

# Efecto de la suspensión de semilla *Helianthus annuus L.* (girasol) frente a la neurotoxicidad inducida por etanol en ratones

## Effect of *Helianthus annuus L.* (sunflower) seed suspension against ethanol-induced neurotoxicity in mice

John Henry PINTO GONZA<sup>1</sup>, Lorena Margot FLORES CASTRO<sup>1</sup>, Oscar Gustavo HUAMÁN GUTIÉRREZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Escuela Profesional de Nutrición - Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

<sup>2</sup> Instituto de Investigación de Bioquímica y Nutrición - Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

Recibido: 24/junio/2024. Aceptado: 6/septiembre/2024.

### RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar el efecto de la suspensión de semilla de *Helianthus annuus L.* frente a neurotoxicidad inducida por etanol en ratones.

**Métodos:** El presente estudio de diseño experimental, empleó la suspensión de semilla de girasol (SSG) y 35 ratones macho. Se conformó cinco grupos a los cuales se les administró los siguientes tratamientos por 15 días, vía peroral: grupos I y II (agua 10mL/kg), grupo III (vitamina E 20UI/kg), grupo IV (SSG 200mg/kg) y el grupo V (SSG 600mg/kg). Pasado treinta minutos del tratamiento, se administró etanol al 40% (1,8g/kg) vía intraperitoneal, con excepción del grupo I. Finalmente se extrajo el tejido cerebral y cerebeloso para realizar los análisis bioquímicos e histológicos. Se aplicó la prueba estadística de ANOVA para datos paramétricos y Kruskal-Wallis para datos no paramétricos.

**Resultados:** El grupo V presentó una disminución en los niveles de lipoperoxidación, mayores valores GSH, GSH/GSSG y grupos sulfhidrilos proteicos, frente al grupo II, ( $p < 0,05$ ). A nivel histológico en los grupos tratados con SSG se observó protección del tejido cerebral y cerebeloso.

**Conclusión:** La administración de la suspensión de semilla de girasol presenta efecto neuroprotector frente al efecto del etanol, expresado en niveles bajos de lipoperoxidación, au-

mento del perfil de GSH y una mejor conservación del tejido del cerebro y cerebelo. Estos resultados nos pueden permitir recomendar su consumo de forma racional en aquellas personas que presenten riesgo de desarrollar enfermedades crónicas degenerativas como las relacionadas al tejido nervioso.

### PALABRAS CLAVE

Neuroprotección, antioxidantes, *Helianthus annuus L.*, estrés oxidativo.

### SUMMARY

**Objective:** To evaluate the effect of *Helianthus annuus L.* seed suspension against ethanol-induced neurotoxicity in mice.

**Methods:** The present experimental design study used sunflower seed suspension (SSG) and 35 male mice. Five groups were formed to which the following treatments were administered for 15 days, orally: groups I and II (water 10mL/kg), group III (vitamin E 20IU/kg), group IV (SSG 200mg/kg) and group V (SSG 600mg/kg). Thirty minutes after treatment, 40% ethanol (1.8g/kg) was administered intraperitoneally, with the exception of group I. Finally, the brain and cerebellar tissue was extracted to perform biochemical and histological analyses. The ANOVA statistical test was applied for parametric data and Kruskal-Wallis for non-parametric data.

**Results:** Group V presented a decrease in lipoperoxidation levels, higher GSH, GSH/GSSG values and protein sulfhydryl groups, compared to group II, ( $p < 0.05$ ). At the histological level, protection of brain and cerebellar tissue was observed in the groups treated with SSG.

### Correspondencia:

John Henry Pinto Gonza  
johnpintogonza2@gmail.com

**Conclusion:** The administration of sunflower seed suspension has a neuroprotective effect against the effect of ethanol, expressed in low levels of lipoperoxidation, increase in the GSH profile and better preservation of brain and cerebellum tissue. These results may allow us to recommend its consumption rationally in those people who are at risk of developing chronic degenerative diseases such as those related to nervous tissue.

## KEYWORDS

Neuroprotection, antioxidants, *Helianthus annuus L.*, oxidative stress.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson o Alzheimer representan un problema de salud a nivel mundial<sup>1</sup>. Las cuales constituyen una de las causas principales de morbilidad en adultos mayores<sup>2</sup>. En el Perú para el 2024, según el informe técnico del Instituto Nacional de Estadística e Informática, mostró un aumento en el porcentaje de población adulta mayor de 5,7% en el año 1950 a un 13,9% en el 2024<sup>3</sup>.

Por otra parte, se evidenció que factores como el consumo de alcohol, ingesta reducida de antioxidantes (verduras y/o frutas) y el nivel bajo de actividad física, se encuentran vinculados al estrés oxidativo, la cual se origina por un exceso de radicales libres o una carencia de los sistemas antioxidantes<sup>4</sup>. Así mismo, se observó que un incremento de radicales libres está asociado a daño a nivel de las membranas lipídicas de estructuras cerebrales causando enfermedades neurodegenerativas<sup>5</sup>.

Frente a el daño de las especies reactivas de oxígeno, el organismo desarrolla mecanismos antioxidantes, los cuales pueden ser de tipo enzimático y no enzimático<sup>6</sup>.

Se sostiene que un mayor aporte de antioxidantes se puede lograr través de la ingesta de frutas, verduras y semillas en la dieta, contribuyendo en la prevención de los posibles efectos negativos de las especies reactivas de oxígeno en el organismo<sup>7</sup>. Dentro de las semillas que presentan compuestos bioactivos como los flavonoides, ácidos fenólicos, vitamina E y selenio, encontramos *Helianthus annuus* (girasol)<sup>8</sup> además, también presenta ácidos grasos poliinsaturados omega 3 y omega 6<sup>9</sup> estas sustancias son prometedoras de efectos benéficos sobre el tejido nervioso.

