

**“EFECTO DEL CONSUMO DE MAQUI (*Aristotelia Chilensis*)
SOBRE NIVELES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN ERITROCITOS
IRRADIADOS DE INDIVIDUOS SANOS”**

**Seminario de Grado presentado en conformidad a los requisitos para obtener
el Grado Académico de “Licenciado en Tecnología Médica con mención en
Imagenología y Física Médica”**

Autores:

Tania Fernanda Hevia Cisternas
Anibal Andrés Mac-Lean Ponce de León
Manuel Matías Mandiola León

Docente Guía: Dora Verónica Siervo Briones

Docente Co-Guía: Carlos Esteban Jara Gutierrez



UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA



**“EFECTO DEL CONSUMO DE MAQUI (*Aristotelia Chilensis*)
SOBRE NIVELES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN ERITROCITOS
IRRADIADOS DE INDIVIDUOS SANOS”**

**Seminario de Grado presentado en conformidad a los requisitos para obtener
el Grado Académico de “Licenciado en Tecnología Médica con mención en
Imagenología y Física Médica”**

Autores:

Tania Fernanda Hevia Cisternas
Anibal Andrés Mac-Lean Ponce de León
Manuel Matías Mandiola León

Docente Guía: Dora Verónica Siervo Briones

Docente Co-Guía: Carlos Esteban Jara Gutierrez

2017

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia, agradecemos a nuestra profesora guía Dora Siervo, por sus consejos y ayuda a lo largo de la investigación.

En segundo lugar, agradecemos a nuestro profesorco-guía Carlos Jara, por su constante ayuda y enseñanzas, tanto teóricas como prácticas en el largo camino que recorrimos en el laboratorio de estrés oxidativo, donde pasamos gratos momentos durante todo nuestro estudio.

Agradecemos también a los jóvenes que participaron como voluntarios en nuestro estudio, ya que sin su buena voluntad y colaboración, este trabajo no hubiese sido posible.

Finalmente, agradecemos a la empresa Nativforlife, por mostrar interés en nuestro estudio, y proporcionarnos el maqui utilizado en nuestra investigación.

DEDICATORIA

“Quisiera agradecer a mi familia, en especial a mis padres por su constante estar y su incondicional apoyo durante mi proceso de formación profesional. Por guiar y ser parte esencial de cada una de mis decisiones. También dedicar este trabajo a mis amigos por creer en mí y tener siempre la palabra precisa en el momento indicado. Y por último agradecer a mis compañeros Anibal y Matías por ser un gran soporte, por su comprensión y apoyo a lo largo de toda la investigación.”

Tania Fernanda Hevia Cisternas

“Agradezco a mi padre y a mi madre, pilares fundamentales dentro de este proceso. Sin ellos, difícilmente pude haber sobrellevado los distintos obstáculos experimentados en esta etapa de la vida que han sido muy difíciles. La motivación de mi familia y amigos han engrandecido mi capacidad de poder sobreponerme a ese tipo de situaciones, lo que finalmente me permitió seguir adelante y concluir los procesos que me propuse terminar hace ya bastante tiempo”

Anibal Andrés Mac-lean Ponce de León

“Dedico este trabajo a mi padre, mis hermanas y a mi pareja por su apoyo incondicional dentro de mi formación profesional, y en forma especial a mi madre, quien ha dado lo mejor de sí para darme las herramientas necesarias en este largo proceso de formación”

Manuel Matías Mandiola León

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El cáncer es un conjunto de enfermedades que se caracteriza principalmente por una deliberada proliferación celular. Éste ocasiona una alta tasa de mortalidad a nivel mundial. A modo de combatir esta enfermedad surge la radioterapia, considerándose un pilar fundamental en el tratamiento de esta patología. Para esto, emplea elevadas dosis de radiación ionizante con el objetivo de generar especies reactivas de oxígeno. En el metabolismo celular normal éstas se encuentran en equilibrio respecto a las defensas antioxidantes del organismo. Sin embargo, frente a ciertos estímulos externos como la radiación, las especies reactivas de oxígeno se elevan provocando una condición llamada estrés oxidativo. Una forma de elevar las defensas antioxidantes es a través de la dieta. El Maqui (*Aristotelia Chilensis*) es el fruto con la mayor capacidad antioxidante del cual se tiene conocimiento. Debido a su composición, podría generar un efecto protector sobre las células normales, que inevitablemente son irradiadas junto a las tumorales durante un tratamiento de radioterapia. **OBJETIVOS:** Evaluar los parámetros de estrés oxidativo en eritrocitos irradiados de individuos sanos sometidos al consumo de Maqui. **METODOLOGÍA:** Se sometió al consumo diario de Maqui a un grupo de 19 personas, por un período de 6 semanas. Se tomaron 3 muestras sanguíneas a lo largo del estudio, la primera fue dividida en una sin irradiar y otra irradiada, ambas sin consumo de maqui, y posteriormente dos muestras sometidas a radiación a las 2 y a las 6 semanas de iniciado el consumo del antioxidante. Dichas muestras fueron analizadas mediante 3 pruebas bioquímicas con el objetivo de determinar el efecto sobre parámetros de estrés oxidativo que produjo el consumo de maqui en las células irradiadas. TBARS, que mide la lipoperoxidación de membranas. CATALASA, que mide la actividad enzimática a nivel celular. TRAP, mide el potencial antioxidante reactivo total. **RESULTADOS:** Fue posible comprobar que el Maqui logró disminuir en un 74% la lipoperoxidación a las dos semanas de consumo y en un 59,3% a las seis semanas. **CONCLUSIÓN:** El Maqui contrarresta el daño que produce la radiación a células sanas del organismo. De esta forma, es posible asimilarlo como un posible complemento en los tratamientos de radioterapia, con el fin de disminuir el daño al tejido sano y aminorar los efectos secundarios producidos por la radiación.

PALABRAS CLAVES: Estrés oxidativo, Especies Reactivas de Oxígeno, Maqui, Cáncer, Radioterapia, Radiación Ionizante, Eritrocitos.

iv. ABSTRACT

INTRODUCTION: Cancer is a set of diseases that is characterized primarily by an uncontrolled cell proliferation. This causes a high mortality rate worldwide. Radiotherapy emerges in order to fight this disease, and is considered a mainstay in the treatment of this pathology. For this, it uses high doses of ionizing radiation, with the aim of generating reactive oxygen species. In normal cell metabolism, reactive oxygen species are in balance with the antioxidant defenses of the organism. Nevertheless, as a response to certain external stimuli such as radiation, the reactive oxygen species rise causing a condition called oxidative stress. One effective way to raise the body's antioxidant defenses is through diet. Maqui (*Aristotelia Chilensis*) is the fruit with the highest antioxidant capacity known so far. Due to its composition, it is thought to generate a protective effect on normal cells, which are inevitably irradiated together with tumor cells during a radiotherapy treatment. **OBJECTIVE:** To evaluate the parameters of oxidative stress in irradiated erythrocytes of healthy individuals submitted to Maqui consumption. **METHODOLOGY:** Maqui was daily consumed by a group of 19 people, for a period of 6 weeks. Three blood samples were taken throughout the study, the first one was divided into one group without being irradiated and one being irradiated, both without consumption of Maqui, and then 2 samples of groups treated with radiation at 2 and 6 weeks after the consumption of the antioxidant. These samples were analyzed by means of 3 biochemical tests with the objective of determining the effect on parameters of oxidative stress that produced the consumption of Maqui in the irradiated cells. TBARS, which measures the lipid peroxidation of membranes. CATALASA, which measures enzymatic activity at cellular level. TRAP, which measures the total reactive antioxidant potential. **RESULTS:** It was possible to verify that the Maqui was able to decrease in 74% the lipoperoxidation after two weeks of consumption and 59.3% after six weeks. **CONCLUSION:** Maqui counteracts the damage that radiation causes to the body's healthy cells. In this way, it is feasible to be considered as a possible complement in the treatments of radiotherapy, in order to lessen the damage to healthy tissue and to reduce the side effects produced by the radiation.

KEY WORDS: Oxidative Stress, Reactive Oxygen Species, Maqui, Radiation Therapy, Cancer, Ionizing Radiation, Erythrocytes.

ACRÓNIMOS

ERO: Especie reactiva de oxígeno

GR: Glóbulos rojos

SOD: Superóxidodismutasa

NOX: NADPH oxidasa

NOS: Óxido nítrico sintasa

H₂O₂: Peróxido de Hidrógeno

O₂⁻: Anión superóxido

OH⁻: Radical hidroxilo

PUFAs: Ácidos grasos poliinsaturados

CAT: Catalasa

GPx: Glutación peroxidasa

TBARS: Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

TRAP: Potencial antioxidante reactivo total

U: Unidades de enzima

mL: Mililitros

mg: Miligramos

uL: Microlitros

gr: Gramos

MDA: Malondialdehído

Gy: Gray

rpm: Revoluciones por minuto

°C: Grados Celsius

TBA: Ácido tiobarbitúrico

m/v: Masa- volumen

TCA: Ácido tricloroacético

ABAP: 2.2 azobis 2 amidinopropano

ABTS: Ácido 2.2 azino bis (3 etil-benzotiazonil 6 sulfónico)

Hz: Hertz

M: Molaridad

mM: Milimoles

FW: Peso molar

nm: Nanómetros

mm: Milímetros

mg EAG: Miligramos equivalente de ácido gálico

ÍNDICE

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO	3
2.1 CÁNCER	3
2.2 RADIOTERAPIA	3
2.3 ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO	4
2.4 FUENTES ENDÓGENAS DE ERO.	5
2.5 ANTIOXIDANTES	6
2.5.1 Antioxidantes endógenos.....	6
2.5.2 Antioxidantes exógenos.....	8
2.6 MAQUI (<i>ARISTOTELIA CHILENSIS</i>).	8
2.7 ESTRÉS OXIDATIVO.....	10
2.8 RELACIÓN DE ERO CON EL CÁNCER.....	10
2.9 ANTIOXIDANTES Y RADIOTERAPIA	13
CAPÍTULO 3: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	14
3.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.	14
3.2 HIPÓTESIS.....	14
3.3 RELEVANCIA.....	14
CAPÍTULO 4: OBJETIVOS	15
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	15
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
CAPÍTULO 5: MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
5.1 TIPO DE ESTUDIO.....	16
5.2 POBLACIÓN EN ESTUDIO.....	16
5.3 MUESTRA.....	16
5.4 VARIABLES.....	17
5.4.1 Variable independiente.	17
5.4.2 Variables dependientes.	17
5.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.	18
5.5.1 Criterios de inclusión.....	18
5.5.2 Criterios de exclusión.....	18
5.6 FUENTES Y MÉTODO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.	19
5.7 PROCEDIMIENTOS Y ACTIVIDADES.	19
5.7.1 Reclutamiento individuos voluntarios.....	19

5.7.2 Primera toma de muestra sanguínea	20
5.7.3 Entrega del Maqui.....	20
5.7.4 Caracterización del maqui a utilizar	20
5.7.5 Análisis de las muestras en el Laboratorio.....	21
5.8 PLAN DE ANÁLISIS	29
5.9 CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	29
5.9.1. Autonomía.	29
5.9.2. No Maleficencia.	30
5.9.3. Beneficencia.	31
5.9.4 Justicia.	31
5.10 FACTIBILIDAD DEL PROYECTO.	32
CAPÍTULO 6: RESULTADOS	33
6.1 TBARS.....	33
6.1.2 Lipoperoxidación promedio. ($n \pm d.e.$)	34
6.2 CATALASA	35
6.2.1 Actividad de Catalasa promedio. ($n \pm e.e.$).....	36
6.3 TRAP	37
6.3.1 Potencial Antioxidante reactivo total promedio. ($n \pm e.e.$).....	38
CAPÍTULO 7: DISCUSIÓN	39
CAPÍTULO 8: CONCLUSIÓN	42
CAPÍTULO 9: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
CAPÍTULO 10: ANEXOS.....	49
10.1 ENCUESTA DE PARTICIPACIÓN (ANEXO 1)	49
10.2 CONSENTIMIENTO INFORMADO (ANEXO 2)	50
10.3 RESULTADOS ANÁLISIS INDIVIDUO POR INDIVIDUO (ANEXO 3).....	51

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 6.1: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO DE CADA INDIVIDUO.	33
FIGURA 6.2: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO DEL CONJUNTO DE INDIVIDUOS.....	34
FIGURA 6.3: ACTIVIDAD PROMEDIO DE LA ENZIMA CATALASA DE CADA INDIVIDUO.....	35
FIGURA 6.4: ACTIVIDAD PROMEDIO DE LA ENZIMA CATALASA DEL CONJUNTO DE INDIVIDUOS.	36
FIGURA 6.5: POTENCIAL ANTIOXIDANTE REACTIVO TOTAL DE CADA INDIVIDUO.....	37
FIGURA 6.6: POTENCIAL ANTIOXIDANTE REACTIVO TOTAL PROMEDIO DEL CONJUNTO DE INDIVIDUOS.	38
FIGURA 10.1: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 1.	51
FIGURA 10.2: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 2.....	52
FIGURA 10.3: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 3.	53
FIGURA 10.4: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 4.....	54
FIGURA 10.5: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 5.....	55
FIGURA 10.6: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 6.....	56
FIGURA 10.7: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 7.	57
FIGURA 10.8: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 8.....	58
FIGURA 10.9: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 9.....	59
FIGURA 10.10: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 10	60
FIGURA 10.11: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 11.	61
FIGURA 10.12: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 12.	62
FIGURA 10.13: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 13.	63
FIGURA 10.14: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 14.	64
FIGURA 10.15: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 15.	65
FIGURA 10.16: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 16.	66
FIGURA 10.17: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 17.	67
FIGURA 10.18: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 18.	68

FIGURA 10.19: LIPOPEROXIDACIÓN CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 19.	69
FIGURA 10.20: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 1....	70
FIGURA 10.21: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 2.	71
FIGURA 10.22: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 3...72	72
FIGURA 10.23: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 4...73	73
FIGURA 10.24: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 5...74	74
FIGURA 10.25: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 6...75	75
FIGURA 10.26: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 7...76	76
FIGURA 10.27: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 8...	77
FIGURA 10.28: ACTIVIDAD DE CATALASA CORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 9...	78
FIGURA 10.29: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 10	79
FIGURA 10.30: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 11	80
FIGURA 10.31: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 12	81
FIGURA 10.32: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 13	82
FIGURA 10.33: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 14	83
FIGURA 10.34: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 15...	84
FIGURA 10.35: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 16...	85
FIGURA 10.36: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 17...	86
FIGURA 10.37: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 18...	87
FIGURA 10.38: ACTIVIDAD DE CATALASACORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 19...	88

FIGURA 10.39: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 1.....	89
FIGURA 10.40: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 2.....	90
FIGURA 10.41: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 3.....	91
FIGURA 10.42: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 4.....	92
FIGURA 10.43: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 5.....	93
FIGURA 10.44: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 6.....	94
FIGURA 10.45: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 7.....	95
FIGURA 10.46: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 8.....	96
FIGURA 10.47: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 9.....	97
FIGURA 10.48: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 10.....	98
FIGURA 10.49: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 11.....	99
FIGURA 10.50: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 12.....	100
FIGURA 10.51: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 13.....	101
FIGURA 10.52: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 14.....	102
FIGURA 10.53: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 15.....	103
FIGURA 10.54: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 16.....	104
FIGURA 10.55: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 17.....	105

FIGURA 10.56: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE AL INDIVIDUO 18.....	106
FIGURA 10.57: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTALCORRESPONDIENTE ALINDIVIDUO 19... ..	107

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 10.1: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 1.....	51
TABLA 10.2: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 2.....	52
TABLA 10.3: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 3.....	53
TABLA 10.4: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 4.....	54
TABLA 10.5: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 5.....	55
TABLA 10.6: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 6.....	56
TABLA 10.7: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 7.....	57
TABLA 10.8: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 8.....	58
TABLA 10.9: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 9.....	59
TABLA 10.10: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 10.....	60
TABLA 10.11: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 11.....	61
TABLA 10.12: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 12.....	62
TABLA 10.13: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 13.....	63
TABLA 10.14: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 14.....	64
TABLA 10.15: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 15.....	65
TABLA 10.16: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 16.....	66
TABLA 10.17: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 17.....	67
TABLA 10.18: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 18.....	68
TABLA 10.19: LIPOPEROXIDACIÓN PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 19.....	69
TABLA 10.20: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 1.....	70
TABLA 10.21: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 2... ..	71
TABLA 10.22: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 3.....	72
TABLA 10.23: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 4.....	73
TABLA 10.24: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 5.....	74
TABLA 10.25: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 6.....	75
TABLA 10.26: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 7.....	76
TABLA 10.27: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 8.....	77

TABLA 10.28: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 9.....	78
TABLA 10.29: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 10	79
TABLA 10.30: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 11	80
TABLA 10.31: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 12	81
TABLA 10.32: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 13	82
TABLA 10.33: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 14	83
TABLA 10.34: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 15....	84
TABLA 10.35: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 16....	85
TABLA 10.36: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 17....	86
TABLA 10.37: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 18....	87
TABLA 10.38: ACTIVIDAD DE CATALASA PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 19....	88
TABLA 10.39: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 1.....	89
TABLA 10.40: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 2.....	90
TABLA 10.41: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 3.....	91
TABLA 10.42: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 4.....	92
TABLA 10.43: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 5.....	93
TABLA 10.44: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 6.....	94
TABLA 10.45: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 7.....	95
TABLA 10.46: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 8.....	96
TABLA 10.47: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 9.....	97
TABLA 10.48: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 10.....	98

TABLA 10.49: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 11.....	99
TABLA 10.50: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 12.....	100
TABLA 10.51: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 13.....	101
TABLA 10.52: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 14.....	102
TABLA 10.53: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 15.....	103
TABLA 10.54: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 16.....	104
TABLA 10.55: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 17.....	105
TABLA 10.56: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 18.....	106
TABLA 10.57: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL PROMEDIO + D.E. DEL INDIVIDUO 19.....	107

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

El cáncer se caracteriza como un conjunto de afectaciones que sufre la célula y que producen un cambio significativo en el normal funcionamiento de esta **(1)**. Es un problema de índole mundial, dado la gran cantidad de personas que lo padecen, y los elevados costos que genera en salud pública **(2)**. En nuestro país, se estima que un cuarto de las muertes al año, son a causa de cáncer, siendo predominante el de estómago en varones, y el de mama en mujeres **(3)**.

La radioterapia, es una poderosa herramienta en el tratamiento del cáncer. Esta consiste en aplicar ciertas dosis de radiación ionizante sobre el tumor, con el fin de eliminar las células que se encuentran descontroladas, y evitar que el tumor siga creciendo y expandiéndose. El mecanismo mediante el cual genera daño, guarda estrecha relación con la producción de especies reactivas de oxígeno, y el descontrol que estas producen dentro de la célula, que termina finalmente eliminándola. Sin embargo, en la práctica, la radiación denosta no tan solo a células tumorales, sino también al tejido sano que rodea al tumor, así como también al que se interpone entre la superficie de la piel hasta la profundidad del lecho tumoral **(5)**. Este daño al tejido sano es el responsable de los diversos malestares o efectos secundarios que sufren los pacientes que se someten a un tratamiento de radioterapia.

Las especies reactivas de oxígeno se producen no tan solo con radiación, sino que de diversas formas, y están presentes en el organismo de forma controlada, en un fino juego de equilibrio llevado a cabo por agentes pro oxidantes y antioxidantes. Esto se conoce con el nombre de equilibrio REDOX. Los antioxidantes juegan un rol fundamental en el control de REDOX. Existen antioxidantes de tipo endógeno, principalmente de tipo enzimático, como también antioxidantes exógenos, los cuales incorporamos al organismo mediante la dieta. **(7)**

Recientes estudios **(25)**, sostienen que una dieta elevada en antioxidantes podría ayudar a contrarrestar los efectos secundarios de las terapias con radiación, como también mejorar la eficacia misma de las terapias.

El Maqui (*Aristoteliachilensis*) es el fruto con el mayor poder antioxidante conocido. De esta forma, en la presente investigación se evalúa el efecto que produce el consumo de Maqui

durante un determinado periodo de tiempo sobre células sanas, luego de ser sometidas a radiación. Para lograr esto, se trabaja con eritrocitos de un grupo de individuos sanos, los cuales se dividieron en diferentes controles en el tiempo, y se analizaron parámetros de estrés oxidativo mediante tres pruebas bioquímicas. Finalmente, mediante estadística, se establece si el efecto del maqui sobre las células sanas es significativo o no.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1 CÁNCER

El cáncer corresponde a un conjunto de enfermedades que se caracterizan por la proliferación deliberada de células, las cuales presentan diversas anomalías. Principalmente, implica una alteración del material genético, produciendo cambios significativos en éste, lo que permite a las células sobrevivir, replicarse, y evadir los diferentes mecanismos reguladores del ciclo celular **(1)**.

El cáncer es considerado un problema de salud pública de tipo mundial. Se estima que cada año aproximadamente 14 millones de personas padecen esta enfermedad, teniendo una mortalidad de 8,2 millones de personas en todo el mundo. Existen diversas causas asociadas al desarrollo del cáncer, como el índice de masa corporal elevado, ingesta reducida de frutas y verduras, falta de actividad física, consumo de tabaco, de alcohol, drogas, entre otras**(2)**. En Chile, se estima que cada año uno de cada cuatro individuos mueren de cáncer, siendo los más comunes el de estómago en hombres, y el de mama en mujeres**(3)**.

2.2 RADIOTERÁPIA

El tratamiento y manejo clínico del cáncer suele apuntar en tres direcciones: la extirpación del tumor mediante cirugía, quimioterapia, radioterapia, o estos mismos de forma concomitante. La radioterapia es considerada un pilar fundamental debido a su alto grado de efectividad. Según estudios realizados en la Unión Europea, se estima que cerca del 40% de los pacientes tratados con radioterapia exclusiva o combinada con otra modalidad logran curarse **(4)**.

