

Efecto del zumo del fruto *Solanum quitoense* (lulo) sobre el daño cerebral y cognitivo inducido por cloruro de mercurio en ratones

Effect of *Solanum quitoense* (lulo) fruit juice on brain and cognitive damage induced by mercury chloride in mice

Olenka Isabel PUELLES SAMANIEGO^{1,2}, Oscar Gustavo HUAMÁN GUTIERREZ¹, José Manuel HUAMÁN GUTIÉRREZ³

1 Instituto de Investigación de Bioquímica y Nutrición – Facultad de Medicina – Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

2 Escuela Profesional de Nutrición – Facultad de Medicina – Universidad Nacional Mayor de San Marcos

3 Departamento de Estadística – Facultad de Ciencias Matemáticas – Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima, Perú.

Recibido: 7/noviembre/2023. Aceptado: 27/noviembre/2023.

RESUMEN

Introducción: Las enfermedades neurodegenerativas han ido en aumento durante las últimas décadas, siendo la demencia la principal patología con mayor repercusión a nivel global.

Objetivo: Evaluar el efecto neuroprotector del zumo del fruto *Solanum quitoense* (lulo) frente a la toxicidad del cloruro de mercurio (II) en los ratones.

Materiales y métodos: Diseño experimental, con grupo control y posprueba. Se empleó 42 ratones machos. Para inducir a la toxicidad se empleó una solución de HgCl₂ (10 mg/kg), vía orogástrica, por un periodo de siete días. Durante ese periodo recibieron los siguientes tratamientos: grupos I y II suero fisiológico; grupos III vitamina E (40UI/kg); grupo IV-V-VI zumo de lulo, 0,5; 2,0 y 8,0 mL/kg, respectivamente. Terminado el tratamiento los animales fueron sacrificados por decapitación, el cerebro y cerebelo fueron extraído de la cavidad craneana. El hemisferio izquierdo fue homogenizado para la determinación de la lipoperoxidación, glutatión (reducido y total), actividad de superóxido dismutasa y catalasa. El hemisferio derecho y cerebelo fueron conservados, para la evaluación histológica. Se evaluó la función cognitiva (aprendizaje y memoria), según protocolo de Deacon y Rawlis.

Resultados: La administración del zumo de lulo disminuyeron los índices de cerebro en los grupos V-VI. La lipoperoxidación disminuyó (grupos IV-VI), la relación GSH/GSSG aumentaron (grupos V-VI). La actividad de la catalasa aumentó (grupos IV-VI). La relación SOD/CAT disminuyeron (grupos IV-VI). El tiempo de latencia y número de intentos fueron menores en los grupos IV-VI.

Conclusiones: La administración del zumo del fruto *Solanum quitoense* presenta efecto neuroprotector para el modelo estudiado.

PALABRAS CLAVE

Neuroprotección, *Solanum quitoense*, cloruro de mercurio, función cognitiva, alimento funcional (Fuente: DeCS BIREME).

ABSTRACT

Introduction: Neurodegenerative diseases have been increasing in recent decades, with dementia being the main pathology with the greatest impact globally.

Objective: To evaluate the neuroprotective effect of *Solanum quitoense* (lulo) fruit juice against the toxicity of mercury (II) chloride in mice.

Materials and methods: Experimental design, with control group and post-test. 42 male mice were used. To induce toxicity, a solution of HgCl₂ (10 mg/kg) was used via the orogastric route for a period of seven days. During this period, they received the following treatments: groups I and

Correspondencia:
Olenka Isabel Puelles Samaniego
nutricionistaolenkapuelles@gmail.com

II physiological saline; groups III vitamin E (40IU/kg); group IV-V-VI lulo juice, 0.5; 2.0 and 8.0 mL/kg, respectively. Once the treatment was completed, the animals were sacrificed by decapitation, the brain and cerebellum were removed from the cranial cavity. The left hemisphere was homogenized for the determination of lipoperoxidation, glutathione (reduced and total), superoxide dismutase and catalase activity. The right hemisphere and cerebellum were preserved for histological evaluation. Cognitive function (learning and memory) was evaluated according to the Deacon and Rawlis protocol.

Results: The administration of lulo juice decreased brain indices in groups V-VI. Lipoperoxidation decreased (groups IV-VI), the GSH/GSSG ratio increased (groups V-VI). Catalase activity increased (groups IV-VI). The SOD/CAT ratio decreased (groups IV-VI). The latency time and number of attempts were lower in groups IV-VI.

Conclusions: The administration of *Solanum quitoense* fruit juice has a neuroprotective effect for the model studied.

KEYWORDS

Neuroprotection, *Solanum quitoense*, mercuric chloride, cognitive function, functional food (source: MeSH NLM).

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades neurodegenerativas han ido en aumento durante las últimas décadas, convirtiendo a la enfermedad de Alzheimer (EA) en una de las principales causas de morbimortalidad en adultos mayores¹. En el Perú, el Ministerio de Salud (setiembre del 2019), reportó que más de 200 mil habitantes mayores de 60 años padecen de EA².

Una de las causas más importantes de la EA es el estrés oxidativo, el cual es un desbalance entre los niveles de radicales libres (RL) y los antioxidantes en el organismo. Las sustancias como H₂O₂ o trióxido dinitrógeno forman grupos de especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS) respectivamente, las cuales conducen a la neurodegeneración³. Los ácidos grasos poliinsaturados de la membrana celular son muy susceptibles al ataque de RL⁴, en este proceso se forman el malondialdehído y el 4-hidroxi-2-trans-nonenal (4HNE).

Frente a estos ataques el organismo desarrolla un sistema de defensa, conformado por mecanismos enzimáticos y no enzimáticos, los cuales actúan conjuntamente para proteger a la célula. La primera línea de defensa la conforma el componente de tipo enzimático dentro de los cuales se encuentra el superóxido dismutasa, la catalasa, y los antioxidantes de tipo no enzimático como la vitamina C, el glutatión y polifenoles (flavonoides)⁵. Uno de estos mecanismos es la acción glutatión (GSH) que se conjuga con el 4HNE, dicha reacción es catalizada por la enzima glutatión-S-transferasa, seguida

por la acción de la proteína 1, la cual remueve el complejo GSH-4HNE de la célula⁶.

La alimentación, las actividades que estimulen la cognición y la actividad física, juegan un rol importante para reducir el riesgo de padecer EA. Por ello, una dieta abundante en antioxidantes, complejo B, polifenoles, ácidos grasos poliinsaturados y monoinsaturados es beneficiosa contra el desarrollo de la EA⁷.

El lulo o naranjilla (*solanum quitoense*) es una fruta climática, originaria de la región interandina, particularmente de Perú, Colombia y Ecuador⁸, es una fuente importante de vitaminas C, B1, B2 y algunos carotenoides precursores de la vitamina A, dentro de los cuales se encuentran el β-caroteno, la luteína y zeaxantina, a estos compuestos se le atribuyen beneficios para la salud, como el tratamiento y prevención de enfermedades cardiovasculares, oftalmológicas y diversas formas de cáncer⁹. Este fruto presenta un alto contenido de compuestos fenólicos, que se caracterizan por su actividad antimutagénica, anticarcinógena, antimicrobiana y antioxidante, dentro de los compuestos fenólicos de mayor proporción se encuentran el ácido clorogénico y ácido gálico; también posee flavonoides, siendo predominante el ácido dicafeonilquinona¹⁰.