Considerando la evidencia y prevalencia de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson en la población adulta, se identificó al estrés oxidativo como agente causante, producido por la presencia excesiva de especies reactivas de oxígeno, lo cual puede evitarse por medio de la ingesta de alimentos que contengan compuestos bioactivos como la semilla de *Helianthus annuus L.* (girasol). Con los resultados de este estudio estaría dando a conocer los benefi-

cios atribuidos a la semilla, desde una perspectiva bioquímica e histológica, proporcionando fundamentos científicos para investigaciones futuras sobre una propiedad funcional.

El propósito esta investigación ha tenido como objetivo evaluar el Efecto de la suspensión de semilla *Helianthus annuus L.* (girasol) frente a la neurotoxicidad inducida por etanol en ratones.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio de tipo experimental puro, con grupo control y post prueba<sup>10</sup>.

**Obtención de las semillas de *Helianthus annuus L.* "girasol":** fueron adquiridas de un establecimiento que expende productos naturales de la marca registrada (Nutrimix®), listas para el consumo, estas se conservaron en un ambiente seco hasta el momento previo a la utilización. Así mismo, se envió una muestra de semillas girasol con un biólogo especialista en botánica, para su clasificación taxonómica.

**Preparación de la suspensión de semilla de girasol:** se realizó diariamente, previo a cada administración, para evitar su deterioro biológico, este proceso se llevó a cabo en un mortero de porcelana y agua, obteniéndose dosis de 200 mg/kg y 600 mg/kg.

**Evaluación del efecto neuroprotector de las semillas *Helianthus annuus L.* (girasol):** se empleó 35 ratones macho albinos BALB/c (*Mus musculus*), adquiridos en Centro Nacional de Productos Biológicos del Instituto Nacional de Salud. Se consideraron los siguientes criterios de inclusión: peso aproximado de 30 – 35 g, con tres meses de edad. Los criterios de exclusión fueron: animales de experimentación sin haber presentado manipulación previa, enfermedades ni tampoco alguna amputación en sus extremidades.

Los animales fueron aclimatados por un periodo de siete días, con ciclo de luz y oscuridad de 12 horas cada uno, recibiendo alimentación balanceada para la especie y agua de una marca comercial de consumo *ad libitum*.

Para la inducción a neurotoxicidad se aplicó el método propuesto por Witte y Bada (1983)<sup>11</sup>, en la cual se administra, por vía intraperitoneal, etanol al 40% a dosis de 1,8 g/kg de peso por 15 días.

Los animales fueron distribuidos de manera aleatoria en cinco grupos (n=7), recibiendo, por vía orogástrica, el siguiente tratamiento por 15 días:

Grupo I (control negativo): Agua 10 mL/kg de peso

Grupo II (control positivo): Agua 10 mL/kg de peso

Grupo III: Vitamina E 20 UI/kg de peso

Grupo IV: suspensión de semillas girasol 200 mg/kg

Grupo V: suspensión de semillas girasol 600 mg/kg

Así mismo junto al tratamiento se administró por, vía intraperitoneal, alcohol del grupo II al IV, a dosis de 1,8 g/kg de peso (solución de etanol al 40%) y al grupo I se le administró NaCl 0,9%<sup>11</sup>.

Posterior al tratamiento los animales fueron sometidos a un ayuno de 12 horas previo al sacrificio por decapitación con guillotina, causando así la pérdida rápida de la conciencia, sin dolor. Los tejidos cerebro y cerebeloso fueron extrahidos y lavados en NaCl 0,9%, manipulando los tejidos sobre placas de hielo (4°C), se procedió a realizar el pesado en balanza analítica (SARTORIUS).

**Preparación del homogenizado de cerebro:** para el procesamiento de indicadores bioquímicos se preparó el homogenizado utilizándose 150 g de tejido del hemisferio derecho con buffer fosfato pH 7,4 a 0,01 mol/L hasta obtener un volumen final de 1,5 mL (10% de tejido) con un homogeneizador (BIOSPEC PRODUCT), luego se procedió a centrifugar (DALB®) a 2500 rpm por 5 minutos y separar los detritus, obteniéndose el sobrenadante del homogenizado (SNH).

**Determinación de lipoperoxidación:** se empleó el método Buege y Aust (1978)<sup>12</sup>, el cual se fundamenta en la reacción de dos moles del ácido 2-tiobarbiturico con un mol dialdehído, formando un cromógeno de tonalidad rosada, presentando una absorbancia a 535nm.

**Determinación de GSH y GSH total:** se empleó el método de Boyne y Ellman (1972)<sup>13</sup>, la cual se fundamenta en la oxidación de grupos sulfhídricos del glutatión por el ácido 5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzoico (DTNB) (Sigma – Aldrich), dando a la formación de un mol de ácido 2-nitro-5-tiobenzoico (TNB), presentando una absorbancia máxima a 412 nm. Para la determinación de GSH total se hizo uso de una solución de buffer que incluía ácido ascórbico y ácido glioxílico, 20 mg y 10 mg respectivamente, por cada 20 mL de buffer.

**Determinación del índice cerebro y cerebelo:** los tejidos de cerebro y cerebelo fueron pesados del tejido en balanza analítica, el índice se determinó como el porcentaje del cada tejido respecto al peso corporal.

