL., para el Grupo Patrón 2.812 nM/mL. y para el Grupo Control 2.914 nM/mL.. Demostrando así que los 4 grupos en estudio sus niveles de malondialdehido (MDA) se encuentran ya incrementados hasta el día 28 (día 1 basal)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

4.3 EVALUACION DE LA DISMINUCION DE LOS NIVELES DE PEROXIDACION LIPIDICA (MDA) EN RESPUESTA A LOS TRATAMIENTYOS INDIVUDUALES EN LOS DIAS 1-20-40 A CADA GRUPO EXPERIEMNTAL

Una vez ya determinado anteriormente los niveles de MDA basal, se procedió a administrar los distintos tratamientos farmacológicos a cada grupo, para así evaluar la disminución progresiva de malondialdehido (MDA), se realizó las tomas de muestra en el día 1, día 20 y día 40, donde lo demostraremos en las tablas siguientes.

Tablas N° 4.5, 4.8, 4.11, 4.14 presentan 2 variables:

i. La **variable tiempo de tratamiento**: día 1, día 20, día 40.

ii. La **variable tratamiento:**

- L-Carnitina 34 mg/kg. - Exp. I.
- L-Carnitina 69 mg/kg. - Exp. II.
- Coenzima Q10. 7 mg/kg. - Patrón.
- Suero fisiológico 2 mL..- Control.
- Concentrado de tomasino 30 g. y agua adlibitum - Blanco.

A. EXPERIMENTAL I

TABLA N° 4.6: administración de L-Carnitina 34 mg/kg para disminuir los niveles de peroxidación lipídica (MDA) expresado en (nM/mL.).

GRUPO	RATAS	Día 1 (día 28)	Día 20 (día 48)	Día 40 (Día 68)
Expe I	1	2.40	2.38	1.80
Expe I	2	2.70	2.31	2.14
Expe I	3	2.80	2.15	2.07
Expe I	4	2.50	2.39	1.91
Expe I	5	3.30	2.18	2.18
Promedio		2.74	2.28	2.02
DS		+/-0.35	+/-0.11	+/-0.16

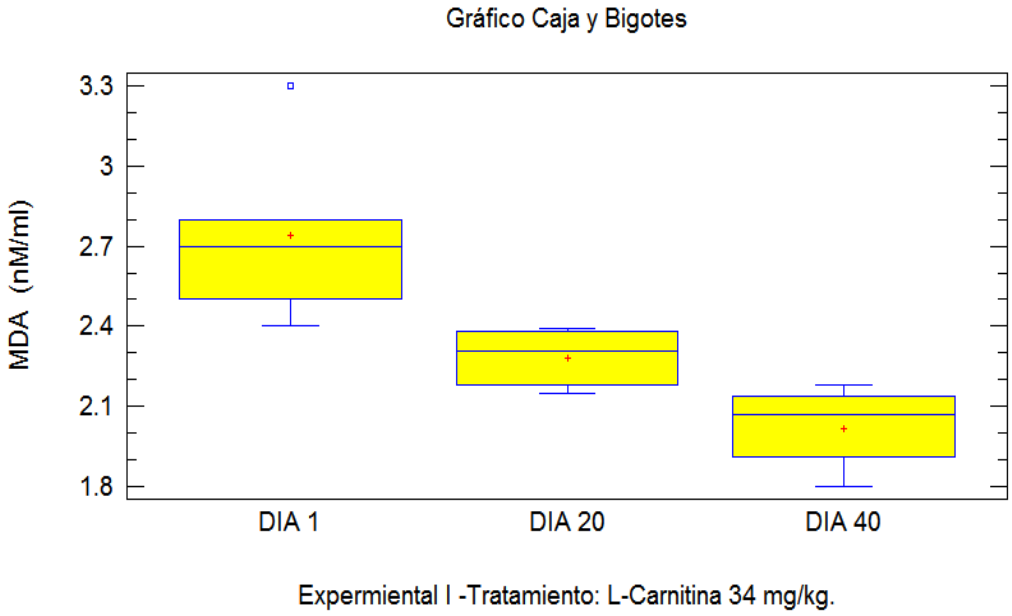
FUENTE: elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

El Grupo Experimental I está conformado por 5 ratas, una vez evaluado los niveles de MDA, procedemos con la administración de su respectivo tratamiento que fue **L-Carnitina 34 mg/kg**, en los días 1, 20 y 40 lo que se resume en la **Tabla N° 4.6** y en la **Figura N° 4.3**



FUENTE: elaboración propia.

FIGURA N° 4.3: comparación de la disminución de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) con su respectivo tratamiento de L-Carnitina 34 mg/kg en los día 1-20 y 40.

En esta **Figura N° 4.3** demostramos que el Grupo Experimental I que fue tratado con **L-Carnitina 34 mg/kg,** sus niveles de malondialdehido (MDA) para el día 1 basal tubo como promedio inicial 2.74 nM/mL., disminuyendo así hasta el día 20 de tratamiento con un promedio de 2.28 nM/mL. y observando mejor eficacia como efecto antioxidante en el día 40 de tratamiento cuyo promedio fue de 2.02 nM/mL.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Tabla N° 4.7: evaluación de datos para L-Carnitina 34 mg/kg. utilizando ANOVA de una sola vía.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.32801	2	0.664007	12.36	0.0012
Intra grupos	0.64488	12	0.05374		
Total (Corr.)	1.97289	14			

De estos resultados la razón-F, que en este caso es igual a 12.36 y que el valor-P de la razón-F es menor que 0.05 lo que indican que los grupos no son homogéneos por lo tanto existe una diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$) con un nivel del 95.0% de confianza y los resultados se resumen en la **Tabla N° 4.8**

TABLA N° 4.8: TUKEY

Días de medición de MDA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
DÍA 1	5	2.74	X
DIA 20	5	2.282	X
DIA 40	5	2.02	X

En la presente tabla, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

Contraste entre día	Sig.	Diferencia	+/- Límites
día 1 - día 20	*	0.458	0.319448
día 1 - día 40	*	0.72	0.319448
día 20 - día 40		0.262	0.319448

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. El asterisco indica que solo dos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

