UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE ESTUDIO DE OBSTETRICIA



TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE OBSTETRA

Efecto in vitro del extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* "quinua" sobre la movilidad y viabilidad de los espermatozoides de *Tetrapygus niger* "erizo de mar". Universidad Privada Antenor Orrego 2020.

Área de investigación:

Medicina Integrativa: Tradicional, Alternativa y Complementaria

Autoras:

Avila Briceño, Diana Yaqueli. Gomez Custodio, Becxi Geraldine.

Jurado Evaluador:

Presidente: Veneros Terrones, Roger.

Secretaria: Liviapoma Rodríguez, Claudia Paola.

Vocal: Diez Morales, Carlos Augusto.

Asesora:

Guerrero Hurtado, Juana del Carmen Código Orcid: https://orcid.org/0000-0002-4478-3532

TRUJILLO - PERÚ 2023

Fecha de sustentación: 06/11/2023

Efecto in vitro del extracto acuoso de Chenopodium quinoa

Excluir citas Activo
Excluir bibliografía Apagado

Excluir coincidencias Apagado

Declaración de Originalidad

Yo, Juana del Carmen Guerrero Hurtado, docente del programa de estudio de obstetricia, de la Universidad Privada Antenor Orrego, asesor de la tesis de investigación titulada: "EFECTO IN VITRO DEL EXTRACTO ACUOSO DE CHENOPODIUM QUINOA "QUINUA" SOBRE LA MOVILIDAD Y VIABILIDAD DE LOS ESPERMATOZOIDES DE TETRAPYGUS NIGER "ERIZO DE MAR". UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO 2020.", autor Avila Briceño Diana Yaqueli y Gomez Custodio Becxi Geraldine, dejo constancia de lo siguiente:

- El mencionado documento tiene índice de puntuación de similitud de 1%.
 Así lo consigna el reporte de similitud emitido por el software Turnitin el (16 de enero del 2024).
- He revisado con detalle dicho reporte y la tesis, y no se advierten indicios de plagio.
- Las citas a otros autores y sus respectivas referencias cumplen con las normas establecidas por la universidad.

Trujillo, 16 de enero del 2024.

ASESOR:

Guerrero Hurtado Juana del Carmen. DNI: 17855451

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4478-3532

AUTOR:

Avila Briceño Diana Yaqueli.

DNI: 73460790

AUTOR:

Gomez Custodio Becxi Geraldine.

DNI: 74321687

DEDICATORIA

A Dios, creador de todas las cosas, por haberme guiado a lo largo de mi carrera y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A mi hija Camila y mi esposo Alex, por ser mi motivación de cada día.

A mi madre, Antonia por siempre ser mujer luchadora y con su ejemplo y apoyo poder lograr mis metas y ser mejor persona cada día.

De manera especial, para mi abuela María Paulina, que me acompaña espiritualmente y a quien agradezco por el amor infinito que siempre me brindó.

-Avila Briceño, Diana Yaqueli-

DEDICATORIA

A Dios por sus bendiciones, por haberme guiado y brindado la fortaleza para seguir adelante.

A mi madre Teófila Custodio, por poner en mi su fé y su confianza de ver este sueño hecho realidad; por haber trabajado tan duro, por sacrificar muchas cosas y por siempre brindarme ese apoyo económico y emocional para poder lograr mis objetivos. ¡Gracias mamá, te amo!

A mis hermanos Miryam y Beto, por sus ánimos de motivación para esforzarme y creer en mí misma.

A mi familia en especial a mi prima Sonia, por haberme acompañado y brindado su apoyo incondicional a lo largo de mi vida profesional.

-Gomez Custodio, Becxi Geraldine-

AGRADECIMIENTOS

A Dios por bendecirnos en todo momento, por guiarnos a tomar decisiones correctas a lo largo de nuestra vida, por darnos la fuerza para afrontar las dificultades sin perder nunca la cabeza, ni morir en el intento.

A nuestras madres por la motivación constante, por confiar y creer en nuestras expectativas, por los consejos, valores y principios inculcados para ser personas de bien, el sacrificio de ellos por vernos llegar lejos es el acto de amor más grande.

A nuestra asesora, la Dra. Juana del Carmen Guerrero Hurtado. su conocimiento y experiencia fue la guía para llevar a cabo el desarrollo de esta investigación.

Así mismo, debemos agradecer a la Dra. Gina Zavaleta Espejo, por todo el apoyo, paciencia y tiempo en la parte experimental, por sus conocimientos brindados en favor de este proyecto.

Agradecer a los docentes y obstetras que nos compartieron consejos, conocimientos y experiencia en el trayecto de nuestra carrera profesional.

De una manera especial agradecemos a la Mg. Ruth Vargas Gonzales por su apoyo incondicional y su pronta respuesta a algunas dudas suscitadas en el trayecto de esta investigación

-Avila Briceño, Diana Yaqueli-

-Gomez Custodio, Becxi Geraldine-

RESUMEN

La presente investigación de tipo Cuasi-Experimental con diseño completamente al azar, tuvo como objetivo determinar el efecto in vitro del extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* "quinua" sobre la movilidad y viabilidad de espermatozoides de *Tetrapygus niger* "erizo de mar". Para el experimento se utilizaron 6 muestras de esperma de erizo de mar, que fueron divididos en 2 grupos (3 para movilidad y 3 para viabilidad). Cada muestra fue recolectada en vaso de precipitado, para luego ser diluidas con agua de mar estéril y observar el efecto del extracto a tres concentraciones: 50%, 75% y 100% a diferentes tiempos: 20 segundos, 3 minutos y 5 minutos, así mismo para cada concentración se obtuvo un basal pre inoculación del extracto, para las lecturas se utilizó un microscopio de amplio espectro a 40x. Como resultado se obtuvo que: el extracto de *Chenopodium quinoa* a una concentración de 50% y 75% disminuye la movilidad y viabilidad espermática; la inmovilidad y mortalidad total se evidencia con una concentración al 100%. (p=0.000<0.01). Se concluye que el extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* al 100% inmoviliza y conduce a la mortalidad total de los espermatozoides de *Tetrapygus niger*.

Palabras clave: Espermatozoides, Plantas Medicinales (DsC)

ABSTRACT

The objective of this quasi-experimental research with a completely randomized design was to determine the in vitro effect of the aqueous extract of Chenopodium quinoa "quinoa" on the motility and viability of Tetrapygus niger "sea urchin" spermatozoa. For the experiment, 6 sea urchin sperm samples were used, which were divided into 2 groups (3 for motility and 3 for viability). Each sample was collected in a beaker and then diluted with sterile sea water to observe the effect of the extract at three concentrations: 50%, 75% and 100% at different times: 20 seconds, 3 minutes and 5 minutes, likewise for each concentration a pre-inoculation basal of the extract was obtained, for the readings a broad spectrum microscope was used at 40x. As a result, it was obtained that: Chenopodium quinoa extract at a concentration of 50% and 75% decreases sperm mobility and viability; immobility and total mortality is evidenced with a concentration of 100% (p=0.000<0.01). It is concluded that the aqueous extract of Chenopodium quinoa at 100% immobilizes and leads to total mortality of Tetrapygus niger spermatozoa.

Keywords: Spermatozoa, Medicinal Plants (DsC)

PRESENTACIÓN

Señores miembros del jurado:

Dando conformidad y en cumplimiento a todos los requisitos que se estipula en el reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Privada Antenor Orrego y los estipulados por la facultad de ciencias de la salud, presentamos ante a ustedes la presente tesis titulada: EFECTO IN VITRO DEL EXTRACTO ACUOSO DE CHENOPODIUM QUINOA "QUINUA" SOBRE LA MOVILIDAD Y VIABILIDAD DE LOS ESPERMATOZOIDES DE TETRAPYGUS NIGER "ERIZO DE MAR", UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO 2020. Con la finalidad de optar al TÍTULO PROFESIONAL DE OBSTETRA. El presente trabajo de investigación tiene origen en las evidencias adquiridas durante las prácticas pre profesionales de nuestra carrera profesional. Dejamos la presente tesis a su criterio y evaluación.

Trujillo, 06 de noviembre del 2023.

ÍNDICE

| DEDICATORIA | iv-v |
|--|-------|
| AGRADECIMIENTOS | vi |
| RESUMEN | vii |
| ABSTRACT | viii |
| PRESENTACIÓN | ix |
| I.INTRODUCCIÓN | |
| 1.1 Problema de investigación | 1-2 |
| 1.2 Objetivos: General y específicos | 3 |
| 1.3 Justificación del estudio | 4 |
| II.MARCO DE REFERENCIA | |
| 2.1 Marco teórico | 5-8 |
| 2.2 Antecedentes del estudio | 9 |
| 2.3 Marco conceptual | 10 |
| 2.4 Hipótesis: De trabajo y nula | 10 |
| 2.5 Variables. Operacionalización de las variables | 11 |
| III. METODOLOGÍA | |
| 3.1 Tipo y Nivel de la Investigación | 12 |
| 3.2 Población y muestra | 12 |
| 3.3 Diseño de la Investigación | 12 |
| 3.4 Técnicas e Instrumentos de la investigación | 13-14 |
| 3.5 Procesamiento y análisis de datos | 15 |
| 3.6 Consideraciones éticas | 16 |
| IV. RESULTADOS | |
| 4.1 Análisis e interpretación de resultados | 17-21 |
| V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 23-25 |
| CONCLUSIONES | 26 |
| RECOMENDACIONES | 27 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS | 28-32 |
| ANEXOS | 33-40 |

ÍNDICE DE FIGURAS

- **FIGURA Nº 1:** Número de espermatozoides según tipo de movilidad espermática del *Tetrapygus niger*, a una concentración de 50% del extracto *Chenopodium quinoa*.
- **FIGURA Nº 2:** Número de espermatozoides según tipo de movilidad espermática del *Tetrapygus niger*, a una concentración de 75% del extracto *Chenopodium quinoa*.
- **FIGURA Nª 3:** Número de espermatozoides según tipo de movilidad espermática del *Tetrapygus niger*, a una concentración de 100% del extracto *Chenopodium quinoa*.
- **FIGURA Nª 4:** Número de espermatozoides según viabilidad espermática del *Tetrapygus niger*, a una concentración de 50% del extracto *Chenopodium quinoa*.
- **FIGURA Nª 5:** Número de espermatozoides según viabilidad espermática del *Tetrapygus niger*, a una concentración de 75% del extracto *Chenopodium quinoa*.
- **FIGURA Nº 6:** Número de espermatozoides según viabilidad espermática del *Tetrapygus niger*, a una concentración de 100% del extracto *Chenopodium quinoa*.