**Evaluación histológica del cerebro y cerebelo:** se consideró el tejido de hemisferio izquierdo y el cerebelo conservados en formol al 10% buffer Fosfato pH 7,4 a 0,075 mol/L, la tinción empleada fue Hematoxilina – Eosina. Siendo la laminas histológicas evaluadas por un médico patólogo, considerando a nivel cerebral: Conservación de la corteza cerebral, densidad de células neuronales, presencias de edemas en el tejido; y a nivel del cerebelo: Conservación de las capas histológicas del tejido y estado morfológico de células de Purkinje.

**Evaluación de los niveles de grupos sulfhídricos proteicos:** se utilizó la metodología propuesta por Boyne y Ellman (1972)<sup>13</sup>, donde se hizo uso del sobrenadante del homogenizado, realizado por la metodología de Lowry (1951)<sup>14</sup>, el cual

fue diluido 1/10 con buffer fosfato pH 7,4 a 0,01 mol/L, posteriormente se tomó 0,3 mL del diluido y agregó 1 mL de buffer fosfato pH 6,8 a 0,5 mol/L, luego fue incubado a 37°C, en baño maría, por un lapso de 5 minutos. Terminado el periodo de incubación se agregó DNTB 1,5 mg/mL y luego de 5 minutos se procedió a dar lectura en el espectrofotómetro a 412 nm.

**Análisis estadísticos de datos:** se aplicó la prueba de normalidad Shapiro-Wilk, para los datos de distribución normal se aplicó la prueba estadística de Tukey para varianzas homogéneas y *Games-Howell* para varianzas heterogéneas. Los datos asimétricos ( $p < 0,05$ ) se evaluaron por el estadístico de *kruskal-Wallis*, vía de corrección Dunn-Bonferroni. Para considerar una diferencia estadísticamente significativa se tomó en cuenta un  $p < 0,05$ .

**Aspecto ético de la investigación:** el estudio consideró los principios de Reducir y Refinar de la experimentación humanizada con animales, la Ley N°30407 sobre protección y bienestar animal, y los criterios mencionados en la guía del manejo y cuidado de animales experimentales de laboratorio: Ratón<sup>15</sup>. El estudio cuenta cuanta con la aprobación del Comité de Ética en investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad nacional Mayor de San Marcos (N° 0002- 2022).

## RESULTADOS

Se observó que los grupos que recibieron la suspensión de semilla de girasol presentaron niveles menores de lipoperoxidación, alcanzado una inhibición del 33% en el grupo V, respecto al grupo II. También se evidencia un incremento del 35% de los grupos sulfhídricos proteicos en el grupo V (tabla 1).

### Aspecto histopatológico del cerebro y cerebelo

**Grupo I:** en el **cerebro** se observó un espacio subaracnoideo bien distribuido rodeado de un epitelio plano y presencia de endotelio sin alteraciones. Células piramidales presentes, algunas con nucléolo, el resto sin alteraciones histológicas. Ausencia de infiltraciones linfocitarias en todas las capas. Presencia de células gliales bien distribuidas. En el **cerebelo** se apreció un espacio subaracnoideo bien distribuido y rodeado de epitelio plano. Se observó vasos sanguíneos en todas las capas. Las neuronas cerebelosas presentaron aspecto normal (sin edema), no se observó polimorfocitos ni linfocitos. En la capa molecular las células redondas fueron escasas, bien distribuidas con cromatina firme. Las células de Purkinje presentaron citoplasma bien diferenciado con presencia de núcleo, algunos muestran axones. A nivel de la capa granulosa se observa la presencia de grupo de células uniformes y bien distribuidas.

**Grupo II:** Se observó en el **cerebro** un espacio subaracnoideo ligeramente aumentado y con escasas células intravasculares. A nivel intraparenquimal de la capa cortical se observó vasos congestivos. Se observó una escasa presencia de

**Tabla 1.** Niveles de lipoperoxidación y grupos sulfhídricos proteicos en tejido cerebral de ratones, según tratamiento

Grupo - tratamiento	Lipoperoxidación*		Grupos -SH proteicos*	
	(nmol/g de tejido) Mediana ± RIC	Inhibición (%)	(μmol/mg de proteína) Mediana ± RIC	Incremento (%)
Grupo I: Agua 10 mL/kg + NaCl 0,9%	155 ± 26	—	1,68 ± 0,12	—
Grupo II: Agua 10 mL/kg + Etanol 40%	160 ± 61	—	1,63 ± 0,28	—
Grupo III: Vit. E (20 UI/kg) + Etanol 40%	128 ± 18	20	1,75 ± 0,16	-17
Grupo IV: SSG 200 mg/kg + Etanol 40%	124 ± 20	23	1,71 ± 0,18	0
Grupo V: SSG 600 mg/kg + Etanol 40%	108 ± 17 <sup>(a)</sup>	33	1,81 ± 0,02 <sup>(b)</sup>	35

\* Shapiro - wilk ( $p < 0,05$ ) – Kruskal-Wallis.(a)  $p < 0,01$ ; comparado con el grupo II. (b)  $p < 0,05$ , comparados con el grupo II.**Tabla 2.** Perfil glutatión en tejido cerebral de ratones, según tratamiento\*