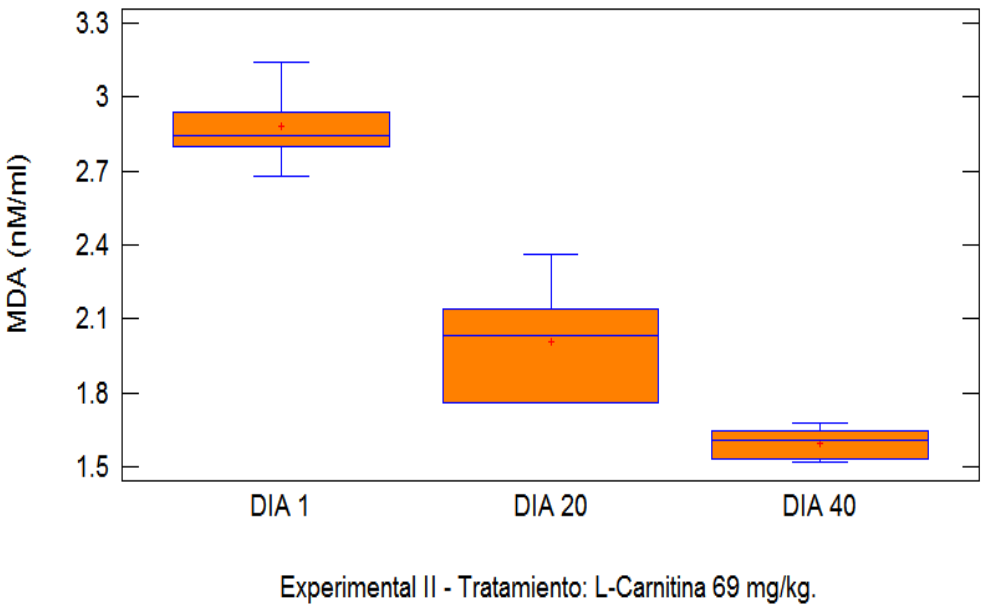
B. EXPERIMENTAL II

TABLA N° 4.9: administración de L-Carnitina 69 mg/kg para disminuir los niveles de peroxidación lipídica (MDA) expresado en (nM/mL.).

GRUPO	RATAS	Día 1 (día 28)	Día 20 (día 48)	Día 40 (Día 68)
Expe II	1	2.68	1.76	1.52
Expe II	2	3.14	2.36	1.61
Expe II	3	2.84	1.76	1.65
Expe II	4	2.94	2.03	1.68
Expe II	5	2.80	2.14	1.53
Promedio		2.88	2.01	1.60
DS		+/-0.17	+/-0.26	+/-0.07

FUENTE: elaboración propia

El Grupo Experimental II está conformado por 5 ratas, una vez evaluado los niveles de MDA, procedemos con la administración de su respectivo tratamiento que fue **L-Carnitina 69 mg/kg**, en los días 1, 20 y 40 lo que se resume en la **Tabla N° 4.9** y en la **Figura N° 4.4**



FUENTE: elaboración propia.

FIGURA N° 4.4: comparación de la disminución de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) con L-Carnitina 69 mg/kg en los día 1-20 y 40.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

En esta **Figura N° 4.4** demostramos que el Grupo Experimental II que fue tratado con **L-Carnitina 69 mg/kg** sus niveles de malondialdehido (MDA) para el día 1 basal tubo como promedio inicial 2.88 nM/mL., disminuyendo así hasta el día 20 de tratamiento con un promedio de 2.01 nM/mL., y observando mejor eficacia como efecto antioxidante en el día 40 de tratamiento cuyo promedio fue de 1.60 nM/mL.

Tabla N° 4.10: evaluación de datos para L-Carnitina 69 mg/kg. utilizando ANOVA de una sola vía .

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	4.28361	2	2.14181	63.57	0.0000
Intra grupos	0.40428	12	0.03369		
Total (Corr.)	4.68789	14			

FUENTE: Elaboración propia.

De estos resultados la razón-F, que en este caso es igual a 63.57 y que el valor-P de la razón-F es menor que 0.05 lo que indican que los grupos no son homogéneos por lo tanto existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95.0% de confianza y los resultados se resumen en la siguiente **Tabla N° 4.11**

Tabla N° 4.11: TUKEY

Días de medición de MDA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
DÍA 1	5	2.88	X
DIA 20	5	2.01	X
DIA 40	5	1.598	X

FUENTE: Elaboración propia.

En la presente tabla, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Contraste entre día	Sig.	Diferencia	+/- Límites
día 1 - día 20	*	0.87	0.252931
día 1 - día 40	*	1.282	0.252931
día 20 - día 40	*	0.412	0.252931

FUENTE: Elaboración propia.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. El asterisco indica que los tres pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.

C. PATRON

TABLA N° 4.12: administración de Coenzima Q10. 7 mg/kg para disminuir los niveles de peroxidación lipídica (MDA) expresado en (nM/mL).

GRUPO	RATAS	Día 1 (día 28)	Día 20 (día 48)	Día 40 (Día 68)
Patrón	1	2.41	1.85	1.16
Patrón	2	2.50	1.99	1.29
Patrón	3	2.64	1.91	1.26
Patrón	4	3.30	1.95	1.30
Patrón	5	3.21	1.98	1.39
Promedio		2.81	1.94	1.28
DS		+/-0.41	+/-0.06	+/-0.08

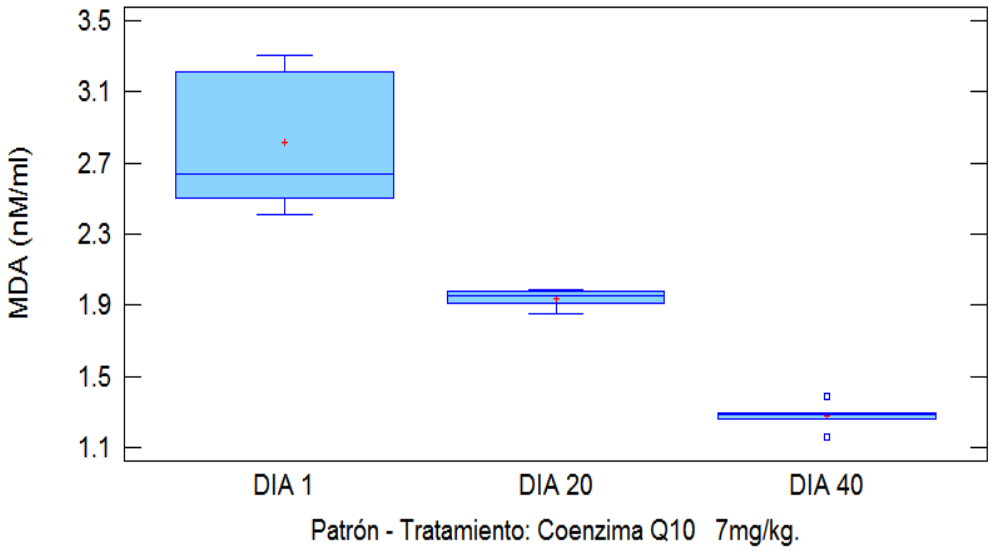
FUENTE: elaboración propia.