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1: Prueba de comparación de proporciones para la movilidad espermática de Tetrapygus niger, a una concentración de 50% del extracto Chenopodium quinoa.

TABLA N° 2: Prueba de comparación de proporciones para la movilidad espermática de Tetrapygus niger, a una concentración de 75% del extracto Chenopodium quinoa.

TABLA N° 3: Prueba de comparación de proporciones para la movilidad espermática de Tetrapygus niger, a una concentración de 100% del extracto Chenopodium quinoa.

TABLA N° 4: Prueba de comparación de proporciones para la viabilidad espermática de Tetrapygus niger al 50% de concentración del extracto Chenopodium quinoa.

TABLA N° 5: Prueba de comparación de proporciones para la viabilidad espermática de Tetrapygus niger al 75% de concentración del extracto Chenopodium quinoa.

TABLA N° 6: Prueba de comparación de proporciones para la viabilidad espermática de Tetrapygus niger al 100% de concentración del extracto Chenopodium quinoa.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Problema de investigación

a. Descripción de la realidad problemática

En el mundo existe desde la antigüedad, problemas de sobrepoblación, embarazos no planificados y asociado a ello las enfermedades de transmisión sexual. Esto se encuentra vinculado directamente a la poca importancia que se le da a la educación de la población sobre temas relacionados a la salud sexual y reproductiva la cual es de suma importancia para erradicar dichos problemas.¹

Según cifras del Instituto Nacional de Estadística e Informática a nivel nacional se inscribieron 581 mil 22 nacimientos. La Organización Mundial de Salud indica que "aunque el uso de anticonceptivos ha aumentado en los últimos 30 años, hay en todas las regiones muchas mujeres sin tener acceso a métodos modernos de anticoncepción".²

La planificación familiar permite controlar la fertilidad y por ende evitar los embarazos no planificados, previniendo problemas de salud. Por ello se encuentran varias opciones de anticonceptivos que alcanzan más del 90% de efectividad entre los de tipo hormonal. Sin embargo, ya sea por condiciones económicas o en su mayoría por la poca información que tienen las parejas y entre ellas los adolescentes en su mayoría, existe un limitado acceso a estos métodos de planificación.³

En la actualidad, a pesar de tener una amplia gama de anticonceptivos existe un aumento progresivo de los embarazos no planificados y estos en su mayoría son en adolescentes. Según la OMS, "cada año dan a luz alrededor de 16 millones de adolescentes entre 15 y 19 años, lo que representa el 11% de todos los nacimientos registrados en el mundo". Este tema es bastante preocupante ya que ocurre con mayor regularidad en países en desarrollo donde existe en la mayoría de la población altos índices de pobreza, pobreza extrema y bajo grado de instrucción. Sumado a ello se encuentra la poca importancia que le da las autoridades a estos temas que son de importancia para solucionar varios problemas de salud en la población.¹

Existe una amplia gama de métodos anticonceptivos entre los que se encuentran métodos naturales, hormonales, de barrera en este último incluye: el diafragma, los preservativos, el dispositivo intrauterino (DIU), los espermicidas, entre otros. Los

espermicidas son barreras químicas que contienen un principio activo (nonoxinol-9) que evita que los espermatozoides lleguen al óvulo, el cual, al ser de naturaleza química, no solo daña la bicapa lipídica de los espermatozoides, sino también altera la flora vaginal causando irritación en esta zona y como consecuencia exponernos a contraer infecciones de transmisión sexual. Es por esto que se debe realizar investigaciones en torno a este tema buscando alternativas más naturales y con menos efectos adversos.⁴

Desde hace muchos años la medicina tradicional ha sido de mucha ayuda en la población de los países en desarrollo, ya sea de forma preventiva o como tratamiento de las enfermedades primarias; aun en la actualidad se sigue observando que el uso de la medicina tradicional prevalece en un 70 y 80 % de la población ancestral porque creen y se sienten seguros con la medicina natural.⁵

Según investigaciones revisadas se halla gran variedad de plantas que presentan actividad espermicida, las más resaltantes son *Sapindus saponaria* "jaboncillo de campo", *Dianthus caryophyllus* "clavel", *Desmodium adscendens* "manayupa", entre otros. En estos experimentos los investigadores encontraron resultados positivos, tanto en animales de experimento como en humanos. Entre los componentes hallados en varias plantas, están las saponinas, moléculas similares a los detergentes que pueden dañar la membrana espermática alterando su composición lipídica. Químicamente las saponinas son glucósidos que al ser hidrolizadas expulsan varias unidades de azúcares y agliconas libres de azúcares que son derivados de sistemas de anillos policíclicos "sapogeninas". ^{3,6}

Algunas propiedades que presentan las saponinas se descubrieron hace bastante tiempo, a diferencia de otras que se van descubriendo en la actualidad; entre ellas su actividad anti-edulcorante y útero-constrictora son las más destacadas. También cabe mencionar su actividad citotóxica y antitumoral, antibacteriana/antimicrobiana, antiinflamatoria, antifúngica y molusquicida.⁷

La quinua tiene un alto valor nutricional, debido a su buen equilibrio de los aminoácidos esenciales, especialmente la cisteína, el triptófano, la metionina y la lisina. Además, son ricas en vitaminas del complejo B, C y E y sales minerales. También es importante el contenido de la saponina en la quinua que se encuentra en el pericarpio, que va desde 0-6% dependiendo el grado de toxicidad, lo cual se elimina por lavado y fricción.⁸

En la industria, se procesa el grano de la quinua con el fin de disminuir el amarguillo y así ser utilizado en la elaboración de diversos productos. Sin embargo, en la actualidad a surgido un alto interés en el análisis de metabolitos secundarios, ya que este alimento es procesado y consumido en el mundo por lo cual la posiciona como una fuente rica en saponinas, pero poco ha sido explorado.⁹

Si las mujeres, en especial las adolescentes tuvieran mayor acceso a métodos anticonceptivos, el índice de los embarazos no deseados y los abortos clandestinos tendría una disminución anual favorable, es así que se creyó conveniente dar uso a las saponinas de la quinua.

b. Formulación del problema:

¿Cómo es el efecto in vitro del extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* "quinua" sobre la movilidad y viabilidad de los espermatozoides de *Tetrapygus niger* "erizo de mar" Universidad Privada Antenor Orrego 2020?

1.2. Objetivos:

1.2.1. Objetivo General:

Determinar el efecto in vitro del extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* "quinua" sobre la movilidad y viabilidad de los espermatozoides de *Tetrapygus niger* "erizo de mar". Universidad Privada Antenor Orrego 2020.

1.2.2. Objetivos Específicos:

Determinar el tipo de desplazamiento de espermatozoides in vitro de *Tetrapygus niger* "erizo de mar" antes y después de la aplicación del extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* "quinua".

Determinar el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos in vitro de *Tetrapygus niger* "erizo de mar" antes y después de la aplicación del extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* "quinua".

1.3. Justificación del estudio:

La planificación familiar involucra el uso de diversos métodos anticonceptivos para regular la fertilidad de la población en edad reproductiva. Asimismo, esta no es una tarea fácil ya que la tasa de embarazos no deseados es cada vez más alta.

Para ello se realizó la siguiente investigación orientada al descubrimiento de una nueva opción anticonceptiva utilizando *Chenopodium quinoa* "quinua" por su alto contenido de saponinas, donde se podrá observar mediante el microscopio el efecto del extracto sobre los espermatozoides. Además, al encontrarse positiva esta investigación es muy favorable para la población ya que es de fácil manejo para la mujer y también servirá como un complemento para el uso de preservativo "condón", capuchón cervical, anillo vaginal, y así disminuir el porcentaje de fallo de estos métodos anticonceptivos.

De probarse esta hipótesis, la información será útil para extrapolar los resultados a nuevos estudios, de esta manera poder plantear nuevas medidas de prevención con *Chenopodium quinoa* "quinua" y evitar embarazos no planificados. Asimismo, nos permite demostrar la efectividad de *Chenopodium quinoa* "quinua" y rescatar su utilidad beneficiosa no solo como alimento completo, sino también como excelente anticonceptivo que con el paso de la investigación se determinará su efecto en la movilidad de los espermatozoides u otra forma de actuar ante ellos.