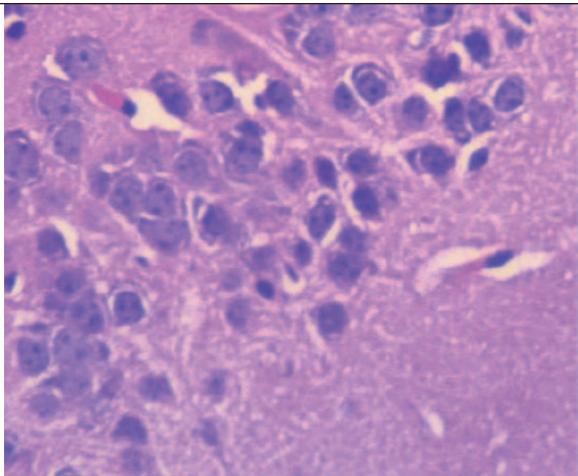
Grupo - tratamiento	GSH (μmol/g de tejido)** Media ± DE	GSH Total (μmol/g de tejido)*** Media ± DE	GSH/GSSG*** Media ± DE	Incremento (%)
Grupo I: Agua 10 mL/kg + NaCl 0,9%	3,46 ± 0,53	14,9 ± 2,17	0,31 ± 0,04 <sup>(c)</sup>	—
Grupo II: Agua 10 mL/kg + Etanol 40%	2,65 ± 0,29	14,4 ± 0,94	0,23 ± 0,03	—
Grupo III: Vit. E (20 UI/kg) + Etanol 40%	2,62 ± 1,18	16,0 ± 4,21	0,19 ± 0,05	-17
Grupo IV: SSG 200 mg/kg + Etanol 40%	2,67 ± 0,62	15,0 ± 1,96	0,23 ± 0,08	0
Grupo V: SSG 600 mg/kg + Etanol 40%	4,00 ± 1,01 <sup>(c,d)</sup>	16,8 ± 4,08	0,31 ± 0,04 <sup>(a,b)</sup>	35

\* Shapiro - Wilk ( $p > 0,05$ ) - ANOVA – Levene. \*\* Post Hoc prueba de Tukey. \*\*\* Post Hoc prueba de Games - Howell.(a)  $p < 0,01$  comparado con el grupo II. (b)  $p < 0,01$  comparado con el grupo III. (c)  $p < 0,05$  comparado con el grupo II. (d)  $p < 0,05$  comparado con el grupo III.

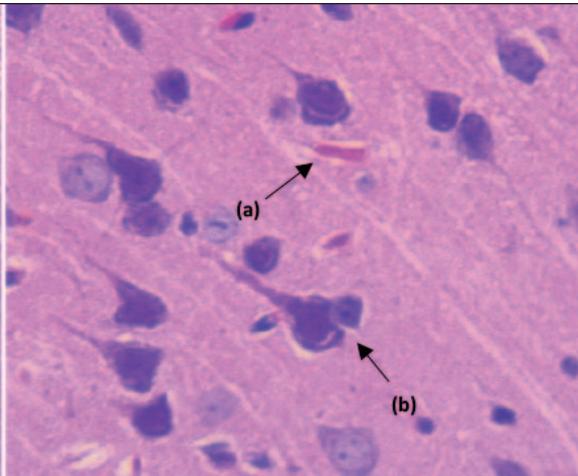
linfocitos. Se aprecia focos necróticos con marcado edema en todas las capas. Las neuronas presentaron edemas, focos con núcleo picnótico y escaso citoplasma a nivel de la corteza. Se observó algunas células gliales con retracción citoplasmática. Se apreció en el **cerebelo** el espacio subaracnoideo bien conservado, rodeado de epitelio simple plano y con presencia de linfocitos bien distribuidos. En todas las capas del cerebelo y médula se apreció edemas. Respecto a la capa molecular se encontró bien distribuida y con presencia de algunas retracciones citoplasmáticas. También se hallaron vasos congestivos en todas las capas. En las células de Purkinje se observó alteraciones a nivel citoplasmático, marcada eosinofilia y núcleos hiper cromáticos; la capa granular presentó agrupaciones celulares con retracción citoplasmática.

**Grupo III:** en el **cerebro** el espacio subaracnoideo presentó vasos congestivos, escasa presencia de linfocitos y glóbulos rojos, además, se presencié edemas en las capas su-

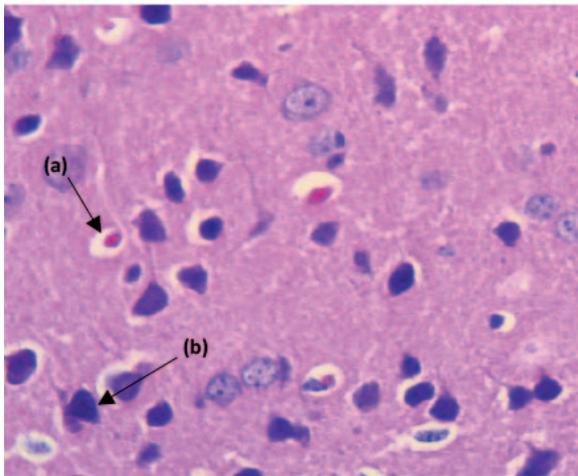
perficiales de la corteza. También se halló escasos componentes inflamatorios a nivel perivascular y en la capa externa se encontraron células piramidales con alteraciones en el citoplasma, marcada eosinofilia, edemas y picnosis nuclear. Las células gliales se encontraban bien distribuidas y sin alteraciones. El **cerebelo** presenta un espacio subaracnoideo se encontró ligeramente dilatado y aumentado, con presencia escasa de linfocitos. Se apreció vasos congestivos en todos los cortes estudiados. Se hallaron células neuronales con marcado edema en las capas superficiales. Respecto al componente inflamatorio fue escaso y solo en el espacio subaracnoideo. La capa molecular se encontró bien distribuida con presencia de algunas células con edema. Las células de Purkinje se observaron con borrado de estructuras citoplasmáticas, picnosis nuclear y reforzamiento de la membrana citoplasmática. En la capa granular se encontraron grupos celulares que forman focos bien distribuidos y que presentaban retracción unicelular.