El Grupo Patrón está conformado por 5 ratas, una vez evaluado los niveles de MDA, procedemos con la administración de su respectivo tratamiento que fue **Coenzima Q10. 7 mg/kg**, en los días 1, 20 y 40 lo que se resume en la **Tabla N° 4.12** y en la **Figura N° 4.5**

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA



FUENTE: elaboración propia.

FIGURA N° 4.5: comparación de la disminución de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) con coenzimaQ10. 7 mg/kg en los día 1-20 y 40.

En esta **Figura N° 4.5 y la Tabla N° 4.12** demostramos que el Grupo Patrón que fue tratado con **Coenzima Q10. 7 mg/kg** sus niveles de malondialdehido (MDA) para el día 1 basal tubo como promedio inicial 2.81 nM/mL., disminuyendo así hasta el día 20 de tratamiento con un promedio de 1.94 nM/mL., y observando mejor eficacia como efecto antioxidante en el día 40 de tratamiento cuyo promedio fue de 1.28 nM/mL.

TABLA N° 4.13: evaluación de datos para Coenzima Q10. 7 mg/kg utilizando ANOVA de una sola vía.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	5.90789	2	2.95395	48.85	0.0000
Intra grupos	0.7256	12	0.0604667		
Total (Corr.)	6.63349	14			

FUENTE: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

De estos resultados la razón-F, que en este caso es igual a 48.85 y que el valor-P de la razón-F es menor que 0.05 lo que indican que los grupos no son homogéneos por lo tanto existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95.0% de confianza y los resultados se resumen en la **Tabla Nº 4.14**

TABLA N° 4.14: TUKEY

Días de medición de MDA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
DÍA 1	5	2.812	X
DIA 20	5	1.936	X
DIA 40	5	1.28	X

FUENTE: Elaboración propia.

En la presente tabla, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

Contraste entre días	Sig.	Diferencia	+/- Límites
dia 1 - dia 20	*	0.876	0.338851
dia 1 - dia 40	*	1.532	0.338851
dia 20 - dia 40	*	0.656	0.338851

FUENTE: Elaboración propia.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. El asterisco indica que los tres pares muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel del 95.0% de confianza.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

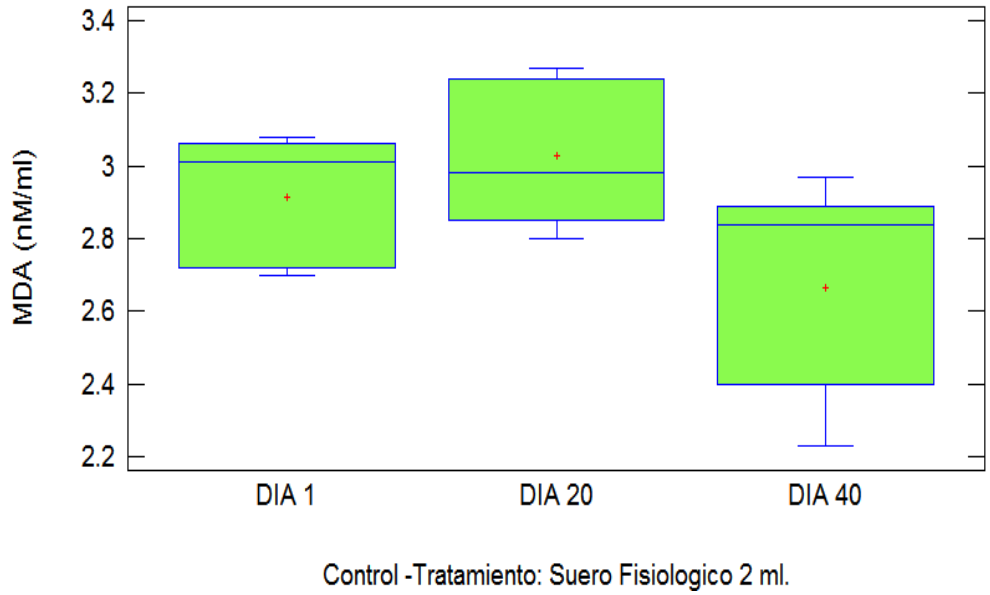
CONTROL

TABLA N° 4.15: administración de placebo (suero fisiológico 2 mL.) expresado en (nM/mL.).

GRUPO	RATAS	Día 1 (día 28)	Día 20 (día 48)	Día 40 (Día 68)
Control	1	2.72	2.80	2.23
Control	2	3.01	2.98	2.40
Control	3	3.06	2.85	2.97
Control	4	2.70	3.24	2.89
Control	5	3.08	3.27	2.84
promedio		2.91	3.03	2.67
DS		+/-0.19	+/-0.22	+/-0.33

FUENTE: elaboración propia.

El Grupo Control está conformado por 5 ratas, una vez evaluado los niveles de MDA, procedemos con la administración de su respectivo tratamiento que fue 2 mL. de suero fisiológico, en los días 1, 20 y 40 lo que se resume en la **Tabla N° 4.15** y en la **Figura N° 4.6**



FUENTE: elaboración propia

FIGURA N° 4.6: comparación de la disminución de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) en el grupo control en los día 1-20 y 40.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

En esta **Figura N° 4.6** demostramos que el Grupo Control que fue tratado con un **placebo de 2 mL. de suero fisiológico** sus niveles de malondialdehido (MDA) para el día 1 basal tubo como promedio inicial 2.91 nM/mL., no presentando alteración alguna hasta el día 20 de tratamiento con un promedio de 3.03 nM/mL., ni en el día 40 de tratamiento cuyo promedio fue de 2.67 nM/mL., por lo tanto concluimos que el tratamiento con suero fisiológico no altero los niveles de malondialdehido (MDA) es decir que siempre se mantienen incrementados.