La Radioterapia consiste en la aplicación de cierta dosis de radiación ionizante sobre el tumor, buscando eliminar las células tumorales, impidiendo que estas crezcan y se multipliquen. El fin de la radioterapia es atacar la zona donde se encuentra el tumor, intentando dentro de lo

posible proteger órganos sanos circundantes, con el fin de no dañar células sanas. Sin embargo, en la práctica, resulta imposible irradiar solamente a las células cancerosas, viéndose siempre afectadas las células que rodean al tejido neoplásico. El mecanismo mediante el cual la radiación logra generar daño al tumor puede ser de dos tipos: directo e indirecto. El primero se caracteriza por generar un daño directo sobre el material genético de la célula, provocando la ionización de los átomos que componen la molécula de ADN. El segundo, es de tipo indirecto, debido a que se genera alteración en las moléculas de agua presentes al interior de la célula, proceso denominado como radiólisis del agua, en el cual éstas se ionizan y dan lugar a la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO), dentro de las cuales se incluyen los radicales libres (RL)(5).

2.3 ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

Las ERO son especies químicas que se forman durante el metabolismo normal del oxígeno, elemento que sufre reducciones incompletas, vale decir la ganancia de un electrón. El O_2 , es capaz de generar especies reactivas de oxígeno (ERO), las que se consideran altamente tóxicas debido a su capacidad de dañar otras moléculas. Cuando el O_2 Adquiere un electrón se convierte en anión radical Superóxido (O_2^-), el cuál formará el peróxido de hidrogeno (H_2O_2), seguido por la formación del radical hidroxilo (OH^-), proceso que finalizará con la formación de agua (H_2O)(6, 7).

El radical hidroxilo es quizás el más nocivo, dada su alta reactividad y corta vida media, por lo que es capaz de reaccionar con todo tipo de biomoléculas. Las más vulnerables son los PUFAs, que sufren la pérdida de átomos de hidrógeno de sus grupos metilenos y se transforman asimismo en radicales lipoperóxidos que, si no son neutralizados, continuarán con el proceso. La producción de radicales hidroxilos, a través de la reacción de Fenton, está facilitada por metales de transición como el Cu^{+2} y Fe^{+2} , que catalizan esta reacción (8).

Entre las ROS se encuentran los radicales libres, que son moléculas o iones que tienen en su estructura uno o más electrones desapareados en su orbital más externo, lo cual les confiere la propiedad de ser altamente reactivos. Esta alta reactividad les permite interactuar con biomoléculas constituyentes de las células como lípidos, proteínas y DNA, además de reaccionar

con otras moléculas, generando especies reactivas de carácter lipídico, especies reactivas de nitrógeno, especies reactivas de cloro, entre otras(9).

Las especies reactivas de oxígeno se pueden generar durante el metabolismo propio de las células. Las fuentes endógenas más importantes son algunos organelos como la mitocondria, el peroxisoma y el lisosoma, además de enzimas oxido-reductasas como NADPH oxidasa, óxido nítrico sintasa y xantinaoxidoreductasa(10). Además se pueden producir por fuentes exógenas como lo son contaminantes ambientales, radiaciones, ejercicio físico extenuante, consumo de alcohol, tabaco, drogas, una alimentación no adecuada, exposición a fertilizantes o pesticidas, entre otros, aumentando la concentración de ROS a nivel sistémico y generando estrés oxidativo(11).

2.4 FUENTES ENDÓGENAS DE ERO.

La mitocondria es el organelo productor de ERO intracelular más importante. La producción de ERO por parte de este organelo está íntimamente vinculada con la producción de ATP, ya que se genera durante la fosforilación oxidativa, en específico por el escape de electrones (e^-) desde los complejos de la cadena transportadora de electrones, los que reaccionan con el O_2 formando O_2^- (12,13).

Otra fuente endógena de ERO son los lisosomas, los cuales tienen como función la digestión celular tanto de moléculas extracelulares como intracelulares que han sido endocitadas. Esta función la realiza a través de la acción catabólica de hidrolasas (como las catepsinas), y la producción de ERO se realiza en base a iones metálicos contenidos en las proteínas digeridas, como Fe^{2+} y Cu^{2+} . Los iones metálicos son responsables de la generación del radical (OH^\cdot). A través de la reacción de Haber-Weiss(14,15,16).

Los peroxisomas son otro de los importantes organelos productores de ERO y se les atribuye un 35% del H_2O_2 generado en la célula. Este organelo es responsable de llevar a cabo funciones metabólicas celulares como la β -oxidación de los ácidos grasos, donde es generado principalmente H_2O_2 como producto de la acción de varias enzimas oxidoreductasas. Además de

la producción de H_2O_2 , en los peroxisomas se genera O_2^- a través de la actividad de xantina oxidasa y NO por óxido nítrico sintasa(17,18).

2.5 ANTIOXIDANTES

Para mantener controlada la producción de los radicales libres, juegan un papel fundamental los antioxidantes (AOX). Los AOX son sustancias capaces de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres mediante la entrega de electrones a éstos. Existen antioxidantes de tipo endógeno, los cuales son producidos a nivel celular, y existen antioxidantes exógenos que son aquellos que se incorporan al organismo a través de la dieta (19).

2.5.1 Antioxidantes endógenos

Como primera barrera, tenemos a la Superóxido dismutasa (SOD) que cataliza la conversión del anión superóxido (O_2^-) a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno (20). Las SOD están presentes en casi todas las células aerobias y en el líquido extracelular (21).

La SOD depende de ciertos iones metálicos que actúan como cofactores, que pueden ser cobre, zinc, manganeso o hierro. En los seres humanos, las SODs de zinc o cobre están presentes en el citosol, mientras que las SODs de manganeso se encuentran en las mitocondrias. También existe una tercera forma de SODs en líquidos extracelulares, que contiene el cobre y el zinc en sus sitios activos(22).

El anión superóxido es liberado por procesos tales como la fosforilación oxidativa. La enzima SOD es capaz de tomar dos moléculas de O_2^- más 2H para formar como producto H_2O_2 . El peróxido de hidrógeno es un residuo del metabolismo celular de muchos organismos vivos y tiene una función protectora contra los microorganismos patógenos, principalmente anaerobios, pero dada su toxicidad debe transformarse rápidamente en compuestos menos peligrosos(7, 23).

Es aquí donde cobra importancia la función de las enzimas capaces de remover el peróxido de hidrógeno como lo son la enzima Catalasa (CAT) y el complejo glutatión, los cuales obtienen agua como producto final.

La catalasa (CAT) es una enzima que cataliza la conversión del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno usando hierro o manganeso como cofactor **(24)**. Esta enzima se localiza en los peroxisomas de la mayoría de las células eucariotas **(25)**.

La catalasa tiene una amplia distribución en el organismo humano: una alta concentración en hígado y riñón, baja concentración en tejido conectivo, epitelios y prácticamente nula en tejido nervioso. Se localiza a nivel celular en mitocondrias, peroxisomas, citosol y también en glóbulos rojos; presenta dos funciones fundamentales: catalítica y peroxidativa y forma parte del sistema antioxidante CAT/SOD que actúa en presencia de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno **(26)**. El sistema del glutatión incluye glutatión, glutatión reductasa, glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión S-transferasa. Éste se encuentra en animales, plantas y microorganismos **(27)**. La glutatión peroxidasa es una enzima que contiene cuatro cofactores de selenio que catalizan la ruptura del peróxido de hidrógeno y de hidroperóxidos orgánicos. La glutatión peroxidasa es dependiente de selenio y cataliza la reacción de peróxido de hidrógeno a lipoperóxido (L-OOH) usando como agente reductor el glutatión reducido (GSH) y se localiza en: citosol (eritrocitos) y lisosomas (neutrófilos, macrófagos y otras células del sistema inmune). Hay por lo menos cuatro diferentes isoenzimas de glutatión peroxidasa en animales **(28)**.

La glutatión peroxidasa I es la más abundante y es muy eficiente en remover el peróxido de hidrógeno, mientras que la glutatión peroxidasa IV es la más activa con los hidroperóxidos de lípidos. La glutatión reductasa tiene una doble acción antioxidante, ya que cataliza la reducción de glutatión oxidado (GSSG) a reducido (GSH), el cual es un importante antioxidante celular. Estas enzimas se encuentran en niveles particularmente elevados en el hígado y también sirven en el metabolismo de la detoxificación **(29)**.

Existe evidencia de que ciertos compuestos presentes en la dieta humana podrían inducir la expresión de genes que codifican para la síntesis de algunas de las enzimas antioxidantes endógenas como las descritas. Ejemplo de algunos de estos compuestos son ciertos polifenoles presentes en frutas y hortalizas (como sulforafano), isotiocianatos presentes en crucíferas (brócoli-coliflor) y curcuminoides (como curcumina) de la cúrcuma. Si bien los alimentos no constituyen un aporte efectivo de enzimas antioxidantes, ya que tras su ingesta tales se degradan durante el proceso de digestión, algunos sí pueden contribuir a su funcionamiento óptimo aportando aquellos micro-minerales que son requeridos para la biosíntesis de tales enzimas. Es

preciso aclarar, sin embargo, que un mayor aporte dietario de micro-minerales como Cu, Zn, Mn, Fe, o Se, sí podría suponer un incremento de la actividad de enzimas antioxidantes cuando el organismo exhibe una condición de déficit en tales micro-minerales. De no existir tal deficiencia o carencia, no es esperable que su mayor ingesta (o suplementación) se convierta per se en un incremento de la actividad de éstas**(30)**.

2.5.2 Antioxidantes exógenos

Los antioxidantes no enzimáticos o exógenos, son aquellos incorporados por la dieta, los cuales actúan como moléculas suicidas, pues sacrifican su propia integridad con el fin de evitar alteraciones en biomoléculas. La forma en que lo realizan es oxidándose ellos mismos, es decir, cediendo un electrón al radical libre, quedando estas mismas con déficit de un electrón. Es por esta razón, que la reposición de éstos debe ser continua, mediante la ingesta de los nutrientes que los contienen **(31)**. Entre estos antioxidantes se encuentran algunas vitaminas como el ácido ascórbico y α -tocoferol, además de numerosos compuestos presentes en frutas, verduras y subproductos de estos, como resveratrol, flavonoides, taninos, catequinas, etc**(32)**.

Un fruto con alta capacidad antioxidante que ha tomado renombre es el Maqui.

2.6 MAQUI (*Aristoteliachilensis*).

El Maqui es un fruto originario de Chile, de la familia *Elaeocarpaceae* obtenido de arbustos verdes denominados “macales”, el cual produce pequeñas bayas de no más de 6 mm de diámetro de color púrpura/negro, que podemos encontrar entre la IV y XI región **(33)**.

El Maqui ha sido utilizado desde la antigüedad por el pueblo Mapuche en el tratamiento de diversas enfermedades. El fruto de esta especie se consume ampliamente, lo que aporta bastante conocimiento popular sobre éste. El pueblo originario utiliza sus hojas en forma de infusión, en el tratamiento de diarreas, amigdalitis, faringitis y úlceras bucales. Sin embargo, ha sido poco estudiado científicamente respecto a su uso terapéutico **(34)**.

Esto se apoya en hallazgos que describen la elevada concentración de polifenoles, como los flavonoides, en las hojas de *Aristolochia Chilensis*, lo que explicaría la alta capacidad antioxidante del Maqui(35).

Los compuestos fenólicos constituyen una gran familia de metabolitos secundarios con distintas características químicas y propiedades biológicas. Una de las características más importantes de los compuestos fenólicos, es la de neutralizar la acción de radicales libres atrapándolos, evitando o retardando procesos de lipoperoxidación, la agregación de plaquetas y consecuentemente el daño celular. En este contexto, si existe disminución de antioxidantes plasmáticos, se favorece la lipoperoxidación, lo cual contribuye a la generación de disfunción endotelial presente en patologías como la hipertensión, hipercolesterolemia y aterosclerosis (36).

El Maqui, como todas las plantas, biosintetiza polifenoles. Desde el punto de vista químico, todos los polifenoles presentan en su estructura, a lo menos, uno o más grupos hidroxilos (OH) unidos a un anillo aromático. Existen dos categorías en las cuales están distribuidos los polifenoles. La primera corresponde a los Flavonoides. Dentro de esta categoría existen cinco subtipos de Flavonoides, ellos son: Antocianidinas, flavanoles, flavanonas, flavonas e isoflavonas. La segunda categoría está representada por los de tipo no flavonoides: Mayormente comprenden alcoholes mono fenólicos y ácidos fenólicos. La capacidad de los polifenoles para actuar como antioxidantes, tanto la de los flavonoides como de aquellos no flavonoides, depende principalmente de la presencia de hidroxilos en su estructura, ya que éstos le confieren la habilidad para donar un átomo de hidrógeno o como donante de un electrón a un radical libre (o a otras especies reactivas). Particularmente en el caso de los flavonoides, algunos pueden actuar como antioxidantes a través de su habilidad para quelar ciertos metales de transición (cobre y hierro), lo cual evita la formación de radicales libres hidroxilo (a partir de peróxido de hidrógeno en la reacción de Fenton) y de superóxido (a partir de oxígeno molecular) (37).

Los compuestos polifenólicos de los frutos de Maqui han demostrado poseer efectos antioxidantes *in vitro*. El jugo demostró sobre las células endoteliales humanas, evitar la peroxidación lipídica inducida por cobre. Dicha actividad protectora endotelial sería atributo principalmente del contenido en polifenoles del jugo y su efecto antioxidante frente a situaciones de estrés oxidativo. De igual modo la combinación de jugo de limón y jugo de maqui demostró importantes efectos antioxidantes, frente al radical anión superóxido e hidroxilo. Se demostró que

el jugo concentrado de Maqui presenta mayores contenidos de fenoles (12,32mm Fe/100gr) y mayores capacidades antioxidantes en comparación con los jugos de mora, arándano, cranBerry, frambuesa y frutilla (3,10 mm Fe/100gr). Nutricionalmente, cada 100 gr de frutos contiene 150 calorías, 0,8 gr de proteínas, 0,8 gr de fibra cruda, 1,2 gr de cenizas, 87 mg de calcio, 44 mg de fósforo, 30,5 mg de hierro y 296 mg de potasio. Contiene también un considerable porcentaje de vitamina C y oligoelementos, destacando la presencia de Br, Zn, Cl, Co, Cr, Vn, Tn y Mo. Las hojas maduras del Maqui solo se diferencian de las jóvenes por su menor contenido de potasio y mayor de sodio **(38)**.

2.7 Estrés Oxidativo.

A pesar de la alta cantidad de mecanismos de defensa antioxidante, éstos se pueden ver afectados por la producción descontrolada de ERO. Cuando el contenido intracelular de ERO sobrepasa las defensas antioxidantes de la célula se produce el estrés oxidativo, a través del cual se induce daño a moléculas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos **(39)**.

Este exceso se puede deber a factores endógenos como fuentes exógenas, como por ejemplo la radiación ionizante **(40)**, la cual acelera y potencia la producción de ERO, generando un desequilibrio con respecto a las defensas antioxidantes, lo que resulta en un daño a lípidos, proteínas y ADN. En lo que respecta al daño del ADN, se puede generar rotura en una o ambas hebras y formar productos relacionados con la carcinogénesis. Este desequilibrio, entre producción de ERO y la capacidad antioxidante total es conocido como Estrés Oxidativo, y es responsable tanto del inicio como de la progresión de numerosas patologías, entre las cuales se encuentra el cáncer **(41)**.

2.8 RELACIÓN DE ERO CON EL CÁNCER

El cáncer es una patología caracterizada por un aumento en la producción de ERO intracelular, lo que repercute en un metabolismo anormal de la célula y un daño en el ADN. Esta enfermedad se caracteriza por tres fases distintas: inicio, promoción y progresión. Inicialmente, las ERO oxidan las moléculas de ADN y generan mutaciones en éstas, para luego provocar la

expresión anormal de genes en la etapa de promoción. Por último, en la progresión del cáncer, las ERO producen un aumento de las alteraciones genéticas y pueden estimular la movilidad de las células cancerígenas, favoreciendo como consecuencia, la invasión a otros tejidos(42).

El desarrollo de la patología se puede deber a numerosos factores, tanto endógenos como exógenos, que provocan el aumento de la producción de ERO a nivel intracelular. Se ha estudiado que el nivel de tolerancia a las ERO en las células tumorales es mayor en comparación con las células normales, razón por la cual se utilizan altas dosis de radiación en radioterapia(43).

Se han descrito siete características específicas de las células cancerígenas, seis de las cuales fueron descritas por Hahn & Weinberg en el año 2002, y posteriormente la séptima descrita por Kroemer & Pouyssegur en 2008. Entre estas características se destacan: angiogénesis o formación de nuevos vasos sanguíneos, evasión de la apoptosis, la capacidad de migrar a otros órganos o metástasis, proliferación descontrolada, entre otras. A estas siete características se sumaron cinco más, vinculadas con el estado oxidativo presente en la célula cancerígena. Éstas son importantes, en cuanto a que se relacionan con las ERO y son: estrés metabólico, estrés a proteínas, estrés mitótico, estrés oxidativo y estrés por daño a ADN(44).

Sin embargo, las ERO de igual forma cumplen una función esencial en las primeras características descritas de la célula cancerígena. En primer lugar, la proliferación celular acelerada requiere grandes cantidades de ATP para los procesos anabólicos implicados en el crecimiento y proliferación. Dada esta situación, la célula funciona con un metabolismo celular anormal producto de la oxidación del ADN mitocondrial, lo que resulta en la mutación de varias enzimas mitocondriales, las que generarán mayor cantidad de ATP, y a su vez más ERO (45). Este proceso se encuentra mediado por la enzima SOD mitocondrial (MnSOD). De hecho, al disminuir la actividad de MnSOD se ve activada la proliferación, debido al incremento de O_2^- y a la disminución de H_2O_2 intracelular, mientras que al aumentar la actividad de MnSOD se activa la quiescencia por la disminución de O_2^- y el aumento de H_2O_2 (46).

En el caso de la relación de las ERO con la apoptosis, se sabe que un aumento de las especies reactivas de oxígeno detiene el ciclo celular y puede inducir la apoptosis. La apoptosis es el proceso que controla y regula la muerte celular, el cual es mediado por caspasas en la mayoría de los casos. Existen tres tipos de apoptosis: la extrínseca, que es iniciada por receptores

de muerte transmembrana, la intrínseca activada por la pérdida del potencial de membrana mitocondrial y la apoptosis independiente de caspasas(47). Un aumento del peróxido de hidrogeno o del óxido nítrico induce quinasas responsables de fosforilar proteínas anti-apoptóticas como Bcl2- Bcl- XL, pero también las ERO pueden activar quinasas que aumentan la expresión de Bax, el cual modifica el complejo Bax/ Bcl-2, lo que genera la pérdida del potencial de membrana y permite la liberación de ERO al citoplasma, así como también la participación del citocromo C, lo que se traduce en la activación de las vías pro- apoptóticas(48).A su vez, las ERO también pueden estimular la activación de receptores TNF, lo que conlleva a la respuesta de las caspasas por vía extrínseca, provocando la muerte celular por este medio.El aumento de las ERO también influencia el proceso de metástasis o migración de las células cancerígenas a otras partes del cuerpo a través del torrente sanguíneo. Las ERO producen un aumento en la producción de proteínas de la matriz extracelular a través del factor de crecimiento tumoral, el cual promueve el incremento de ERO intracelulares, asociado a proteínas quinasas, las que ya fueron activadas por otra vía.Esto genera la pérdida de la polaridad y de las uniones entre las células, lo que permite a la célula cancerígena migrar(49).

La célula tumoral cambia de metabolismo aeróbico a anaeróbico incluso cuando hay presencia de oxígeno, versus la célula normal que lo hace sólo en caso de hipoxia. La hipoxia y reoxigenación dentro de la misma célula cancerígena son las responsables de generar más ERO. Cuando se pasa a hipoxia se inducen factores de transcripción, los cuales suprimen las defensas antioxidantes, aumentando las ERO y la producción de lactato y CO₂, los que median la activación del factor de crecimiento epitelial vascular, el cual es el responsable de generar nuevos vasos sanguíneos, los que irrigan y reoxigenan los sitios hipóxicos en un tumor(50).

2.9 ANTIOXIDANTES Y RADIOTERÁPIA

Tomando en cuenta lo anterior, actualmente, es objeto de investigación encontrar formas de proteger a las células sanas de los tratamientos con Radioterapia. Se ha apuntado a la alta capacidad protectora que poseen algunos antioxidantes naturales de tipo exógeno como el Maqui. El problema fundamental radica en la protección indiferenciada que realizan los antioxidantes, tanto a las células sanas, como a las células tumorales. Existe controversia respecto a este tema, ya que existen investigadores que sostienen que los antioxidantes suplementarios no vendrían en desmedro de la eficacia de las terapias citotóxicas, incluso creen que el consumo de antioxidantes durante la radioterapia no sólo alivia los efectos adversos, sino que también mejora la eficacia de las terapias. Sin embargo, el consumo o uso de éstos en complemento con los tratamientos para el cáncer sigue siendo controvertido, debido a que por otra parte, muchos oncólogos toman la posición de que los antioxidantes por su naturaleza, socavan el mecanismo de formación de radicales libres, que es lo que busca la quimioterapia y la radioterapia para combatir las células tumorales, por lo que evitan y prohíben el consumo de éstos(51).

CAPÍTULO 3: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

3.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿El Maqui protege al eritrocito del estrés oxidativo generado por Radioterapia?

3.2 HIPÓTESIS.

El consumo de Maqui disminuye los niveles de estrés oxidativo en eritrocitos sometidos a una dosis de radiación ionizante equivalente a la utilizada en un tratamiento de Radioterapia.

3.3 RELEVANCIA.

La radioterapia es uno de los tres pilares de tratamiento para un individuo diagnosticado con cáncer. Las altas dosis de radiación ionizante utilizadas, producen daño a las células tumorales, como también a las células sanas, mediante procesos de estrés oxidativo. El tejido hematopoyético, es un tejido del cuerpo que siempre está expuesto a los efectos de la radiación, sea el cáncer que sea. Es ampliamente sabido el efecto protector que producen los antioxidantes sobre las células, disminuyendo los niveles de estrés oxidativo de éstas. En nuestro estudio, buscamos evaluar el posible efecto protector que tiene el Maqui en relación a las células sanas, específicamente en eritrocitos, pudiendo de esta forma, contribuir a la información existente y a algún estudio futuro donde el objetivo sea generar nuevos tratamientos mediante la combinación de la radioterapia y los antioxidantes.

CAPÍTULO 4: OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL.

Evaluar el efecto protector que genera el consumo de Maqui en eritrocitos irradiados de individuos sanos a través de parámetros de estrés oxidativo.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

4.2.1 Determinar el nivel de lipoperoxidación (TBARS) en muestras de eritrocitos sin irradiar, irradiados e irradiados luego del consumo de maqui.