En consecuencia, el presente estudio tuvo por objetivo evaluar el efecto neuroprotector del zumo del fruto *Solanum quitoense* (lulo) frente al daño inducido por cloruro de mercurio (II) en ratones.

MÉTODOS

El diseño del estudio fue de tipo experimental puro, con un grupo control y posprueba.

Recolección y obtención del zumo de lulo: Las muestras de *Solanum quitoense* "lulo" fueron recolectadas en el distrito de Oxapampa, de la región de Pasco. Un ejemplar del fruto fue clasificado taxonómicamente por el Museo de Historia Natural de la UNMSM (Registro 27-UNMSM-2018).

Se obtuvo el zumo mediante un extractor casero (Oster®), el cual fue almacenado en un recipiente color ámbar, aislado de luz natural o artificial. El procedimiento se realizó todos los días durante el tratamiento.

Evaluación del efecto neuroprotector: Los ratones albinos BALB/c (*Mus musculus*) fueron adquiridos del Centro Nacional de Productos Biológicos del Instituto Nacional de Salud (CNPB/INS), los cuales tuvieron un periodo de aclimatación de siete días en jaulas provistas de rejillas metálicas, en un ambiente controlado de temperatura a 20°C, con ciclos alternados de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Recibieron alimentación balanceada y agua *ad libitum* (Cielo®).

Para la inducción a la neurotoxicidad se empleó la técnica de Glaser V. y cols., 2010¹¹. El cloruro de mercurio (II) (HgCl₂),

fue administrado a la dosis de 10 mg/kg de peso corporal, vía orogástrica, en una matriz coloidal de almidón al 1%.

Los animales fueron distribuidos de forma aleatoria en seis grupos ($n=7$), recibiendo los siguientes tratamientos por vía orogástrica durante siete días: Grupo I, suero fisiológico a 10 mL/kg de peso. Grupo II, Suero fisiológico a 10 mL/kg de peso. Grupo III, Vitamina E 40 UI/kg. Grupo IV, 0,5 mL/kg de *Solanum quitoense* "lulo". Grupo V, 2 mL/kg de *Solanum quitoense* "lulo". Grupo VI, 8 mL/kg de *Solanum quitoense* "lulo". Los grupos II al VI se le administró 10 mg/kg de $HgCl_2$ una hora después de administrado el tratamiento. Terminado el tratamiento y tras 10 horas de ayuno, los animales fueron sacrificados por decapitación inmediata, para posteriormente extraer el cerebro y cerebelo, los cuales fueron lavados en cloruro de sodio 0,9% y pesado en balanza analítica (SARTORIUS®).

Posteriormente, los hemisferios y el cerebelo fueron separados, el hemisferio izquierdo se conservó a 4°C para el homogenizado, este se realizó con buffer fosfato pH 7,4 a 0,01 mol/L, en una proporción de 1/10, luego fue centrifugado para obtener el sobrenadante del homogenizado (SNH). Por otro lado, el hemisferio derecho y el cerebelo fueron conservados en solución de formol al 10% en buffer fosfato 0,075 mol/L a pH 7,4 para el análisis histológico. En el estudio se empleó reactivo de la marca comercial Sigma-Aldrich.

Determinación de la Lipoperoxidación: Se utilizó el método de Buege y Aust (1978) modificado por Suarez (1995)¹².

Obtención de sobrenadante del desproteínizado (SNDP): se tomó 950 μ L del SNH y se adicionó 50 μ L de ácido tricloroacético 100%, se agitó y se dejó reposar por 10 minutos en frío, luego fue centrifugado a 13000 rpm por 5 minutos a 5°C, para obtener el sobrenadante del desproteínizado (SND).

Determinación de Glutación (GSH) y glutación total: Se utilizó el método de Boyne y Ellman¹³.

Determinación de Glutación total (GSH total) (método de Boyne y Ellman)¹³: Se siguió el mismo protocolo para GSH, pero por cada 10 mL de buffer TRIS pH 8,9 a 0,4 mol/L contenía 5 mg de ácido glioxílico (Sigma-Aldrich) y 10 mg de vitamina C (Sigma-Aldrich).

Determinación de Superóxido dismutasa (SOD): Se empleó el método según Marklund y Marklund (1974)¹⁴.

Determinación de Catalasa (CAT): Se realizó según el método de Aebi¹⁵.

Índice de cerebro e índice de cerebelo: los índices fueron obtenidos mediante una proporción porcentual entre el órgano (cerebro o cerebelo) y el peso corporal.

Evaluación de la función cognitiva: Para la evaluación de la prueba cognitiva se empleó el laberinto en T según el

protocolo de Deacon R y Rawlis N¹⁶, el cual se realizó durante siete días en dos fases, paralelo al método de inducción a neurotoxicidad. Primera fase: período de adaptación (4 días), se bloqueó el brazo izquierdo con la puerta deslizante, mientras que el brazo derecho (brazo meta) se dejó libre y con recompensa (comida balanceada). Posteriormente se colocó al roedor en el punto de inicio para que este recorra el laberinto, para luego ser retirado con sumo cuidado. Segunda fase: período de prueba (3 días). En esta fase se dejaron libres ambos brazos y no se dejó recompensa. Se colocó al roedor en el punto de inicio, dejando que este recorra el laberinto, se tomaron anotaciones del tiempo en que el animal de experimentación tardó en llegar al brazo meta, el número de intentos que le tomó llegar al brazo meta y el tiempo en que permaneció en dicho brazo, posterior a ello fue retirado del laberinto y colocado en su jaula.

Evaluación histológica: Las muestras fueron fijadas en parafina y teñidas con hematoxilina eosina por un profesional tecnólogo médico de laboratorio clínico. Los cortes histológicos de tejido de nervioso (cerebro y cerebelo) fueron leídos por un Médico Anatómo Patólogo.

Análisis de datos: Los datos obtenidos del estudio experimental fueron procesados mediante el programa estadístico SPSS versión 24.0. Para conocer la distribución de los datos, se realizó la prueba de normalidad de Shapiro Wilk. Para los ensayos que presentaron una distribución normal se aplicó la prueba de ANOVA, para la homogeneidad de las varianzas se aplicó la prueba de Levene, con el análisis post-hoc Tukey. Para los datos que no presentaron distribución normal se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis con el análisis post-hoc U de Mann Whitney, por la vía de corrección de Bonferroni.

Aspectos éticos: El presente trabajo fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Escuela Profesional de Nutrición (RD-0314-D-FM-2019). El presente estudio consideró Ley Peruana N°30407 de la protección y bienestar animal¹⁶.

RESULTADOS

Niveles de lipoperoxidación en el tejido cerebral: grupo II se observó un mayor nivel de lipoperoxidación frente al grupo I ($p<0,01$). El grupo III presentó niveles similares al grupo II. Los grupos IV, V y VI, presentaron niveles de inhibición (49,2%, 45,0% y 52,5% respectivamente) respecto al grupo II, con diferencias ($p<0,01$).

Niveles de superóxido dismutasa y catalasa en tejido cerebral:

Se observó un mayor nivel de SOD en el grupo III (Vitamina E) en comparación al grupo II, siendo no significativa. En cuanto a la enzima Catalasa, se evidenció que el grupo I tuvo un incremento de dicha enzima en comparación con el grupo II, de manera significativa ($p<0,05$). En los gru-

Tabla 1. Niveles de lipoperoxidación, actividad de la superóxido dismutasa y catalasa en homogenizado de tejido según grupos

GRUPOS: Tratamiento	Lipoperoxidación* (nmol/g)	SOD* (U/mg)	CAT** (U/mg)	SOD/CAT*
Grupo I: S.F. + agua	89 (26,4) ^(a)	6,03 (0,44)	0,87 ± 0,08 ^(a)	6,63 (0,98) ^(b)
Grupo II: S.F. + HgCl ₂	177 (3,6)	6,79 (0,84)	0,49 ± 0,08	12,79 (5,20)
Grupo III: vitamina E + HgCl ₂	175 (13,5)	7,27 (0,95)	0,47 ± 0,08	15,05 (4,96)
Grupo IV: lulo 0,5 mL/kg + HgCl ₂	90 (14,4) ^(a)	6,33 (0,54)	1,01 ± 0,13 ^(b)	6,26 (1,49) ^(b)
Grupo V: lulo 2,0 mL/kg + HgCl ₂	97 (15,2) ^(a)	5,78 (0,30)	0,74 ± 0,10 ^(b)	8,44 (1,50) ^(b)
Grupo VI: lulo 8,0 mL/kg + HgCl ₂	84 (9,5) ^(a)	6,01 (0,34)	0,90 ± 0,18 ^(b)	6,46 (3,48) ^(b)

*Prueba Shapiro Wilk $p < 0,05$. Prueba KRUSKALL WALLIS. Mediana (RIQ).

** Prueba Shapiro Wilk $p > 0,05$. Prueba ANOVA. Media ± DE.

(a) $p < 0,01$ comparado con el grupo II.

(b) $p < 0,05$ comparado con el grupo II.

SOD: superóxido dismutasa. CAT: catalasa. RIQ: rango intercuartílico. S.F.: suero fisiológico.

pos IV, V y VI se observó un incremento marcado de los niveles de catalasa, presentando porcentajes de 106,1%, 51,0% y 83,7% respectivamente, con diferencia significativa ($p < 0,05$) en comparación con el grupo II.

En la relación SOD/CAT se apreció una disminución a nivel del grupo I comparado con el grupo II de manera significativa ($p < 0,05$). Para los grupos IV (0,5 mL/kg), V (2 mL/kg) y VI (8 mL/kg) se observó una marcada disminución en comparación al grupo II con diferencia significativa ($p < 0,05$).

Perfil de GSH en tejido cerebral: Se evidenció un mayor nivel de GSH para los grupos V (2 mL/kg) y VI (8 mL/kg) en comparación al grupo II sin llegar a ser significativo. En cuanto a la relación de GSH/GSSG se evidenció un incremento para los grupos V (2 mL/kg) y VI (8 mL/kg),

presentando porcentajes de inhibición de 111,03% y 95,3% respectivamente, con diferencias ($p < 0,01$) en comparación al grupo II.

Índice de cerebro y cerebelo: den el grupo II se produjo un mayor nivel de índice de cerebro y cerebelo comparado al grupo I. El grupo III (Vitamina E + HgCl₂) presentó un menor nivel de índice de cerebro frente al grupo II, sin embargo, el índice de cerebelo no mostró diferencia respecto al grupo II.

Inducido el daño con cloruro de mercurio en los grupos IV, V y VI, se observó un menor nivel de índice de cerebro. En cuanto al nivel de índice de cerebelo se observó una disminución en comparación con el grupo II, sin llegar a ser significativa en ninguno de los casos.

Tabla 2. Niveles de perfil de GSH en homogenizado de tejido cerebral según grupos

GRUPOS: Tratamiento	GSH* mmol/g	GSH Total* mmol/g	GSH/GSSG** mmol/g
Grupo I: S.F. + agua	2,2 ± 0,5	9,9 ± 2,4 ^(a)	0,29 (0,15) ^(b)
Grupo II: S.F. + HgCl ₂	2,0 ± 0,4	15,2 ± 2,2	0,15 (0,04)
Grupo III: vitamina E + HgCl ₂	2,1 ± 0,3	8,9 ± 1,1 ^(b)	0,28 (0,10) ^(b)
Grupo IV: lulo 0,5 mL/kg + HgCl ₂	1,6 ± 0,4	11,1 ± 3,3	0,17 (0,04)
Grupo V: lulo 2,0 mL/kg + HgCl ₂	2,8 ± 0,7 ^(a)	12,7 ± 4,2	0,32 (0,24) ^(b)
Grupo VI: lulo 8,0 mL/kg + HgCl ₂	2,7 ± 0,4	12,6 ± 1,9	0,29 (0,15) ^(b)

* Prueba Shapiro Wilk $p > 0,05$. Prueba ANOVA. MEDIA ± DE.

**Prueba Shapiro Wilk $p < 0,05$. Prueba KRUSKALL WALLIS. MEDIANA (RIQ).

(a) $p < 0,05$ comprado con el grupo II.

(b) $p < 0,01$ comprado con el grupo II.

S.F.: suero fisiológico. RIQ: rango intercuartílico.

Tabla 3. Niveles de índice de cerebro e índice de cerebelo según grupos

GRUPOS: Tratamiento	Índice de cerebro** (%)	Índice de cerebelo** (%)
Grupo I: S.F. + agua	0,85 ± 0,02 ^(a)	0,17 ± 0,01
Grupo II: S.F. + HgCl ₂	0,94 ± 0,09	0,19 ± 0,01
Grupo III: vitamina E + HgCl ₂	0,86 ± 0,07	0,19 ± 0,02
Grupo IV: lulo 0,5 mL/kg + HgCl ₂	0,89 ± 0,03	0,17 ± 0,02
Grupo V: lulo 2,0 mL/kg + HgCl ₂	0,85 ± 0,03 ^(a)	0,18 ± 0,02
Grupo VI: lulo 8,0 mL/kg + HgCl ₂	0,83 ± 0,05 ^(b)	0,18 ± 0,01

* Prueba Shapiro-Wilk $p < 0,05$. Prueba ANOVA. Media \pm DE.

(a) $p < 0,5$ comparado con el grupo II.

(b) $p < 0,01$ comparado con el grupo II.

S.F.: suero fisiológico.

Descripción histológica del tejido neuronal: El estudio a nivel histológico de los tejidos del cerebro y cerebelo de los ratones con daño cerebral identificó la presencia de:

Grupo I: a nivel de **cerebro** se observó espacio subaracnoideo y vasos sanguíneos bien conservados, capa cortical sin alteración. Las neuronas con citoplasma bien distribuido, cromatina fina y nucleolo presente. En el **cerebelo** la capa molecular con abundantes células y bien distribuidas, el neurópilo presentó leve edema. Las células de Purkinje presentaron membrana citoplasmática y capa granular bien distribuida.

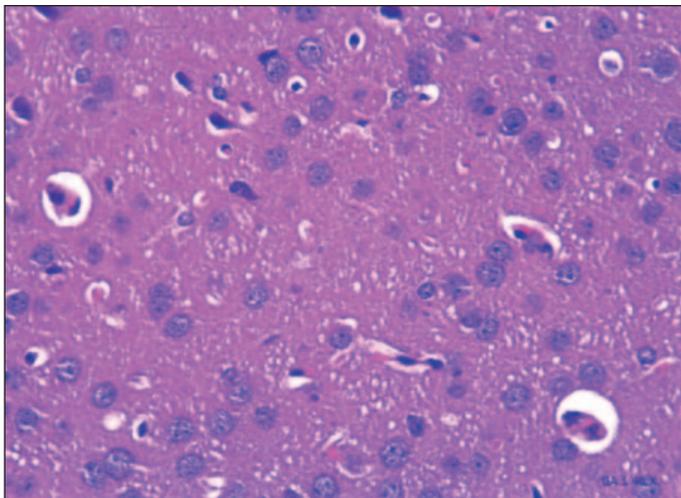
Grupo II: En el **cerebro** el espacio subaracnoideo se visualizó células polimorfonucleares y linfocitos perivasculares. En la capa cortical se apreció el neurópilo, con ligera edema a nivel granular. La neurona presentó halo a su alrededor y eosinofilia a nivel citoplasmático. Las células piramidales o células de Betz presentaron ligero edema en el citoplasma. En la capa medular se observó edema a nivel del neurópilo; se apreció ligera congestión a nivel de los vasos sanguíneos. En **cerebelo** la capa molecular las células presentaron citoplasma con eosinofilia e hiperromatismo. El neurópilo presentó hematías atrapados con degeneración en la membrana citoplasmática. En la capa de células de Purkinje se apreció edema con refuerzo de membrana citoplasmática y leve eosinofilia, también se evidenció citólisis, en la capa granular presentó algunas células con hiperromatismo y el componente vascular manifestó congestión

Grupo III: En el **cerebro** se apreció un espacio subaracnoideo con vasos sanguíneos ligeramente congestivos e infiltración de linfocitos. En la capa cortical se apreció el neurópilo disminuido a nivel perineuronal; en la neurona se apreció leve halo pericitoplasmático y algunas con eosinofilia. Las células piramidales se encontraron agrupadas con

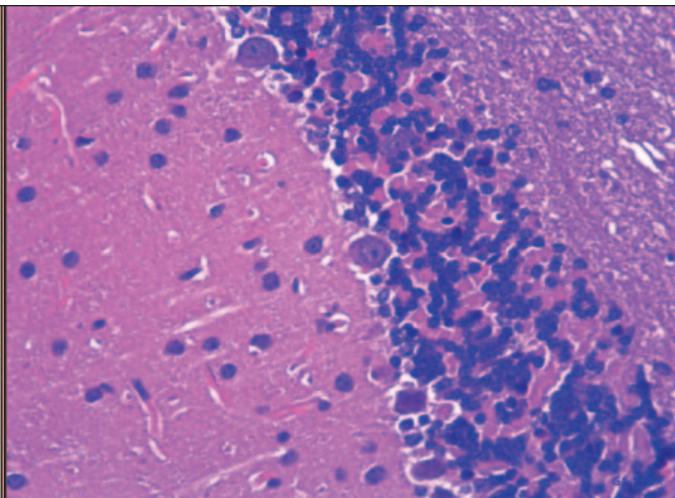
células gliales, hiperromáticas con edema. En la capa medular algunas células presentaron edema; su componente vascular se encontró sin alteración. A nivel del **cerebelo** se apreció la capa molecular con leve edema citoplasmático en las neuronas. El neurópilo presentó buena distribución. La capa de células de Purkinje se apreció eosinofilia citoplasmática con edema, mientras la capa granular se encontró bien distribuida y conservada. El componente vascular presentó ligera congestión.

Grupo IV: a nivel del **cerebro** el espacio subaracnoideo presentó vasos sanguíneos congestivos y algunos pletóricos, con infiltrado de linfocitos y plasmocitos. En la capa cortical se encontró el neurópilo sin alteraciones; algunas neuronas presentaron edema severo y marcada eosinofilia bien distribuida, las células piramidales fueron escasas y bien distribuidas. En la capa medular se encontraron células con eosinofilia bien marcada; su componente vascular se encontró bien distribuido y sin alteraciones. A nivel del **cerebelo** la capa molecular presentó leve edema en las neuronas, el neurópilo se encontró sin alteraciones. La capa de células de Purkinje se apreció una marcada eosinofilia intracitoplasmática con edema y desaparición del núcleo; en la capa granular se encontró multicelularidad bien distribuida y el componente vascular presentó congestión a nivel intraparenquimal.

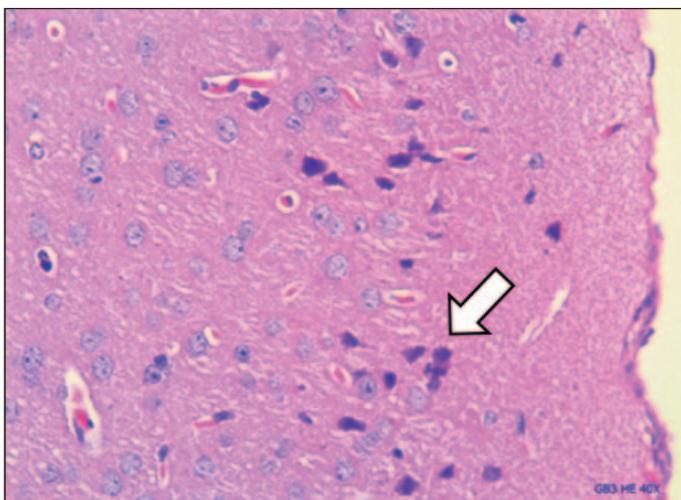
Grupo V: En el **cerebro** el espacio subaracnoideo presentó escasas células polimorfonucleares y linfocitos a nivel perivascular. La capa cortical se apreció el neurópilo con leve edema y focos de necrosis, con escasas neuronas. Las células piramidales estaban agrupadas con células gliales alrededor de los focos necróticos. En la capa medular se observó escasa celularidad neuronal y glial; el componente vascular se encontró levemente congestivo a predominio del espacio subaracnoideo. En el **cerebelo** se aprecia la capa molecular con algunas células que tenían leve eosino-



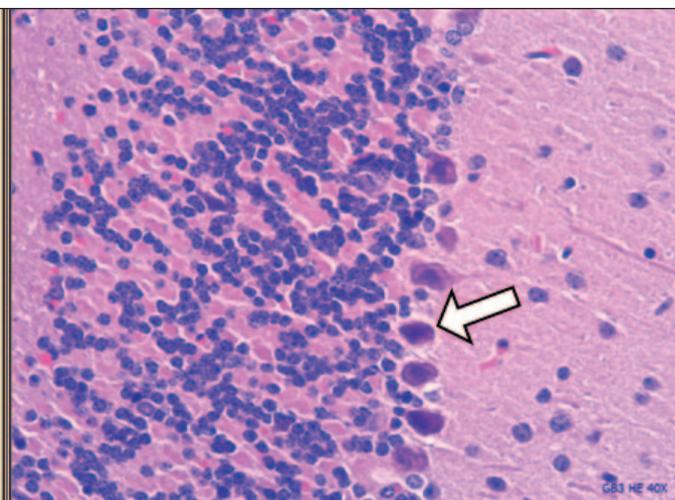
Microfotografía 1. Grupo I; cerebro: se observa la corteza del cerebro sin alteración morfológica. (40X)



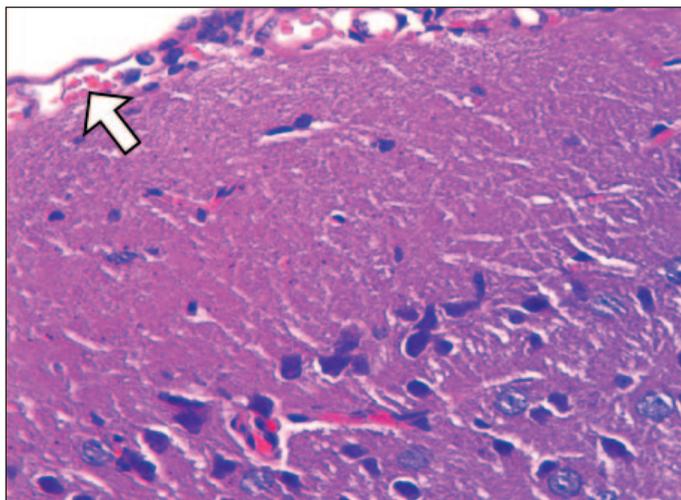
Microfotografía 2. Grupo I; cerebelo: se observan las capas del cerebelo sin alteración morfológica. (40X)



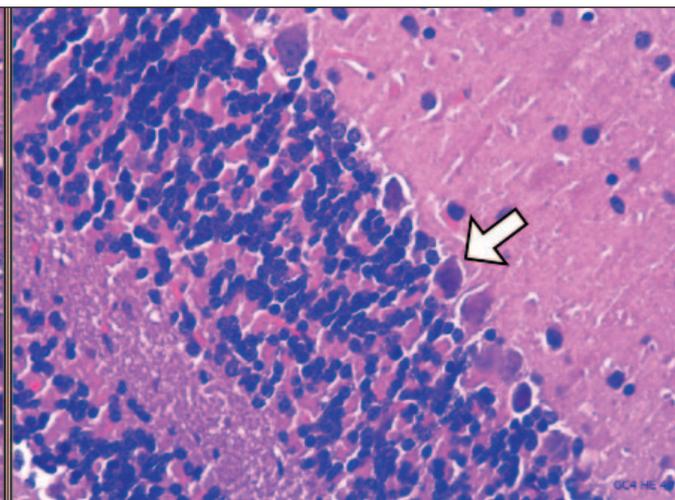
Microfotografía 3. Grupo II: Cerebro. Se observa la corteza del cerebro vasos congestionados y neuronas con edema y eosinofilia. (40X)



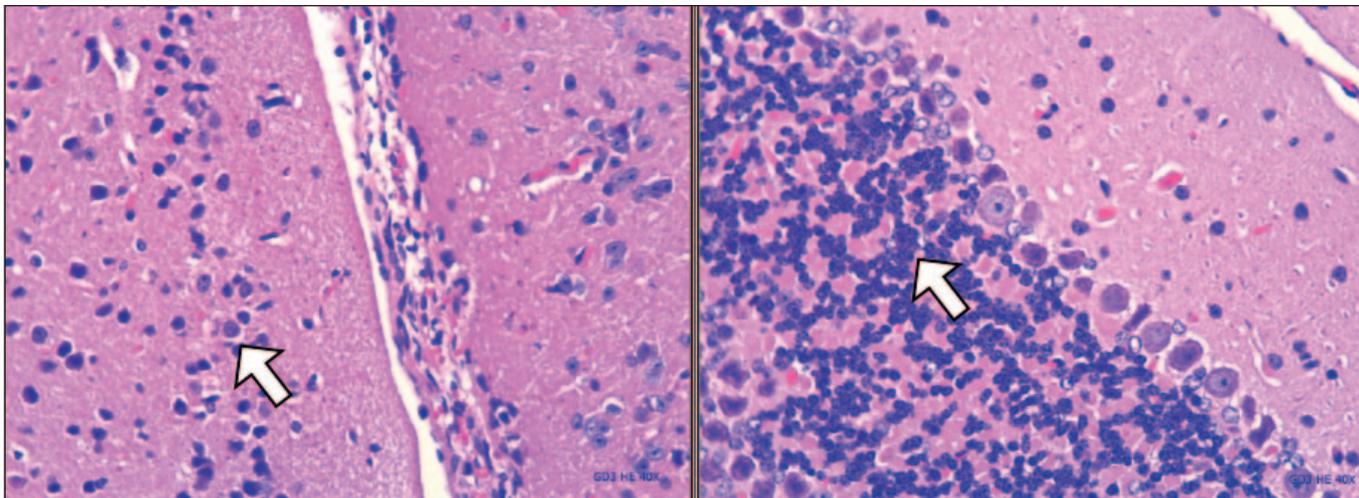
Microfotografía 4. Grupo II: Cerebelo. células de Purkinje con edema y eosinofilia. (40X)



Microfotografía 5. Grupo III: cerebro. Se observa el espacio subaracnoideo con vasos sanguíneos ligeramente congestivos e infiltración de linfocitos. (40X)

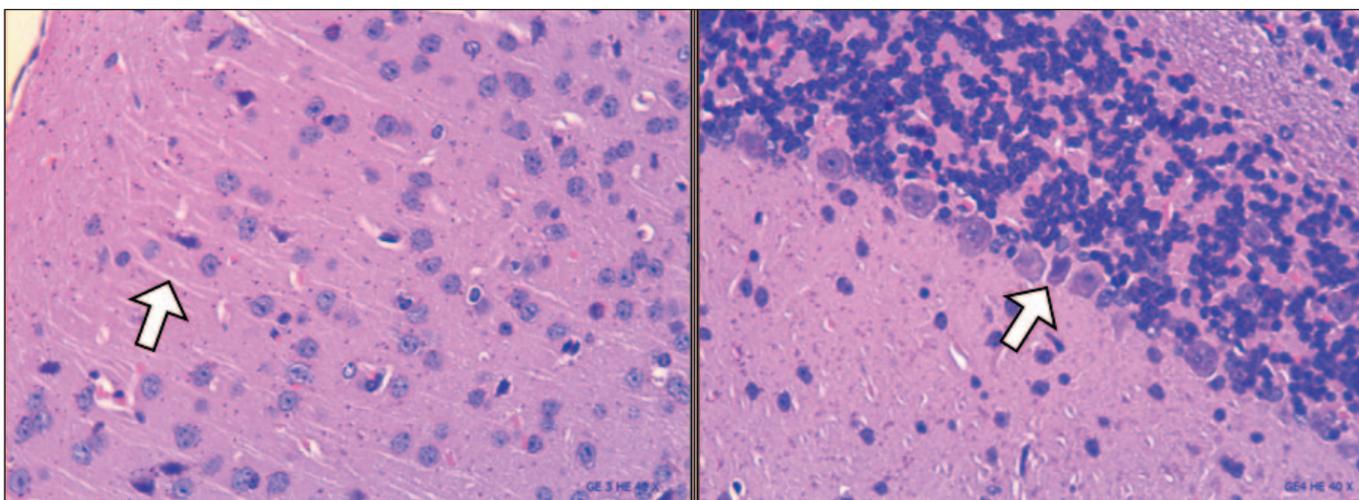


Microfotografía 6. Grupo III: Cerebelo. Células de Purkinje con edema y eosinofilia plasmática. (40X)



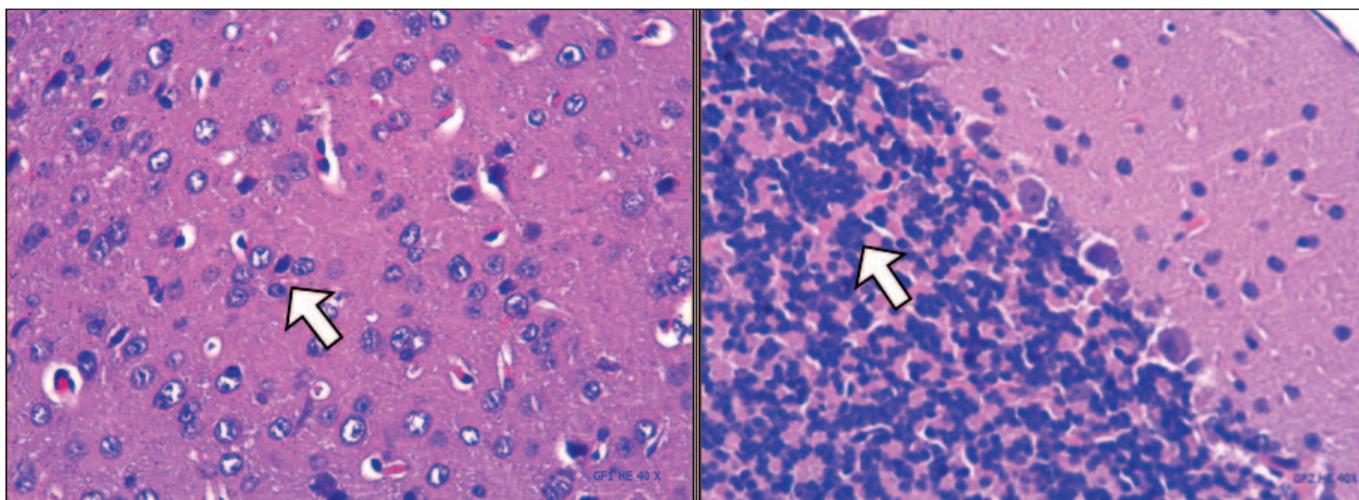
Microfotografía 7. Grupo IV: Cerebro. se observa células con eosinofilia y edema. **(40X)**

Microfotografía 8. Grupo IV: Cerebelo. Se observa la capa granular con multicelularidad bien distribuida. **(40X)**



Microfotografía 9. Grupo V: Cerebro. Se observa leve edema en el neuropilo. **(10 X)**

Microfotografía 10. Grupo V: Cerebelo. Células de Purkinje con leve eosinofilia. **(40X)**



Microfotografía 11. Grupo VI: Cerebro. Se observa abundantes neuronas con células gliales. **(10X)**

Microfotografía 12. Grupo VI: Cerebelo. En la capa granular se observa grupos con marcada hiper celularidad. **(40X)**

filia multifocal. El neurópilo bien conservado; en la capa de células de Purkinje se apreció arrugamiento de la membrana nuclear, leve edema citoplasmático y presencia de eosinofilia; la capa granular presentó algunas células con apoptosis; el componente vascular se encontró ligeramente congestivo.

Grupo VI: respecto al **cerebro** se apreció un espacio subaracnoideo con células polimorfonucleares, algunos linfocitos y hematíes. En la capa cortical se apreció el neurópilo, el cual se aprecia bien definido con escaso edema, también se observó abundantes neuronas y células gliales. En la capa medular se observó hiper celularidad con células gliales bien distribuidas; su componente vascular se presentó con proliferación tanto a nivel cortical como medular. En el **cerebelo** se apreció la capa molecular con células bien distribuidas, el neurópilo sin alteraciones y bien distribuido; en la capa de células de Purkinje algunas células tenían marcada eosinofilia en forma focal, otras pequeñas y con edema a nivel citoplasmático; la capa granular se encontró grupos de células con marcada hiper celularidad y el componente vascular no presentó alteraciones.

Evaluación Cognitiva: Se observó que la administración de cloruro de mercurio ($HgCl_2$) produjo un mayor tiempo de latencia y un menor número de intentos (grupo II) comparado al grupo I, siendo estas diferencias significativas en ambos casos ($p < 0,01$). Inducido el daño con cloruro de mercurio en los grupos IV, V y VI, y tras el tratamiento con zumo del fruto lulo a diferentes dosis, se observó un menor tiempo de latencia y menor número de intentos, en comparación al grupo II siendo significativo ($p < 0,01$) en todos los grupos.

DISCUSIÓN

El tratamiento con zumo de *Solanum quitoense* (lulo), a diferentes dosis (grupos IV-VI) indujo a menores niveles de li-

poperoxidación, relación SOD/CAT, índice de cerebro, índice de cerebelo, tiempo de latencia, número de intentos. Respecto a la relación GSH/GSSG se observó un mayor nivel, respecto al grupo II. A nivel histológico en el cerebro se encontró presencia de células polimorfonucleares, leve edema y eosinofilia; en el cerebelo se encontró leve eosinofilia, neurópilo bien conservado, células de Purkinje con eosinofilia y componente vascular ligeramente congestivo, mostrando una mejor conservación de los tejidos, respecto al grupo II.

Los resultados observados en los grupos que recibieron el zumo de lulo a diferentes dosis más $HgCl_2$ pueden estar relacionado a las sustancias bioactivas presente en este fruto. Acosta 2009 atribuyó la alta capacidad antioxidante del lulo, a los niveles altos de compuestos fenólicos, coincidiendo con Contreras-Calderón 2010 y Vasco 2008¹⁸. Esto puede estar relacionado a los bajos niveles de lipoperoxidación encontrados en los grupos que recibieron el zumo de lulo, a esto también se le puede sumar la presencia de los carotenoides, en especial del β -caroteno, los cuales actúan secuestrando los radicales peróxidos y los incorporan a su sistema de dobles enlaces conjugados, formando un radical dentro del carotenoide, este se estabiliza por resonancia, interfiriendo con la fase de propagación de la lipoperoxidación¹⁹⁻²².

Los taninos hidrolizables, como los galotaninos o elagitaninos, presentes en el lulo, como el ácido gálico o elágico, respectivamente, son capaces de neutralizar especies altamente reactivas, como el anión superóxido y radical hidroxilo ($OH\cdot$) y de esta forma disminuir la peroxidación de lípidos de membranas celulares^{21,22}. Esto también podría tener relación con los niveles bajos de lipoperoxidación en los grupos experimentales.

Por otro lado, la actividad antioxidante también podría relacionarse con la presencia de ácido ascórbico, presente en el lulo, este actúa como secuestrador de radicales libres de oxí-

Tabla 4. Indicadores de aprendizaje y memoria según grupos de tratamientos

GRUPOS: Tratamiento	Indicador de aprendizaje		Indicador de memoria N° de Intentos*
	Tiempo de Latencia* (minutos)	Tiempo de Permanencia* (minutos)	
Grupo I: S.F. + agua	6,6 (1,9) ^(a)	11,5 (0,9)	1,5 (0,0) ^(a)
Grupo II: S.F. + $HgCl_2$	19,6 (7,6)	8,3 (3,8)	2,6 (1,0)
Grupo III: vitamina E + $HgCl_2$	10,9 (6,4)	13,6 (8,5)	1,2 (0,7)
Grupo IV: lulo 0,5 mL/kg + $HgCl_2$	4,4 (0,9) ^(a)	12,5 (6,2)	1,0 (0,0) ^(a)
Grupo V: lulo 2,0 mL/kg + $HgCl_2$	3,2 (1,48) ^(a)	15,4 (11,9)	1,0 (0,0) ^(a)
Grupo VI: lulo 8,0 mL/kg + $HgCl_2$	3,0 (0,5) ^(a)	21,5 (7,3) ^(a)	1,0 (0,0) ^(a)

* Shapiro Wilk $p < 0,05$. Prueba KRUSKALL WALLIS. MEDIANA (RIQ).
(a) $p < 0,01$ comparado con el grupo II.

geno o de nitrógeno (ROS; RNS), al reaccionar con estas especies se forma el radical ascorbilo (A^{*}) que es de baja reactividad. Otro mecanismo antioxidante asociado a esta vitamina es su capacidad de regenerar al α -tocoferol, β -caroteno y GSH^{19,20}. Estos mecanismos podrían explicar los niveles elevados de relación de GSH/GSSG que se observaron en los grupos que recibieron zumo y HgCl₂.

La presencia de polifenoles como ácido gálico y ácido clorogénico juegan un rol importante en la actividad antioxidante, estos pueden unirse a los polímeros biológicos, ya sean enzimas, transportadores de hormonas y DNA, catalizar el transporte de electrones y depurar radicales libres. Otro beneficio que se le atribuye es su propiedad antiinflamatoria. Por otro lado, la acción de los flavonoides es retirar el oxígeno reactivo, de esta manera logra bloquear la acción tóxica de estas sustancias sobre las células, el efecto protector sobre la célula se puede ver reflejado a nivel endotelial¹⁹. Esto se podría estar relacionado a lo observado a nivel histológico y en los menores niveles de índice de cerebro e índice de cerebelo de los grupos experimentales.

La presencia de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en el zumo, podría jugar un rol importante en la neuroprotección. Los AGPI ω -3 pueden inhibir la transcripción de citoquinas proinflamatorias, activando a los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs), estos inhiben el factor nuclear capa beta (NFkB), quien participa en la transcripción de estas citoquinas proinflamatoria. Durante la resolución de la respuesta inflamatoria el ácido eicosapentaenoico es el sustrato para la producción de resolvinas de tipo E (RvE), estas moléculas se asocian con una menor actividad y migración de los leucocitos polimorfonucleares, lo que previene el proceso inflamatorio y la lesión del tejido²³. Esto se puede ver reflejado a nivel histológico en los grupos tratados con diferentes dosis de lulo.

Por otro lado, los AGPI en especial el ácido docosahexaenoico (DHA), se ha visto involucrado en la mejora cognitiva, siendo este el principal componente de los fosfolípidos de las membranas celulares en el cerebro puede ayudar a mantener la integridad de esta y la función neuronal. Los AGPI pueden aumentar los niveles de factor neurotrófico, el cual es responsable de la regulación de la supervivencia neuronal y la plasticidad sináptica del sistema nervioso, por lo que actúa reduciendo la inflamación y el daño oxidativo que contribuyen con la pérdida sináptica y disfunción neuronal en la demencia²³. Esto podría guardar relación con el bajo tiempo de latencia y el menor número de intentos evaluado en la prueba cognitiva en los grupos que recibieron el zumo de lulo.

Otro componente presente en el lulo son las saponinas; Sandoval-Ávila 2016, evaluó el efecto neuroprotector de fitoquímicos como las saponinas, encontrando un fuerte efecto neuroprotector, probablemente atribuido a su capacidad antioxidante, esto se vio reflejado en una mejor supervivencia

celular y un menor acortamiento de neuritas. Su mecanismo de acción radica en la disminución de EROs, incremento de proteína Bcl-2 e inhibición de la liberación del citocromo C al citosol, evitando así que exista muerte celular. Por otro lado, Zhang 2012 comprobó el efecto protector de las saponinas al incentivar un incremento en la supervivencia de las células mediante la disminución del tamaño del núcleo, la condensación de la cromatina y la fragmentación nuclear, así como también una reducción de EROs y la inhibición de la caspasa 3^{24,25}. Lo anterior mencionado se puede apreciar en la respuesta de la evaluación cognitiva, con el menor tiempo de latencia y menor número de intentos que se evaluó con el laberinto en T.

Las limitaciones que presenta el estudio están relacionadas con empleo de animales de experimentación, lo cual no podría extrapolarse a seres humanos, sin embargo, ha permitido conocer el efecto neuroprotector reflejado en los indicadores bioquímicos como morfológico. Otra limitación es referente al método de inducción con cloruro de mercurio (II), a pesar de que está muy difundido en publicaciones, sin embargo, no es una causa muy común o fisiológica, pero nos permite inducir a daño por un mecanismo de estrés oxidativo.

CONCLUSIÓN

La ingesta del zumo del fruto *Solanum quitoense* (lulo) a diferentes dosis produjo una disminución significativa de los niveles de lipoperoxidación y relación SOD/CAT, también mejoró el perfil de GSH. Por otro lado, presentó mejor índice de cerebro en la dosis de experimentación media y alta, a nivel histológico logro disminuir el daño nervioso (cerebro y cerebelo), siendo el mejor resultado el del grupo VI. En cuanto al nivel cognitivo mostró una mejora en los grupos que recibió el zumo de lulo. En general la ingesta del zumo del fruto *Solanum quitoense* (lulo) presentó efecto neuroprotector frente a la toxicidad por cloruro de mercurio (II) en ratones.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Instituto de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por permitir realizar la investigación en sus instalaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barragán Martínez D, García Soldevilla MA, Parra Santiago A, Tejeiro Martínez J. Enfermedad de Alzheimer. *Medicine*. 2019;12(74):4338-46. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.med.2019.03.012>.
2. Ministerio de Salud: Alzheimer afecta a más de 200 mil adultos mayores en Perú [Internet]. Lima: Gobierno del Perú; c2019. [citado el 8 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/51175-alzheimer-afecta-a-mas-de-200-mil-adultos-mayores-en-peru>.
3. Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report. 2018: The state of the art of dementia research: New frontiers [Internet].

- Londres: ADI; 2018 [citado el 8 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2018/>.
4. Alzheimer's Association. 2020 Alzheimer's disease facts and figures [Internet]. Chicago: AA; 2020 [citado el 8 de noviembre de 2023]. Disponible en: https://www.alz.org/media/Documents/alzheimers-facts-and-figures_1.pdf.
 5. Soares NM, Pereira GM, Figueiredo RI da N, Soares NM, Almeida RMM de, Portela ADS. Impacto econômico e prevalência da doença de Alzheimer em uma capital Brasileira. Ciênc Saúde [Internet]. 2017 [citado el 8 de noviembre de 2023];10(3):133-138. Disponible en: <https://revistaseletronicas.pucrs.br/index.php/faenfi/article/view/25036>.
 6. Paumi CM, Ledford BG, Smitherman PK, Townsend AJ, Morrow CS. Role of multidrug resistance protein 1 (MRP1) and glutathione S-transferase A1-1 in alkylating agent resistance. J Biol Chem [Internet]. 2001;276(11):7952-6. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925819321398>.
 7. Lara HH, Alanís-Garza EJ, Puente MFE, Mureyko LL, Torres DAA, Turrent LI. Nutrición que previene el estrés oxidativo causante del Alzheimer. Prevención del Alzheimer. Gac Med Mex [Internet]. 2015 [citado el 8 de noviembre de 2023];151(2):245-51. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=58459>.
 8. Moreno J, Guijarro C, Concellón M, José M, Concellón A. Caracterización de la Naranja (*Solanum quitoense*) común en tres estados de madurez. Rev Iberoam Tec Postcos. [Internet]. 2015 [citado el 8 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81343176010>.
 9. Cerón I., Higueta V, Cardona C. Capacidad antioxidante y contenido fenólico total de tres frutas cultivadas en la región andina. Vector [Internet]. 2010 [citado el 8 de noviembre de 2023]. Disponible en: http://vip.ucaldas.edu.co/vector/downloads/Vector5_2.
 10. Moreno C, Andrade M, Concellón A, Díaz G. Estudio de la capacidad antioxidante durante el almacenamiento refrigerado de naranja (*solanum quitoense*) tratada con radiación UV-C. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal [Internet]. 2013 [citado el 8 de noviembre de 2023];14(2):125-132. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/330566496_Estudio_de_la_capacidad_antioxidante_durante_el_almacenamiento_refrigerado_de_naranja_Solanum_quitoense_tratada_con_radiacion_UV-C.
 11. Glaser V. Effects of inorganic selenium administration in methylmercury induced neurotoxicity in mouse cerebral cortex. Int J Dev Neurosci [Internet]. 2010;28(7):631-7. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0736574810003412>.
 12. Suárez S. Detoxificación hepática y defensa antioxidante por efecto de xenobioticos alimentarios. [Tesis Magistral en Internet]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1995. [citado el 8 de noviembre de 2023]. 12 p. Disponible en: <https://cyber-tesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/2572>.
 13. Sedlak J, Lindsay R. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. Anal Biochem [Internet]. 1968;25:192-205. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269768900924>.
 14. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem [Internet]. 1974 [citado el 8 de noviembre de 2023];47(3):469-74. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4215654/>.
 15. Aebi H. Catalase in Vitro. Methods in Enzymology. 1974; 105: 121-126. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3).
 16. Deacon R, Rawlins N. T-maze alternation in the rodent. Nat Protoc [Internet]. 2006 [citado el 8 de noviembre de 2023];1(1):7-12. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.2>.
 17. Vega S, Watanabe R. Análisis de la Ley 30407 «Ley de Protección y Bienestar Animal» en el Perú. Rev. investig. vet. Perú. 2016; 27(2): 388-396. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v27i2.11664>.
 18. Flechas H, Sánchez L, Silva J. Tamizaje Fitoquímico y Cálculo de Rendimiento de Saponinas Esteroidales de Tres Procedencias de *Solanum quitoense* Var. *Septentrionale* "Naranjillo". Colombia forestal. 2008; 11(1): 201-214. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-07392008000100013.
 19. Guija H. Radicales libres y sistema antioxidante. Horiz méd [Internet]. 2023; 23(2):2158. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2023.v23n2.12>.
 20. Maestro R, Borja R. Actividad antioxidante de las vitaminas C y E y de la provitamina A. Inst. Grasa y deriv. 1993; 44(2). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/49583471_Actividad_antioxidante_de_las_vitaminas_C_y_E_y_de_la_provitamina_A.
 21. Vázquez A. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. Tecnociencia Chihuahua. 2012; 6(2): 84-93. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/277816258_Taninos_hidrolizables_y_condensados_naturaleza_quimicaventajas_y_desventajas_de_su_consumo.
 22. Olivas F. Taninos hidrolizables: bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. Nutr Hosp [Internet]. 2015 [citado el 8 de noviembre de 2023];31(1):55-66. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7699>.
 23. Waitzberg D, Garla P. Contribución de los Ácidos Grasos Omega-3 para la Memoria y la Función Cognitiva. Nutr Hosp [Internet]. 2014 [citado el 8 de noviembre de 2023];30(3):467-77. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2014.30.3.7632>.
 24. Zhang Z, Wu L, Wang J, Yang J, Zhang J. Astragaloside IV prevents MPP+-induced SH-SY5Y cell death via the inhibition of Bax-mediated pathways and ROS production. Mol Cell Biochem [Internet]. 2012;364(1-2):209-16. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11010-011-1219-1>.
 25. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar ICBF. Tabla de Composición de Alimentos Colombianos. [Internet]. Colombia: ICBF; 2015 [citado el 8 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://www.icbf.gov.co/bienestar/nutricion/tabla-alimentos>.