II. MARCO DE REFERENCIA

2.1. Marco Teórico:

La quinua es un pseudocereal que se ha cultivado en los Andes americanos desde la época prehispánica, exclusivamente en Perú y Bolivia. La región andina, es conocida por dar originalidad a una gran variedad de cultivos nativos entre ellos la quinua, la cual hace varios años se usó de alimento básico de las antiguas culturas de los Andes y se distribuye en distintos lugares agrícolas del ´país. 10,11

La planta de la quinua tiene un período vegetativo entre 90 hasta 240 días, por ello se cultiva anualmente; ésta es herbácea y dicotiledónea, que crece aproximadamente entre 0,2 a 3,0 m; con 200 a 280 ml de lluvia al año, crece en tierras ácidos y alcalinas. (4,5 hasta 9pH) también crece en suelos arenosos y arcillosos. El tallo principal puede presentar ramificaciones según el ecotipo, raza, densidad de siembra y de las condiciones del medio en el que sean cultivadas.^{12,13}

Este grano contiene gran cantidad de nutrientes, ya sea por sus componentes tanto químicos y/o proteicos, que va del 12 y 22 %. En cuanto a calidad, se considera que las proteínas que presenta la quinua son de mejor calidad a comparación de otros alimentos, esto es debido a que tiene un buen balance de los aminoácidos esenciales, siendo los más destacados el triptófano, la cisteína y la metionina. Asimismo, la semilla de quinua tiene un alto contenido en vitaminas del complejo B, C y E, además de sales minerales entre las que se encuentran: fósforo, hierro, calcio y potasio.¹⁴

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, en el año de 1996 cataloga a la quinua como uno de los cultivos promisorios de la humanidad, por sus maravillosas propiedades benéficas como una alternativa de solución a problemas serios de nutrición humana. Actualmente, mediante los recursos tecnológicos se está evaluando la elaboración de productos más sofisticados, como la obtención del aceite de quinua, el almidón, contenido proteico, colorantes de las semillas y hojas, la saponina y entre otros. Todo esto es de mucha importancia a nivel económico, nutritivo y fisicoquímico ya que se obtienen productos alimenticios, químicos, cosméticos y farmacéuticos.¹¹

En relación con las saponinas, se definen como compuestos secundarios de las plantas en las que las podemos encontrar a manera de glucósidos. Presentan una estructura hidrocarbonada compleja, la cual puede subdividirse en una sapogenina o aglicona y en una cadena de azúcar o más. La sapogenina a su vez, por su naturaleza y el tipo de esqueleto por el que esté compuesta, puede clasificarse en esteroides "neutras" y triterpenoides "ácida". Al realizar una solución acuosa podremos observar que al agitarla se forma una espuma muy estable y abundante, este hecho pudo originar etimológicamente el nombre genérico que se brinda a estas sustancias que provienen del latín *sapon* "jabón". ^{15.16}

Existe una gran variedad de granos de quinua, cada una con distinta cantidad de saponinas, minerales, humedad y otros componentes. La concentración de saponina en las diferentes variedades de quinua es de entre 0-6%. Por ejemplo, está la quinua dulce la cual se caracteriza por ser un grano pequeño, a diferencia de la variedad real, que posee un grano más grande alcanzando un diámetro de 1.8 mm y su saponina es una de las más amargas. 14,17

La quinua tiene una cubierta externa llamada episperma que está conformada por cuatro capas. La más externa que presenta una superficie rugosa, quebradiza, que al frotarla se puede desprender fácilmente, es ahí donde se halla la saponina que le proporciona el amarguillo a la quinua. Su adherencia a la semilla se da de manera distinta de acuerdo con los genotipos. Los agricultores realizan un proceso de aislamiento de saponinas con el fin de preservar los diversos compuestos de la quinua, especialmente las proteínas. Sin embargo, dicho proceso tiene como consecuencia negativa la generación de grandes volúmenes de residuos sólidos secundarios los cuales casi siempre terminan contaminando las aguas naturales y generan un efecto negativo en el medio ambiente. 14,18,19

A nivel industrial, existen tres métodos que son empleados para el proceso de desaponificación de la quinua: El primero es por vía seca, ya que se realiza un tratamiento seco del producto a tratar mediante un sistema abrasivo de paletas; el segundo es un proceso por vía húmeda, que consiste en remojar previamente la quinua y un posterior lavado, acompañado de una agitación constante; el tercero es un proceso combinado, por lo que se va a remover la mayoría de saponinas por vía

seca y lo que queda de saponinas en el grano serán removidas a través de cortos tiempos de lavado. De ellos el proceso que es más efectivo es el combinado ya que se logra eliminar casi en su totalidad la saponina de la semilla de quinua.²⁰

Entre los diferentes tipos de anticonceptivos se encuentran los métodos de barrera, los que se definen como técnicas que impiden la entrada de los espermatozoides al útero de la mujer ya sea por medio mecánico o químico, o por ambos. Sin embargo, se aconseja que se utilicen de manera combinada para lograr una mayor efectividad. Por ejemplo, los espermicidas deben usarse juntamente con otros métodos anticonceptivos, tales como los diafragmas, capuchones cervicales y/o preservativos. En caso de realizarse un uso correcto y constante de estos métodos de barrera y de manera conjunta pueden lograr una efectividad entre 92% y 96%.^{1,21}

Con respecto a los espermicidas, estos son preparaciones que tienen dos compuestos: la base o tipo de presentación, la cual va a facilitar que el producto se pueda esparcir ya sea a manera de gel, espuma o supositorio; luego está el agente químico donde está presente el principio activo que realiza su acción espermicida disolviendo los componentes lipídicos que se encuentran en la membrana espermática, inmovilizando y matando a los espermatozoides de acuerdo con su dosis y/o concentración. Estos agentes en los que están presentes los espermicidas, generalmente son surfactantes entre los que destaca el Nonoxinol-9, y los menos comunes son el octoxinol y el menfegol.¹

Como todo método anticonceptivo los espermicidas tienen sus desventajas, ya que al ser agentes químicos pueden tener componentes irritantes que alteran la mucosa vaginal ya que contribuye al aumento de la citotoxicidad sobre el epitelio vaginal alterando la flora vaginal y con ello aumentando la posibilidad de contraer infecciones de transmisión sexual, lo cual ha hecho que se cuestione su uso. Por ello deben ser métodos seguros y eficaces. Además de ello, existen otras desventajas del nonoxinol-9 como son: pueden llegar a generar un efecto teratogénico y una reacción alérgica local, las cuales traen como consecuencia efectos negativos en las parejas que lo usan.²²

Para ser más específicos con respecto a lo mencionado en el párrafo anterior se entiende que el nonoxinol-9 es un agente de origen químico que está presente como principio activo de los espermicidas que se comercializan hoy en día. Dicho agente tendría como efecto secundario ocasionar daño al epitelio vaginal, pues carece de especificidad celular, lo que trae como consecuencia la alteración no sólo de la membrana espermática, sino también de las células superficiales del epitelio vaginal. Es por ello que se está optando por una alternativa natural como son los extractos vegetales para un método anticonceptivo, esto va a permitir que dicho extracto que contenga principios activos con la actividad espermicida como son las saponinas sea igual o más eficaz y además no cause daño celular en el epitelio vaginal.¹

En la actualidad, para realizar un estudio que requiera el uso de espermatozoides se está usando el esperma de erizo de mar para observación y experimentación. El poder comprender mejor la fisiología de esta especie nos podría aportar nuevos conocimientos aplicables al área de la salud y poder solucionar problemas de infertilidad y anticoncepción.²

Las características físicas del erizo de mar son que tiene forma esférica y globosa, y carece de brazos, tiene un caparazón que está formado por placas unidas entre sí, la cual está cubierta por muchas espinas móviles. Esta especie habita en los fondos marinos, donde se traslada lentamente gracias a sus espinas y a sus pies ambulacrales. El cuerpo del erizo está formado por 2 hemisferios: uno oral, que es por donde se alimenta, y otro aboral, que es por donde defeca. En cuanto a su reproducción es exclusivamente sexual, ya que cuenta con diferenciación sexual de machos y hembras.^{23,24}

La fecundación en los organismos acuáticos se da con más frecuencia de manera externa, es por ello que tanto machos como hembras liberan en el agua grandes cantidades de óvulos y espermatozoides de forma simultánea. Es gracias a ello que al realizar un estudio se puede observar con mayor facilidad a los óvulos y espermatozoides de estos organismos, como también su fecundación y posteriores estadios del desarrollo embrionario. Los erizos hembras ponen alrededor de un billón de ovocitos para ser fecundados y los erizos machos expulsan varios millones de espermatozoides.²⁵

2.2. Antecedentes de estudio:

Gallego V, Arango S, Cano D, [et. al]. (Cuba 2015).²⁶ Realizaron un estudio acerca de "Geles con acción espermicida a base de plantas, aplicación de la medicina tradicional en la anticoncepción". dando por resultado la reducción de la movilidad y viabilidad espermática gracias a los extractos de plantas medicinales, cabe mencionar que el clavel tiene bajo efecto citotóxico sobre la línea celular HeLa.

Mena L, Tamargo B, Salas E, [et. al]. (Cuba 2015).²⁷ Realizaron una investigación titulada "La determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de *Sapindus saponaria L*. "jaboncillo". Dando por conclusión que contiene alta importancia farmacológica, porque contiene metabolitos secundarios en los extractos acuosos. Por ello se debe mencionar que la concentración más alta de las saponinas está en el fruto.