4.2.2 Medir la actividad de la enzima antioxidante catalasa (CAT) en muestras de eritrocitos sin irradiar, irradiados e irradiados luego del consumo de maqui.

4.2.3 Establecer la capacidad antioxidante total (TRAP) en muestras de eritrocitos sin irradiar, irradiados e irradiados luego del consumo de maqui.

CAPÍTULO 5: MATERIALES Y MÉTODOS.

5.1 TIPO DE ESTUDIO.

Este estudio, debido a las características que posee, corresponde a un ensayo cuasi experimental, o no randomizado.

5.2 POBLACIÓN EN ESTUDIO.

La población de nuestro estudio serán alumnos hombres de la carrera de Tecnología Médica de la facultad de Medicina de la Universidad de Valparaíso, que se encuentren cursando primero o segundo año, correspondiente al plan común de la carrera.

5.3 MUESTRA

Debido a las características de nuestro estudio, el tipo de muestreo es no probabilístico, por conveniencia.

El tamaño muestral fue calculado teniendo en cuenta que las muestras a comparar serán correlacionadas (pareadas). Además, hubo que hacer supuestos sobre la variabilidad esperada (Desviación estándar de las diferencias) debido a que no se tienen datos en la literatura que puedan orientar este valor. Es así como se hizo uso del rango de los valores que se han descrito para la enzima catalasa, que va de 463.4 U/mg de proteína 1134 U/mg de proteína. Si la variabilidad fuera el 50% de la calculada para estos 2 valores (474 U/mg de proteína) y la disminución de la enzima, producto del tratamiento, fuera del 20% del promedio de los valores antes mencionados (798 U/mg de proteína), el número de sujetos que se deberá estudiar es de 16. Esto es si se acepta un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.2 en un contraste unilateral. Esto permitiría detectar una diferencia igual o superior a 160 U/mg de proteína. Se asume una desviación estándar de 237. Se ha estimado además una tasa de pérdidas de seguimiento del 10%.

Este mismo procedimiento se aplicó para la prueba de TBARS, donde los valores van de 145.7 nmol MDA/mL a 387.0 nmol MDA/mL. En este caso, usando los mismos supuestos anteriores, se requerirían 12 sujetos, aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.2 en un contraste unilateral, donde la diferencia a detectar en este caso sería igual o superior a 67 nmol MDA/mL, asumiendo una desviación estándar de 85.3 y estimando una tasa de pérdidas de seguimiento del 10%. Cuando se hacen varias estimaciones de tamaño de muestra, se debe tomar el máximo tamaño muestral estimado. En este caso, sería 16.

5.4 VARIABLES.

5.4.1 Variable independiente.

Las variables independientes corresponden a los controles y tratamientos (que implican consumo de maqui):

Control N° 1: Eritrocitos sin irradiar

Control N° 2: Eritrocitos irradiados previo al consumo de maqui.

Tratamiento N° 1: Eritrocitos irradiados posterior al consumo de maqui por 2 semanas.

Tratamiento N° 2: Eritrocitos irradiados posterior al consumo de maqui por 6 semanas.

5.4.2 Variables dependientes.

Las variables dependientes corresponden a los tres parámetros de estrés oxidativo a medir:

Antioxidantes enzimáticos: CAT

Antioxidantes no enzimáticos: TRAP

Lipoperoxidación: TBARS

5.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.

Con el fin de homogenizar las muestra, y buscando reducir los errores y las diferencias significativas entre los individuos debido a factores externos, es que se establecieron los siguientes criterios de inclusión y de exclusión, basados en cómo afectan determinados factores al aumento del estrés oxidativo según la literatura.

5.5.1 Criterios de inclusión.

- Hombres pertenecientes a la carrera de Tecnología Médica de la Universidad de Valparaíso, que se encuentren cursando primero o segundo año de carrera (plan común)(52).
- Individuos entre 18 y 25 años de edad(53).
- Individuos que residan en las ciudades de Valparaíso o Viña del Mar(54).

5.5.2 Criterios de exclusión.

- Individuos fumadores.
- Individuos que consuman más de 100gramos de alcohol por semana.
- Individuos que practiquen deportes de alto rendimiento(55).
- Individuos que posean alguna enfermedad de base, como diabetes, hipertensión, hipercolesterolemia, enfermedad tiroidea, dislipidemia, enfermedades degenerativas, autoinmunes, o que posean antecedentes de cáncer en la familia.

5.6 FUENTES Y MÉTODO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Las fuentes de obtención de datos son las muestras sanguíneas de los voluntarios, para realizar el análisis de los diferentes parámetros REDOX usando el método de espectrofotometría. Los datos recopilados por este método son absorbancias, los cuales serán extrapolados en curvas de calibrado según el análisis REDOX que corresponda.

5.7 PROCEDIMIENTOS Y ACTIVIDADES.

El desarrollo de la investigación se llevó a cabo en dependencias del Hospital Naval Almirante Nef, ubicado en subida Alessandri S/N a cargo de la Tecnóloga Médica Dora Siervo, y en el Laboratorio de estrés oxidativo de la Universidad de Valparaíso ubicado en calle Huito n° 1560, Valparaíso, a cargo del investigador Carlos Jara.

5.7.1 Reclutamiento individuos voluntarios

En primera instancia, se estableció el contacto con los individuos que estuvieron dispuestos a participar en el estudio y se verificó si éstos cumplían con los requisitos de inclusión y exclusión a través de una encuesta de participación (ANEXO 1). A los que cumplieron con los requisitos, se les explicó detalladamente en qué consistía la investigación, el tiempo de duración de esta, y la forma en que ellos aportarían en el estudio. En este momento también se les informó que no incurrirán en gastos de ningún tipo. Posteriormente, firmaron el consentimiento informado (ANEXO 2) en donde se comprometieron a participar en el estudio, instancia donde se les aclaró toda duda que surgió de los participantes con respecto a la investigación. Dichos consentimientos fueron entregados a la profesora guía Dora Siervo, la cual les asignó un número de identificación a cada individuo. Dicho número fue el que se utilizó para identificar posteriormente las muestras de cada individuo, garantizando de esta forma completamente la participación anónima de los voluntarios en la investigación y los datos obtenidos de las pruebas bioquímicas.

5.7.2 Primera toma de muestra sanguínea

Posteriormente, los voluntarios fueron citados en un lugar acordado previamente con la finalidad de obtener la primera muestra de sangre requerida. En primera instancia, se extrajo una muestra de 20 mL a cada individuo, la cual se dividió en dos tubos heparinizados correctamente rotulados con el número asignado a cada individuo, los que contenían 10 mL cada uno. El primero de ellos, fue apartado y puesto inmediatamente en una caja transportadora de muestras con la temperatura necesaria para conservar las muestras. El segundo tubo con sangre fue irradiado en el servicio de Radioterapia a una dosis de 8 Gy con el acelerador lineal de marca Siemens modelo ONCOR Impression 4186 perteneciente al Instituto Oncológico Viña del Mar anexado al Hospital Naval bajo la supervisión de la Tecnóloga Médica, Dora Siervo. Este procedimiento se le realizó a todas las muestras de los individuos en estudio.

5.7.3 Entrega del Maqui

Una vez finalizada la primera toma de muestras, se procedió a entregar a cada participante del estudio 42 sobres sellados con 2 gr de Maqui cada uno, el cual debieron comenzar a consumir al día siguiente. Se les indicó que la ración diaria de 2 gr se debía consumir en la mañana en ayuno y que este podía ser consumido de diversas formas sin afectar su composición o propiedades. Sin embargo, a modo de estandarizar el procedimiento, se acordó que todos los individuos lo consumieran disuelto en un vaso de agua de 200 mL.

5.7.4 Caracterización del maqui a utilizar

En este estudio se trabaja con **Maqui Berry** en polvo liofilizado, de la marca *Nativforlife*, comercializado en las cadenas de supermercados Lider y Jumbo. Este producto es libre de gluten y de sodio, mantiene inalteradas sus propiedades nutricionales, también se encuentra sin preservantes por lo que el producto es 100% natural. El envase posee 60 gr y según recomendaciones del fabricante se deben consumir 2 gr diarios, añadiendo media cucharada de este en yogurt, cereales, frutas, batidos, jugos de frutas, postres, ensaladas o repostería. El

producto se encuentra certificado por USDA organic. Este sello garantiza que el contenido es 100% orgánico o hecho al menos con un 95% de productos orgánicos. También tiene aprobación del servicio agrícola y ganadero de Chile y del centro islámico de Chile (alimento HALAL).

El aporte de polifenoles totales que nos entrega el Maqui que daremos a consumir a los individuos participantes del estudio es de 6554 (mg EAG/100 grs) lo que nos dará un consumo diario de 131,08 (mg EAG/100 grs).

5.7.5 Análisis de las muestras en el Laboratorio

La totalidad de las muestras obtenidas (irradiadas y sin irradiar) fueron transportadas hacia el laboratorio de Estrés Oxidativo de la Universidad de Valparaíso.

En este lugar, se procedió a medir el estrés oxidativo sobre los eritrocitos mediante una serie de técnicas de análisis bioquímico. El primer análisis que realizamos fue la prueba TBARS (Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico), mediante el cual se observó el daño producido a lípidos a partir de la degeneración de éstos al subproducto Malondialdehído, cabe destacar que esta prueba debe realizarse el mismo día de la obtención de la misma muestra. La segunda prueba que efectuamos fue la de CATALASA a través de la cual fue posible registrar la actividad de la enzima. Por último, se realizó la prueba de TRAP (Potencial antioxidante reactivo total), en la que se midió la capacidad antioxidante exógena total presente en las muestras.

Para efectos prácticos, hacemos la distinción entre aquellas muestras que son controles y aquellas que son tratamiento. Las primeras 2 muestras correspondientes a eritrocitos sin irradiar y eritrocitos irradiados sin consumo de maqui, fueron considerados como controles (control basal y control irradiado) y las muestras correspondientes a las 2 y 6 semanas de consumo de maqui, fueron llamadas tratamientos

5.7.5.1 TBARS (56).

Antes de comenzar la prueba TBARS, es necesario lograr la separación de la sangre obteniendo las tres capas: plasma, eritrocitos y leucocitos. Para conseguir esto, los tubos de ensayo fueron colocados en la centrífuga clínica marca Hettich, modelo K2S durante 15 minutos a 3000 rpm. Una vez obtenida la separación de las capas se extrajo un volumen de 2 mL de plasma (de coloración amarilla), el cual se distribuyó en dos tubos Eppendorf (1 mL en cada tubo) debidamente rotulados con el número asignado a cada voluntario. Los tubos Eppendorf fueron almacenados en cajas destinadas a nuestro estudio en un refrigerador del laboratorio a una temperatura inferior a los -20°C . El resto del plasma, además de la capa leucocitaria que quedaron en los tubos de ensayos fue eliminado en un recipiente destinado a residuos biológicos.

En una segunda instancia, se agregó un volumen equivalente de buffer de lavado (NaCl 0,15 M, Na_2HPO_4 0,01 M y NaH_2PO_4 0,01 M, pH 7,4) a cada muestra de eritrocitos restantes hasta que el llenado alcanzó el límite superior del etiquetado del tubo. Luego, se centrifugó a 3000 rpm por 15 minutos repitiendo este paso 3 veces, y en cada vez se fue eliminando el sobrenadante de plasma y leucocitos.

En esta etapa de la prueba, se comenzó a preparar el reactivo TBA (Ácido Tiobarbitúrico) a una concentración de 0,67% m/v, se hicieron los cálculos para obtener la cantidad de gr de TBA necesarios para la totalidad de las muestras, los cuales fueron medidos en la balanza analítica de marca RadWag modelo AS220-C-2. Una vez pesado el reactivo, se echó la cantidad obtenida a un matraz de aforo que contenía agua destilada, luego se le fue agregando hidróxido de sodio (NaOH) hasta obtener una muestra transparente, para conseguir esto se fueron agitando las partículas con ayuda del sonicador marca Elma modelo Transsonic T310. Luego aforamos el matraz con agua destilada hasta la marca correspondiente necesario para la totalidad de muestras. Es importante señalar que esta preparación se debe realizar el mismo día que se hace la prueba, ya que el reactivo sólo cumple su utilidad durante el día, y no puede conservarse para ser utilizado con posterioridad. Además, se preparó otro reactivo llamado TCA (Ácido Tricloroacético), el cual fue preparado con anterioridad.

Una vez que los eritrocitos fueron lavados por tercera vez, se les adiciono 990 uL de buffer hipotónico (6,7% de una solución de Na_2HPO_4 0,088 M y NaH_2PO_4 0,022 M) y 10 uL de glóbulos rojos en dos tubos Eppendorf de 1,5 mL con el uso de micropipetas con el fin de lograr la hemólisis, la mezcla debe quedar homogénea por lo tanto conseguimos esto con la ayuda del vortex marca Thermolyne modelo 37600 mixer. Esta muestra es utilizada en la prueba de Catalasa y también fue almacenada a una temperatura de -20°C o inferior. Los eritrocitos restantes en los tubos fueron utilizados para la prueba TBARS.

Posteriormente, se agregan 2 mL de los eritrocitos restantes a un tubo cónico que contenía 2 mL de TCA al 30%, esto se centrifugaron a 3000 rpm por 15 minutos. Finalmente, se extrajeron 1,5 mL de sobrenadante (la parte líquida de la muestra resultante) y se mezcló con 1 mL de TBA 0,67% (preparado anteriormente). Cabe destacar que se puso un recipiente a 100°C con agua destilada sobre la manta calefactora marca LabTech modelo LMS-1003 en la que se colocaron los tubos largos con la mezcla por 20 minutos a calentar. Pasado el tiempo, la mezcla tomó una coloración rosada tenue y los tubos largos se retiraron de la manta y se colocaron en otro recipiente con agua fría con el fin de frenar la reacción.

Finalmente, se hizo la medición de Malondialdehído (MDA) por medio del Espectrofotómetro marca RayLeigh modelo UV-2601. Se realizó un espectro que va desde los 400 a 600 nm, para el cual se utilizó una línea base o blanco de agua destilada en una celdilla de cuarzo que se introdujo en el aparato que hace las mediciones correspondientes. Después se colocó la celdilla que contenía la mezcla ya enfriada, en esta instancia es donde se fueron midiendo las absorbancias y se obtuvieron los datos que posteriormente fueron extrapolados en una curva de calibrado usando MDA puro. La medición fue realizada por duplicado.

Los datos obtenidos por el espectrofotómetro fueron almacenados en el computador del laboratorio, en una carpeta especialmente destinada para los datos de la investigación.

5.7.5.2 Catalasa(57).

Catalasa, abreviada como CAT, tiene el objetivo de medir la actividad de la enzima catalasa, la cual es una oxidoreductasa. Ésta enzima cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en oxígeno y agua ($2 \text{H}_2\text{O}_2 = 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$). Para realizar esta prueba se necesitó de un Buffer de lavado para catalasa compuesto por dos sales NaH_2PO_4 y Na_2HPO_4 a una concentración de 50 mM y un pH de 7,0, al cual la enzima actúa. También se necesitó de la muestra de eritrocitos anteriormente almacenadas y rotuladas en los tubos Eppendorf, la que contiene el sello propio de cada individuo analizado respecto al cual fue asociada la actividad de la enzima; y por último se prescindió del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a una concentración de 0,3 M. De este compuesto fue necesario saber ciertos datos como la densidad, es decir cuántos gramos de H_2O_2 hay en 1000 mL. También saber la pureza, es decir cuántos gramos de H_2O_2 hay en los gramos totales según la densidad y por último el valor de FW (peso molar), es decir la molaridad en los gramos según la pureza. Teniendo estos datos ya podemos ocupar la fórmula para cálculos y volúmenes ($C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$). Como ya teníamos el valor de la molaridad según la densidad y la pureza del H_2O_2 , reemplazamos el resultado en el valor C_1 , mientras que C_2 es la concentración que deseábamos obtener, es decir 0,3 M. V_2 es el volumen que necesitábamos preparar del compuesto final, esto es según la cantidad de muestreos a analizar. V_1 era el volumen de H_2O_2 puro que se ocupó y se aforó a la cantidad en mL que se requería. Después de aforar con agua destilada el matraz de aforo ámbar (ya que el H_2O_2 es un compuesto fotosensible), se tapó con un parafilm y se cubrió con un papel negro para que el peróxido no se viera afectado por la luz.

El buffer de catalasa se mantuvo en el baño termostático a 37 °C y las muestras de eritrocitos se descongelaron a temperatura ambiente antes de comenzar el análisis. Con el uso de micropipetas sacamos 3 mL de buffer de catalasa y los introducimos en una celda de cuarzo que fue utilizado como blanco o zero en el análisis del espectrofotómetro. Luego se mezcló la muestra a analizar en la celda a partir de 2,9 mL de buffer de catalasa, 100 uL de H_2O_2 y 5 uL de muestra de eritrocitos, vale decir en una razón de 1:100. Ésta mezcla se debió agitar rápidamente, ya que la reacción se produce casi al instante, y fue colocada en el espectrofotómetro el cual

estaba programado para medir durante 90 segundos con intervalo de 15 segundos a 240 nm. Esta prueba fue realizada por quintuplicado.

Los datos obtenidos fueron almacenados en el computador del laboratorio para su posterior análisis.

5.7.5.3 *Proteínas Totales*(58).

La prueba de Proteínas Totales se realiza con el fin de conocer la cantidad en miligramos de proteínas que tiene cada individuo del estudio. La relevancia de este valor se da porque se toma en cuenta al calcular las unidades de enzima catalasa, ya que éstas se dividen por los miligramos de proteínas totales y así se obtiene el valor final que será analizado estadísticamente en lo que respecta a la capacidad antioxidante endógena del sujeto en estudio.

La prueba de las proteínas totales como las demás tiene su propio método y protocolo de realización. En primer lugar, se requiere la preparación de un reactivo llamado RCA (reactivo cobre alcalino) que se compone de las sales Na_2CO_3 (carbonato de sodio), $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ (tartrato sodio potasio), CuSO_4 (sulfato cúprico) y NaOH (hidróxido de sodio). Estas sales se deben encontrar a concentraciones de 0,94 M, 3,5 mM, 2 mM y 0,5 M respectivamente. Una vez pesadas en la balanza las cantidades en gramos necesarias según el peso molar de cada sal, las mezclamos en ese mismo orden, disolviendo una a una con ayuda del sonicador y aforando en un matraz de aforo idóneo del volumen que requerimos según la cantidad de muestras a procesar. Finalmente el contenido lo vaciamos en un recipiente para mayor comodidad al momento de usarse.

Además del RCA, se necesita otro reactivo llamado Folin que preparamos el mismo día del análisis en una proporción de 1:20 con agua destilada. Por ejemplo si necesitamos 100 mL de mezcla de Folin, de éstos, 5 mL serán de Folin puro y 95 mL de agua destilada mezclados en un matraz de aforo ámbar de 100 mL, ya que este reactivo es fotosensible.

Una vez preparados ambos reactivos se procedió a realizar la mezcla compuesta de 1 mL de muestra de eritrocitos hemolizados diluidos previamente en razón de 1:100 con solución hipotónica y 1 mL de RCA en un tubo de ensayo por cada muestra a procesar. Ésta mezcla se

dejó reposar 10 minutos y posteriormente se le agregó 4 mL de Folin diluido 1:20, luego se calentó a 55 °C durante 5 minutos.

Finalmente, se programó el espectrofotómetro para una lectura fotométrica con una longitud de onda de 650 nm. Como primer paso, se introdujo una celdilla de vidrio como línea base o zero con 1 mL de agua destilada mezclado con 1 mL de RCA más 4 mL de Folin previamente calentados a 55 °C por 5 minutos. Luego de realizada la línea base, se pudieron introducir en el espectrofotómetro hasta ocho celdillas de vidrio que contenían la mezcla de la muestra con los reactivos calentados y luego pudieron ser leídos simultáneamente, siendo ésta una de las pruebas de menor duración.

Estas mediciones dieron como resultado valores de absorbancia que fueron extrapolados en el software correspondiente y así se obtuvieron los valores de miligramos de proteínas, dato relevante para poder complementar la prueba de Catalasa. Cabe destacar que estos valores en miligramos deben multiplicarse por 2 o 3, según sea la razón de la dilución de la mezcla final con agua destilada antes de ser leídas. Si la mezcla que contiene la muestra presenta un color azulado muy oscuro idealmente debe ser diluida en una razón de 3:1, es decir 2 mL de agua destilada y 1 mL de muestra, para optimizar la lectura del espectrofotómetro.

5.7.5.4 TRAP(59).

La última prueba que se realizó fue la de TRAP, en la cual fue posible medir la capacidad antioxidante exógena total, en esta prueba se ocuparon dos compuestos químicos (ABTS y ABAP) los cuales luego de interaccionar crearon un radical libre con una coloración azul-verdosa. El ABTS tiene un peso molar de 548,68 gr/mol y el ABAP un peso molar de 271,19 gr/mol disueltos en 1 litro de agua (1000 mL) según fabricante.

Ambos químicos se disolvieron con agua destilada en matrices de aforo a la concentración necesaria para el volumen total que se necesitaba para aplicar a la totalidad de las muestras, luego aforamos éstos a ese volumen. Cada uno de estos se preparó en un matraz distinto y se colocaron en el sonicador hasta obtener una mezcla totalmente homogénea. Se dispuso de un frasco para cada químico, en primer lugar se vació el ABAP en su respectivo frasco. Cabe resaltar que el

ABTS se ocupa también como blanco en el espectrofotómetro por lo tanto se debió preparar más mL de este químico. El contenido que se ocupó como blanco (1 mL de ABTS) se separó de inmediato en un frasco destinado a este, luego se vació el resto de ABTS en el frasco que ya contenía el ABAP, obteniendo una mezcla de ambos compuestos, a razón de 1:1 (mismo volumen de cada uno), posterior a esto le pusimos un parafilm al recipiente que contenía ambos químicos, se agitó la mezcla obtenida y se colocó en el baño termorregulado marca K modelo YCW-04M a 45° por 30 minutos, pasado el tiempo sacamos la mezcla y la dejamos enfriar a temperatura ambiente.