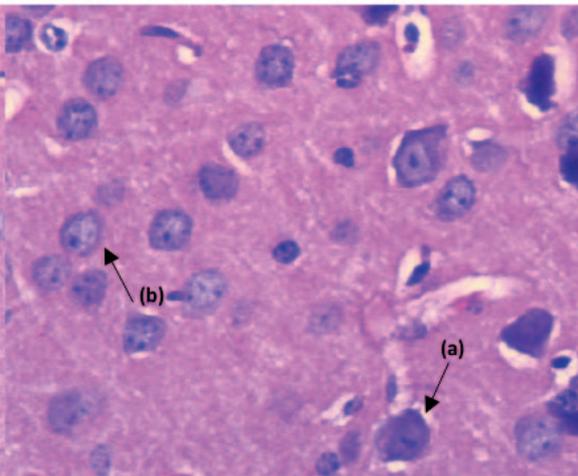
**Micrografía óptica 1.** Grupo I: Se observó la corteza cerebral sin alteraciones morfológicas. HE (40x).



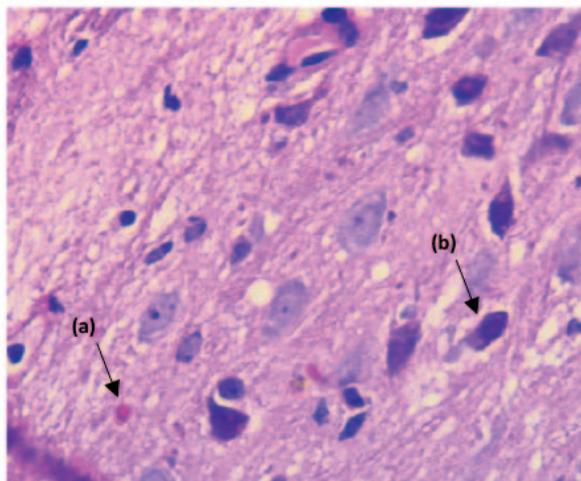
**Micrografía óptica 2.** Grupo II: Cerebro. Se observa la corteza del cerebro (a) Vasos congestionados, (b) Neurona con edema y eosinofilia. HE (40x).



**Micrografía óptica 3.** Grupo III: Cerebro. Se observa (a) Célula linfocítica, (b) Célula piramidal con eosinofilia y picnosis nuclear. HE (40x).

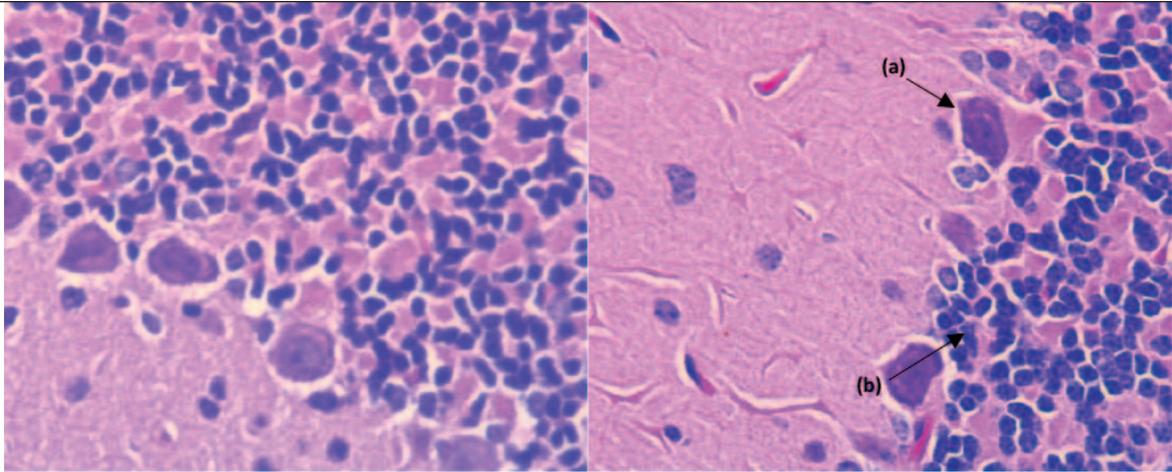


**Micrografía óptica 4.** Grupo IV: Cerebro. Se observa (a) Neuronas con retracción citoplasmática y alteración del núcleo, (b) Células gliales bien conservadas.



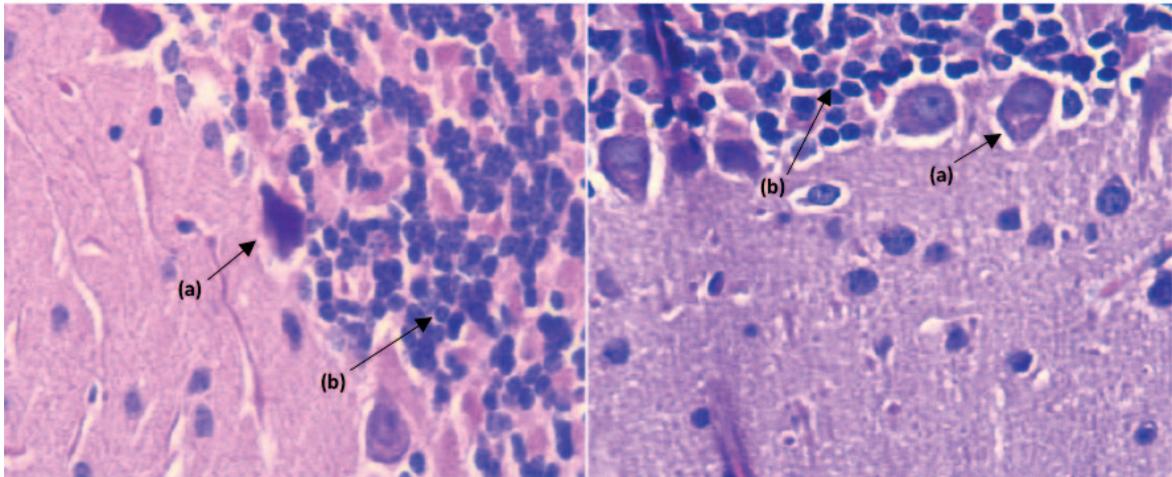
**Micrografía óptica 5.** Grupo V: Cerebro. Se observó (a) Eosinófilos y (b) Neuronas con eosinofilia y daño citoplasmático. HE (40x).