TABLA N° 4.16: evaluación de datos para suero fisiológico 2 mL. utilizando ANOVA de una sola vía.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.342573	2	0.171287	2.69	0.1085
Intra grupos	0.76472	12	0.0637267		
Total (Corr.)	1.10729	14			

De estos resultados la razón-F, que en este caso es igual a 2.69 y que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05 lo que indican que los grupos no son homogéneos por lo tanto no existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95.0% de confianza y los resultados se resumen en la siguiente **Tabla N° 4.17**

TABLA N° 4.17: TUKEY

Días de medición de MDA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
DÍA 1	5	2.914	X
DIA 20	5	3.028	XX
DIA 40	5	2.666	X

En la presente tabla, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Contraste entre día	Sig.	Diferencia	+/- Límites
día 1 - dia 20		-0.114	0.347866
dia 1 - dia 40		0.248	0.347866
dia 20 - dia 40	*	0.362	0.347866

FUENTE: Elaboración propia.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. El asterisco indica que solo un par muestra diferencias estadísticamente significativas a un nivel del 95.0% de confianza.

En nuestra investigación para demostrar que la L-Carnitina tiene efecto antioxidante y que el método de TBARS es eficaz para medir dicho efecto mediante la disminución de malondialdehido MDA, se comparó con otras fuentes de estudio relacionadas en medir el efecto antioxidante, como lo señala Merma Polanco, María Luisa y Velásquez Cotrado, Danitza. en su investigación "efecto del extracto etanólico de zea mayz l. maíz variedad morado a diferentes concentraciones sobre la capacidad antioxidante del suero de ratas, arequipa – 2008. las cuales señalan que este método es eficaz. (53)

4.4 EVALUACION DE LA DISMINUCION DE LOS NIVELES DE PEROXIDACION LIPIDICA (MDA) EN RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS EN CONJUNTO EN EL DIA 1-20-40 EN FUNCION AL TIEMPO Y TIPO DE TRATAMIENTO FARMACOLOGICO.

En la **Tabla N° 4.18** se reunió todos los datos numéricos de los 4 grupos en una sola tabla, donde se muestra los resultados de la disminución de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) en función al tiempo y tipo de tratamiento farmacológico, para comparar y demostrar cuál de los 4 tratamientos posee mejor eficacia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.18: Disminución los niveles de peroxidación lipídica (MDA) expresado en (nM/mL.).

	GRUPOS	RATAS	Día 1 (día 28)	Día 20 (día 48)	Día 40 (Día 68)
L- CARNITINA 34 mg/kg	Expe I	1	2.40	2.38	1.80
	Expe I	2	2.70	2.31	2.14
	Expe I	3	2.80	2.15	2.07
	Expe I	4	2.50	2.39	1.91
	Expe I	5	3.30	2.18	2.18
L- CARNITINA 69 mg/kg	Expe II	1	2.68	1.76	1.52
	Expe II	2	3.14	2.36	1.61
	Expe II	3	2.84	1.76	1.65
	Expe II	4	2.94	2.03	1.68
	Expe II	5	2.80	2.14	1.53
COENZIMA Q10 7mg/kg	Patrón	1	2.41	1.85	1.16
	Patrón	2	2.50	1.99	1.29
	Patrón	3	2.64	1.91	1.26
	Patrón	4	3.30	1.95	1.30
	Patrón	5	3.21	1.98	1.39
Ratas Con colesterol Sin tratamiento	Control	1	2.72	2.80	2.23
	Control	2	3.01	2.98	2.40
	Control	3	3.06	2.85	2.97
	Control	4	2.70	3.24	2.89
	Control	5	3.08	3.27	2.84
PROMEDIO		-	**2.83**	**2.31**	**1.89**

FUENTE: elaboración propia.

Se procederá a hacer un ANOVA de doble vía, tomando en cuenta que se evaluarán dos variables diferentes que son:

1. Días de tratamiento: Día 1, Día 20 y Día 40. (Variable α)
2. Clase de tratamiento: Carnitina (34 mg/kg), Carnitina (69 mg/kg), Coenzima Q10. 7 mg/kg Control (sin tratamiento). (Variable β)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Por lo tanto se plantean las siguientes hipótesis para cada variable:

Para la variable Días de tratamiento:

Ho: αi = 0; No existe efecto debido a los días de tratamiento.

H_1: αi ≠0; Existe efecto debido a los días de tratamiento.

Para la variable Clase de tratamiento:

Ho: βi = 0; No existe efecto debido a los diferentes tratamientos.

H_1: αi ≠0; Existe efecto entre los diferentes tratamientos.

Al tabular los datos de la **Tabla N° 4.18** con la ayuda del software Statgraphics se obtiene los siguientes resultados representados en la **Tabla N° 4.19**

TABLA N°: 4.19 ANOVA DE DOBLE VIA PARA LA VARIABLE TIEMPO DE TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Dias (tiempo)	8.9727	2	4.48635	44.62	0.0000
B:Tratamiento	6.31245	3	2.10415	20.93	0.0000
Residuos	5.42887	54	0.100535		
Total (corregido)	20.714	59			

FUENTE: Elaboración propia.

Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que los 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre MDA a un 95.0% de nivel de confianza y acuerdo a los valores F y P se pueden obtener 2 conclusiones:

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

i. Los niveles de malondialdehido (MDA) disminuyen en función a la variable tiempo de tratamiento.

Un análisis más detallado se aprecia en la **Tabla N° 4.20** cuando se hace un análisis de Tukey:

TABLA N° 4.20: TUKEY

Días de medición de MDA	Casos	Media	Grupos Homogéneos	
DÍA 40	20	1.891	X	
DÍA 20	20	2.314	X	
DÍA 1	20	2.8365		X

FUENTE: Elaboración propia.

En la presente tabla, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

Contraste entre días	Sig.	Diferencia	+/- Límites
día 1 - día 20	*	0.5225	0.241664
día 1 - día 40	*	0.9455	0.241664
día 20 - día 40	*	0.423	0.241664

FUENTE: Elaboración propia.