Por otro lado, se descongelaron las muestras de plasma a temperatura ambiente, y se hizo una mezcla de 10 uL de plasma y 990 uL de Buffer de lavado en un Eppendorf nuevo. Posteriormente se programó el espectrofotómetro. Los parámetros seleccionados fueron de 734 nm, el tiempo de medida de 50 segundos y el de intervalo de 10 segundos. En la primera celda de cuarzo (la que se ocupó como blanco) pusimos el mL de ABTS, previamente separado. En la segunda celda de cuarzo se colocó 1 mL de mezcla (ABTS + ABAP) y 10 uL de plasma disuelto con el buffer (se agitó antes de usar). Luego colocamos un parafilm, agitamos 3 veces esta mezcla, se retiró el parafilm, se limpió la celda, se introdujo en el espectrofotómetro y comenzó la medición.

Los datos obtenidos por el espectrofotómetro fueron realizados por triplicado y almacenados en el computador del laboratorio, en una carpeta especialmente destinada para los datos de la investigación.

El buffer de lavado que utilizamos en esta prueba contiene NaCl (con un peso molar de 58,44 Gr/mol), NaH_2PO_4 (con un peso molar de 137,99 Gr/mol) y Na_2HPO_4 (con un peso molar de 141,96 Gr/mol) todos disueltos en 1 litro de agua según fabricante y a una concentración molar de 1. Las 3 sales debían estar a una concentración molar de 0,05 M y a un pH de 7,4, por lo tanto así se pudo calcular los gramos necesarios de cada sal para obtener la concentración molar de 0,05. Las sales se disolvieron de una a la vez, en el caso del NaH_2PO_4 y Na_2HPO_4 se debieron además sonicar a 35 Hz hasta que se diluyeron completamente. Una vez que las 3 sales se mezclaron y disolvieron por completo en un matraz Erlenmeyer se ajustó el pH en el pH metro marca Speedsafe. Para comenzar se prendió el lector, se retiró el protector, se lavó con agua destilada el electrodo y se secó. Luego, debimos calibrar el equipo y para esto se sumergió el

electrodo en la solución estándar de pH 4, se iba observando en el lector el pH que iba dando la solución y se fue ajustando con la perilla del equipo hasta que está marcó el pH deseado (4), una vez obtenido este valor, sacamos el electrodo de la solución, se lavó con agua destilada y se secó. Luego se sumergió el electrodo en la solución de pH 7 y se repitió el procedimiento anterior hasta que el lector marcó el pH de 7. Una vez que ya calibramos el pH metro, colocamos el electrodo en el matraz con la mezcla de las sales antes preparadas, para ajustar esta al pH necesario. A este matraz le agregamos un agitador magnético que ayudó a mantener la solución homogénea, mientras íbamos observando en el lector el pH de la solución y agregando gotitas de la base (NaOH a 1M) si se necesitaba subir el pH o aplicando ácido clorhídrico (HCl 0,1M) si debíamos bajar el pH, de esta manera logramos ajustar el pH a 7,4. Una vez obtenido ese pH, sacamos el electrodo de la solución, se limpió y se secó el electrodo, vaciamos el contenido a un matraz de aforo de 1000 mL utilizando un embudo, luego aforamos a la marca para conseguir esa cantidad y finalmente lo depositamos nuevamente al primer matraz y volvimos a verificar el pH, una vez marcado el pH en 7,4 se sacó el electrodo, se lavó, se secó y se le colocó el protector, a su vez se vació el contenido a la botella de buffer. De esta manera, el buffer de lavado estuvo listo para ser utilizado en las pruebas bioquímicas.

Dos semanas después de iniciado el consumo de maqui por parte de los voluntarios, estos fueron nuevamente citados con la finalidad de obtener nuevas muestras sanguíneas y repetir el proceso anteriormente descrito. Se realizaron las mismas pruebas bioquímicas, y se almacenaron los resultados en el computador del laboratorio para su posterior análisis y comparación.

Seis semanas después de iniciado el consumo de maqui, se volvieron a tomar muestras sanguíneas, y nuevamente se repitieron las pruebas realizadas de igual forma en que ya fueron descritas. Finalmente, se recolectaron todos los datos y se realizó el análisis de los datos obtenidos a lo largo de la investigación.

5.8 PLAN DE ANÁLISIS

Los análisis REDOX fueron agrupados, promediados y presentados en gráficos de barra con sus respectivas desviaciones estándar. Para el análisis estadístico se utilizó el software STATISTICA; donde los datos fueron sometidos a pruebas de distribución de varianza de Pearson. Este programa arrojó que la totalidad de las pruebas no tenían un comportamiento normal de la curva, por lo tanto los datos obtenidos fueron no paramétricos. Es por esto que se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis Anova para múltiples muestras dependientes. En todos los casos se utilizó un nivel de significancia de $p = 0,05$

Definiendo así que un valor de p superior a 0,05 representa que no hay diferencia significativa, mientras que si el valor es inferior a 0,05 si la hay.

5.9 CONSIDERACIONES ÉTICAS.

En el año 1979 los filósofos estadounidenses Tom Beauchamp y James Franklin Childress, publican su libro llamado “Principles of Biomedical Ethics”(66). En este, definen cuatro conceptos básicos que han sentado las bases éticas para la regulación de las investigaciones biomédicas. Nuestra investigación se basa en el resguardo de estos principios, los cuales son: Autonomía, No Maleficencia, Beneficencia, y Justicia.

5.9.1. Autonomía.

En relación a este concepto, cada individuo que participe de esta investigación será totalmente libre de tomar decisiones de manera consciente y sin que exista presión alguna por parte de los investigadores, teniendo total libertad de elegir si desea participar en el estudio, respetando su voluntad, manteniendo el respeto frente a diferentes puntos de vista y considerando tanto sus valores morales como creencias personales.

El grupo de investigadores hará entrega de un consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina y de la carrera de Tecnología Médica de la Universidad de Valparaíso el cual estará obligado a proporcionar información total y fidedigna de los procedimientos a realizar durante la investigación con el propósito de la comprensión por parte del individuo participante. La información entregada por el sujeto será totalmente confidencial a la cual se le asignará un folio único, para que de esta manera, se proteja su privacidad y se mantenga la confidencialidad tanto del individuo como la de los otros participantes. En el caso de que el paciente decida voluntariamente no seguir participando en el estudio, este posee la facultad de comunicarlo a los investigadores para que de esta forma su información sea eliminada confidencialmente. Cabe destacar que dicha acción no lo perjudica en ningún caso, y puede solicitarlo en cualquier momento del estudio.

5.9.2. No Maleficencia.

Este principio hace referencia a la obligación por parte de los investigadores de no infringir algún tipo de daño de forma intencional. Los participantes del estudio serán tratados en todo momento con dignidad, igualdad y respeto, protegiéndolos ante cualquier situación que pudiera causarles incomodidad, malestar o riesgo a su salud mental o física. Recibirán una punción con aguja con la finalidad de extraer una muestra sanguínea, procedimiento el cual será llevado a cabo por una Enfermera Profesional con años de experiencia, manteniendo todas las medidas de higiene y salubridad, por lo cual el procedimiento se realizará de forma totalmente segura.

Respecto a la utilización de radiación ionizante en nuestro estudio, esta será aplicada solamente a las muestras sanguíneas de los participantes, y en ningún momento estos serán expuestos a ésta. Cabe mencionar, que una vez que los tubos son irradiados, éstos no quedan contaminados con ningún tipo de desecho radiactivo, por lo cual, la manipulación y transporte de ellos es completamente segura.

5.9.3. Beneficencia.

El principio de beneficencia se refiere a la obligación moral de actuar en beneficio de otros. Busca promover los intereses realizando o incitando a hacer un bien al prójimo.

En nuestro estudio no se beneficia directamente al grupo de estudio, debido a que es un trabajo investigativo que tiene como finalidad crear directrices de complementación a tratamientos de radioterapia en un futuro. Los individuos que consumirán Maqui harán un beneficio a nuestra investigación debido a que éstos se comprometerán a ser parte del estudio e ingerir diariamente el producto, por lo tanto serán fundamentales para obtener los resultados deseados.

A su vez, éstos serán beneficiados de manera indirecta al consumir este producto rico en antioxidantes, que mejorará los procesos oxidativos normales de su organismo.

5.9.4 Justicia.

Este principio busca la igualdad y equidad de las personas, otorgándoles a todos las mismas oportunidades, distribuyendo de manera igualitaria los recursos y tratando a cada uno como un ente igual al otro. En nuestra investigación, todos los participantes serán tratados en igualdad de condiciones, y la participación de cada uno en el estudio es igual de relevante. Los datos de éstos serán totalmente anónimos, debido a que se protegerá la identidad mediante un número de identificación asignado.

Todos optarán a la misma información, se someterán a los mismos procedimientos de estudio y consumirán el mismo producto con la finalidad de contribuir al estudio, sin existir diferencia alguna entre ellos.

5.10 FACTIBILIDAD DEL PROYECTO.

El grupo de investigación cuenta con el apoyo del Instituto Oncológico Viña del Mar, ubicado en las dependencias del Hospital Naval Almirante Nef, Camino Internacional s/n, el cual proporcionará el espacio físico para la toma de muestras sanguíneas, como también del acelerador lineal marca Siemens modelo ONCOR Impression 4186, el cual será utilizado para irradiar las muestras anteriormente mencionadas.

El Centro de Investigaciones Biomédicas (CIB), Laboratorio de investigación-Estrés Oxidativo de la facultad de Medicina de la Universidad de Valparaíso facilitará el material requerido para realizar la obtención de las muestras sanguíneas, como también el espacio físico, los insumos e implementos necesarios para llevar a cabo el análisis de las pruebas bioquímicas.

Tanto los tesistas, como los profesores guía y co-guía no recibirán aportes ni incentivos monetarios de ningún tipo para la realización de la presente investigación, es por esto que los gastos asociados al Maqui, transporte, impresiones, fotocopias, entre otros, serán financiadas en su totalidad por el grupo de investigación.

Los individuos que participen en esta investigación, tampoco recibirán remuneración ni gastos de ningún tipo.

La participación de los profesores guía y co-guía y de los individuos a estudiar será de forma totalmente voluntaria.

CAPÍTULO 6: RESULTADOS

Luego de transcurrido los periodos de toma de muestras, y el respectivo procesamiento de estas en el laboratorio, se logró dar con los resultados que arrojaron cada una de las tres pruebas bioquímicas realizadas. Se analizarán los resultados de forma gráfica, prueba por prueba, primero del conjunto de individuos en su totalidad y luego del promedio total, separándolos por cada control y tratamiento realizado.

6.1 TBARS

A continuación se observa la prueba TBARS, la cual mide la lipoperoxidación producida por las especies reactivas de oxígeno en los eritrocitos. Esta fue realizada con duplicados, cuyos resultados se promediaron y se calcularon sus respectivas desviaciones y error estándar, las cuales se grafican a continuación.

Lipoperoxidación promedio de los diferentes individuos

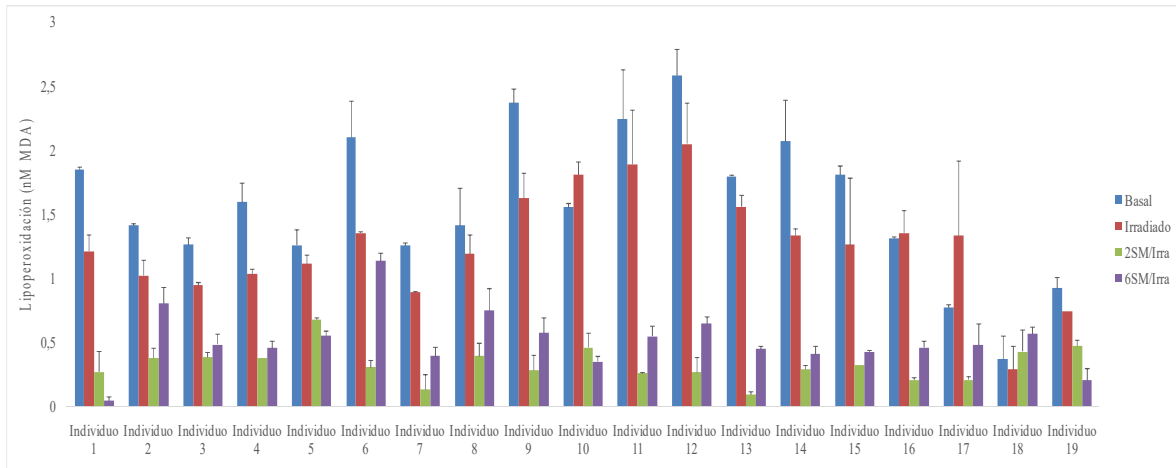


Figura 6.1: Lipoperoxidación promedio de cada individuo en los diferentes controles y tratamientos.

6.1.2 Lipoperoxidación promedio. ($n \pm d.e.$)

Analizando la **Figura 6.2**, podemos observar que en el control basal se aprecia una oxidación elevada, luego, al aplicar radiación el daño a lípidos disminuye con respecto al control basal. Aun así esta diferencia no es estadísticamente significativa. ($p > 0,05$). En el tratamiento de las dos semanas luego del consumo de maqui, se observa que el daño a lípidos disminuye en gran medida en relación al control basal y al control con radiación, aun siendo expuestos a una misma dosis. Luego de 6 semanas de consumo de maqui, la lipoperoxidación aumenta respecto al tratamiento de las 2 semanas, pero sin embargo se mantiene baja en relación al control basal y al control irradiado. Como se observa en el gráfico, los tratamientos de las 2 y 6 semanas muestran diferencia significativa en relación a los controles basal e irradiado, sin embargo, la diferencia entre ambos tratamientos con consumo de Maqui, no es significativa.

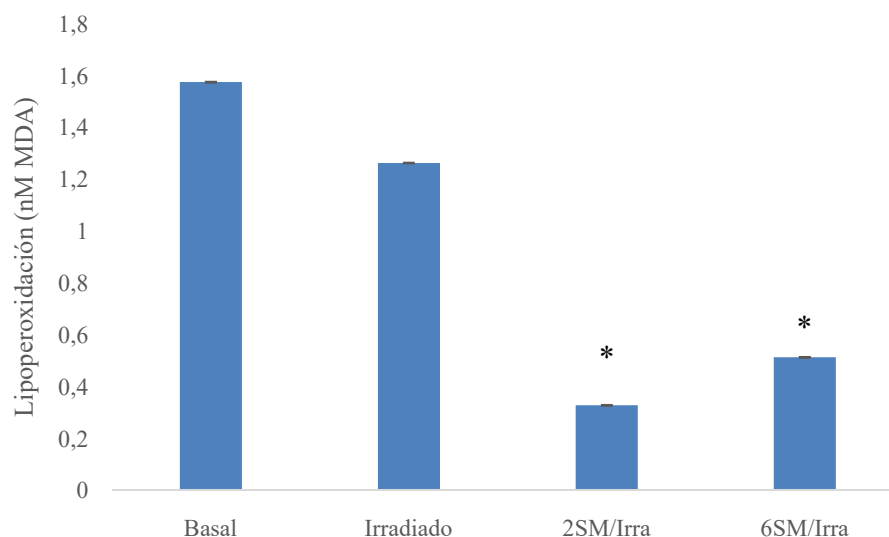


Figura 6.2: Lipoperoxidación promedio del conjunto de individuos en los controles basal e irradiado y los tratamientos a las 2 y 6 semanas de consumo de maqui. ($n \pm e.e.$)

6.2 CATALASA

A continuación, se exponen los resultados obtenidos en la prueba de Catalasa, la cual mide la actividad de la enzima. Esta prueba fue realizada por quintuplicado, y los resultados fueron promediados considerando también la desviación y error estándar.

Actividad promedio de CATALASA en los distintos individuos.

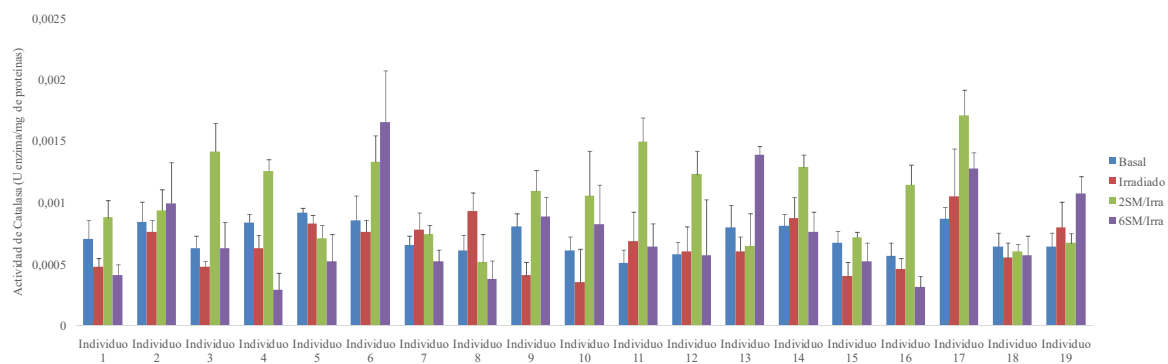


Figura 6.3: Se observa actividad promedio de la enzima catalasa de cada individuo en los controles basal, irradiado y los tratamientos a las 2 y 6 semanas de consumo de maqui. ($n \pm e.e.$)

6.2.1 Actividad de Catalasa promedio. ($n \pm e.e.$)

La **Figura 6.4** muestra la actividad de la enzima catalasa considerando los valores de unidad de enzima y los mg de proteínas totales del conjunto de individuos. En el control basal, se observa una actividad enzimática mayor que en el control irradiado. En el tratamiento de las 2 semanas luego de iniciado el consumo de maqui, la actividad antioxidante endógena de las muestras de eritrocito aumenta en gran medida y tiene una diferencia estadística significativa con respecto a los controles. En el tratamiento de las 6 semanas de consumo de maqui, la actividad enzimática disminuye con respecto al tratamiento de las 2 semanas, aun así se mantiene elevada en relación a los controles basal e irradiado, sin embargo la diferencia no es estadísticamente significativa.

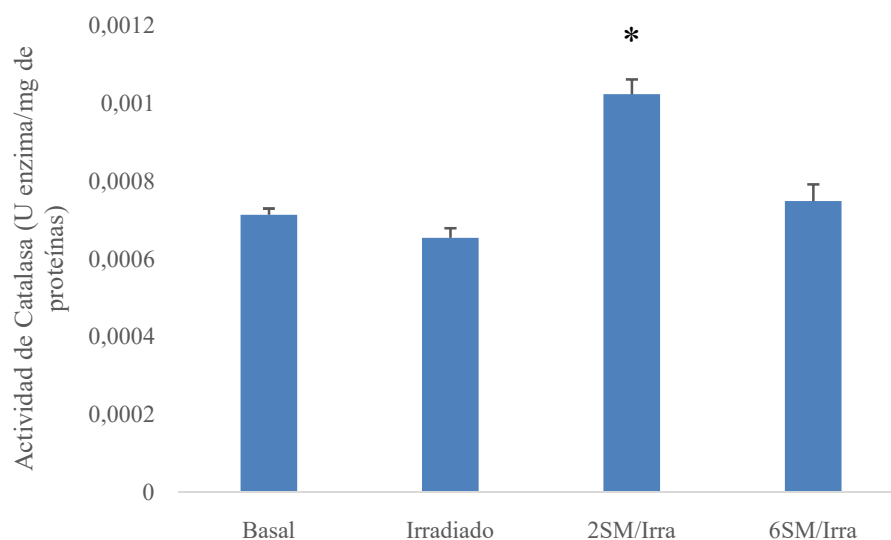


Figura 6.4: Actividad promedio de la enzima Catalasa del conjunto de individuos en los controles basal e irradiado y los tratamientos a las 2 y 6 semanas de consumo de maqui. ($n \pm e.e.$)

6.3 TRAP

Para la prueba de TRAP se realizó cada análisis por triplicado, posteriormente estos resultados se promediaron y se calcularon sus respectivas desviaciones y errores estándar para ser representados en gráficos de barras. A continuación detallamos los valores obtenidos en el conjunto de individuos.

Potencial antioxidante exógena total promedio de cada individuo

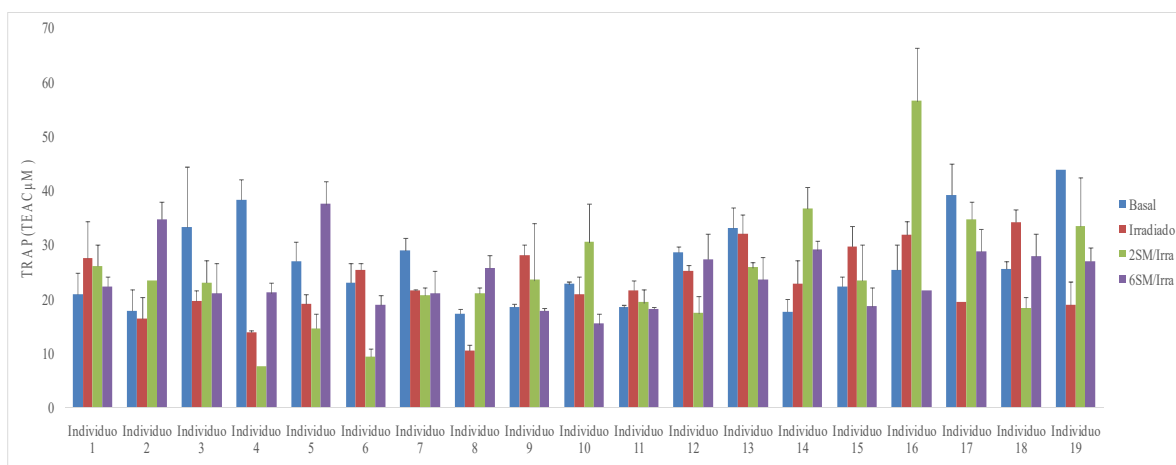


Figura 6.5: *Potencial antioxidante reactivo total de cada individuo en estudio, en los controles basal e irradiado y los tratamientos a las 2 y 6 semanas de consumo de maqui. ($n \pm e.e.$)*

6.3.1 Potencial Antioxidante reactivo total promedio. ($n \pm e.e.$)

En la **Figura 6.6**, se expone el potencial antioxidante reactivo total del conjunto de individuos. En el control basal se observa una alta capacidad antioxidante total, la cual disminuye drásticamente en el control irradiado. Posteriormente en el tratamiento luego de las dos semanas de consumo de maqui la capacidad antioxidante aumenta sin llegar a los niveles basales. En el tratamiento de las 6 semanas de consumo, vuelve a disminuir levemente con respecto al tratamiento de las 2 semanas.