**Figura 1.** Microfotografía óptica de tejido cerebral de ratones



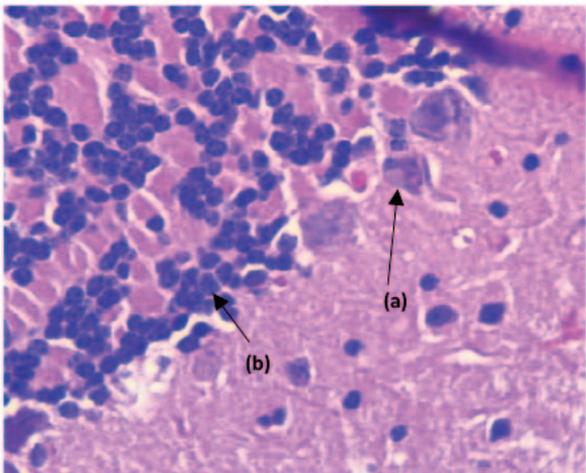
**Micrografía óptica 1.** Grupo I: Se observa el tejido cerebeloso sin alteración morfológica en todas las capas. **HE (40x).**

**Micrografía óptica 2.** Grupo II: Cerebelo. **(a)** Célula de Purkinje con edema y eosinofilia, **(b)** Capa granular con retracción citoplasmática. **HE (40x).**



**Micrografía óptica 3.** Grupo III: Cerebelo. Se observa **(a)** Células de Purkinje con eosinofilia y picnosis nuclear, **(b)** Capa granular bien distribuida. **HE (40x).**

**Micrografía óptica 4.** Grupo IV: Cerebelo. Se observo. **(a)** Células de Purkinje con edema y retracción citoplasmática, **(b)** Capa granular sin alteraciones. **HE (40x).**



**Micrografía óptica 5.** Grupo V: Cerebelo. **(a)** Células de Purkinje con borramiento nuclear, **(b)** Capa granulosa con hiper cromatismo nuclear. **HE (40x).**

**Figura 2.** Microfotografía óptica de tejido cerebelar de ratones

**Grupo IV:** Se observó en el **cerebro** un espacio subaracnoideo conservado con infiltración inflamatoria. Se apreció tejido endotelial conservado y presencia de vasos ligeramente congestivos. A nivel perivascular se encontró linfocitos reactivos, bien distribuidos. En las capas celulares se observó edemas moderados. En la capa neuronal se observó retracción citoplasmática y alteración del núcleo en capas corticales, algunas a nivel de la medula; en las células gliales no se presentó ninguna alteración. Se apreció en el **cerebelo** un espacio subaracnoideo bien conservado revestido de epitelio plano. En la capa molecular se observó células bien conservadas y con núcleo acromático conservado, presentando también congestión vascular y edemas. En la capa de células de Purkinje se apreció edemas, alteraciones en la membrana citoplasmática, algunas células presentaron borramiento de estructuras y retracción de la membrana citoplasmática. En la capa granular se encontró grupos celulares, algunas de ellas con retracción citoplasmáticas y otras sin alteraciones.

**Grupo V:** en el **cerebro** se observó un espacio subaracnoideo normal, con componente vascular conservado. Se apreció a nivel de los capilares una ligera congestión. Se encontró algunas células conservadas (sin alteraciones) y otras con edema multifocal en las capas corticales. A nivel perivascular se apreció algunos linfocitos y polimorfonucleares. A nivel de las capas corticales algunas neuronas se encontraron bien conservadas y otras presentaron alteraciones en el citoplasma con marcada eosinofilia. Algunas células gliales se encuentran conservadas y otras con retracción citoplasmática. A nivel de **cerebelo** el espacio subaracnoideo se encontró bien conservado revestido de epitelio plano. La capa molecular presentó células bien conservadas y con núcleo acromático conservado, edemas y congestión vascular. En la capa de celular de Purkinje se halló la presencia de edemas, alteraciones en la membrana citoplasmática, en algunas células se observó retracción de la membrana citoplasmática y borramiento estructural. En la capa granular se encontraron agrupaciones celulares, algunas con retracción citoplasmáticas y otras sin alteraciones.

## DISCUSIÓN

Lo evidenciado en los grupos de tratamiento (IV y V), respecto a los niveles de lipoperoxidación, perfil de glutatión, grupos sulfhídricos proteicos y descripción histológica, podría estar asociado a la acción de la vitamina E, dicho nutriente se encuentra presente en semilla de girasol<sup>8</sup>. Debido a la reacción de los radicales peróxido con el  $\alpha$ -tocoferol en lugar del hidroperóxido lipídico, evitándose así la producción de más radicales peróxido, viéndose reducido así la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de membrana<sup>16</sup>.