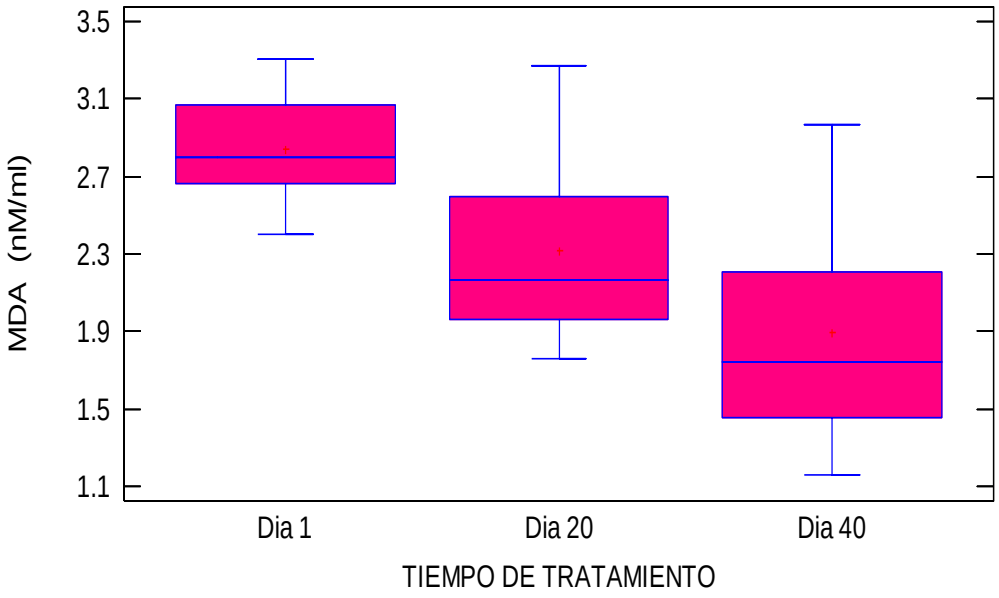
Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. El asterisco indica que los tres pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.

Los resultados de la **Tabla N° 4.18** se pueden apreciar mejor en la **Figura N° 4.7**

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA



FUENTE: elaboración propia.

FIGURA N° 4.7: comparación de la disminución de los niveles de MDA (expresado en nM./mL.) en función al tiempo de tratamiento.

Concluimos que los resultados mostrados en la **Tabla N° 4.18** y en la **Figura N° 4.7** presentó como valores numéricos para el día 1 basal el promedio de 2.83 nM/mL., disminuyendo así hasta el día 20 con un promedio de 2.31 nM/mL. y presentando mayor disminución para el día 40 teniendo como promedio 1.89 nM/mL. Lo cual nos indican que los niveles de MDA para los 4 grupos experimentales en conjunto, disminuyen progresivamente en función al tiempo de tratamiento.

ii. Los niveles de malondialdehido (MDA) disminuyen en función a la variable clase de tratamiento.

Un análisis más detallado en la **Tabla N° 4.20** cuando se hace un análisis de Tukey:

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.21: TUKEY

Día 1-20-40 de Tratamiento	Casos	Medias	LS Sigma	Grupos Homogeneos
Patrón: (Coenzima Q10 7 mg/kg)	15	2.00933	0.0818676	X
Experimental II: (L-Carnitina 69 mg/kg)	15	2.16267	0.0818676	XX
Experimental I: (L-Carnitina 34 mg/kg)	15	2.34733	0.0818676	X
Control: (Sin Tratamiento)	15	2.86933	0.0818676	X

FUENTE: Elaboración propia.

En la presente tabla, se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

Contraste entre tratamientos	Sig.	Diferencia	+/- Límites
control – L-C 34 mg/kg	*	0.522	0.370949
control – L-C 69 mg/kg	*	0.706667	0.370949
control – Q10 7 mg/kg	*	0.86	0.370949
L-C 34 mg/kg - L-C 69 mg/kg		0.184667	0.370949
L-C 34 mg/kg – Q10. 7 mg/kg	*	0.338	0.370949
L-C 69 mg/kg - Q10. 7 mg/kg		0.153333	0.370949

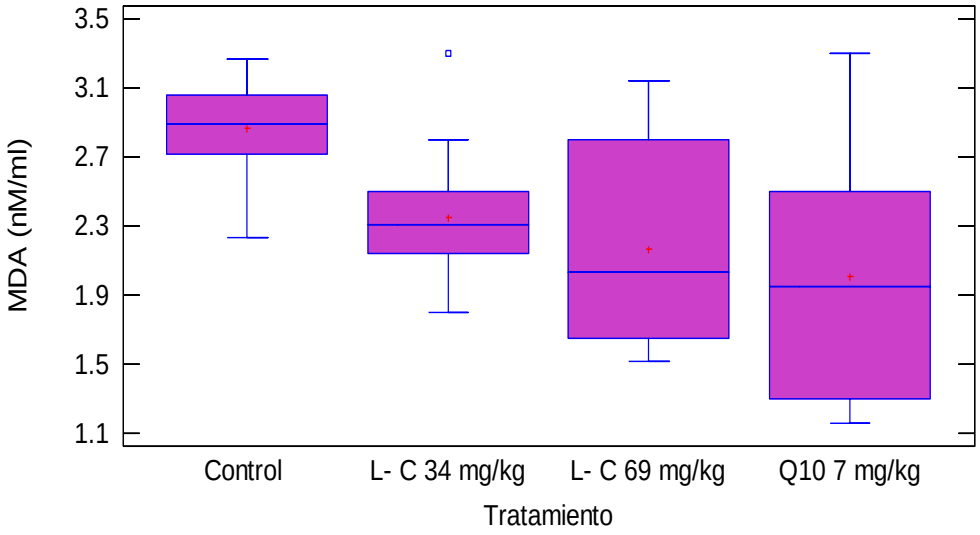
Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. El asterisco indica que solo cuatro pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.

Los resultados de la T**abla N° 4.20** se pueden apreciar mejor en la **Figura N° 4.8**

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA



FUENTE: elaboración propia.

FIGURA N° 4.8: comparación de la disminución de los niveles de MDA (expresado en nM/mL.) en función al tipo de tratamiento como efecto antioxidante.

Concluimos que los resultados mostrados en la **Tabla N° 4.21** y en la **Figura N° 4.8** indican que:

- El tratamiento con suero fisiológico al Grupo Control (S/T sin tratamiento) sus niveles de MDA se mostraron inalterables con respecto al tiempo por lo que decimos que el suero fisiológico no disminuyo los niveles de peroxidación lipídica (MDA) con respecto a la clase de tratamiento.

- Sin embargo cuando se administra el tratamiento con L-Carnitina a la dosis de 34 mg/kg al Grupo Experimental I los niveles de peroxidación lipídica (MDA) disminuyen con respecto al tiempo y clase de tratamiento

- Pero al hacer una comparación con el tratamiento de L-Carnitina a la dosis de 69 mg/kg al Grupo Experimental II nos indica que esta dosis presentó un modo de acción más adecuado demostrando así una mayor disminución de los niveles de peroxidación lipídica (MDA) asemejándose así a los niveles de peroxidación del Grupo Patrón que fue tratado con de Coenzima Q10.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- Concluimos que la Coenzima Q10 a dosis de 7 mg/kg presenta un mejor efecto antioxidante que L-Carnitina a la dosis 69 mg/kg, ya que ambas presentan semejanza en su modo de acción mas no son iguales.