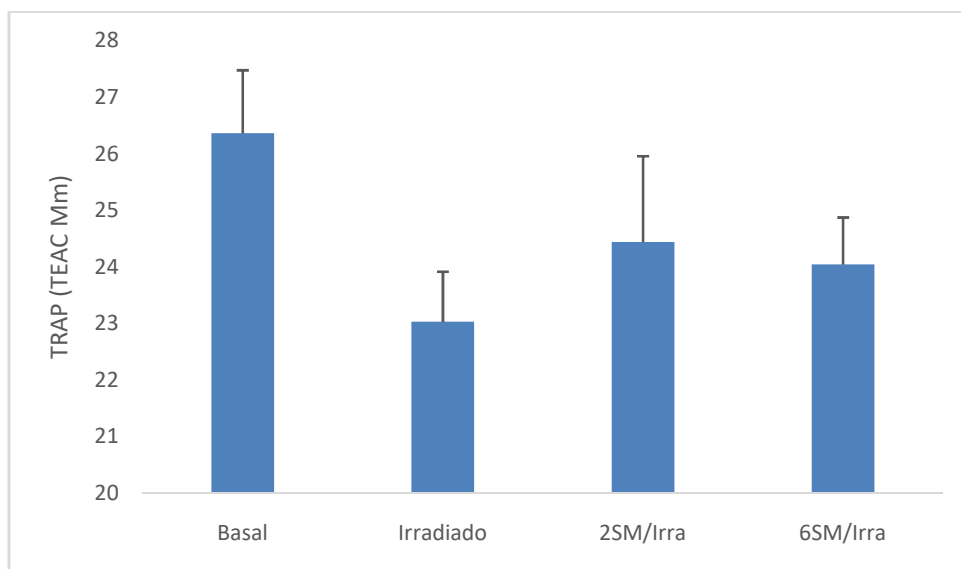


Figura 6.6: Potencial antioxidante reactivo total promedio del conjunto de individuos, en los controles basal e irradiado y los tratamientos a las 2 y 6 semanas de consumo de maqui. ($n \pm e.e.$)

CAPÍTULO 7: DISCUSIÓN

En base a los resultados obtenidos en los 3 gráficos finales correspondientes a cada prueba bioquímica realizada durante la investigación, se procede a analizarlos en conjunto, con el fin de esclarecer los resultados obtenidos durante el proceso.

Como se observa en la *figura 6.2*, la lipoperoxidación más elevada corresponde al control basal, valor que disminuye luego de irradiar los eritrocitos. Esta disminución en el grado de lipoperoxidación nos llama la atención, ya que es de amplio conocimiento que la radiación aplicada sobre células de cualquier tipo produce de forma inmediata la generación de ERO con el consecuente daño celular (5). Sin embargo, al tomar en consideración el estado antioxidante exógeno basal que presentaban los individuos al comenzar el estudio (*figura 6.6*), pudimos notar un elevado potencial antioxidante exógeno basal, el cual disminuye luego de la irradiación. Esta disminución del potencial antioxidante exógeno tiene relación con la disminución en la lipoperoxidación del control con radiación anteriormente mencionada. Al ser irradiadas y producto de la hidrólisis del agua, las muestras de eritrocitos elevan rápidamente la generación de ERO y frente a este aumento, comienzan a actuar de forma inmediata las defensas antioxidantes exógenas, lo cual explicaría por qué se logra controlar el daño que la radiación genera sobre la célula. Por lo tanto, lo detectado es evidencia del uso del potencial protector antioxidante exógeno basal contra las ERO generadas a partir de la exposición a la radiación. Hay que recordar que las defensas antioxidantes no enzimáticas o exógenas, corresponde a todos aquellos compuestos ingresados al sistema vía dieta y que son capaces de secuestrar (scavenger) o apagar (quenching) a las ERO, removiéndolas y disminuyendo el daño oxidativo, como la lipoperoxidación, generado por ellas al interactuar con las distintas biomoléculas (60). De esta forma la disminución de la lipoperoxidación va de la mano con la disminución de las defensas antioxidantes exógenas, ya que estas se “gastan” al contrarrestar la generación de ERO.

Por otra parte, las defensas antioxidantes de tipo endógena representadas por la actividad de la enzima catalasa (*figura 6.4*), se mantienen en un nivel similar tanto en el control basal como en el control con radiación. Catalasa actúa a altas concentraciones de H_2O_2 , transformándolo en H_2O y O_2 como productos finales (26). Podemos inferir, que la rápida acción de los antioxidantes de

tipo exógeno evitan la formación de H_2O_2 , por ende impiden la activación de Catalasa, manteniéndola en niveles similares en ambos controles. De hecho, Las defensas antioxidantes endógenas, corresponden a la primera línea de defensa ante la producción elevada de ERO y está representada por varias enzimas oxidorreductasas inducibles y sensibles al desbalance REDOX. Que sean inducibles significa que se activa la transcripción de estas enzimas siempre y cuando la producción de ERO supere la concentración basal **(61,62)**. Por lo tanto, las defensas antioxidantes exógenas al disminuir la concentración de ERO en el sistema estarían impidiendo la actividad de las defensas antioxidantes endógenas como catalasa.

Si analizamos los resultados considerando los tratamientos de las 2 y 6 semanas consumiendo maqui, el panorama cambia completamente. La *figura 6.2* nos muestra una significativa disminución en los niveles de lipoperoxidación de las muestras, en ambos tratamientos. De esto se deduce que el maqui genera un efecto protector sobre los eritrocitos, ya que disminuye el daño oxidativo producido por la radiación. El maqui posee una elevada concentración de polifenoles por lo cual es reconocido como un poderoso antioxidante **(35)**. Al ser consumido por los individuos del estudio durante el periodo de la investigación, este generó una elevación en los niveles del potencial antioxidante exógeno, como queda demostrado en la *figura 6.6*, donde observamos que si bien no se alcanzan los niveles iniciales obtenidos en el control basal, si se supera al control con radiación en ambos tratamientos. Nuevamente se genera una relación entre la elevación de la capacidad antioxidante exógena y la disminución del daño a lípidos a causa de la radiación. Cabe destacar que el mayor efecto protector del maqui se generó a las dos semanas de iniciado su consumo, de forma similar a lo observado en un estudio donde se analizó el comportamiento de diversos polifenoles**(63)**.

En relación a las defensas antioxidantes endógenas representadas por la actividad de la enzima catalasa en las muestras (*figura 6.4*), curiosamente el maqui genera una elevación de estas, produciendo su mayor peak a las 2 semanas de consumo. Tomando en consideración lo sucedido en los controles basal e irradiado, donde la actividad de catalasa se mantenía a niveles similares a causa de la participación de las defensas antioxidantes exógenas en la regulación de las ERO producidas por la radiación, estamos ante un escenario diferente, que permite inferir que el maqui genera algún tipo de inducción en la activación enzimática. Existe evidencia sobre la existencia de ciertos compuestos presentes en algunos alimentos, que poseen la capacidad de permitir la

expresión de genes citoprotectores. Este es el caso de los sulforafanos, moléculas presentes en los vegetales del tipo crucífera como las coles, los cuales activan el factor de transcripción Nrf2 quien regula los elementos relacionados con antioxidante (ARE) provocando la expresión de las enzimas antioxidantes y una fuerte respuesta citoprotectora que mejora la resistencia a la carcinogénesis y otras enfermedades mediadas por exposiciones a agentes oxidantes(64,65). En base a esto, se puede especular que algún componente del maqui podría generar un efecto similar a los sulforafanos, promoviendo la expresión de los genes que codifican la enzima catalasa, aumentando su expresión como mecanismo de defensa ante el estímulo que genera la exposición a la radiación. Esta afirmación sin embargo, es meramente especulativa, por lo cual es necesario realizar una nueva investigación, complementaria a esta, usando maqui y determinando el grado de expresión de Nrf2.

CAPÍTULO 8: CONCLUSIÓN

Con respecto al nivel de lipoperoxidación en las muestras de eritrocitos, se concluye que el consumo de Maquidurante 6 semanas genera una disminución en el daño a lípidos.

En relación a la enzima catalasa, podemos afirmar que esta aumenta su actividad enzimática en muestras de eritrocitos irradiados posterior al consumo de maqui.

El consumo de maqui genera un aumento en el potencial antioxidante reactivo total en muestras de eritrocitos irradiados.

A modo general, se concluye que el maqui logra generar un efecto protector sobre los eritrocitos, contrarrestando el daño celular provocado por la radiación ionizante como la aplicada en la radioterapia, lo que contribuiría a mejorar la clínica del paciente con cáncer que se somete a un tratamiento de radioterapia, además de aportar a la generación de nuevos estudios en el campo de la Oncología y la posible aplicación de novedosos tratamientos, optimizados para que puedan incluir a los antioxidantes como complemento a la terapia.

CAPÍTULO 9: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-Meza-Junco J, et al. *Bases moleculares del cáncer*. RevInvestClin 2006; 58 (1): 56-70
- 2-Martel C, Ferlay J, Franceschi S, et al. *Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis*. TheLancetOncology 2012;13: 607-615.
- 3-Itriago L, Silva N, Cortés G. *Cáncer en Chile y el Mundo: Una mirada Epidemiológica, presente y futuro*. Rev. Clin. Med. Condes - 2013; 24(4) 531-552
- 4-Sharma R, Plumer R, Stock J, et al. *Clinical development of new drug-radiotherapy combinations*. Nat Rev ClinOncol. 2016 Oct;13(10):627-42.
- 5-Baskar R, Lee KA, Yeo R, et al. *Cancer and Radiation Therapy: Current Advances and Future Directions*. Int J Med Sci 2012; 9(3):193-199.
- 6-Däuträux B, Toledano M. *ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis*. Nature Reviews Molecular Cell Biology 8, 813-824 (October 2007).
- 7-Kalyanaraman B. *Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms*. Redox Biol. 2013 Feb 8;1:244-57.
- 8-Halliwell B, Gutteridge JM. *Biologically relevant metal ion dependent hydroxyl radical generation*. FEBS Lett. 1992 Jul 27;307(1):108-12.
- 9-Liou G, Storz P. *Reactive oxygen species in cancer*. Free Radic Res. 2010 May;44(5):479-96.
- 10-Valko M, Rhodes C, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. *Free radicals, metal and antioxidants in oxidative stress-induced cancer*. ChemBiolInteract. 2006 Mar 10; 160(1):1-40.
- 11-Alugoju P, Dinesh B, Latha P. *Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases*. Indian J ClinBiochem. 2015 Jan; 30(1): 11-26.
- 12-Mailloux R, McBride S, Harper M. *Unearthing the secrets of mitochondrial ROS and glutathione in bioenergetics*. Trends Biochem Sci. 2013 Dec; 38(12):592-602.
- 13-Holmström K, Finkel T. *Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling*. NatRevMol Cell Biol. 2014 Jun;15(6):411-21.

- 14-**Kehrer JP. *The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity*. *Toxicology*. 2000 Aug 14; 149(1):43-50.
- 15-**Kroemer G, Jäättelä M. *Lysosomes and autophagy in cell death control*. *Nat Rev Cancer*. 2005 Nov; 5(11):886-97.
- 16-**Boya P, Kroemer G. *Lysosomal membrane permeabilization in cell death*. *Oncogene*. 2008 Oct 27; 27(50):6434-51.
- 17-** Schrader M, Fahimi H. *Peroxisomes and oxidative stress*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* Volume 1763, Issue 12, December 2006, Pages 1755-1766
- 18-** Zhang J, Kim J, Alexander A, Cai S, Tripathi D, Dere R. *A tuberous sclerosis complex signalling node at the peroxisome regulates mTORC1 and autophagy in response to ROS*. *Nat Cell Biol*. 2013 Oct; 15(10):1186-96.
- 19-**Sies H. *Oxidative stress: oxidants and antioxidants*. *Exp Physiol*. 1997 Mar; 82(2):291-5.
- 20-**Zelko I, Mariani T, Folz R. *Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression*. *Free Radic Biol Med*. 2002 Aug 1; 33(3):337-49.
- 21-**Johnson F, Giulivi C. *Superoxide dismutases and their impact upon human health*. *Mol Aspects Med*. 2005 Aug-Oct; 26(4-5):340-52.
- 22-**Nozik-Grayck E, Suliman H, Piantadosi C. *Extra cellular superoxide dismutase*. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005 Dec; 37(12):2466-71.
- 23-**Mailloux R. *Teaching the fundamentals of electron transfer reactions in mitochondria and the production and detection of reactive oxygen species*. *Redox Biol*. 2015; 4:381-98.
- 24-**Chelikani P, Fita I, Loewen P. *Diversity of structures and properties among catalases*. *Cell Mol Life Sci*. 2004 Jan; 61(2):192-208.
- 25-**Del Río L, Sandalio L, Palma J, Bueno P, Corpas F. *Metabolism of oxygen radicals in peroxisomes and cellular implications*. *Free Radic Biol Med*. 1992 Nov; 13(5):557-80.

- 26-**Venereo, J. *Daño Oxidativo, Radicales Libres Y Antioxidantes*. Rev CubanaMedMilit 2002; 31(2):126-33
- 27-**Creissen G, Broadbent P, Stevens R, Wellburn A, Mullineaux P. *Manipulation of glutathione metabolism in transgenic plants*.BiochemSocTrans. 1996 May; 24(2):465-9.
- 28-**Brigelius-Flohé R. *Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases*.FreeRadicBiol Med. 1999 Nov; 27(9-10):951-65.
- 29-**Hayes J, Flanagan J, Jowsey I. *Glutathione transferases*.AnnuRevPharmacolToxicol.2005; 45:51-88.
- 30-**Balsano C, Alisi A. *Antioxidant effects of natural bioactive compounds*.Curr Pharm Des. 2009; 15(26):3063-73.
- 31-**Reitter RJ. *Oxidative processes and antioxidative mechanisms*.FASEB J 1995; 9:526-33.
- 32-**Halliwell B. *Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies?*ArchBiochemBiophys. 2008 Aug 15; 476(2):107-12.
- 33-**Gironés-Vilaplana, A., P. Mena, C. García-Viguera and D. A. Moreno. *A novel beverage rich in antioxidant phenolics: Maqui berry (Aristoteliachilensis) and lemon juice*.LWT - Food Science and Technology 47 (2012) 279e286
- 34-**Avello M, Cisternas I. *Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile*.RevMed Chile 2010; 138: 1288-1293
- 35-**Fredes C, Montenegro G, Zoffoli J, Santander F, Robert P. *Comparison of the phenolic content, total anthocyanin content and antioxidant capacity of polyphenol-rich fruits grown in Chile*.Cien. Inv. Agr. 41(1):49-60. 2014
- 36-**Schalkwijk C, Vermeer M, Stehouwer C, teKoppelo J, Princen H, van Hinsbergh V. *Effect of methylglyoxal on the physico-chemical and biological properties of low-density lipoprotein*.BiochimBiophysActa.1998 Nov 2; 1394(2-3):187-98.
- 37-**Speisky, H. *Antioxidantes en alimentos: principales fuentes y sus contenidos*. 2015
- 38-**Alonso J. *Maqui (Aristoteliachilensis): a Chilean nutraceutical of medicinal relevance*. Rev. Farmacol. Chile (2012) 5(2)

- 39-Gutteridge J, Halliwell, B. *Reactive oxygen species in biological systems*. 1999
- 40-Yamamori T, Yasui H, Yamazumi M. *Ionizing radiation induces mitochondrial reactive oxygen species production accompanied by upregulation of mitochondrial electron transport chain function and mitochondrial content under control of the cell cycle checkpoint*. *Free Radic Biol Med*. 2012 Jul 15; 53(2):260-70.
- 41-Sosa V, Moliné T, Somoza R, Paciucci R, Kondoh H, Leonart M. *Oxidative stress and cancer: an overview*. *Ageing Res Rev*. 2013 Jan; 12(1):376-90.
- 42- Reuter S, Gupta S, Chaturvedi M, Aggarwal B. *Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked?* *Free Radic Biol Med*. 2010 Dec 1; 49(11):1603-16.
- 43-Trachootham D, Alexandre J, Huang P. *Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach?* *Nat Rev Drug Discov*. 2009 Jul; 8(7):579-91.
- 44-Luo J, Solimini N, Elledge S. *Principles of cancer therapy: oncogene and non-oncogene addiction*. *Cell*. 2009 Mar 6; 136(5):823-37.
- 45-Sabharwal S, Schumacker P. *Mitochondrial ROS in cancer: initiators, amplifiers or an Achilles' heel?* *Nat Rev Cancer*. 2014 Nov; 14(11): 709–721.
- 46- Wang M, Kirk J, Venkataraman S, Domann F, Zhang H, Schafer F, Flanagan S, et al. *Manganese superoxide dismutase suppresses hypoxic induction of hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor*. *Oncogene*; New York 24.55 (Dec 8, 2005): 8154-66.
- 47- Taylor R, Cullen S, Martin S. *Apoptosis: controlled demolition at the cellular level*. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008 Mar; 9(3):231-41.
- 48-Zhang R, Humphreys I, Sahu R, Shi Y, Srivastava S. *In vitro and in vivo induction of apoptosis by capsaicin in pancreatic cancer cells is mediated through ROS generation and mitochondrial death pathway*. *Apoptosis* 2008 Dec; 13(12):1465-78.
- 49- Rhyu D, Yang Y, Ha H, Lee G, Song J, Uh S, Lee H. *Role of reactive oxygen species in TGF- β 1-induced mitogen-activated protein kinase activation and epithelial-mesenchymal transition in renal tubular epithelial cells*. *J Am Soc Nephrol*. 2005 Mar; 16(3):667-75.

- 50-**Kaelin W, Ratcliffe P. *Oxygen Sensing by Metazoans: The Central Role of the HIF Hydroxylase Pathway*. 23 May 2008
- 51-**Moss R. *Do antioxidants interfere with radiation therapy for cancer?* *Integr Cancer Ther*. 2007 Sep; 6(3):281-92.
- 52-**Kander M, Cui Y, Liu Z. *Gender difference in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases*. *J Cell Mol Med*. 2017 May; 21(5): 1024–1032.
- 53-**Cui H, Kong Y, Zhang H. *Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, and Aging*. 2012
- 54-**Lodovici M, Bigagli E. *Oxidative Stress and Air Pollution Exposure*. *J Toxicol*. 2011; 2011:487074
- 55-**Ke C-Y, Yang F-L, Wu W-T, Chung C-H, Lee R-P, Yang W-T, Y-M, Liao K-W. *Vitamin D3 Reduces Tissue Damage and Oxidative Stress Caused by Exhaustive Exercise*. *Int J Med Sci* 2016; 13(2):147-153.
- 56-**Esterbauer K, Cheeseman H, Dianzani M, Poli G, Slater T. *Separation and characterization of the aldehydic products of lipid peroxidation stimulated by ADP-Fe²⁺ in rat liver microsomes*. *Biochem J*. 1982; 208(1): 129–140
- 57-**Aebi H. *Catalase in vitro*. *Methods Enzimol*. 1984, 105: 121-126
- 58-** Lowry O, Rosebrough N, Farr A & Randall R. *Protein measurement with the Folin-Phenol reagents*. *J Biol. Chem*. 1951 ; 193: 265-275
- 59-** Romay C, Pascual C, Lissi E. *The reaction between ABTS radical cation and antioxidants and its use to evaluate the antioxidants status of serum samples*. *Braz J Med Biol Res*, 1996; 29: 175-183
- 60-** Halliwell B. *Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies?*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2008; 476: 107–112.
- 61-** Däutreaux B, Toledano M. *ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis*. *Nature Reviews*, 2007; 8: 813-824.
- 62-** Sabharwal S, Schumacker P. *Mitochondrial ROS in cancer: initiators, amplifiers or an Achilles' heel?*. *Nature Reviews Cancer*, 2014; 14: 709-721.

- 63-** Salomone F, Godos J, Zelber-Sagi S. *Natural antioxidants for non-alcoholic fatty liver disease: molecular targets and clinical perspectives*. *Liber International*, 2016; 36: 5
- 64-** Houghton C, Fassett R, Coombes J. *Sulforaphane and Other Nutrigenomic Nrf2 Activators: Can the Clinician's Expectation Be Matched by the Reality?* *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 2016:7857186.
- 65-** Kensler TW, Egner PA, Agyeman AS, Visvanathan K. *Keap1-nrf2 signaling: a target for cancer prevention by sulforaphane*. *Top Curr Chem*. 2014
- 66-** Tom L. Beauchamp, James F. Childress. *Principles of Biomedical Ethics*. New York: Oxford University Press, 1979

CAPÍTULO 10: ANEXOS

10.1 ENCUESTA DE PARTICIPACIÓN (ANEXO 1)

Nombre: _____

Edad: _____

Ciudad de Residencia: _____

¿Consumes algún suplemento rico en Antioxidantes?

Si___ No___

Consumo de Alcohol

Si___ No___

Tipo de Bebida Alcohólica	Frecuencia al mes	Cantidad por vez (ml)	Gramos por Mes

Consumo de tabaco

Si___ No___

Cantidad diaria _____

Actividad Física

Tipo de actividad física	Duración por vez	Frecuencia semanal	Clasificación según intensidad

¿Posee usted conocimiento de padecer alguna de las siguientes enfermedades?

Diabetes, hipertensión, hipercolesterolemia, enfermedad tiroidea, dislipidemia, enfermedades degenerativas, autoinmunes, o con antecedentes de cáncer en la familia.

Si___ ¿Cuál? _____

No___ Otra (especifique) _____

Firma

10.2 CONSENTIMIENTO INFORMADO (ANEXO 2)

Estimado estudiante:

Por medio del presente, le invitamos a participar del estudio llamado “Efecto del consumo de Maqui (*AristoteliaChilensis*) sobre niveles de estrés oxidativo en eritrocitos irradiados de individuos sanos” para optar al grado de Licenciado en Tecnología Médica Mención Imagenología y Física Médica, desarrollado por Tania Hevia Cisternas RUT 18.565.653-5, Manuel Mandiola León RUT 17.818.966-2 y Anibal Mac-Lean Ponce de León RUT 18.552.336-5, dirigido por la TM Dora Siervo Briones.

Durante el estudio, usted deberá consumir Maqui, por un periodo de 6 semanas. Adicionalmente se realizarán 3 punciones para la obtención de muestras sanguíneas, las cuales serán posteriormente irradiadas. Esto podría generar un pequeño moretón en la zona puncionada. Dicho procedimiento, será llevado a cabo por una Enfermera Universitaria.