Por otro lado, la presencia de edema citotóxico está asociado a la abundante presencia de radicales libres<sup>17</sup>, los cuales en presencia de la vitamina E se ven reducidos, explicado en el párrafo antecesor. Esta vitamina cumple una función en la respuesta inmunitaria, incrementando la producción de in-

terleucina 2, activación de células asesinas naturales y producción de linfocitos<sup>16,18</sup>, así mismo, se le otorga la función suprimir la oxidación de proteínas<sup>19</sup>, esto puede estar relacionado al menor daño observado a nivel histológico en los grupos tratados con semilla de girasol.

Otra posible explicación sobre los niveles de lipoperoxidación y perfil de glutatión se puede deber a la acción del selenio, presente en la semilla de girasol<sup>8</sup>, la cual forma parte de la enzima glutatión peroxidasa, cuya función es la reducción de las radicales libres de oxígeno y/o nitrógeno (ROS y RNS), evitándose así la lipoperoxidación de ácidos grasos insaturados<sup>20,21</sup>. De igual manera los flavonoides desempeñan la función como antioxidantes debido a que poseen un anillo  $\beta$ , la que permite captar a las ROS y RNS, donando un electro a los radicales peróxidos, hidroxilos y peroxinitritos, dando lugar a especies menos reactivas<sup>22</sup>.

Los polifenoles, a su vez, son reconocidos por su acción antiinflamatoria regulando la neuroinflamación y muerte celular, como la quercetina la cual inhibe ciertas citocinas proinflamatorias (IL-6, IL 1  $\beta$  y el TNF- $\alpha$ )<sup>23</sup>. Así mismo se evidenció que la quercetina y el Kaempferol, presentes en la semilla de girasol<sup>8</sup>, a nivel de tejido neuronal, enfrentan el daño causado por estrés oxidativo, mediante la activación de la vía Nrf2-ARE la cual cumple la función de regulación ante el estrés oxidativo. Siendo activada cuando el factor eritroide 2 (Nrf2) se disocia la proteína (Keap 1), producto de la reacción con especies reactivas de oxígeno, a su vez se produce la traslocación del Nrf2 al núcleo celular ligándose a la proteína Maf, que luego se asocian a los elementos de respuesta antioxidante (ARE), dando paso así a la transcripción de genes (glutatión, glutatión reductasa, superóxido dismutasa, catalasa y tioredoxina)<sup>24,25</sup>, esto podría estar relacionando a la mejor conservación del tejido, niveles bajo de lipoperoxidación y una mejor respuesta del sistema GSH en lo grupos IV y V.

Una investigación realizada con zinc y ácido linoleico (omega 6), nutrientes presentes en la semilla de girasol<sup>8</sup>, reporto efectos neuroprotectores sobre lipoperoxidación, niveles de GSH, glutatión peroxidasa, SOD y CAT, y a nivel histológico no se observaron muerte celular respecto al control, lo cual menciona podría estar relacionado a la vía de acción del zinc, ya que aumenta la actividad del glutatión peroxidasa y a su vez forma parte de la metalotioneína la cual es un fuerte captador de radicales libres; y de igual manera podría estar relacionado a la acción del omega 6, ya que participa reparación de las capas lipídicas dañadas, reduciendo la exudación de electrones libres de la mitocondria, el cual es requisito previo para la generación de radicales libres<sup>26</sup>. Por otro lado, un estudio realizado sobre la suplementación de ácido araquidónico (serie de la omega 6), evidenció una reducción en los niveles de TNF-alfa e IL-6, un aumento en los niveles de SOD y GSH-Px y una reducción en los niveles de malondialdehído (lipoperoxidación) lo cual puede estar asociado a los efectos antiinflamatorios y antioxidantes del ácido araquidónico<sup>27</sup>.

Así mismo, otra posible explicación es el omega 3, también presente en la semilla de girasol, que por la acción de las enzimas desaturadas y elongadas pasa a formar el ácido eicosapentaenoico y posteriormente ácido docosahexaenoico (DHA)<sup>28</sup>. El DHA es metabolizado por la isoforma 15-lipooxigenasa a nivel del sistema nervioso central, formando 10,17 s-docosatrieno (NPD1), denominado neuropectina<sup>29</sup>, que cumple una función de señalizador homeostático ante desequilibrios celulares, mediante señalización neurotrófica, anti-apoptótica y antiinflamatoria<sup>30</sup>.

## CONCLUSIÓN

Con los resultados observados se puede concluir que la administración de la suspensión de semilla de girasol presenta efecto neuroprotector frente al efecto del etanol, expresado en niveles bajos de lipoperoxidación, aumento del perfil de GSH y una mejor conservación del tejido del cerebro y cerebelo. Estos resultados nos pueden permitir recomendar su consumo de forma racional en aquellas personas que presenten riesgo de desarrollar enfermedades crónicas degenerativas como las relacionadas al tejido nervioso.