4.5 DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA L-CARNITINA.

a) Preparación de la Gráfica Estándar de Ácido Ascórbico

Se prepararon soluciones de trabajo a diferentes concentraciones, a partir de una solución madre de Ácido Ascórbico (10µM), para dar distintos valores de absorbancia, los que pueden observarse en la **Tabla Nº 4.22** y en la **Figura N° 4.9** donde se obtuvo una valor de R^2=0.9939, valor muy cercano a la unidad, por lo tanto la ecuación obtenida es adecuada para servir de referencia al realizar los cálculos respectivos para determinar la capacidad antioxidante de las L- Carnitina.

TABLA N°4.22: Preparación de la curva de calibración para L- Carnitina, utilizando como estándar soluciones de ácido ascórbico a diferentes concentraciones.

Concentración Solución Ácido Ascórbico	Absorbancia
10µM	0.035
20µM	0.041
40µM	0.050
60µM	0.057
80µM	0.067

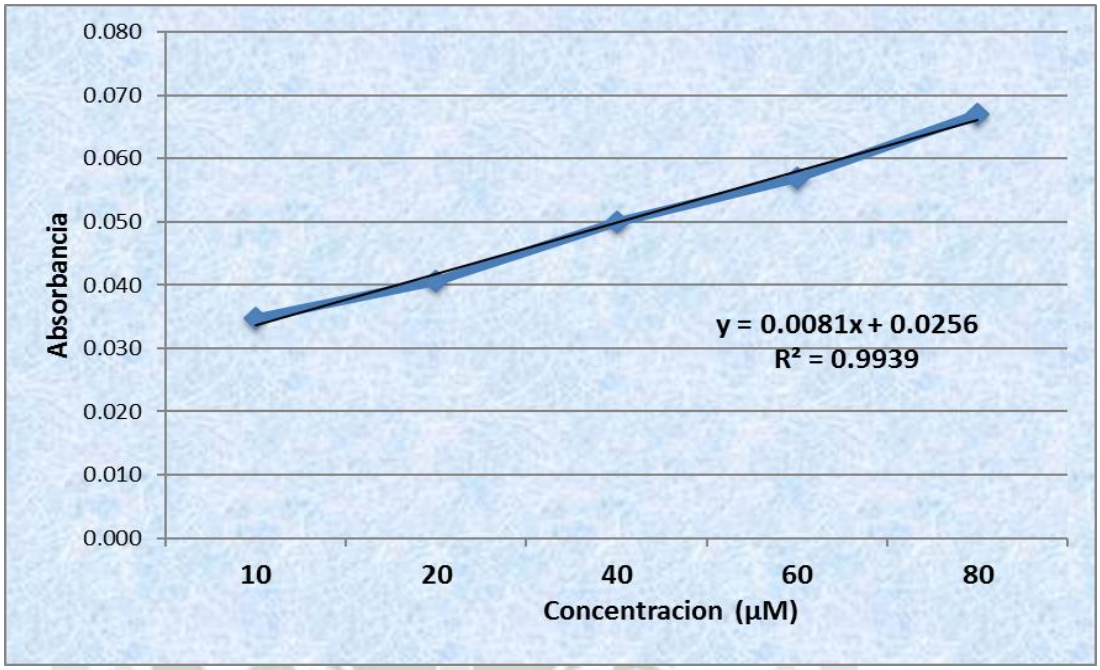
FUENTE: elaboración propia.

Se construye una curva de calibración de ácido ascórbico, con las respuestas ploteadas en el eje Y, y las concentraciones de ácido ascórbico en el eje X. Se calcula la ecuación de regresión lineal para la curva de calibración obtenida, que se presenta a continuación. (55)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA



FUENTE: Elaboración propia.

FIGURA N°4.9: Presentación de la curva de calibración para L- Carnitina, utilizando como estándar soluciones de ácido ascórbico a diferentes concentraciones.

A partir de la curva de calibración representada en la **Figura N° 4.8** se obtuvo la siguiente ecuación y el R^2:

$$y = 0.0081x + 0.0256$$

$$R^2 = 0.9939$$

Expresión de resultados:

Los resultados serán expresados como la Capacidad Antioxidante Equivalente de Ácido Ascórbico (AAEAC), que se reporta como µmol de ácido ascórbico por gramo de sustancia de L-Carnitina.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

La muestra de L-Carnitina fue diluida llegando a una concentración de 1.2 % p/v de la cual se extrajo 0.1 mL., posterior a ello fue tratada de la misma forma en que se realizó la curva de calibración de ácido ascórbico, finalmente se calculó la capacidad antioxidante mediante la siguiente fórmula

$$Capacidad\ Antioxidante = \frac{C \times Fd \times V}{P}$$

Dónde:

C = Concentración de la muestra obtenida con la ecuación anterior.

Fd = Factor de dilución.

P = Peso de la muestra.

V = Volumen.

A continuación se presentan la capacidad antioxidante calculada en la siguiente tabla:

Tabla N° 4.23: Capacidad Antioxidante de L-Carnitina expresada en (µmol Ácido Ascórbico/g muestra)

Muestra	Promedio
L- Carnitina	3470.51

FUENTE: Elaboración propia.

Se concluye que la capacidad antioxidante de la L-Carnitina es de 3470.51 µmol de Ácido Ascórbico/g de L- Carnitina.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPITULO V

CONCLUSIONES

1. Una dieta lipídica a base de seso de bovino y yema de huevo indujo altos niveles de hipercolesterolémia en animales de experimentación.

2. Después de 28 días de la inducción de hipercolesterolémia Se cuantifico los niveles de peroxidación lipídica a través de la determinación del marcador oxidativo de malondialdehido (MDA).

3. Se evaluó el efecto antioxidante de la L-Carnitina a dosis de 34 y 69 mg/kg de peso después de 20 y 40 días de iniciado el tratamiento, donde se determinó que a medida que pasa el tiempo los niveles MDA disminuyen de manera significativa ($p< 0.05$)

4. Se evaluó el efecto antioxidante de la Coenzima Q10 a dosis de 7 mg/kg de peso y se determinó que los niveles de MDA disminuyen de manera significativa ($p<0.05$) después de 20 y 40 días de tratamiento farmacológico.