Sus datos serán codificados mediante números, de modo que permanecerán en completo anonimato durante todo el estudio. Cabe destacar que su participación es gratuita, y los participantes de este estudio no recibirán dinero ni compensación por ello. De la misma forma, este estudio no generará ningún gasto para usted.

Su participación es totalmente voluntaria, y si en algún momento del estudio desea dejar de participar, puede retirarse sin problemas ni sanciones.

Yo, _____, RUT _____, con fecha _____, declaro que me ha sido leída y he leído la información proporcionada, mis preguntas han sido contestadas con satisfacción, y he podido aclarar mis dudas respecto al estudio.

ACEPTO

10.3 RESULTADOS ANÁLISIS INDIVIDUO POR INDIVIDUO (ANEXO 3)

10.3.1 TBARS

En esta sección, se incluyen los gráficos de cada uno de los individuos que arrojó la prueba TBARS.

TABLA 10.1: *Lipoperoxidación promedio del individuo 1 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar*

Basal	Promedio	1,8456
	D.E	0,01979899
Irradiado	Promedio	1,21175
	D.E	0,1277742
2sM/Irra	Promedio	0,27115
	D.E	0,16298811
6sM/Irra	Promedio	0,0469
	D.E	0,03082986

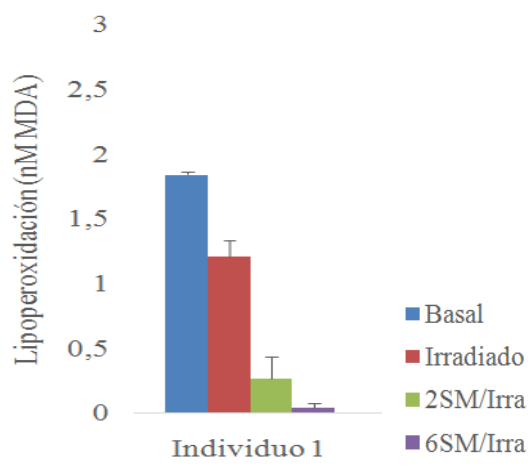


FIGURA 10.1: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 1*

TABLA 10.2: *Lipoperoxidación promedio del individuo 2 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Promedio	1,41105
	D.E	0,01760696
Irradiado	Promedio	1,02175
	D.E	0,12339013
2sM/Irra	Promedio	0,37855
	D.E	0,08152941
6sM/Irra	Promedio	0,8068
	D.E	0,12331942

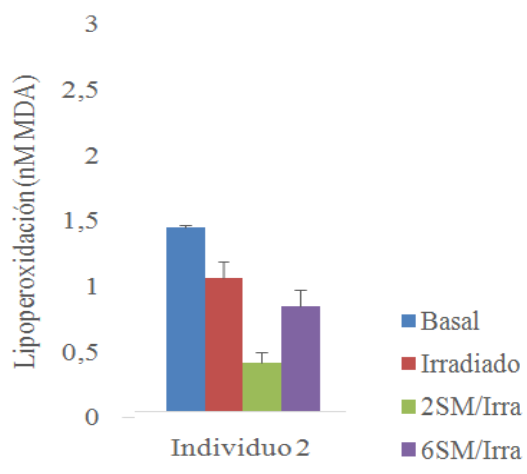


FIGURA 10.2: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 2.*

TABLA 10.3: *Lipoperoxidación promedio del individuo 3 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Promedio	1,26005
	D.E	0,05946768
Irradiado	Promedio	0,9439
	D.E	0,02206173
2sM/Irra	Promedio	0,38325
	D.E	0,04405275
6sM/Irra	Promedio	0,48445
	D.E	0,08591347

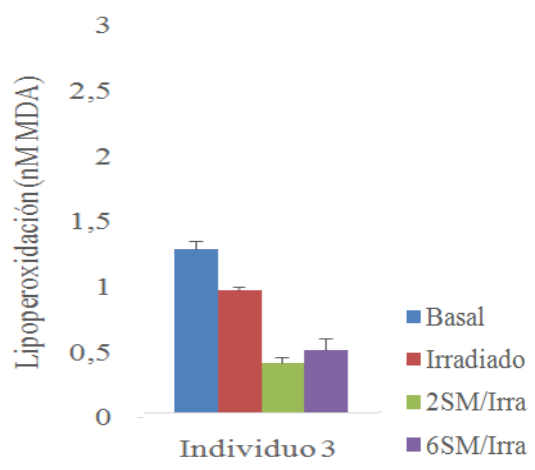


FIGURA 10.3: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 3.*

TABLA 10.4: *Lipoperoxidación promedio del individuo 4 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Promedio	1,59325
	D.E	0,14757319
Irradiado	Promedio	1,03265
	D.E	0,04179001
2sM/Irra	Promedio	0,37855
	D.E	0,00219203
6sM/Irra	Promedio	0,45955
	D.E	0,05508362

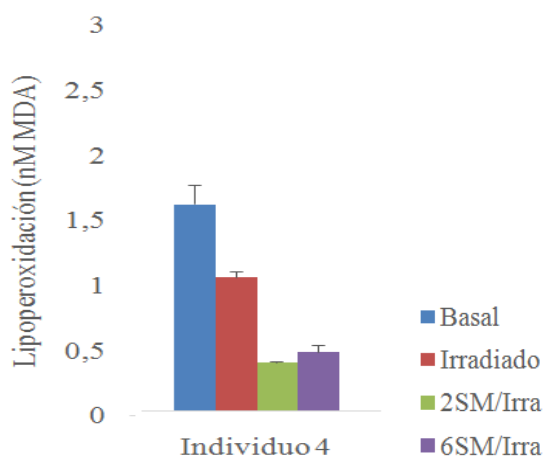


FIGURA 10.4: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 4.*

TABLA 10.5: *Lipoperoxidación promedio del individuo 5 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Promedio	1,2585
	D.E	0,11893536
Irradiado	Promedio	1,1105
	D.E	0,07269058
2sM/Irra	Promedio	0,67915
	D.E	0,0132229
6sM/Irra	Promedio	0,55455
	D.E	0,03528463

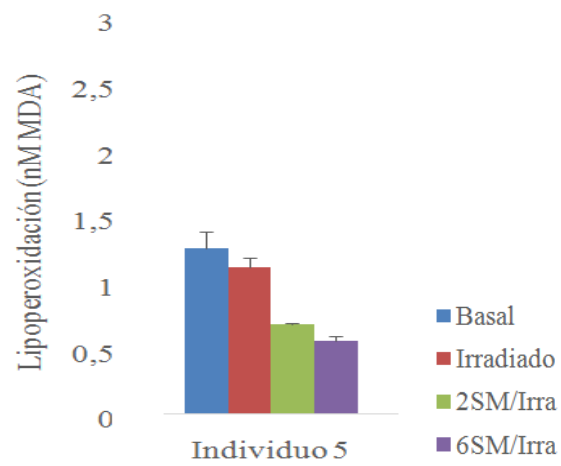


FIGURA 10.5: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 5.*

TABLA 10.6: *Lipoperoxidación promedio del individuo 6 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Promedio	2,09785
	D.E	0,27966073
Irradiado	Promedio	1,35345
	D.E	0,01096016
2sM/Irra	Promedio	0,30695
	D.E	0,05508362
6sM/Irra	Promedio	1,1339
	D.E	0,06165971

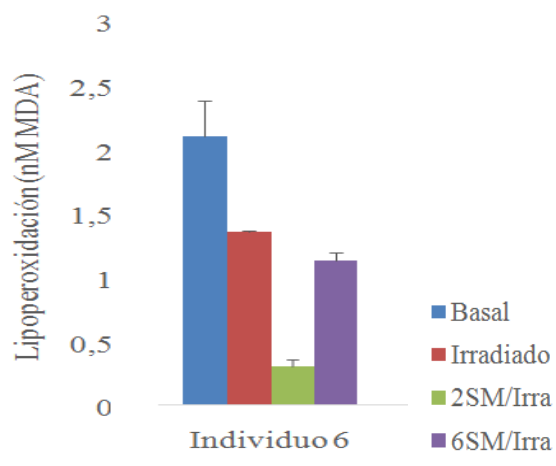


FIGURA 10.6: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 6.*

TABLA 10.7: *Lipoperoxidación promedio del individuo 7 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Promedio	1,2569
	D.E	0,01979899
Irradiado	Promedio	0,89245
	D.E	0,00219203
2sM/Irra	Promedio	0,1356
	D.E	0,11228856
6sM/Irra	Promedio	0,391
	D.E	0,07707464

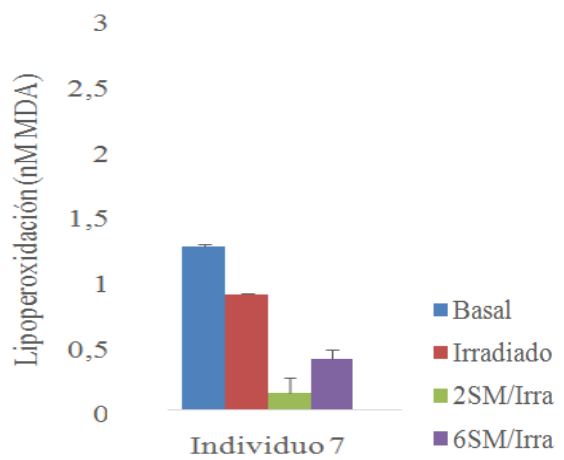


FIGURA 10.7: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 7.*

TABLA 10.8: *Lipoperoxidación promedio del individuo 8 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Promedio	1,41105
	D.E	0,2906916
Irradiado	Promedio	1,18835
	D.E	0,15195725
2sM/Irra	Promedio	0,39725
	D.E	0,0946816
6sM/Irra	Promedio	0,75075
	D.E	0,17175624

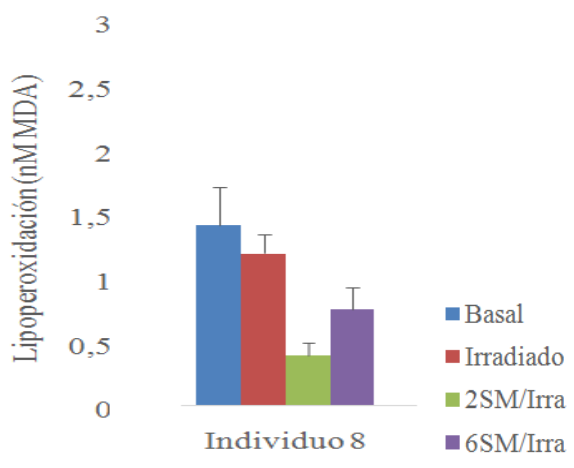


FIGURA 10.8: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 8.*

TABLA 10.9: *Lipoperoxidación promedio del individuo 9 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Promedio	2,36725
	D.E	0,11009653
Irradiado	Promedio	1,62595
	D.E	0,19381797
2sM/Irra	Promedio	0,2836
	D.E	0,11893536
6sM/Irra	Promedio	0,5779
	D.E	0,11228856

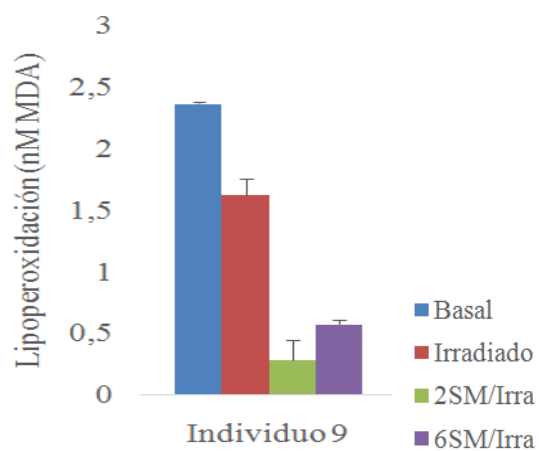


FIGURA 10.9: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 9.*

TABLA 10.10: *Lipoperoxidación promedio del individuo 10 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Promedio	1,55595
	D.E	0,02863782
Irradiado	Promedio	1,8082
	D.E	0,09913637
2sM/Irra	Promedio	0,4611
	D.E	0,11016724
6sM/Irra	Promedio	0,3505
	D.E	0,04624478

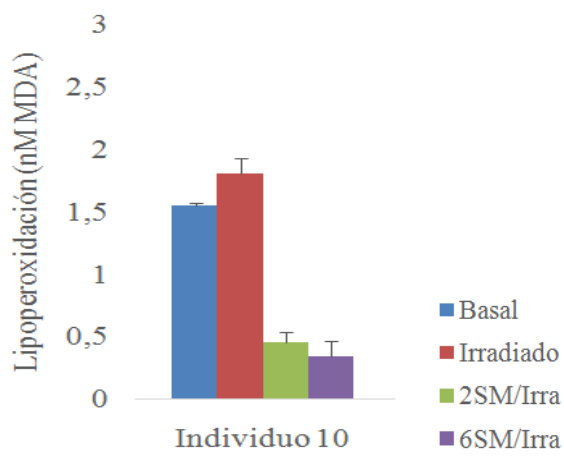


FIGURA 10.10: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 10.*

TABLA 10.11: *Lipoperoxidación promedio del individuo 11 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	2,2427
	D.E	0,38325188
Irradiado	Prom	1,8907
	D.E	0,41846579
2sM/Irra	Prom	0,2618
	D.E	0,00438406
6sM/Irra	Prom	0,5483
	D.E	0,08372144

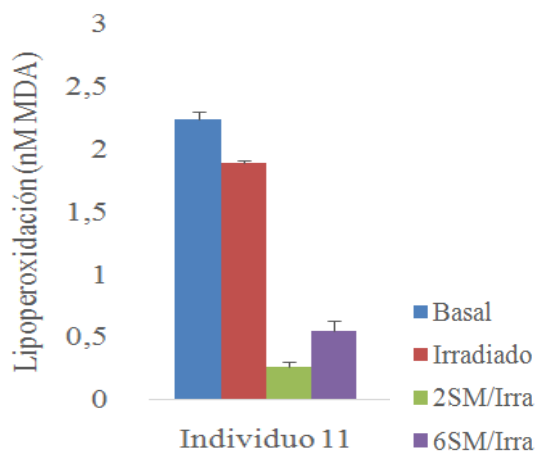


FIGURA 10.11: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 11.*

TABLA 10.12: *Lipoperoxidación promedio del individuo 12 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	2,5791
	D.E	0,20704087
Irradiado	Prom	2,04645
	D.E	0,32152145
2sM/Irra	Prom	0,26955
	D.E	0,11235927
6sM/Irra	Prom	0,64485
	D.E	0,05282088

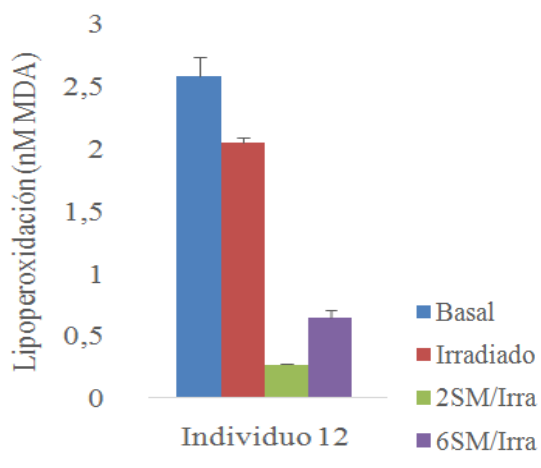


FIGURA 10.12: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 12.*

TABLA 10.13: *Lipoperoxidación promedio del individuo 13 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	1,7957
	D.E	0,01103087
Irradiado	Prom	1,5575
	D.E	0,0881055
2sM/Irra	Prom	0,0936
	D.E	0,02206173
6sM/Irra	Prom	0,4502
	D.E	0,01979899

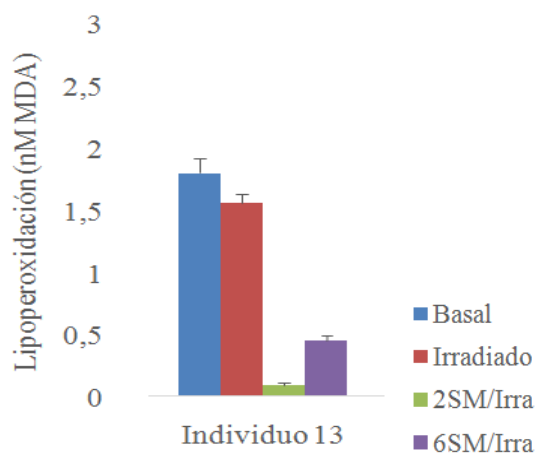


FIGURA 10.13: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 13.*

TABLA 10.14: *Lipoperoxidación promedio del individuo 14 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	2,0667
	D.E	0,31932942
Irradiado	Prom	1,33165
	D.E	0,05508362
2sM/Irra	Prom	0,2929
	D.E	0,03082986
6sM/Irra	Prom	0,40975
	D.E	0,06385174

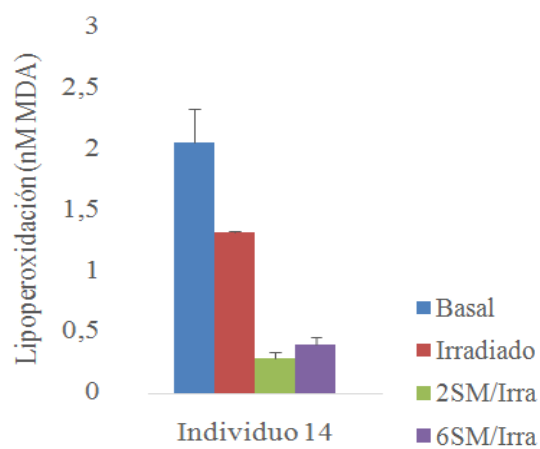


FIGURA 10.14: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 14.*

TABLA 10.15: *Lipoperoxidación promedio del individuo 15 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	1,80665
	D.E	0,07049855
Irradiado	Prom	1,2647
	D.E	0,51972348
2sM/Irra	Prom	0,32095
	D.E	0,00445477
6sM/Irra	Prom	0,4284
	D.E	0,01103087

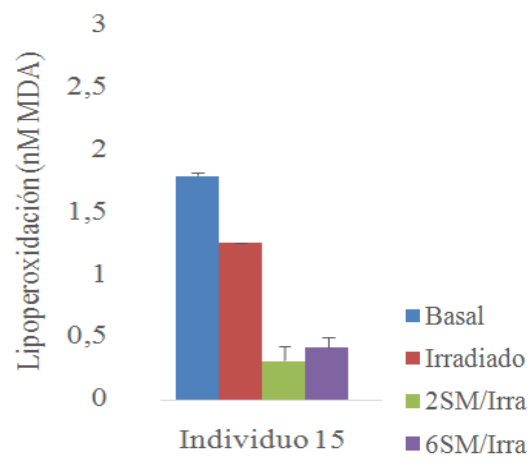


FIGURA 10.15: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 15.*

TABLA 10.16: *Lipoperoxidación promedio del individuo 16 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	1,3114
	D.E	0,01315219
Irradiado	Prom	1,35345
	D.E	0,17840304
2sM/Irra	Prom	0,20885
	D.E	0,01760696
6sM/Irra	Prom	0,4611
	D.E	0,04850753

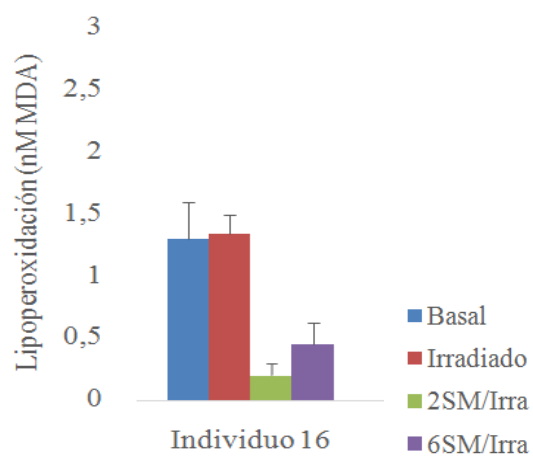


FIGURA 10.16: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 16.*

TABLA 10.17: *Lipoperoxidación promedio del individuo 17 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	0,77255
	D.E	0,02199102
Irradiado	Prom	1,33165
	D.E	0,58810071
2sM/Irra	Prom	0,2088
	D.E	0,02644579
6sM/Irra	Prom	0,4814
	D.E	0,16518014

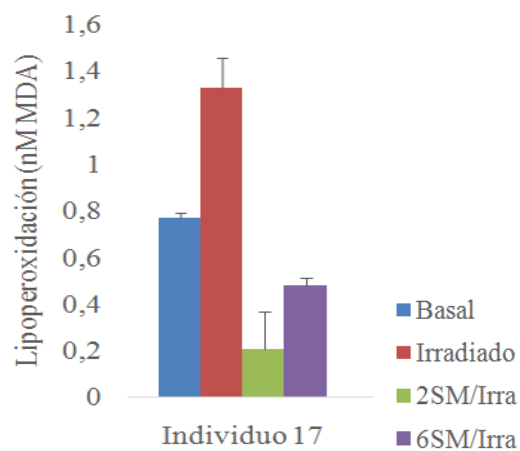


FIGURA 10.17: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 17.*

TABLA 10.18: *Lipoperoxidación promedio del individuo 18 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	0,3677
	D.E	0,18497913
Irradiado	Prom	0,29135
	D.E	0,17840304
2sM/Irra	Prom	0,42995
	D.E	0,17175624
6sM/Irra	Prom	0,57015
	D.E	0,04843681

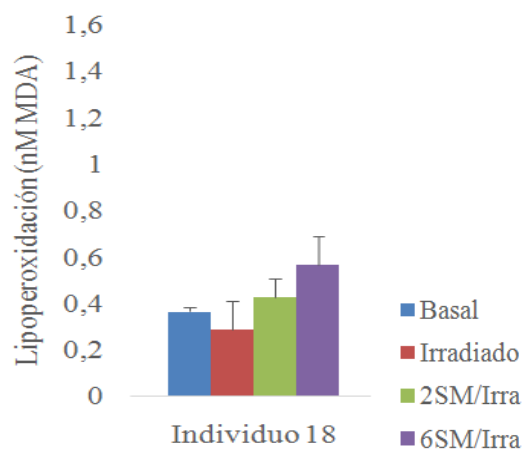


FIGURA 10.18: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 18.*

TABLA 10.19: *Lipoperoxidación promedio del individuo 19 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	0,9221
	D.E	0,0881055
Irradiado	Prom	0,73985
	D.E	0,00219203
2sM/Irra	Prom	0,4751
	D.E	0,04624478
6sM/Irra	Prom	0,2057
	D.E	0,09687363

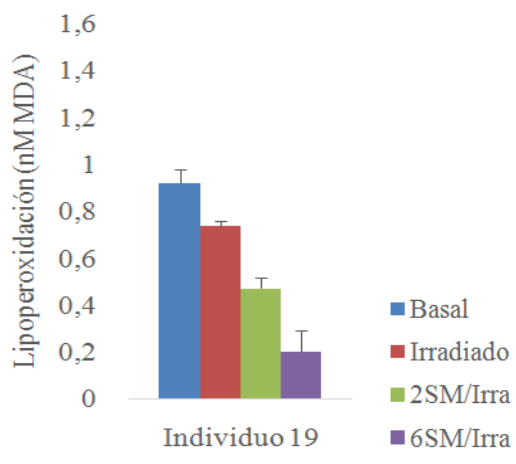


FIGURA 10.19: *Gráfico de la lipoperoxidación correspondiente al individuo 19.*

10.3.2 CATALASA

A continuación, se exponen los gráficos de obtenidos de cada individuo en la prueba Catalasa.