## LIMITACIONES

El método de inducción empleado no es una vía común en el daño del tejido nervioso, sin embargo, produce efectos a estrés oxidativo, el cual está asociado a una neurodegeneración.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Garcés, M, Crespo C, Finkel L, Arroyo M. Estudio sobre las enfermedades neurodegenerativas en España y su impacto económico y social; Alianza española de enfermedades neurodegenerativas. (Madrid) 2016; (1): 13-17.
- Del Consuelo Montoya Zamora P, Rodríguez Castañeda F. Enfermedades neurodegenerativas en adultos mayores: Retos en el diagnóstico y tratamiento. Rev. IBM SINA. 2022; 13 (2); 2-3. <https://doi.org/10.48777/ibnsina.v13i2.1311>.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática, Situación de la población adulta mayor Trimestre enero-febrero-marzo. Informe Técnico N°02 - junio 2024; 1.
- Delgado Olivares L., Betanzos Cabrera G., Sumaya Martínez T. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. Investigación y Ciencia. 2010; (50) 10-15.
- Martínez J., Boll-Woehrlén C., Hernández A., Rubio M., Sánchez A. "Radicales libres y estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas" Mensaje Bioquímico, Vol. XXXIV. 2010; 43-59.
- Carvajal Carvajal Carlos. Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. Revista de Medicina Legal de Costa. 2019; 36 (1): 94.
- Guija-Guerra H., Guija-Poma E. Free radicals and antioxidant system. Horiz. Med. 2023; 23 (2), 4-7. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2023.v23n2.12>.
- Guo S, Ge Y, Na Jom K. A review of the phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of common sunflower (*Helianthus annuus L.*) seed and sprouts. Chem Cent J. 2017; 11 (1): 1-8. doi: 10.1186/s13065-017-0328-7.
- Kiczorowska B., Samolińska W., Andrejko D., Kiczorowski P., Antoszkiewicz Z., Zając M., Winiarska-Mieczan A., Bąkowski M. Comparative analysis of selected bioactive components (fatty acids, tocopherols, xanthophyll, lycopene, phenols) and basic nutrients in raw and thermally processed camelina, sunflower, and flax seeds (*Camelina sativa L. Crantz, Helianthus L., and Linum L.*). J Food Sci Technol. 2019; 56 (9): 9.
- Hernández S. R, Fernández C. C, Baptista L. P. "Metodología de la Investigación." Mc. Graw Hill. 6ta edición. 2014, 36-48.
- Witte P. D., Bada M. F. Self-stimulation and alcohol administered orally or intraperitoneally. Exp.Neurol; 1983, 82: 675-682. DOI: 10.1016/0014-4886(83)90089-4.
- Buege J, Aust S. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymology. 1978; 52: 302-306.
- Boyne A. F, Ellman G. L. A methodology for analysis of tissue sulfhydryl components. 1972; 46 (2): 639-653.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall RJ. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. J Biol Chem 1951; 193: 265-275.
- Paredes F, Mendoza R, Rosales A, Cisneros R. Guía del manejo y cuidado de los animales de laboratorio: Ratón. Instituto Nacional de Salud. 2008. 7-49.
- Lee G. Y., Han S. N. The Role of Vitamin E in Immunity. Nutrients. 2018; 10 (11): 1-14. doi: 10.3390/nu10111614.
- Panikar K., Anderson R. Effect of polyphenols on oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neuronal death and brain edema in cerebral ischemia. Revista internacional de ciencias moleculares. 2011; 12 (11): 8181-8207. doi: 10.3390/ijms12118181.
- Lloret A., Esteve D., Monllor P., Cervera-Ferri A., Lloret A. The Effectiveness of Vitamin E Treatment in Alzheimer's Disease. Int J Mol Sci. 2019; 20 (4): 2-11. doi: 10.3390/ijms20040879.
- Ibtissem A., Soudani A., Troudi A., Mounir K., Boudawara T., Zghal N. Selenium and vitamin E, natural antioxidants, protect rat cerebral cortex against dimethoate-induced neurotoxicity. 2011; 101 (3); 165-174.
- Tinggi Ujang. Selenium: its role as antioxidant in human health. Environ Health Prev Med. 2008; 13 (2): 102-108. doi: 10.1007/s12199-007-0019-4.
- Hernández-Mendoza H., Rios-Lugo M. Rol biológico del selenio en el humano. 2009; 8 (2): 64-79.
- Kumar S., Pandey A. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. Scientific World Journal. 2013: 1-16. doi: 10.1155/2013/162750.
- Bhullar K., Rupasinghe H. Polyphenols: multipotent therapeutic agents in neurodegenerative diseases. Oxid Med Cell Longev. 2013; 2013: 1-10.

24. Costa L., Garrick J., Roquè P, Pellacani C. Mechanisms of Neuroprotection by Quercetin: Counteracting Oxidative Stress and More. *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 2016: 1-6.
25. Gan L., Johnson J. Oxidative damage and the Nrf2-ARE pathway in neurodegenerative diseases. *Biochimica et Biophysica. Acta*. 2014; 1842 (8): 1208–1218. doi: 10.1016/j.bbadis.2013.12.011.
26. Mbiydzonyuy NE, Ninsiima HI, Valladares MB, Pieme CA. Zinc and linoleic acid pre-treatment attenuates biochemical and histological changes in the midbrain of rats with rotenone-induced Parkinsonism. *BMC Neurosci*. 2018; 19 (1): 1-10. doi: 10.1186/s12868-018-0429-9.
27. Qu Y, Zhang H. L., Zhang X. P., Jiang H. L. Arachidonic acid attenuates brain damage in a rat model of ischemia/reperfusion by inhibiting inflammatory response and oxidative stress. *Hum Exp Toxicol*. 2017; 37 (2): 135-141. doi: 10.1177/0960327117692134.
28. Valenzuela B Rodrigo, Tapia O Gladys, González E Marcela, Valenzuela B Alfonso. Ácidos grasos omega-3 (EPA y DHA) y su aplicación en diversas situaciones clínicas. *Rev. chil. nutr*. 2011; 38 (3): 356-367.
29. Czapski G., Czubowicz K., Strosznajder J., Strosznajder R. The Lipoxygenases: Their Regulation and Implication in Alzheimer's Disease. *Neurochem Res*. 2016; 41 (2): 8-10. doi: 10.1007/s11064-015-1776-x.
30. Cardoso C., Afonso C., Bandarra N. Dietary DHA and health: cognitive function ageing. *Nutr Res Rev*. 2016; 29 (2): 8-9. doi: 10.1017/S0954422416000184.