5. Al combinar de manera simultánea las variables tiempo y clase de tratamiento se concluye que la dosis de 69 mg/kg de peso de L-Carnitina es adecuada para disminuir los niveles de MDA y que a esta concentración su capacidad antioxidante es similar a la acción de la Coenzima Q10.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPITULO VI

SUGERENCIAS

1. Realizar estudios para determinar la actividad antioxidante de L-Carnitina empleando otras técnicas y así poder hallar las dosis adecuadas para el tratamiento con L- Carnitina en seres humanos, así como la dosis toxica para su posible aplicación, realizando los ensayos necesarios de acorde con las leyes vigentes.

2. Incluir L-Carnitina en el consumo de la dieta diaria, ya que la incidencia de enfermedades de tipo degenerativo (cardiovasculares, diabetes, hipercolesterolémicas, cáncer, entre otras) ha aumentado considerablemente, por el incremento del estrés oxidativo.

3. Realizar paralelamente un estudio histopatológico del tejido hepático, para corroborar el grado de destrucción de este tejido por la hipercolesterolémia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

BIBLIOGRAFIA

1. Calabrese V, Giuffrida Stella AM, Calvani M, y Butterfield DA (2006). Acetylcarnitine and cellular stress response: roles in nutritional redox homeostasis and regulation of longevity genes. J.Nutr.Biochem. 17: 73-88.

2. Gramignano G, Lusso MR, Madeddu C, Massa E, Serpe R, Deiana L, Lamonica G, Dessi M, Spiga C, Astara G, Maccio A, y Mantovani G (2006). Efficacy of l-carnitine administration on fatigue, nutritional status, oxidative stress, and related quality of life in 12 advanced cancer patients undergoing anticancer therapy. Nutrition. 22: 136-14.

3. Bezaire V, Bruce CR, Heigenhauser GJ, Tandon NN, Glatz JF, Luiken JJ, Bonen A, y Spriet LL (2006). Identification of fatt y acid translocase on human skeletal muscle mitochondrial membranes: essential role in fatty acidoxidation. Am.J.Physiol Endocrinol.Metab. 290: E509-E515.

4. Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, y Greenhaff PL (2007).New insights concerning the role of carnitine in the regulation of fuel metabolism in skeletal muscle. J.Physiol. 581:431-44

5. Sener G. paskaloglu H, alican I, Kacmaz A, y Sakarcan A oxidative damage due to chronic.

6. Schreiber B (2005). Levocarnitine and dialysis: a review. Nutr.Clin.Pract. 20:218- 243.

7. Vaz FM y Wanders RJ (2002) Carnitina biosynthesis in mammals. Biochem J. 361:417-429.

8. Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, Laitwaite D, Simpson EJ, y Greenhaff PL (2006).An acute increase in skeletal muscle carnitine content alters fuel metabolism in resting human skeletal muscle. J clin. Endocrinol. metab. 91:5013-5018.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

9. Kerner J y Hoppel C (2000). Fatty acid import into mitochondria. Biochim.Biophys.Acta. 1486: 1-17.

10. Longo N, mat di San FC, y Pasquali M (2006). Disorders of carnitine transport and the carnitine cycle. Am.J.Med.Genet.C .Semin.Med.Genet. 142C: 77-85.

11. Suzuki Y, Kamikawa T, y Yamazaki N (1981). Effects of L-carnitine on ventricular arrhythmias in dogs with acute myocardial ischemia and a supplement of excess free fatty acids. Jpn.Circ.J.45: 552-559.

12. Tein I (2003). Carnitine transport: pathophysiology and metabolism of known molecular defects. J.Inherit.Metab Dis. 26: 147-169.

13. Kelly GS (1998). L-Carnitine: therapeutic applications of a conditionally-essential amino acid. Altern.Med.Rev. 3: 345-360

14. Roepstorff C, Halberg N, Hillig T, Saha AK, Ruderman NB, Wojtaszewski JF, Richter EA, y Kiens B (2005). Malonyl-CoA and carnitine in regulation of fat oxidation in human skeletal muscle during exercise. Am.J.Physiol Endocrinol.Metab. 288: E133-E142

15. Fraser F y Zammit VA (1999). Submitochondrial and subcellular distributions of the carnitine-acylcarnitine carrier. FEBS Lett. 445: 41-44

16. Calo LA, Pagnin E, Davis PA, Semplicini A, Nicolai R, Calvani M, y Pessina AC (2006). Antioxidant effect of L-carnitine and its short chain esters:relevance for the protection from oxidative stress related cardiovascular damage. Int.J.Cardiol. 107: 54-60

17. Kart A, Yapark K, Karapehlivan M, y Citil (2007).The possible protective effect of L-carnitine on Tilmicosin incluced-cardiotoxicity in mice. J.Vet. Med.A Phiol Pathol. Clin. Med. 54:144-146

18. Ilias I, Manoli I, Blackman MR, Gold PW, y Alesci S (2004). L-Carnitine and acetyl-L-carnitine in the treatment of complications associated with HIV infection and antiretroviral therapy. Mitochondrion. 4: 163-168

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

19. Kobayashi A y Fujisawa S (1994). Effect of L-carnitine on mitochondrial acyl CoA esters in the ischemic dog heart. J.Mol.Cell Cardiol. 26: 499-508.

20. Thangasamy T, Jeyakumar P, Sittadjody S, Joyee AG, y Chinnakannu P(2008). L: -Carnitine mediates protection against DNA damage in lymphocytes of aged rats. Biogerontology.

21. Tanphaichitr V y Broquist HP (1973). Role of lysine and -N-trimethyllysine in carnitine biosynthesis. II. Studies in the rat.J.Biol.Chem. 248: 2176-2181.

22. Scaglia F, Wang Y, Singh RH, Dembure PP, Pasquali M, Fernhoff PM, y Longo N (1998). Defective urinary carnitine transport in heterozygotes for primary carnitine deficiency. Genet.Med. 1: 34-39.

23. Stevens Neil. Coenzima Q10. Malaga: Sirio; 1998.

24. Ledezma-Gairaud, M., 2005, "Validación del método: determinación de vitamina C total por cromatografía líquida de alta resolución HPLC", (Octubre, 2010).

25. García, L., García, V., Rojo, D. y Sánchez, E., 2001, "Plantas con propiedades antioxidantes", (Septiembre, 2010).

26. González, M., Betancourt, M. y Ortiz, R., 2000, "Daño Oxidativo y Antioxidantes", (Septiembre, 2010).

27. Serra, H. y Cafaro, T., 2007, "Ácido ascórbico: desde la química hasta su crucial función protectiva en ojo", (Noviembre, 2010).