TABLA 10.20: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 1 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	0,00070437
	D.E	0,00015365
Irradiado	Prom	0,00047548
	D.E	7,3286E-05
2SM/Irra	Prom	0,00087655
	D.E	0,00014459
6SM/Irra	Prom	0,00040814
	D.E	8,7785E-05

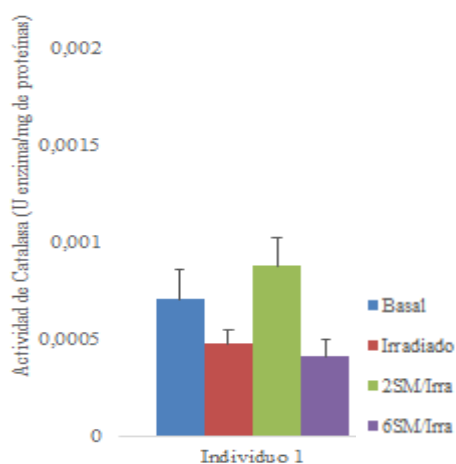


FIGURA 10.20: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 1.*

TABLA 10.21: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 2 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	0,00084133
	D.E	0,00016364
Irradiado	Prom	0,00075992
	D.E	9,5063E-05
2SM/Irra	Prom	0,00093739
	D.E	0,00016774
6SM/Irra	Prom	0,00099311
	D.E	0,00033403

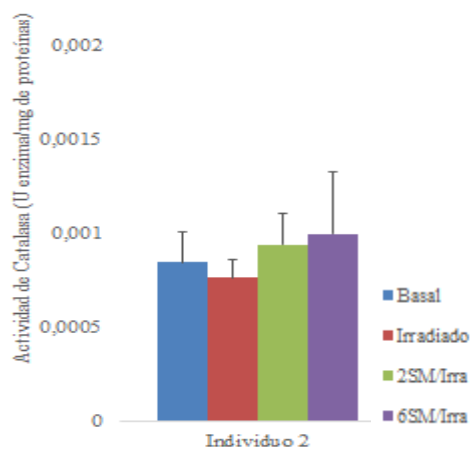


FIGURA 10.21: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 2.*

TABLA 10.22: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 3 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	0,00062888
	D.E	0,00010102
Irradiado	Prom	0,00047846
	D.E	4,4417E-05
2SM/Irra	Prom	0,00141634
	D.E	0,00022757
6SM/Irra	Prom	0,00062686
	D.E	0,00021665

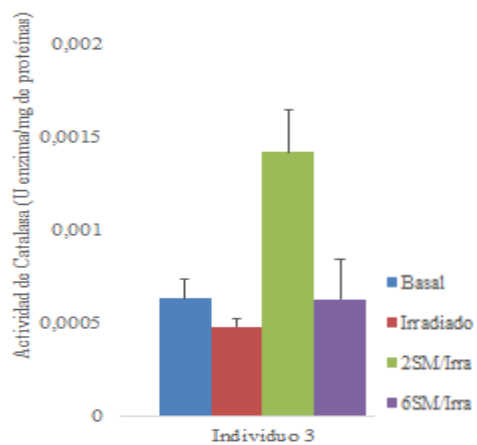


FIGURA 10.22: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 3.*

TABLA 10.23: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 4 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	0,000838
	D.E	7,0738E-05
Irradiado	Prom	0,00062991
	D.E	0,00010722
2SM/Irra	Prom	0,00125724
	D.E	9,296E-05
6SM/Irra	Prom	0,00029151
	D.E	0,00013985

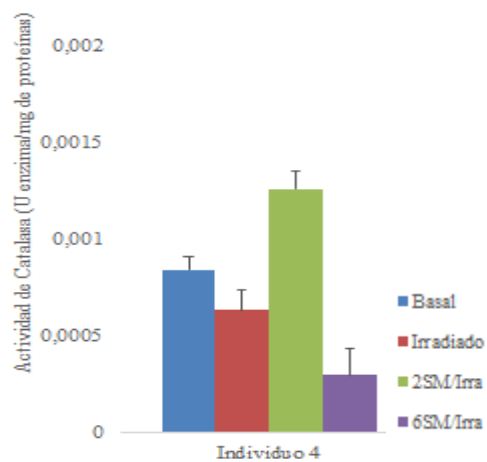


FIGURA 10.23: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 4.*

TABLA 10.24: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 5 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	0,00091899
	D.E	3,8026E-05
Irradiado	Prom	0,00082701
	D.E	7,0455E-05
2SM/Irra	Prom	0,00070858
	D.E	0,00010954
6SM/Irra	Prom	0,00051941
	D.E	0,0002264

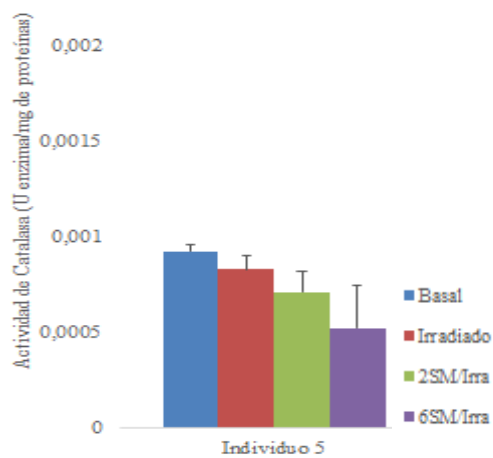


FIGURA 10.24: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 5.*

TABLA 10.25: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 6 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	0,00085703
	D.E	0,00019903
Irradiado	prom	0,00076028
	D.E	9,5786E-05
2SM/Irra	prom	0,00133189
	D.E	0,00021328
6SM/Irra	prom	0,00165317
	D.E	0,00041989

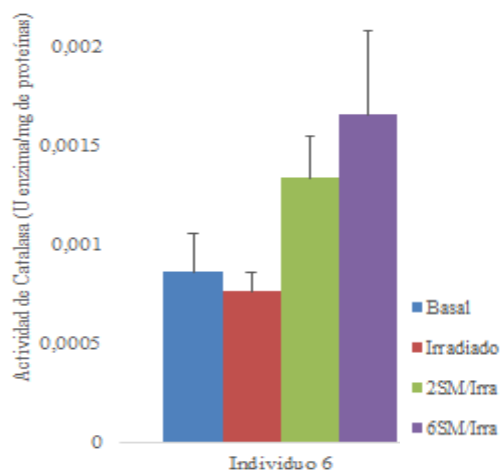


FIGURA 10.25: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 6.*

TABLA 10.26: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 7 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	0,0006519
	D.E	7,6088E-05
Irradiado	prom	0,00078153
	D.E	0,00013476
2SM/Irra	prom	0,00073983
	D.E	7,6224E-05
6SM/Irra	prom	0,00051968
	D.E	9,6631E-05

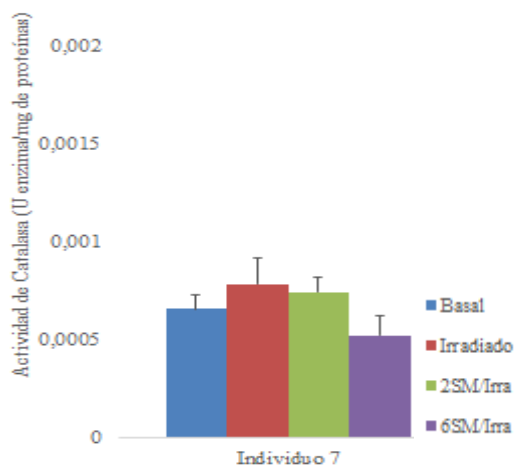


FIGURA 10.26: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 7.*

TABLA 10.27: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 8 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	0,00061224
	D.E	0,00012445
Irradiado	prom	0,00092926
	D.E	0,00015047
2SM/Irra	prom	0,00051782
	D.E	0,00022709
6SM/Irra	prom	0,00037422
	D.E	0,00015539

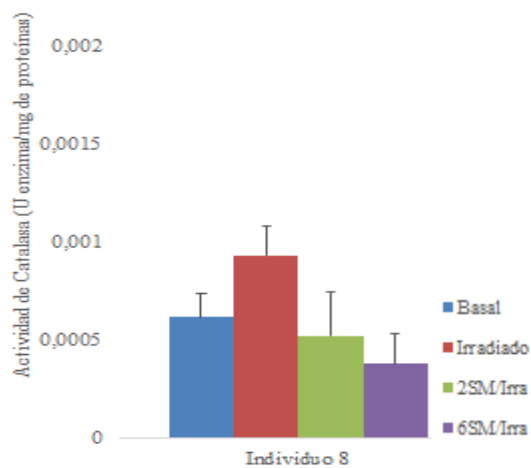


FIGURA 10.27: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 8.*

TABLA 10.28: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 9 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	0,00080593
	D.E	0,00010907
Irradiado	prom	0,00040559
	D.E	0,00010989
2SM/Irra	prom	0,00109607
	D.E	0,00016632
6SM/Irra	prom	0,00088326
	D.E	0,00016282

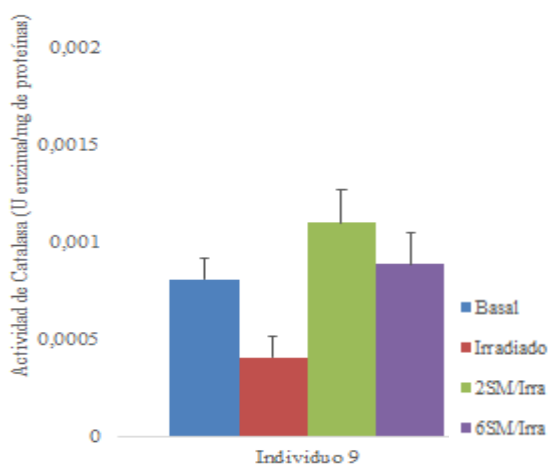


FIGURA 10.28: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 9.*

TABLA 10.29: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 10 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	0,00061105
	D.E	0,00010982
Irradiado	prom	0,00035228
	D.E	0,0002733
2SM/Irra	prom	0,0010545
	D.E	0,00036519
6SM/Irra	prom	0,00082461
	D.E	0,00032291

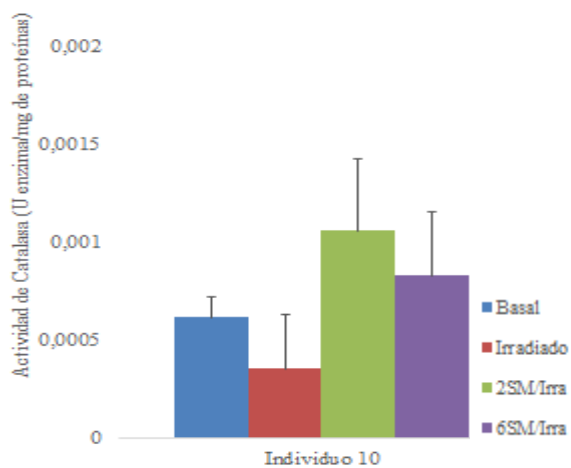


FIGURA 10.29: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 10.*

TABLA 10.30: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 11 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	0,00050825
	D.E	0,00010691
Irradiado	prom	0,00068311
	D.E	0,00024168
2SM/Irra	prom	0,00149514
	D.E	0,00019458
6SM/Irra	prom	0,00064203
	D.E	0,0001878

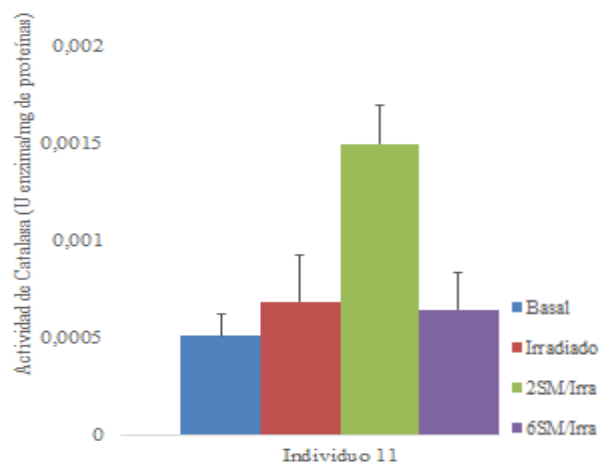


FIGURA 10.30: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 11.*

TABLA 10.31: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 12 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	0,00057944
	D.E	9,9225E-05
Irradiado	prom	0,0006022
	D.E	0,00020032
2SM/Irra	prom	0,00122898
	D.E	0,00019027
6SM/Irra	prom	0,00057264
	D.E	0,00044949

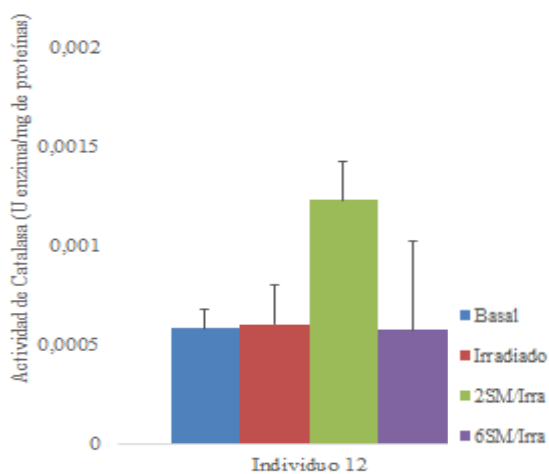


FIGURA 10.31: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 12.*

TABLA 10.32: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 13 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	0,00079825
	D.E	0,0001818
Irradiado	prom	0,00060225
	D.E	0,00011964
2SM/Irra	prom	0,00064753
	D.E	0,00026671
6SM/Irra	prom	0,00139127
	D.E	6,8058E-05

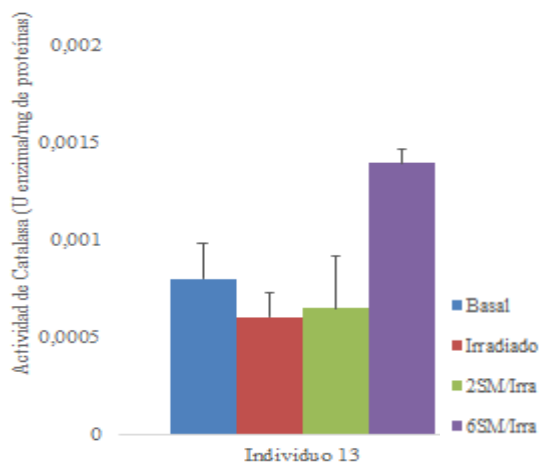


FIGURA 10.32: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 13.*

TABLA 10.33: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 14 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	0,0008088
	D.E	9,9781E-05
Irradiado	prom	0,00087544
	D.E	0,00017021
2SM/Irra	prom	0,00128749
	D.E	9,8594E-05
6SM/Irra	prom	0,0007589
	D.E	0,00016473

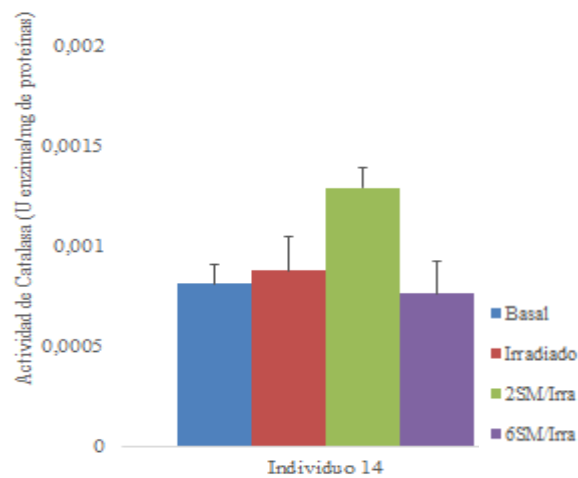


FIGURA 10.33: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 14.*

TABLA 10.34: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 15 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	0,00067103
	D.E	9,7496E-05
Irradiado	prom	0,00039943
	D.E	0,00011845
2SM/Irra	prom	0,00071466
	D.E	4,9544E-05
6SM/Irra	prom	0,00052271
	D.E	0,00014911

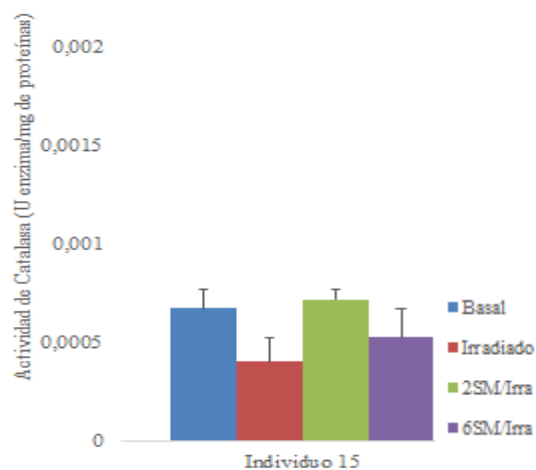


FIGURA 10.34: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 15.*

TABLA 10.35: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 16 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	0,00056382
	D.E	0,00011252
Irradiado	prom	0,00045997
	D.E	8,5873E-05
2SM/Irra	prom	0,00114266
	D.E	0,00016218
6SM/Irra	prom	0,00031222
	D.E	9,2994E-05

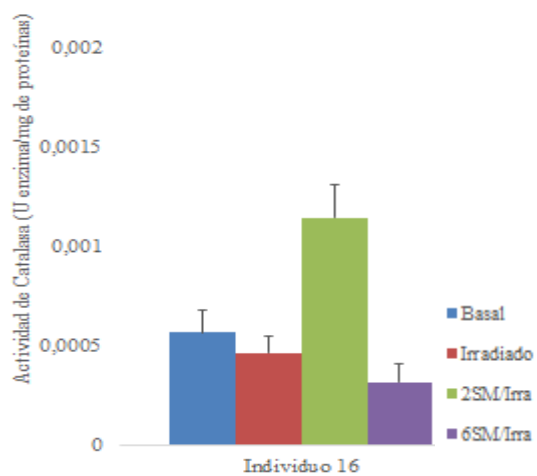


FIGURA 10.35: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 16.*

TABLA 10.36: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 17 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	0,00086417
	D.E	0,00010094
Irradiado	prom	0,00104825
	D.E	0,00039173
2SM/Irra	prom	0,00171025
	D.E	0,00020431
6SM/Irra	prom	0,00127577
	D.E	0,00013403

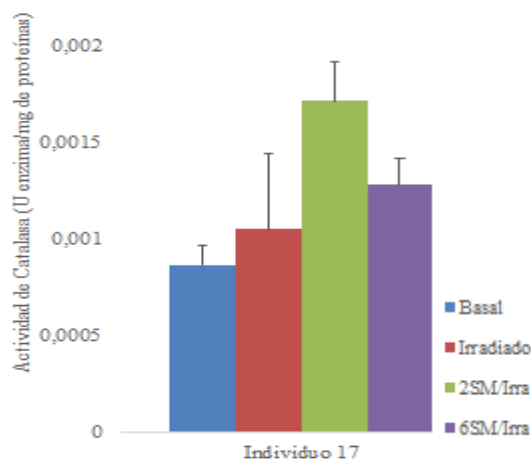


FIGURA 10.36: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 17.*

TABLA 10.37: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 18 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	0,00063977
	D.E	0,00011747
Irradiado	prom	0,00054987
	D.E	0,00012255
2SM/Irra	prom	0,00060479
	D.E	5,7333E-05
6SM/Irra	prom	0,00057331
	D.E	0,0001541

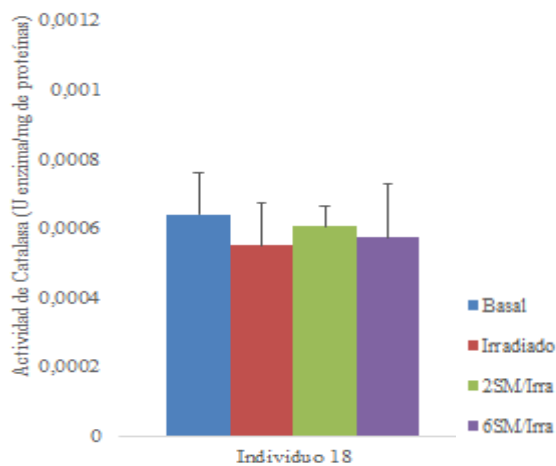


FIGURA 10.37: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 18.*

TABLA 10.38: *Actividad de Catalasa promedio del individuo 19 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	0,00064291
	D.E	0,00011285
Irradiado	prom	0,00079941
	D.E	0,00020794
2SM/Irra	prom	0,00066986
	D.E	7,7336E-05
6SM/Irra	prom	0,00107262
	D.E	0,0001434

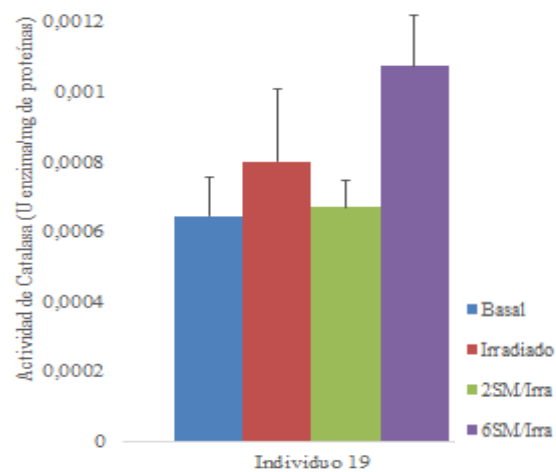


FIGURA 10.38: *Gráfico de la actividad de catalasa correspondiente al individuo 19.*

10.3.3 TRAP

A continuación, se muestran los gráficos obtenidos de los análisis de cada individuo por separado en la prueba TRAP.

TABLA 10.39: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 1 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	20,8369
	D.E	3,91749701
Irradiado	prom	27,40835
	D.E	6,85715
2SM/Irra	prom	26,0504
	D.E	3,94136633
6SM/Irra	prom	22,3123333
	D.E	1,70115

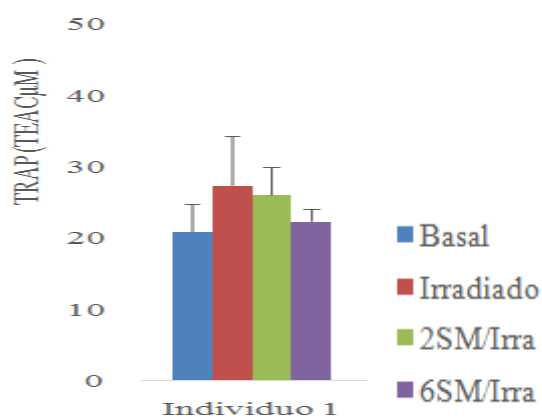


FIGURA 10.39: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 1.*

TABLA 10.40: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 2 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	Prom	17,75845
	D.E	3,94435
Irradiado	prom	16,42115
	D.E	3,88625
2SM/Irra	prom	23,2952
	D.E	0,0019
6SM/Irra	prom	34,62
	D.E	3,2804

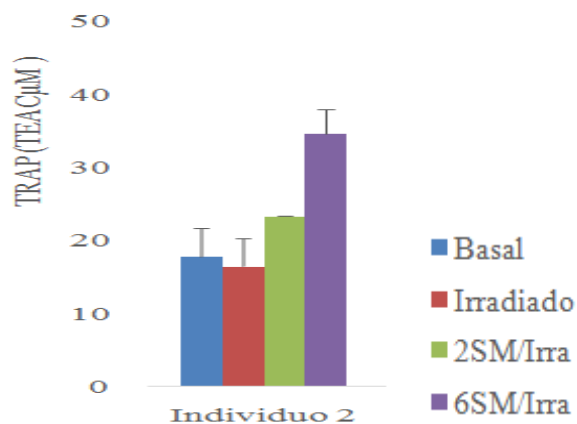


FIGURA 10.40: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 2.*

TABLA 10.41: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 3 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	33,1833
	D.E	11,1279
Irradiado	prom	19,5665
	D.E	1,9525
2SM/Irra	prom	22,9219333
	D.E	4,1531506
6SM/Irra	prom	21,052
	D.E	5,4786

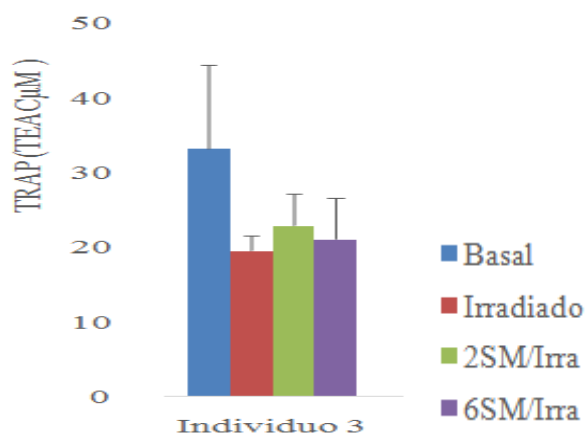


FIGURA 10.41: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 3.*

TABLA 10.42: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 4 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	38,2924
	D.E	3,7943
Irradiado	prom	13,7711333
	D.E	0,44354041
2SM/Irra	prom	7,5027
	D.E	0,0394
6SM/Irra	prom	21,097
	D.E	1,93

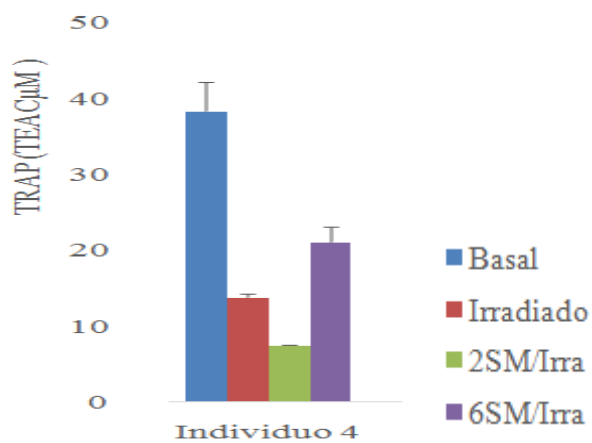


FIGURA 10.42: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 4.*

TABLA 10.43: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 5 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	26,8813
	D.E	3,6105
Irradiado	prom	19,0488333
	D.E	1,83245
2SM/Irra	prom	14,4967667
	D.E	2,72420624
6SM/Irra	prom	37,4447
	D.E	4,1807

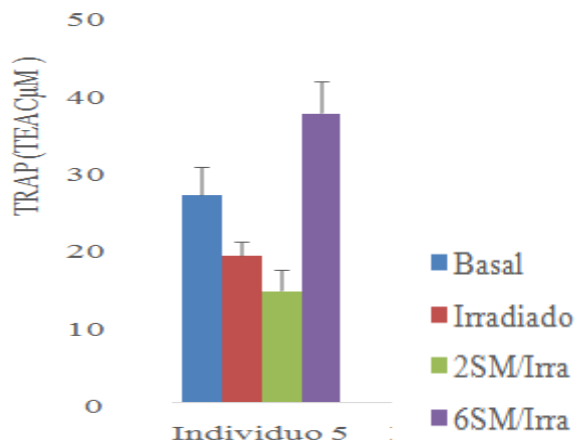


FIGURA 10.43: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 5.*

TABLA 10.44: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 6 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	22,98195
	D.E	3,67995
Irradiado	prom	25,3677
	D.E	1,2341
2SM/Irra	prom	9,3408
	D.E	1,4686
6SM/Irra	prom	18,7956333
	D.E	1,92964583

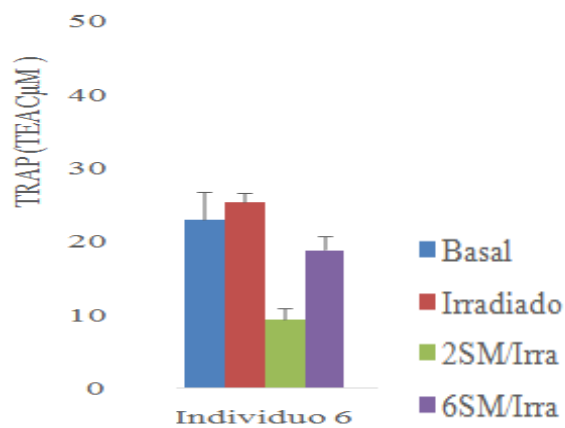


FIGURA 10.44: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 6.*

TABLA 10.45: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 7 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	28,8826
	D.E	2,382
Irradiado	prom	21,4964333
	D.E	0,30385
2SM/Irra	prom	20,6062
	D.E	1,47878866
6SM/Irra	prom	21,0776
	D.E	4,01735405

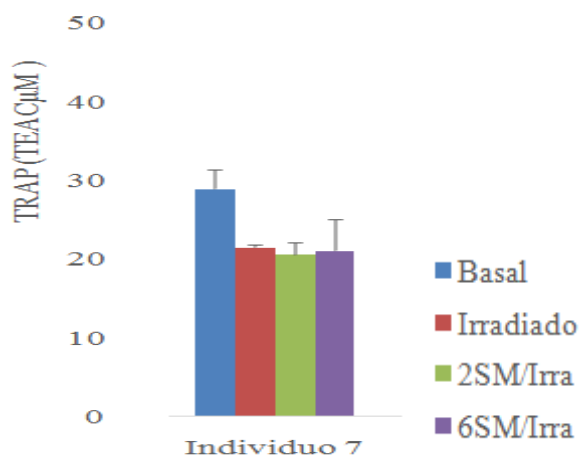


FIGURA 10.45: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 7.*

TABLA 10.46: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 8 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	17,26325
	D.E	0,80465
Irradiado	prom	10,393
	D.E	1,1291
2SM/Irra	prom	20,9919333
	D.E	1,08975
6SM/Irra	prom	25,6315333
	D.E	2,37689492

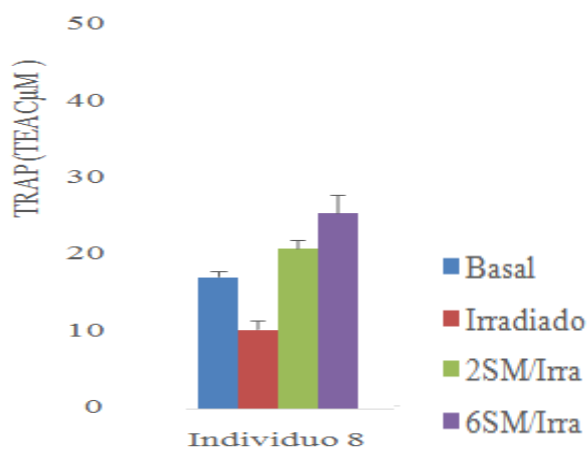


FIGURA 10.46: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 8.*

TABLA 10.47: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 9 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	18,52555
	D.E	0,45765
Irradiado	prom	28,0066333
	D.E	1,90375
2SM/Irra	prom	23,4352667
	D.E	10,5864608
6SM/Irra	prom	17,7715333
	D.E	0,55145

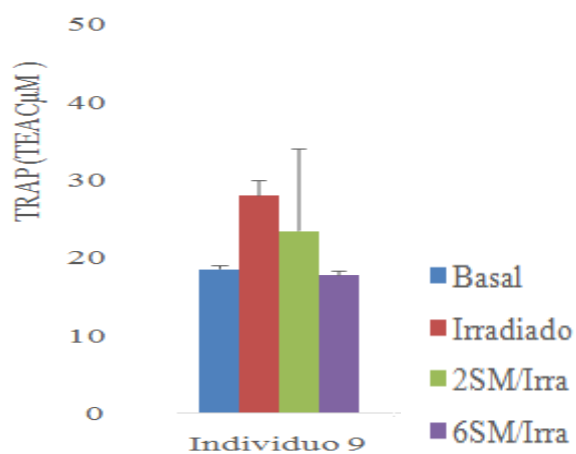


FIGURA 10.47: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 9.*

TABLA 10.48: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 10 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	22,7119
	D.E	0,4389
Irradiado	prom	20,8344
	D.E	3,2917
2SM/Irra	prom	30,4449333
	D.E	7,14415
6SM/Irra	prom	15,3695333
	D.E	1,96932072

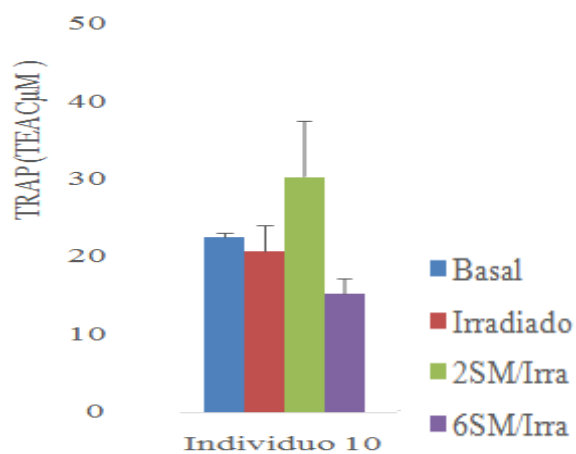


FIGURA 10.48: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 10.*

TABLA 10.49: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 11 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	18,4111
	D.E	0,5383
Irradiado	prom	21,5377333
	D.E	1,86230698
2SM/Irra	prom	19,3120333
	D.E	2,46500608
6SM/Irra	prom	18,2104333
	D.E	0,23255

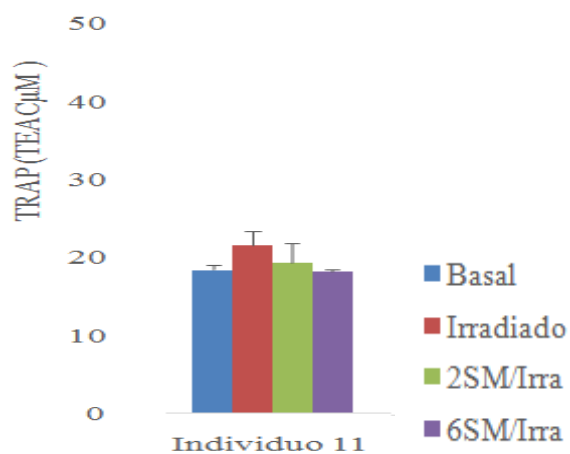


FIGURA 10.49: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 11.*

TABLA 10.50: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 12 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	28,54495
	D.E	1,16285
Irradiado	prom	25,1145
	D.E	1,1722
2SM/Irra	prom	17,3276667
	D.E	3,15194234
6SM/Irra	prom	27,2208
	D.E	4,6927

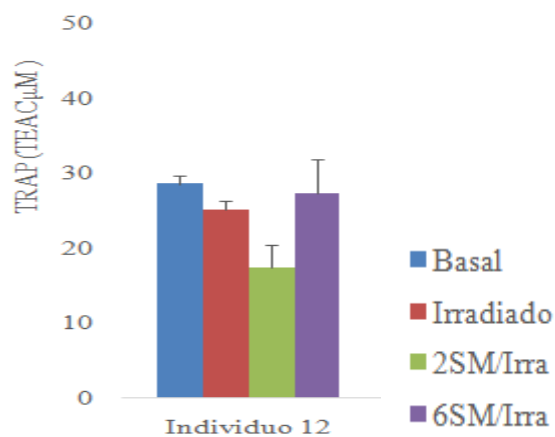


FIGURA 10.50: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 12.*

TABLA 10.51: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 13 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	32,98075
	D.E	3,88435
Irradiado	prom	31,9548
	D.E	3,6424
2SM/Irra	prom	25,7747
	D.E	0,9284
6SM/Irra	prom	23,509
	D.E	4,1319

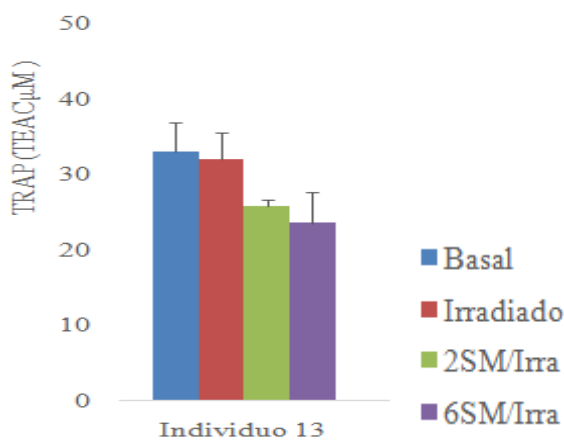


FIGURA 10.51: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 13.*

TABLA 10.52: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 14 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	17,61775
	D.E	2,32195
Irradiado	prom	22,8169
	D.E	4,32631571
2SM/Irra	prom	36,6412667
	D.E	3,88060016
6SM/Irra	prom	29,012
	D.E	1,7687

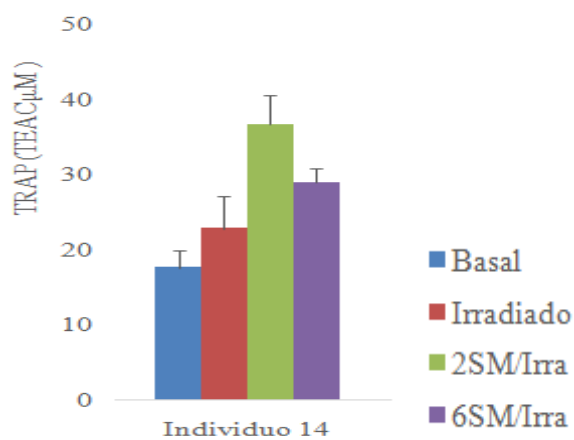


FIGURA 10.52: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 14.*

TABLA 10.53: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 15 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	22,2861
	D.E	1,7537
Irradiado	prom	29,6128
	D.E	3,74966276
2SM/Irra	prom	23,3027
	D.E	6,6527
6SM/Irra	prom	18,5780667
	D.E	3,4614803

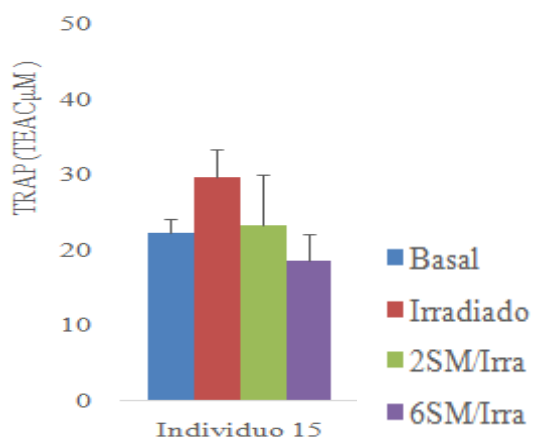


FIGURA 10.53: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 15.*

TABLA 10.54: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 16 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	25,2477
	D.E	4,734
Irradiado	prom	31,7503333
	D.E	2,51145
2SM/Irra	prom	56,4628
	D.E	9,78870002
6SM/Irra	prom	21,5602333
	D.E	0,07505001

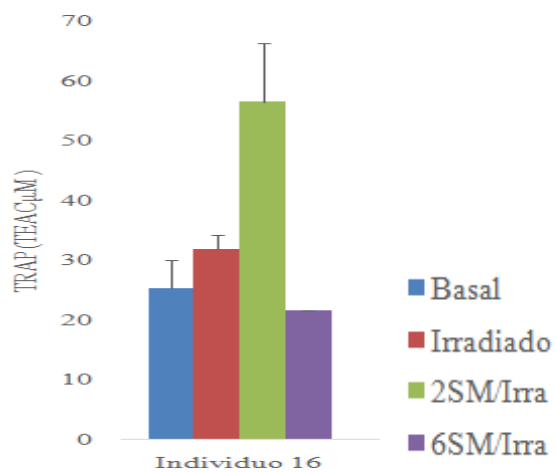


FIGURA 10.54: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 16.*

TABLA 10.55: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 17 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	39,1533
	D.E	5,8256
Irradiado	prom	19,3583333
	D.E	0,14255
2SM/Irra	prom	34,6206333
	D.E	3,34336579
6SM/Irra	prom	28,7850333
	D.E	4,14135

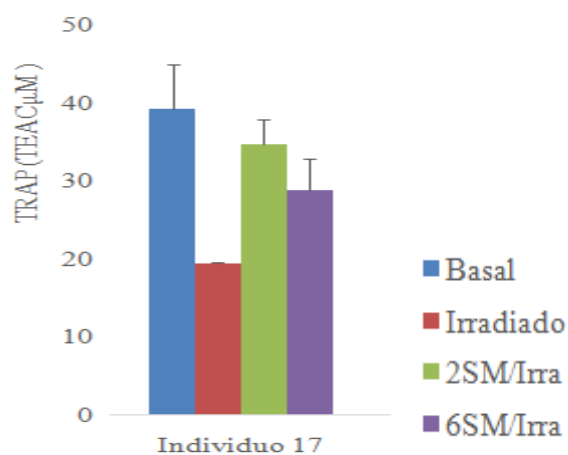


FIGURA 10.55: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 17.*

TABLA 10.56: *Capacidad antioxidante total promedio del individuo 18 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.*

Basal	prom	25,559
	D.E	1,4217
Irradiado	prom	34,1679333
	D.E	2,37075
2SM/Irra	prom	18,338
	D.E	1,9281
6SM/Irra	prom	27,8622333
	D.E	4,05125

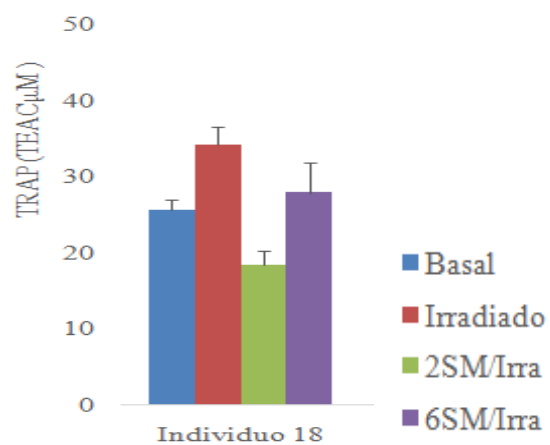


FIGURA 10.56: *Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 18.*

TABLA 10.57: Capacidad antioxidante total promedio del individuo 19 en cada uno de los controles y muestras del estudio con sus respectivas desviaciones estándar.

Basal	prom	43,74855
	D.E	0,12755
Irradiado	prom	18,8969
	D.E	4,21550786
2SM/Irra	prom	33,4201667
	D.E	9,01054557
6SM/Irra	prom	26,8906333
	D.E	2,53205

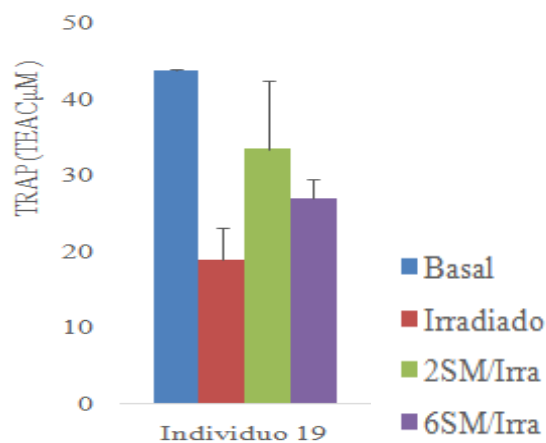


FIGURA 10.57: Gráfico de la capacidad antioxidante total correspondiente al individuo 19.