Ospina L, Álvarez A, Arango V, [et. al]. (Cuba 2013).²⁸ Realizaron un estudio acerca de: "Actividad espermicida y citotóxica del extracto de *Sapindus saponaria L* "jaboncillo". Donde concluyeron que podría ser una nueva opción de espermicida natural con efectos adversos menores el extracto de *Sapindus saponaria L*.

Uribe M, Ospina L, Álvarez A, [et. al]. (Colombia 2012).²⁹ Realizaron un estudio acerca de "Espermicidas: Una Alternativa de Anticoncepción para Considerar", donde concluyeron que existe la necesidad de proponer nuevos espermicidas naturales que tengan principio activo efectivo y menos efectos secundarios en comparación a los espermicidas sintéticos, ya que presentan varias desventajas y ventajas.

Puerta J, Cardona D, Álvarez A, [et. al]. (Cuba 2012).³⁰ Realizaron un estudio acerca del "efecto del extracto de *Anethum graveolens*, *Melissa officinalis* y *Calendula officinalis* sobre espermatozoides humanos". Donde concluyeron que el extracto de Melissa officinalis tiene mejor resultado en la disminución de la movilidad y viabilidad de los espermatozoides con una dosis de (p< 0,05, 5 min vs. control).

A nivel nacional tenemos, Ácaro E. (Perú 2010).³¹ Realizó una tesis titulada "Efecto anticonceptivo y post-coital del extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (HBK). DC. "Manayupa" en ratas hembra cepa *Holtzmann*". donde se demostró que el extracto etanólico tiene efectividad anticonceptiva y poscoital en las ratas hembras, en condiciones experimentales.

2.3. Marco Conceptual:

EXTRACTO: Es un preparado líquido que se elabora de las plantas con agua o con otro tipo de solvente como etanol, benceno, cloroformo con el fin de extraer el principio activo.²⁸

QUINUA: Es un pseudocereal, herbácea y erguida. La quinua se considera como una semilla vegetal y es consumida como cereal.¹²

ESPERMICIDA: Son barreras químicas compuestas que se encuentran en diferentes presentaciones, geles, cremas, espumas, supositorios, etc. Estos métodos se pueden usar por sí solos o de manera conjunta con otros métodos anticonceptivos.³¹

2.4. Sistema de Hipótesis

2.4.1. Hipótesis de trabajo o de investigación (Hi).

El extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* "quinua" no favorece la movilidad y viabilidad in vitro de los espermatozoides de *Tetrapygus niger* "erizo de mar".

2.4.2. Hipótesis nula (Ho).

El extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* "quinua" favorece la movilidad y viabilidad in vitro de los espermatozoides de *Tetrapygus niger* "erizo de mar".

2.5. Variables

2.5.1. Tipos de Variables

2.5.1.1. Variable dependiente

- Movilidad de los espermatozoides de Tetrapygus niger "erizo de mar".
- Viabilidad de los espermatozoides de Tetrapygus niger "erizo de mar".

2.5.1.2. variable independiente

- Concentración estándar del extracto acuoso de Chenopodium quinoa "quinua"

| Variable independiente | Definición Operacional | Escala de Medición | Tratamientos | Indicador |
|---------------------------|--|-----------------------|--------------------------|----------------------------------|
| Concentración Estándar | Un extracto acuoso elaborado de la saponina de Chenopodium quinoa "quinua" con la que obtendremos la disminución espermática tanto en movilidad como viabilidad de los espermatozoides de Tetrapygus niger "erizo de mar". | Nominal | C1: 50% C2: 75% C3: 100% | Concentraci ones efectivas |

| Variable Dependiente | Definición Operacional | Indicador | Escala de Medición |
|--------------------------|--|----------------------------|-------------------------------------|
| | Características de la | Movilidad | Intervalo/ Razón |
| | actividad espermática que | Espermática. | Desplazamiento |
| Actividad Espermática | serán evaluados mediante la movilidad y viabilidad de los espermatozoides de <i>Tetrapygus niger</i> "erizo de mar". | Viabilidad Espermática. | Intervalo/ Razón Cambio de color |

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y nivel de Investigación

3.1.1. Tipo de investigación: Básica

3.1.2. Nivel de investigación: Cuasi-Experimental

3.2. Población:

Para la investigación se utilizó un aproximado de 3 600 espermatozoides de 18

Tetrapygus niger "erizos de mar" en periodo reproductivo, que tengan movilidad

progresiva.

3.2.1. Muestra:

Según criterios de la OMS 24, se consideró una muestra de 10 uL de semen de

Tetrapygus niger "erizo de mar" previamente diluido en agua de mar, contando

aproximadamente 200 espermatozoides en al menos 5 campos.

Criterios de selección

Criterios de inclusión:

- Muestras de esperma en periodo reproductivo.

- Espermatozoides con buena movilidad.

- Volumen espermático mayor a 1.5 mililitros.

Criterios de exclusión:

- Erizos hembra.

- Muestras de esperma contaminado.

- Extracto acuoso de quinua contaminado.

- Espermatozoides sin movilidad.

3.3. Diseño de Investigación:

Esta investigación cumple con las características del diseño completamente al azar

(DCA) porque la prueba está basada en el análisis de varianza, donde la varianza total

se descompone en la varianza de los tratamientos y la varianza del error. Así mismo

se realiza la prueba de comparación de proporciones en un orden aleatorio

completo.34

12

3.4. Técnicas e instrumentos de Investigación:

Se utilizó la técnica de observación en el microscopio lo cual nos permitió recolectar los datos, para así emplear las tablas pre y post inoculaciones.

Recolección del material botánico:

Las semillas de *Chenopodium quinoa* "quinua" se obtuvieron en las zonas aledañas de la ciudad de Huamachuco, provincia de Sánchez Carrión. (anexo 3)

Preparación del extracto acuoso de Chenopodium quinoa:

Primero se retiraron las impurezas de la materia orgánica, utilizando tamices de diferentes grados. Luego se pesó 20 gramos de las semillas de quinua, se le agregó 100 mL de agua destilada y se lleva a ebullición, durante 30 - 45 minutos para separar las saponinas. Dichas actividades se realizaron con la finalidad de extraer el principio activo de la parte externa de las semillas. Posteriormente se filtró con gasa esterilizada con el propósito de eliminar la mayor cantidad posible de almidón, y de esa manera obtener solo el principio activo. Finalmente se llevó a vaporización en una estufa a 60 °C para tener las saponinas en polvo y así poder disolver el principio activo con agua de mar estéril y así dosificar para obtener las tres concentraciones; C1: 100%, C2: 75% y C3: 50% con la fórmula de C1 . V1 = C2 . V2 (anexo 4)

Por ejemplo:

Recolección del material biológico:

Previo al experimento se realizó la identificación de la especie biológica mediante el estudio de caracteres morfológicos a juicio de expertos de los del Laboratorio de Biología de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT). El material que se usó fue esterilizado; así como el agua de mar se realizó filtración y autoclave, para evitar la contaminación y posibles alteraciones durante el experimento.

La obtención de los especímenes de *Tetrapygus niger* "erizo de mar" se realizó en la playa de Huanchaco, ubicado en la ciudad de Trujillo, lo cual se mantuvieron vivos en una pecera con agua de mar y se alimenta con algas y comida de peces hasta su traslado al laboratorio para poder realizar el experimento sin demora con el fin de mantener vivos a los erizos de mar. (anexo 3)

Recolección de las muestras:

Para cada repetición se utilizó 6 muestras de semen de erizos de mar, que fueron divididos en 2 grupos de 3 (3 para movilidad y 3 para viabilidad), teniendo en cuenta los criterios de inclusión.

Extracción de los gametos:

Para dicha recolección se sujetó a los erizos con la zona plana oral hacia arriba, donde se encuentra el gonoporo para inyectarle con una jeringa 1.5 ml de solución KCl al 0,5M a cada uno. Luego se agitó con movimientos suaves al erizo con el fin de que el KCl entrara a él. Es aquí donde tenemos que esperar un cierto tiempo para la salida de los gametos. Se podrán diferenciar a los gametos mediante la coloración, pues la coloración de los ovocitos es roja y de los espermatozoides es de color blanca; posteriormente se colocó al erizo macho por la parte aboral en un vaso de precipitado para recolectar el esperma y luego diluir en una placa petri 1 gota de esperma en 10 mL de agua de mar filtrada y autoclavada previamente para así poder obtener la muestra y realizar el experimento. (anexo 5)

Análisis de la muestra de semen:

Se realizó un estudio de la movilidad y viabilidad espermática de acuerdo a los lineamientos establecidos por la OMS en el manual de laboratorio para el análisis de semen del 2010. En el examen microscópico se realizó la clasificación de los espermatozoides según su tipo de movilidad y el conteo de los espermatozoides vivos y muertos con la muestra obtenida previamente, lo cual se mantuvo a una temperatura adecuada de 5 a 15 °C, y evitar alteraciones en la muestra.²⁴

Para la movilidad, se utilizó 10 uL semen previamente diluido y se colocó en un portaobjetos cubierto con un cubreobjetos de 22x22 y contar en 5 campos, al menos

200 espermatozoides en movilidad progresiva (PR), y así obtener el basal. Para evaluar el efecto espermicida se mezcló 30 uL de semen diluido, con 30 uL de extracto y se colocó en viales rotulados para cada concentración, luego se tomó 10 uL de la mezcla y se observó en un microscopio a 40X en diferentes tiempos de 20 segundos, 3 y 5 minutos, para posteriormente ser clasificados de la siguiente manera: espermatozoides con movilidad progresiva (PR), espermatozoides con movilidad no progresiva (NP) y espermatozoides inmóviles (IM).^{24,25}

En cuanto a la viabilidad, se vuelve a realizar el procedimiento de la movilidad pero con otra muestra, en donde se toma de los viales 10 uL de la mezcla y se colocó en un portaobjetos con 10 uL de Eosina-Y al 0.5% protegiendo la muestra con un cubreobjetos, y ser evaluado a diferentes tiempos de 20 segundos, 3 y 5 minutos para luego clasificarlos como espermatozoides muertos aquellos que se tiñan de color rosado y los que no se tiñeron como espermatozoides vivos, si sólo se tiñe la zona del cuello o la cabeza tiene una ligera coloración rosa, se considera que el espermatozoide está vivo. Todos los ensayos se hicieron por duplicado y como mínimo 3 veces.²⁴ (Anexo 6)

Según el manual para análisis de semen, se considera normal la movilidad cuando el porcentaje de espermatozoides progresivos es superior al 32% y la movilidad total en 40%. En cuanto a la viabilidad espermática, se considera normal cuando el porcentaje de espermatozoides vivos es mayor o igual a 58%. ²⁴

3.5. Procesamiento y análisis de datos

Análisis de datos:

El análisis de los resultados se realizó utilizando estadística descriptiva tal como: tablas, gráficos estadísticos y estadística inferencial como las pruebas de comparación de proporciones para determinar el efecto del extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* sobre la movilidad y viabilidad de los espermatozoides de *Tetrapygus niger* "erizo de mar". Los datos recolectados fueron procesados en Excel e IBM SPSS V.23 (anexo 1 y 2)

3.6. Consideraciones Éticas

Veracidad: Todo lo recolectado y escrito en el presente trabajo es veraz basado en experiencias de la zona donde se recolectaron los datos y conceptos sacados de bibliografías confidenciales.

Confidencial: Todo lo dicho en el proyecto de investigación está escrito de manera detallada de tal forma que sea entendible para los lectores.

Honradez: Este trabajo fue realizado de acuerdo a las normas establecidas y de una manera transparente sin alterar ningún resultado.

IV. RESULTADOS:

4.1. Análisis e interpretación de resultados:

Tabla N° 1: Prueba de comparación de proporciones para la movilidad espermática del Tetrapygus niger, a una concentración de 50% del extracto Chenopodium quinoa.

| C1: 50% | | Grupos de comparación | | | | | | | |
|----------------|---------------------|-----------------------|-------|------------------|-------|-------|------------------|-------|-------|
| | Basal - 20 segundos | | | Basal - 3minutos | | | Basal - 5minutos | | |
| | PR | NP | IM | PR | NP | IM | PR | NP | IM |
| P ₁ | 0.97 | 0.03 | 0 | 0.97 | 0.03 | 0 | 0.97 | 0.03 | 0 |
| P_2 | 0.48 | 0.1 | 0.42 | 0.125 | 0.11 | 0.765 | 0.045 | 0.125 | 0.83 |
| Estadístico Z | 13.13 | -2.87 | -12 | 32.11 | -3.17 | -25.5 | 48.73 | -3.61 | -31.3 |
| p-valor | 0.999 | 0.002 | 0.999 | 0.999 | 0.000 | 0.000 | 0.999 | 0.000 | 0.000 |

Nota: PR= movilidad progresiva NP=movilidad no progresiva IM= espermatozoides inmóviles

Interpretación: En la Tabla 1, se observa que el 42% de los espermatozoides alcanzan inmovilidad a los 20 segundos, el 76.5% de los espermatozoides alcanza inmovilidad a los 3 minutos y el 83% de los espermatozoides alcanzan inmovilidad a los 5 minutos. La concentración al 50% del extracto *Chenopodium quinoa* alcanza al 83% de los espermatozoides en situación de inmovilidad.

Resultados de la prueba de comparación de proporciones determina que la diferencia entre los grupos en relación a la inmovilidad de los espermatozoides del *Tetrapygus niger* es altamente significativa (p=0.000<0.01).

Tabla N° 2: Prueba de comparación de proporciones para la movilidad espermática del Tetrapygus niger, a una concentración de 75% del extracto Chenopodium quinoa.

| C2: 75% | Grupos de comparación | | | | | | | | | |
|----------------|-----------------------|--------|-------|------------|-------|-------|------------|-------|-------|--|
| | Basal- 20s | | | Basal-3min | | | Basal-5min | | | |
| | PR | NP | IM | PR | NP | IM | PR | NP | IM | |
| P ₁ | 0.945 | 0.085 | 0 | 0.945 | 0.085 | 0 | 0.945 | 0.085 | 0 | |
| P_2 | 0.415 | 0.15 | 0.47 | 0.075 | 0.16 | 0.76 | 0 | 0.05 | 0.95 | |
| Estadístico Z | 13.8 | -1.001 | -13.3 | 35.32 | -2.3 | -25.2 | 58.62 | 1.398 | -61.6 | |
| p-valor | 0.999 | 0.158 | 0.000 | 0.999 | 0.011 | 0.000 | 0.999 | 0.920 | 0.000 | |

Interpretación: se observa que el 47% de los espermatozoides alcanzan inmovilidad a los 20 segundos, el 76% de los espermatozoides alcanza inmovilidad a los 3 minutos y el 95% de los espermatozoides alcanzan inmovilidad a los 5 minutos. La concentración al 75% del extracto Chenopodium quinoa alcanza colocar al 95% de los espermatozoides en situación de inmovilidad.

Resultados de la prueba de comparación de proporciones determina que la diferencia entre los grupos en relación a la inmovilidad de los espermatozoides del Tetrapygus niger es altamente significativa (p=0.000<0.01).

Tabla N° 3: Prueba de comparación de proporciones para la movilidad espermática del Tetrapygus niger, a una concentración de 100% del extracto Chenopodium quinoa.

| C3:100% | Grupos de comparación | | | | | | | | |
|----------------|-----------------------|-------|-------|-------------------|-------|-------|-------------------|-------|----|
| | Basal - 20 segundos | | | Basal - 3 minutos | | | Basal - 5 minutos | | |
| | PR | NP | IM | PR | NP | IM | PR | NP | IM |
| P ₁ | 0.98 | 0.02 | 0 | 0.98 | 0.02 | 0 | 0.98 | 0.02 | 0 |
| P ₂ | 0.01 | 0.03 | 0.96 | 0 | 0.035 | 0.965 | 0 | 0 | 1 |
| Estadístico Z | 79.9 | -0.64 | -69.3 | 98.9 | -0.92 | -74.3 | 98.9 | 2.02 | - |
| p-valor | 0.000 | 0.260 | 0.000 | 0.999 | 0.179 | 0.000 | 0.999 | 0.980 | - |

Interpretación: Se observa que el 96% de los espermatozoides alcanzan inmovilidad a los 20 segundos, el 96.5% de los espermatozoides alcanza inmovilidad a los 3 minutos y el 100% de los espermatozoides alcanzan inmovilidad a los 5 minutos. La concentración al 100% del del extracto Chenopodium quinoa alcanza colocar a todos los espermatozoides en situación de inmovilidad.

Resultados de la prueba de comparación de proporciones determina que la diferencia entre los grupos en relación a la inmovilidad de los espermatozoides del *Tetrapygus niger* es altamente significativa (p=0.000<0.01).

Tabla N° 4: Prueba de comparación de proporciones para la viabilidad espermática de Tetrapygus niger al 50% de concentración del extracto Chenopodium quinoa.

| C1: 50% | | Grupos de comparación | | | | | | | | |
|----------------|-----------|-----------------------|---------|-----------|------------------|---------|--|--|--|--|
| | Basal - 2 | ?0segundos | Basal - | 3 minutos | Basal - 5minutos | | | | | |
| | Vivos | Muertos | Vivos | Muertos | Vivos | Muertos | | | | |
| P ₁ | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | | | | |
| P_2 | 0.56 | 0.44 | 0.215 | 0.785 | 0.15 | 0.85 | | | | |
| Estadístico Z | 12.54 | -12.54 | 27.02 | -27.02 | 33.67 | -33.67 | | | | |
| p-valor | 0.999 | 0.000 | 0.999 | 0.000 | 0.999 | 0.000 | | | | |

Interpretación: El 44% de los espermatozoides mueren a los 20 segundos de la inoculación del extracto a una concentración del 50% *del extracto Chenopodium quinoa*, el 78.5% mueren a los 3 minutos y a los 5 minutos mueren el 85% de los espermatozoides del *Tetrapygus niger*.

La prueba de comparación de proporciones determinó que la diferencia entre los grupos en relación a la viabilidad de los espermatozoides del *Tetrapygus niger* es altamente significativa (p=0.000<0.01) en los tres tiempos evaluados, Tabla 4.

Tabla N° 5: Prueba de comparación de proporciones para la viabilidad espermática de Tetrapygus niger al 75% de concentración del extracto Chenopodium quinoa.

| C2: 75% | | comparació | n | | | | |
|----------------|-----------|------------|---------|-----------|-------------------|---------|--|
| | 3asal - 2 | 0 segundos | Basal - | 3 minutos | Basal - 5 minutos | | |
| | Vivos | Muertos | Vivos | Muertos | Vivos | Muertos | |
| P ₁ | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | |
| P_2 | 0.515 | 0.485 | 0.245 | 0.755 | 0.045 | 0.955 | |
| Estadístico Z | 13.72 | -13.72 | 24.83 | -24.83 | 65.14 | -65.14 | |
| p-valor | 0.999 | 0.000 | 0.999 | 0.000 | 0.999 | 0.000 | |

Interpretación: El 48.5% de los espermatozoides mueren a los 20 segundos de la inoculación del extracto a una concentración del 75% del extracto *Chenopodium quinoa*, el 75.5% mueren a los 3 minutos y a los 5 minutos mueren el 95.5% de los espermatozoides del *Tetrapygus niger*.

La prueba de comparación de proporciones determinó que la diferencia entre los grupos en relación a la viabilidad de los espermatozoides del *Tetrapygus niger* es altamente significativa (p=0.000<0.01) en los tres tiempos evaluados, Tabla 5.

Tabla N° 6: Prueba de comparación de proporciones para la viabilidad espermática de Tetrapygus niger al 100% de concentración del extracto Chenopodium quinoa.

| C3: 100% | Grupos de comparación | | | | | | | |
|----------------|-----------------------|------------|---------|-----------|-------------------|---------|--|--|
| | ¦asal - 2 | 0 segundos | Basal - | 3 minutos | Basal - 5 minutos | | | |
| | Vivos | Muertos | Vivos | Muertos | Vivos | Muertos | | |
| P ₁ | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | | |
| P_2 | 0.045 | 0.955 | 0.03 | 0.97 | 0 | 1 | | |
| Estadístico Z | 65.15 | -65.15 | 80.42 | -80.42 | - | - | | |
| p-valor | 0.999 | 0.000 | 0.999 | 0.000 | - | - | | |

Interpretación: El 95.5% de los espermatozoides mueren a los 20 segundos de la inoculación del extracto a una concentración del 100% del extracto *Chenopodium quinoa*, el 97% mueren a los 3 minutos y a los 5 minutos mueren todos los espermatozoides del *Tetrapygus niger*.

La prueba de comparación de proporciones determinó que la diferencia entre los grupos en relación a la viabilidad de los espermatozoides del *Tetrapygus niger* es altamente significativa (p=0.000<0.01) en los tiempos evaluados.

En conclusión, el extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* "quinua" desfavorece la movilidad y viabilidad in vitro de los espermatozoides de *Tetrapygus niger* "erizo de mar".

V. DISCUSIÓN:

La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar el efecto in vitro del extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* sobre la movilidad y viabilidad de los espermatozoides de *Tetrapygus niger*.

En la tabla 1, a la concentración de 50% del extracto *Chenopodium quinoa*, se observa que el 42% de los espermatozoides alcanzan inmovilidad a los 20 segundos, el 76.5% de los espermatozoides alcanza inmovilidad a los 3 minutos y el 83% de los espermatozoides alcanzan inmovilidad a los 5 minutos. En conclusión, a esta concentración se alcanza un 83% de los espermatozoides en situación de inmovilidad.

En la tabla 2, a una concentración de 75% de *Chenopodium quinoa*, se observa que el 47% de los espermatozoides alcanzan inmovilidad a los 20 segundos, el 76% de los espermatozoides alcanza inmovilidad a los 3 minutos y el 95% de los espermatozoides alcanzan inmovilidad a los 5 minutos. Esta concentración alcanza un 95% de inmovilidad de los espermatozoides.

En la tabla 3, con una concentración al 100% del extracto de *Chenopodium quinoa*, se observa que el 96% de los espermatozoides alcanzan inmovilidad a los 20 segundos, el 96.5% de los espermatozoides alcanza inmovilidad a los 3 minutos y el 100% de los espermatozoides alcanzan inmovilidad a los 5 minutos. En conclusión, a esta concentración se logra colocar a todos los espermatozoides en situación de inmovilidad.

La tabla 4, muestra el efecto del extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* a una concentración de 50% en relación a su viabilidad, donde se observa que el 44% de los espermatozoides mueren a los 20 segundos de la inoculación del extracto, el 78.5% mueren a los 3 minutos y a los 5 minutos mueren el 85% de los espermatozoides del *Tetrapygus niger*.

La tabla 5, muestra el efecto del extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* a una concentración de 75% en relación a su viabilidad. El 48.5% de los espermatozoides mueren a los 20 segundos de la inoculación del extracto, el 75.5% mueren a los 3

minutos y a los 5 minutos mueren el 95.5% de los espermatozoides del *Tetrapygus* niger.

En la tabla 6, se muestra el efecto del extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* a una concentración de 100% en relación a su viabilidad. Se observa que el 95.5% de los espermatozoides mueren a los 20s de la inoculación del extracto a una concentración del 100% del extracto *Chenopodium quinoa*, el 97% mueren a los 3 minutos y a los 5 minutos mueren todos los espermatozoides del *Tetrapygus niger*.

Los resultados obtenidos son similares con los de Gallego V, Arango S, Cano D. (Cuba 2015)²⁶ quienes realizaron un estudio acerca de Geles con acción espermicida a base de plantas, dando por resultado que los extractos elaborados, además, de reducir la movilidad y la viabilidad espermática, presentan bajo efecto citotóxico sobre la línea celular HeLa; es el clavel, el extracto con el mejor efecto sobre estos parámetros. Los geles elaborados como vehículo de la sustancia espermicida reducen la movilidad espermática, sin embargo, la viabilidad también se ve muy afectada cuando se incluye el extracto de clavel que presenta el mayor efecto sobre la movilidad espermática, se incrementó un 64 % con respecto al control luego de 5 minutos de incubación con el extracto (p< 0,05).

Los resultados obtenidos son similares con los de Puerta J, Cardona D, Álvarez A. (Cuba 2012)³⁰ Realizaron un estudio acerca del efecto del extracto de *Anethum graveolens*, *Melissa officinalis* y *Calendula officinalis* sobre espermatozoides humanos. Donde concluyeron que el extracto de Anethum graveolens redujo la movilidad y la viabilidad en 65,3 % y 16 % (p< 0,05, 5 min vs. control), respectivamente; el extracto de *Melissa officinalis* generó un descenso en la movilidad de 78,2 % y 22,3 % en la viabilidad (p< 0,05, 5 min vs. control). Por último, el extracto de *Calendula officinalis* redujo la movilidad y la viabilidad en 55,3 y 48,4 % (p< 0,05, 5 min vs. control), respectivamente.

También es muy semejante a los resultados obtenidos en la investigación de Ospina L, Álvarez A, Arango V, et al, (Cuba, 2013)²⁸ sobre: Actividad espermicida y citotóxica del extracto de *Sapindus saponaria L*. "jaboncillo". Ese tratamiento disminuyó el porcentaje de movilidad a + b (p< 0,05 para el extracto total y de tallos; p< 0,01 para

hojas) y aumentó el porcentaje de movilidad d (p< 0,05 en todos los casos), adicionalmente, se observó una disminución de la viabilidad espermática (p< 0,05 para las fracciones polares del extracto total y de tallos; p< 0,01 para la fracción polar del extracto de hojas) respecto a las muestras sin tratamiento pasados 5 min de contacto con esas fracciones.

Estos estudios tienen en común la presencia de las saponinas y según los resultados podemos observar que los extractos acuosos preparados en distintas concentraciones, influyen de manera significativa en la movilidad y viabilidad espermática.

En esta investigación, los resultados obtenidos nos muestran que el extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* "quinua" desfavorece la movilidad y viabilidad in vitro de los espermatozoides de *Tetrapygus niger* "erizo de mar", ya que para que los espermatozoides puedan fecundar al óvulo deben de tener un porcentaje de movilidad progresiva que supere el 32% del total del esperma y en cuanto a la viabilidad debe haber por lo menos un 58% de espermatozoides vivos. Sin embargo, al aplicar el extracto se observa que los espermatozoides de estar dentro de los parámetros normales, se ven afectados en su totalidad tanto en movilidad y viabilidad con la concentración de 100%.

CONCLUSIONES

El extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* "quinua" disminuye la movilidad de los espermatozoides de *Tetrapygus niger* "erizo de mar" a partir de la concentración de 50% y 75%.

Se determinó que el extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* "quinua" con una concentración de 50% y 75% afecta la viabilidad espermática de *Tetrapygus niger* "erizo de mar".

Se evidencia que el extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* "quinua" con una concentración al 100% permite inmovilidad y mortalidad total de los espermatozoides de *Tetrapygus niger* "erizo de mar"

RECOMENDACIONES

La planta evaluada en este proyecto tuvo como resultado un efecto espermicida, por ello se sugiere que se realice otros estudios para evaluar más a profundidad los diferentes componentes de esta planta y sus múltiples efectos farmacológicos de toxicidad, para determinar la factibilidad del tratamiento y ampliar el rango de dosis suministradas para saber la dosis media.

Se recomienda realizar más estudios de investigación que determinen los efectos adversos que pudiera ocasionar esta planta y la dosis correspondiente.

Se recomienda extraer los principios activos de dicha planta y conocer su mecanismo de acción.

Realizar más investigaciones sobre *Chenopodium quinoa* "quinua" por la limitada información que se encontró.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Clavijo M, Medina L, Gómez A [et. al]. Espermicidas: Una alternativa de anticoncepción para considerar. Revista Tecnológicas N°. 28. Colombia. 2012. Disponible en: http://www.scielo.org.co/pdf/teclo/n28/n28a08.pdf
- 2.- Instituto Nacional de Estadística e Informática: Natalidad, Mortalidad y Nupcialidad. Perú. 2020. Disponible en: https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1766/libro.pdf
- 3.- Álvarez A, Cardona W, Castro J [et. al]. Nuevas opciones en anticoncepción: posible uso espermicida de plantas colombianas. Actas Urológicas Españolas . 2007;31(4): 372-381. Disponible en: http://scielo.isciii.es/pdf/aue/v31n4/v31n4a10.pdf
- 4.- Efecto del extracto crudo del Sedum praealtum en la gametogénesis y desarrollo embrionario de ratones CD1. Departamento de Morfología del Laboratorio de Embriología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. 2006. Disponible en:http://sappi.ipn.mx/cgpi/archivos_anexo/20050950_2546.pdf
- 5.- Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional
 2014-2023. España. 2014 Disponible en:
 http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf
- 6.- Determinación de Saponina. Universidad Nacional del Centro del Perú. Facultad de Ciencias Aplicadas. Escuela académica Profesional de Ingeniería Agroindustrial.
 Perú.
- 1-4. Disponible en: https://maqsolano.files.wordpress.com/2013/10/practica-nc2b0-2.pdf
- 7.- Uribe M, Ospina L, Álvarez A [et. al]. Espermicidas: Una alternativa de anticoncepción para considerar. Revista Tecnológicas Colombia. enero-junio de 2012; 28(1): 129-145. Disponible en: http://www.scielo.org.co/pdf/teclo/n28/n28a08.pdf

- 8.- Silva J. Obtención, Caracterización y Relación Estructural Funcionalidad de un Aislado Proteico de Quinua *(Chenopodium quinoa)* Orgánica Proveniente de la VI Región de Chile. Universidad de Chile Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Departamento de Ciencias de los Alimentos y Tecnologías Químicas . 2006;1(1): 1-61. Disponible en: http://quinua.pe/wp-content/uploads/2016/09/silva_j.pdf
- 9.- Ahumada A, Ortega A, Chito D [et. al]. Saponinas de quinua (Chenopodium quinoa Willd): un subproducto con alto potencial biológico. Revista Colombiana de Ciencias Química y Farmacia. 2016;45(3): 438-469. Disponible en: http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v45n3/v45n3a06.pdf
- 10.- Bazile D. Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013. FAO (Santiago de Chile) y CIRAD, Francia. 2014. 297 316 Disponible en: https://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/987D7E63A6AD525605 257E8A005FF4ED/\$FILE/1 34 Estado ArteDeLaQuinuaEnElMundoEn2013.pdf
- 11.- Bojanic A. La quinua: Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria del mundo. Oficina Regional para América Latina y el Caribe. 2011. Disponible en: http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/EA85F3E4F4B5AFD405 257E85005CEFD4/\$FILE/LaQuinua_CultivoMilenarioPag_1_33.pdf
- 12.- Fontúrbel, F. Problemática de la producción y comercialización de Chenopodium quinoa W. (Chenopodiaceae) debida a la presencia de las saponinas. Universidad de Chile. Revista N° 21. Chile. 2006. Disponible en http://andesrunaaae.blogspot.pe/p/problematica-de-la-produccion-y.html
- 13.- Vidal A, Cáceres G, Estrada R [et. al]. Catálogo de Variedades de Quinua en el Perú. Instituto Nacional de Innovación Agraria. 1° edición. Perú. 2013. Disponible en: https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/76/1/Apaza-Catalogo_de_variedades...quinua.pdf
- 14.- Silva J. Obtención, Caracterización y Relación Estructura Funcionalidad de un aislado Proteico de Quinua (Chenopodium quinoa) Orgánica Proveniente de la VI

- Región de Chile. Universidad de Chile. Chile . 2006. Disponible en: https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/105605
- 15.- Gallego V, Arango S, Ospina L [et. al]. Actividad espermicida de saponinas esteroidales y triterpénicas extraídas de diferentes plantas. Revista Cubana de Plantas Medicinales 2014;19(1):76-84 . Disponible en: http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v19n1/pla10114.pdf
- 16.- Foy E, Mac D, Cuyos M [et. al]. Extracción, Identificación y Evaluación de Saponinas en Agaricus bisporus. Biotempo. Perú. 2005, Volumen 5, 32 31- 36. Disponible en: http://v-beta.urp.edu.pe/pdf/id/2225/n/descargar
- 17.- Reyes A. Componente nutricional de diferentes variedades de quinua de la región andina. Avances de Investigación en Ingeniería. Colombia. 2006 N°. 5. Disponible en: http://www.unilibre.edu.co/revistaavances/avances-5/r5_art10.pdf
- 18.- Revoredo A. Saponinas y Aislados Proteicos a partir de Quinuas Amargas: Uso en Cosmética y Como Ingredientes Alimentarios. Empresa Monte Fértil. Perú. 2013. Disponible en: http://portal.concytec.gob.pe/images/stories/images2013/agosto/quinua/presentacion_ana_pastor_revoredo_de__abram.pdf
- 19.- Gianna V. Extracción, cuantificación y purificación de saponinas de semilla de *Chenopodium quinoa Willd* Provenientes del noreste Argentino. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. 2013. Disponible en: https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/1413/Tesis%20Doctoral%20Vicente% 20Gianna%202013.pdf?sequence
- 20.- Zegarra G. Actividad detergente y acaricida de principios activos de quinuas amargas, aceites esenciales y tarwi. Pontificia Universidad Católica. Perú. 2010.Disponible en: https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/685/ZEGARRA_GRACIELA_ACTIVIDAD_DETERRENTE_ACARICIDA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- 21.- Organización Mundial de la Salud. Anticonceptivos de Barrera y Espermicidas .Ginebra. 1988. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37337/9243561014.pdf;jsessionid=1 52E651D18C9EF6E602A92C8D9D0ABE5?seguence=1
- 22.- Ospina L, Cardona-Maya W. Espermicida y espermiostático: ¿hacen referencia a lo mismo? [Internet]. Disponible en: https://www.scielo.cl/pdf/rchog/v78n4/art14.pdf
- 23.- López A, Lupián A, Ochoa A [et. al]. Análisis del nado de espermatozoides de erizo de mar en tres dimensiones ante la presencia de una sustancia quimioatrayente. Rancho Tetela. Colombia. 2008. Disponible en: http://acmor.org.mx/sites/default/files/Resumen_nado.pdf
- 24.- José López García, Aurora Urbano Felices, [et. al]. Manual de laboratorio para el análisis del semen humano. Editorial Omnia Science: España. 2012. Disponible en: https://www.omniascience.com/books/index.php/scholar/catalog/download/16/56/88-1
- 25.- Organización Mundial de la Salud. examen y precesión del semen humano. 5, 2010, 21-49 Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44261/1/9789241547789_eng.pdf
- 26.- Gallego V, Arango S, Cano D [et. al]. Geles con acción espermicida a base de plantas, aplicación de la medicina tradicional en la anticoncepción. Revista Cubana de Plantas Medicinales 2015;19 (2): 212-225. Disponible en: http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v20n2/pla06215.pdf
- 27.- Mena L, Tamargo B, Salas E [et. al]. Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de Sapindus saponaria L. (jaboncillo). Revista Cubana de Plantas Medicinales 2015;20(1): 106-116. Disponible en: http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v20n1/pla10115.pdf

- 28.- Ospina L, Álvarez A, Arango V [et. al]. Actividad espermicida y citotóxica del extracto de Sapindus saponaria L. (jaboncillo) Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2013;18(2): 187-200. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000200003
- 29.- Uribe M, Ospina L, Álvarez A [et. al]. Espermicidas: Una alternativa de anticoncepción para considerar. Revistas Tecnológicas. Colombia. 2012; 28(1): 129-145. Disponible en: https://www.redalyc.org/pdf/3442/344234328008.pdf
- 30.- Puerta J, Cardona D, Álvarez A [et. al]. Efecto del extracto de Anethum graveolens, Melissa officinalis y Calendula officinalis sobre espermatozoides humanos. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012; 17(4): 420-430. Disponible en:

https://drive.google.com/drive/u/1/folders/0B_UqHvTsECL5OGliZzlyTHM4RzQ?resourcekey=0-lfwOFkM_pRNA0A0Z5WdnHg

- 31.- Ácaro E. Efecto anticonceptivo y post-coital del extracto etanólico de Desmodium molliculum (HBK). DC. "Manayupa" en ratas hembras cepa Holtzmann. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Perú. 2010. 1-75. [Internet].[citado el 26 de junio de 2021]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/2599/Acaro_cf.pdf?s equence=1&isAllowed=y
- 32.- Investigadores. ¿Qué es la investigación experimental? [Internet]. Investigación científica. 2020 [citado el 29 de junio de 2021]. Disponible en: https://investigacioncientifica.org/que-es-la-investigacion-experimental/
- 33.- Box, G.E.; Hunter, J.S.; Hunter, W.G. (2008). *Estadística para investigadores. Diseño, innovación y descubrimiento*. Segunda Edición, Ed. Reverté, Barcelona. Disponible en: https://victoryepes.blogs.upv.es/2013/04/27/diseno-completamente-al-azar-y-anova/

ANEXOS:

ANEXO N° 1: Tabla Excel para el análisis de la movilidad y viabilidad de los espermatozoides de Tetrapygus niger "erizo de mar" antes y después de administrar el extracto acuoso de Chenopodium quinoa "quinua".

| 100% | MOVILIDAD | | | | | | | | | | | |
|-------|-----------|----|----|-------------|----|-----|-----------|----|-----|-----------|----|-----|
| | PRETEST | | | POST TEST | | | | | | | | |
| VECES | BASAL | | | 20 SEGUNDOS | | | 3 MINUTOS | | | 5 MINUTOS | | |
| | PR | NP | IM | PR | NP | IM | PR | NP | IM | PR | NP | IM |
| 1 | 192 | 8 | 0 | 4 | 10 | 186 | 0 | 12 | 188 | 0 | 0 | 200 |
| 2 | 196 | 4 | 0 | 2 | 6 | 192 | 0 | 7 | 193 | 0 | 0 | 200 |
| 3 | 194 | 6 | 0 | 3 | 8 | 189 | 0 | 8 | 192 | 0 | 0 | 200 |
| 75% | PR | NP | IM | PR | NP | IM | PR | NP | IM | PR | NP | IM |
| 1 | 185 | 15 | 0 | 80 | 28 | 92 | 22 | 28 | 150 | 0 | 13 | 187 |
| 2 | 179 | 21 | 0 | 79 | 34 | 87 | 13 | 45 | 142 | 0 | 19 | 181 |
| 3 | 183 | 17 | 0 | 83 | 23 | 94 | 15 | 32 | 153 | 0 | 10 | 190 |
| 50% | PR | NP | IM | PR | NP | IM | PR | NP | IM | PR | NP | IM |
| 1 | 194 | 6 | 0 | 96 | 20 | 84 | 25 | 22 | 153 | 9 | 25 | 166 |
| 2 | 189 | 11 | 0 | 89 | 21 | 90 | 29 | 24 | 147 | 12 | 29 | 159 |
| 3 | 191 | 9 | 0 | 92 | 11 | 97 | 32 | 14 | 154 | 19 | 23 | 158 |

| 100% | VIABILIDAD | | | | | | | | | | |
|--------------|------------|---------|--------|---------|-------|---------|-----------|---------|--|--|--|
| | POST TEST | | | | | | | | | | |
| VECES | PRE TEST | | 20 seg | undos | 3 min | utos | 5 minutos | | | | |
| | VIVOS | MUERTOS | VIVOS | MUERTOS | VIVOS | MUERTOS | VIVOS | MUERTOS | | | |
| 1 | 200 | 0 | 12 | 188 | 9 | 191 | 0 | 200 | | | |
| 2 | 200 | 0 | 9 | 191 | 6 | 194 | 0 | 200 | | | |
| 3 | 200 | 0 | 11 | 189 | 7 | 193 | 0 | 200 | | | |
| 75% | | | | | | | | | | | |
| 1 | 200 | 0 | 105 | 95 | 53 | 147 | 10 | 190 | | | |
| 2 | 200 | 0 | 110 | 90 | 57 | 143 | 15 | 185 | | | |
| 3 | 200 | 0 | 103 | 97 | 49 | 151 | 9 | 191 | | | |
| 50% | | | | | | | | | | | |
| 1 | 200 | 0 | 112 | 88 | 43 | 157 | 30 | 170 | | | |
| 2 | 200 | 0 | 105 | 85 | 52 | 148 | 34 | 166 | | | |
| 3 | 200 | 0 | 101 | 99 | 49 | 151 | 37 | 163 | | | |

ANEXO N° 2:

Figura N° 1: Número de espermatozoides según tipo de movilidad espermática del Tetrapygus niger, a una concentración de 50% del extracto Chenopodium quinoa.

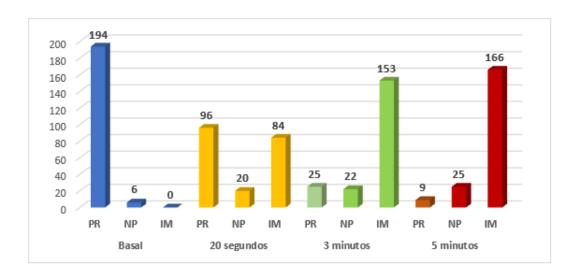


Figura N° 2: Número de espermatozoides según tipo de movilidad espermática del Tetrapygus niger, a una concentración de 75% del extracto Chenopodium quinoa.

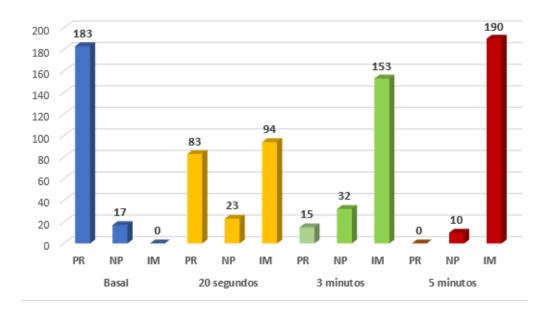


Figura N° 3: Número de espermatozoides según tipo de movilidad espermática del Tetrapygus niger, a una concentración de 100% del extracto Chenopodium quinoa.

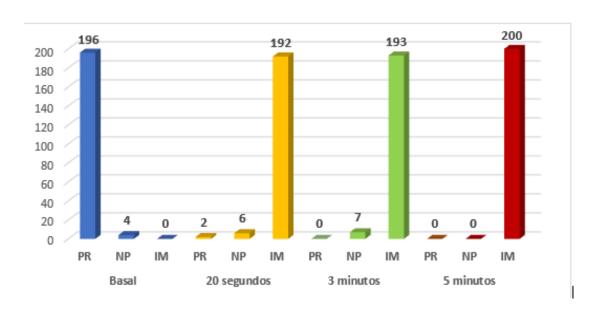


Figura 4: Número de espermatozoides según viabilidad espermática del Tetrapygus niger, a una concentración de 50% del extracto Chenopodium quinoa.

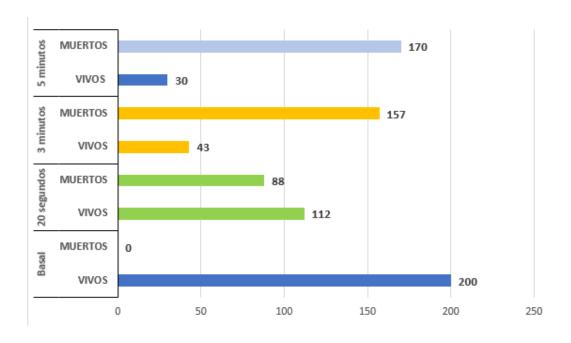


Figura 5: Número de espermatozoides según viabilidad espermática del Tetrapygus niger, a una concentración de 75% del extracto Chenopodium quinoa

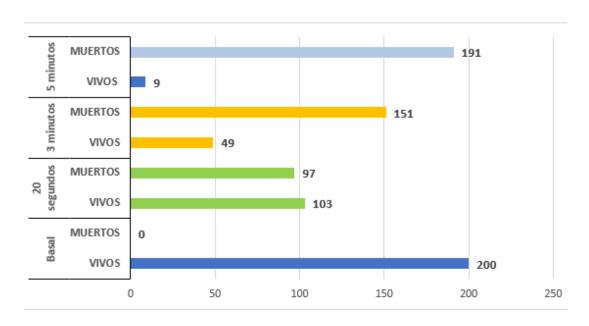
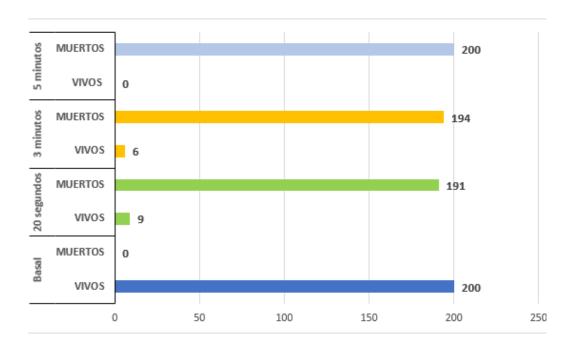


Figura 6: Número de espermatozoides según viabilidad espermática del Tetrapygus niger, a una concentración de 100% del extracto Chenopodium quinoa



ANEXO 3: OBTENCIÓN DE MATERIAL VEGETAL Y BIOLÓGICO



Recolección de *Chenopodium quinoa "quinua"* en zonas aledañas de Huamachuco.



Recolección de *Tetrapygus niger* "erizos de mar" en la playa de Huanchaco.

ANEXO 4: PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO



Tamizaje de Chenopodium quinoa.



Ebullición para extracción de saponinas.



Filtración de almidón con gasa estéril.



Prueba de espuma para determinación cualitativa de saponinas



Vaporización de extracto acuoso en estufa a 60 °C.

ANEXO 5: EXTRACCIÓN DE GAMETOS



Inyección de Cloruro de Potasio



Los conductos espermáticos son de color amarillo.



Concentración espermática diluida en agua de mar.

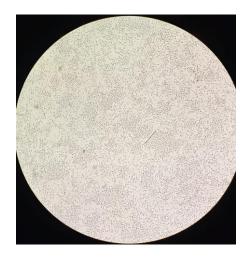
ANEXO 6: ENSAYO SOBRE LA MOVILIDAD Y VIABILIDAD ESPERMÁTICA



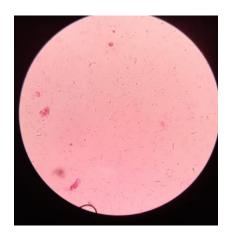
Enfrentamiento del espermatozoide diluido con el extracto acuoso.



Observando la movilidad y viabilidad espermática.



Espermatozoides sin diluir, ni colocar el extracto.



Muestra de espermatozoides con extracto, coloreado con eosina para ver la viabilidad.