28. Oro, J. y Donnamaría, M., 2006, "Acción Farmacológica, Biofisicoquímica y Estructura Dinámica de la Vitamina C", (Agosto, 2012).

29. Nieto Bobadilla, María Susana: "Validación de una Técnica Analítica por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) para Cuantificar Cinamaldehído en Aceite Esencial obtenido de la Corteza del Cinnamomum spp "Canela" y Comparación de su Capacidad Antioxidante". Tesis de

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Bachiller en Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas de la UCSM. Arequipa 2011.

30. Vademecum medico international (edicion 49, 2008)

31. Bagchi K, y Puri S.free radical y antioxidants in health desease. Eastern Mediterranean health journal. Volume 4, isuue 2, page 350-360. 1998.

32. Halliwell B. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology is a fundamental theme of aerobic life. Update on Reactive Species and Antioxidants, Plant Physiology, june, vol. 141, pp. 312-322 2006.

33. Venereo Gutirrez J. Daño oxidativo, Radicales Libres y Antioxidantes. Instituto superior de Medicina Militar "Dr Luis Diaz Soto". Rev. 31(2):126-3. Cuba. 2002.

34. Young I. y Woodside J. Antioxidants in health and disease. J. Clin. Pathol. Vol 54:176-186.2001.

35. Zea Linares, Andrea: "Determinación de la Capacidad Antioxidante de las Oleorresinas y Extractos Alcohólicos de Curcuma longa L. (Palillo) y Rosmarinus officinalis (Romero)". Tesis de Bachiller en Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas de la UCSM. Arequipa 2013.

36. Fernández-Pachón MS, Villaño D, García-Parrilla MC, Troncoso AM. "Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition" Analytica Chimica Acta, 513 (2004) 113-18

37. McDonal-Wick L. Wood L. y Garg M. Review metodology for determination of biological antioxidants capacity invitro: a review: J Sci Food Agric 86:2046-2056.2006.

38. Frankel EN, Meyer AS. "Review. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants" Journal of the Science of Food and Agriculture, 80 (2000) 1925-41

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

39. Prior RL, Wu X, Schaich K "Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements" Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 10 (2005) 4290-4302.

40. Mantle D Et al "Comparison of methods for determination of total antioxidant status: application to analysis of medicinal plant essential oils" Comparative Biochemistry and Phisiology, Part B, 121 (1998) 385-91

41. Yu TW & Ong CN. "Lag-time measurement of antioxidant capacity using myoglobin and 2, 2-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid): rationale, application and limitation". Analytical Biochemistry, 275 (1999) 217-23

42. Sánchez-Moreno C. "Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems" Food Science and Technology International, 8, 3 (2002) 121-39

43. Aruoma OI. "Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods" Mutation research, 523-24 (2003) 9-20.

44. Ramos Llica B., Castañeda B. y Ibañez Vasquez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de las plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. Rev. Acad Peru Salud 15 (1). 2008.

45. Fagali, Natalia Soledad: "Peroxidación de diferentes Especies Lipídicas: Efecto de Antioxidantes". Tesis doctoral de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata. La Plata, 2011.

46. Schemedes A, Holmer G. A new TBA, method for determining free MDA and hydroperoxide selectively as a measure of lipid peroxidation JAOCS 1987; 66: 813-7.

47. Cortez Rico Olga, 2005,"Hipercolesterolémia prevención y actualización del diagnóstico, tratamiento y seguimiento en atención primaria" En: AEPap ed.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Curso de Actualización Pediatría 2005. Madrid: Exlibris Ediciones; 2005. p. 49-65.

48. Allain C, Poon LS, Chang CSG, Richmond W and Fu PC. Encymatic determination of total serum cholesterol. Clin Chem 1974; 20: 470-475.

49. Amat di San FC, Pasquali M, y Longo N (2006). Pharmacological rescue of carnitine transport in primary carnitine deficiency Hum.Mutat. 27: 513-523.

50. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. Karl-Heinz Diehl, Robin Hull, David Morton, Rudolf Pfister, Yvon Rabemampianina, David Smith, Jean-Marc Vidal, Cor Van De Vorstenbosch . J Appl Toxicol 21 15-23, 2001.

51. ChePiu Carpio Giovanna Milagros y Herrera Herrera Maria Del Rosario. "Efecto del extracto etanólico de Zea mayz L. "Maíz" Variedad morado a diferentes concentraciones sobre la capacidad antioxidante del suero de ratas. Arequipa 2008"

52. Pauccara Hilario, Tania Verónica: "Evaluación Del Efecto Hipolipemiante De Los Extractos De Las Semillas De Salvia Hispánica L. (Chía) Administrado En Animales De Experimentación Y Determinación De La Capacidad Antioxidante In Vitro". Tesis De Bachiller En Farmacia Y Bioquímica. Facultad De Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas Y Biotecnológicas De La UCSM. Arequipa 2014

53. Merma Polanco, María Luisa y Velásquez Cotrado, Danitza. "Efecto Del Extracto Etanólico De Zea Mayz L. Maíz Variedad Morado A Diferentes Concentraciones Sobre La Capacidad Antioxidante Del Suero De Ratas" Tesis De Bachiller En Farmacia Y Bioquímica. Facultad De Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas Y Biotecnológicas De La UCSM. AREQUIPA 2008.

54. Tito Parque, Mireya: "Valoración del Efecto Antioxidante del Aceite de Sacha Inchi (Plukenetia volubilis L.) en plasma y tejido vascular de ratas hiperglicémicas experimentalmente". Tesis de Bachiller en Farmacia y

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Bioquímica. Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas de la UCSM. Arequipa 2011.

55. Ramos Mamani Eddy Fernando "Determinación del efecto de los extractos de *capsicum annuum l.* "pimiento rojo" sobre la capacidad antioxidante total del suero de ratas con diabetes experimental", tesis de bachiller en farmacia y bioquímica. facultad de ciencias farmacéuticas, bioquímicas y biotecnológicas de la UCSM. Arequipa 2014"

56. Kubilay Guglu; Mehmet Altun; Mustafa Ozyurek; Saliha E. Karademir; Resat Apak: "Antioxidant Capacity Of Fresh, Sun – And Sulphited - Dried Malatya Apricot (Prunus Armeniaca) Assayed By Cuprac, Abts /Teac And Folin Methods".

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis