

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO  
ESCUELA DE POSTGRADO**



**EFECTO DE *Lepidium meyenii* (MACA) EN LA MEMORIA  
ESPACIAL Y EN EL NIVEL DE MALONDIALDEHÍDO  
NEURONAL EN *Rattus rattus* var. *Albinus*  
OVARIECTOMIZADAS SOMETIDAS A RADIACIONES DE  
TELÉFONOS MÓVILES.**

**TESIS  
PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN  
EDUCACIÓN**

**AUTOR:** Mg: CARMEN LUISA MARÍN TELLO

**ASESOR:** Dr : LORENZO MATOS DEZA

**COASESOR:** Dr: JOSÉ ALIAGA ARAUCO

**Trujillo, Diciembre 2014**

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO  
ESCUELA DE POSTGRADO**



**EFECTO DE *Lepidium meyenii* (MACA) EN LA MEMORIA  
ESPACIAL Y EN EL NIVEL DE MALONDIALDEHÍDO  
NEURONAL EN *Rattus rattus* var. *Albinus*  
OVARIECTOMIZADAS SOMETIDAS A RADIACIONES DE  
TELÉFONOS MÓVILES.**

**TESIS  
PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN  
EDUCACIÓN**

**AUTOR:** Mg: CARMEN LUISA MARÍN TELLO

**ASESOR:** Dr : LORENZO MATOS DEZA

**COASESOR:** Dr: JOSÉ ALIAGA ARAUCO

**Trujillo, Diciembre 2014**

## **DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTO**

**A mis maestros ..... con quienes compartí  
los sueños, los esfuerzos y los logros.....**

## RESUMEN

Se determinó el efecto de *Lepidium meyenii* (maca) ecotipo roja en la memoria espacial y en niveles (de concentración en el tejido cerebral) de malondialdehído (MDA) de *Rattus rattus* var. albinus hembras, irradiadas por las ondas de teléfonos móviles de segunda generación con llamadas contestadas durante 30 minutos por 7 días. Fueron sometidas 36 especímenes de 200 – 250 g de peso, de 3 meses de edad, que fueron ovariectomizadas 80 días antes de irradiarlas y de iniciar el tratamiento con estrógenos y maca por dos meses. Se realizó la prueba del Laberinto Acuático de Morris (LAM) para determinar la memoria espacial, antes de la ovariectomía y después de la irradiación. Cinco de seis grupos compuestos por 6 especímenes estudiados fueron ovariectomizados, de éstos últimos un grupo fue el blanco, dos grupos recibieron estrógenos en dosis de 200ug/kg p.c. pero a uno se les irradió por teléfonos móviles y los dos grupos restantes recibieron 2 g/Kg de maca siendo uno de ellos irradiados. Se cuantificó los cromógenos de Malondialdehído (MDA), mediante espectrofotometría de absorción a 532 nm de longitud de onda. Se evidenció que *Lepidium meyenii* ecotipo roja, a dosis de 2 g/Kg presenta efecto antioxidante expresado en la disminución de los niveles de MDA y mejor respuesta en las pruebas de memoria espacial, ambos con un valor de significancia del 95%.

Palabras clave: Laberinto Acuático de Morris, ovariectomizadas, teléfonos móviles, *Lepidium meyenii*, memoria espacial, malondialdehído.

## SUMMARY

It was determined the effect of *Lepidium meyenii* (maca) ecotype red in spatial memory and levels (of concentration in the tissue of the brain) of malondialdehyde (MDA) of *Rattus rattus* var. *Albinus* females, radiated by the waves of mobile phones with second-generation answered calls for 30 minutes for 7 days. They were subjected 36 specimens of 200 - 250 g in weight, with 3 months of age, who were ovariectomized 80 days prior to radiate and start the treatment with estrogen and maca for two months was the test of the Morris water maze (LAM) to determine the spatial memory, before the ovariectomy and after irradiation. Five of the six groups composed of 6 specimens studied were ovariectomizados, of the latter a group was the white, two groups received estrogen 200ug/kg p.c. but one were irradiated by mobile phones and the two other groups received 2 g/Kg of maca one of them being irradiated. It was quantified the chromogens of malondialdehyde (MDA), through absorption spectrophotometry at 532 nm wavelength. It was evidenced that *Lepidium meyenii* ecotype red, at a dose of 2 g/Kg presents antioxidant effect expressed in the decrease in the levels of MDA and better response in the tests of spatial memory, both with a significance value of 95 %.

**Keywords:** Morris Water Maze, ovariectomized, mobile phones, *Lepidium meyenii*, spatial memory, malondialdehyde.

## INDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	
<b>1. Material</b>	
1.1. Población	
1.2. Muestra	
1.3. Unidad de análisis	
<b>2. Método</b>	
2.1. Tipo de estudio	
2.2. Diseño de investigación	
2.3. Variables y operativización de variables	
2.4. Instrumentos de recolección de datos	
2.5. Procedimiento y análisis estadístico de datos, especificando el programa estadístico utilizado.	
<b>III. RESULTADOS.....</b>	
<b>a) INDICE DE CUADROS</b>	
III - 1. Comparación de tiempo de latencia de los grupos de <i>Rattus rattus</i> var. albinus ovariectomizadas para evaluar memoria espacial por el método del Laberinto Acuático de Morris (LAM).	
III – 2. Comparación del tiempo de permanencia de <i>Rattus</i> <i>rattus</i> var. albinus ovariectomizadas para evaluar memoria espacial por el método del Laberinto Acuático de Morris (LAM)	
III - 3. Concentraciones de malondialdehído en tubos conteniendo tejido cerebral de <i>Rattus rattus</i> var. albinus	
III – 4. Comparación de las concentraciones de malondialdehído de los grupos de <i>Rattus rattus</i> var. albinus evaluados.	
<b>b) INDICE DE ILUSTRACIONES</b>	
Figura 3 – 1. Ovariectomización de especímenes	
Figura 3 – 2. Post – operatorio	
Figura 3 – 3. Prueba del Laberinto Acuático de Morris	
Figura 3 – 4. Determinación de Malondialdehído	

<b>IV. DISCUSIÓN .....</b>	<b>.....</b>
<b>V. PROPUESTA.....</b>	<b>.....</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>.....</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>.....</b>

## **I. INTRODUCCIÓN**

Uno de los cambios relevantes que ha experimentado la población es el incremento del promedio de vida. Así, en el quinquenio 1950-1955 la esperanza de vida para la mujer peruana era de 74 años y del hombre 73 años de edad, pero, para el quinquenio 2010-2015 la esperanza de vida de la mujer aumentaría a 83 años y la del hombre a 80 años de edad (INEI 2012).

Al ocurrir la menopausia entre los 40 y 50 años, se manifiestan algunos cambios en las concentraciones de las hormonas tales como: los niveles de hormona folículo estimulante (FSH) se incrementan de 25 IU/L a valores superiores de 40 IU/L, los niveles de estradiol (E2) disminuyen a valores inferiores a 25 pg/ml, lo que representa una disminución del estradiol en 35 veces, para los casos de la estrona en 10 veces menos y de la dihidrotestosterona en 1,5 veces menos, por esta información fisiológica y tomando en cuenta lo mencionado en el primer párrafo, se esperaría que aproximadamente la mitad de la vida de una mujer Peruana, transcurra en esta etapa de la menopausia por lo que experimentaría entre otros síntomas, la falta de concentración y problemas de memoria, que se manifiestan por estos cambios hormonales. Por otro lado, se ha determinado que la administración de estrógenos aumenta el flujo sanguíneo cerebral y cerebelar, incrementa el metabolismo de la glucosa y mejora la actividad colinérgica, que es clave en el aprendizaje y la memoria (Bocchino, 2005).

Algunos factores inherentes a aspectos socioeconómicos y otros relacionados a la cultura de la propia mujer contribuyen a que la mujer encuentre una solución a este problema fisiológico, como por ejemplo:

- El tratamiento de Terapia de reemplazo hormonal (TRH) que suele estar limitada a clínicas privadas.
- Marginación de las mujeres mayores por la dependencia económica.
- Porque las mujeres tienen un modo de pensar que no les permite interferir con la naturaleza. (Seshadri, 2006).

Así mismo, el 6-8% de los mayores de 65 años, tanto hombres como mujeres presentan alteraciones cognoscitivas severas que pueden ser diagnosticadas como cuadros de demencia. En la depresión de la tercera edad, en un 30% de los enfermos, se observan alteraciones cognoscitivas, como pobre concentración y déficit en la memoria. De tal manera que, las tasas de demencia en mujeres sugieren diferencias genéricas de tipo hormonales. La información científica (Maki, 2012) indica que la frecuencia de la enfermedad de Alzheimer es mayor entre las mujeres y algunos autores (Henderson, 2007) relacionan este hecho con la disminución en la producción de estrógenos. En síntesis, los estrógenos, que actúan como neuromoduladores cerebrales, parecen estar relacionados con el afecto y la memoria (Téllez, 2003).

El déficit de estrógenos, afecta la memoria y por ende el mantenimiento de los aprendizajes logrados a lo largo de la vida de la mujer. Durante la menopausia la síntesis de hormonas sexuales femeninas es realizada solo en las células especializadas de las suprarrenales y en los adipocitos, es en el cerebro donde el nivel de 17  $\beta$ -estradiol (E2), tiene acciones mediadas por los receptores estrogénicos  $\alpha$  y  $\beta$  (RE); ambos receptores se expresan en el hipocampo y la corteza del cerebro de roedores y humanos (Bruton, 2006; Sánchez, 2012).

Las hormonas esteroideas actúan sobre el crecimiento, desarrollo y diferenciación de diversos tejidos, ejercen acción reguladora primaria sobre los órganos reproductivos, pero, pueden regular otros procesos en tejidos como hueso, hígado, sistema cardiovascular y cerebro. A nivel neuronal, las hormonas esteroideas modifican los niveles de neurotransmisores, de los receptores y la formación de las espinas de las dendritas. La hormona se une a su receptor de membrana o citoplásmico y desencadena una vía de señales moleculares. El complejo hormona-receptor de estrógenos (ER) en el núcleo, regula, por unirse a sitios del promotor, la expresión de genes blanco. Las proteínas que codifican dichos genes ejercen diversos efectos en las funciones de interrelación entre las neuronas y con ello una modificación de las capacidades cognitivas. Un proceso bien estudiado es el efecto del estradiol sobre la consolidación de la memoria en el hipocampo. Los receptores de E2 permiten la síntesis de proteínas en las neuronas del hipocampo usando las vías de las quinasas y los promotores ERE (cinasa que regula las señales extracelulares) y CRE (elemento ligado a la respuesta del AMPc), coordinando los diversos receptores de membrana, ER $\beta$  citoplásmico o nuclear y ER $\alpha$ . Las proteínas sintetizadas, permiten la formación y activación de las sinapsis que subyacen a la memoria (López, 2011). (Noriega, 2008).

Actualmente se han identificado dos receptores de estrógenos conocidos como ER  $\alpha$  y ER  $\beta$  formados por una sola cadena de 565 y 530 aminoácidos, respectivamente. Existe un tercero y nuevo receptor de estrógenos intracelular transmembranal (7TMR), conocido como GPR30, que actúa de manera independiente de ER $\alpha$  y ER $\beta$ , pero influye en la activación del factor de crecimiento epidermal (EGF), pudiendo así participar en la biología del cáncer de mama, ER $\alpha$  y ER $\beta$  son codificados por diferentes genes y su expresión varía dependiendo del tipo de tejido, ER $\alpha$  es expresado predominantemente en órganos reproductivos (útero, mama y ovario), así como en el hígado y en el sistema nervioso central,

en tanto que la forma ER $\beta$  es expresada mayoritariamente en otros tejidos como hueso, endotelio, pulmones, tracto urogenital, ovario, sistema nervioso central y próstata (Noriega, 2008).

Hay abundantes pruebas que demuestran que las hormonas ováricas, como E2, afectan rápida y profundamente la morfología y la fisiología del hipocampo en roedores hembras jóvenes y adultas. El E2 llega a las neuronas a través de la circulación, donde encuentra dos tipos de receptores estrogénicos (ER $\alpha$  y ER $\beta$ ), y aunque ambos se encuentren en el hipocampo, inicialmente se señaló que el ER $\alpha$  sería necesario para la neuroprotección; sin embargo un reciente estudio demuestra que estarían involucrados también el ER $\beta$  en estos efectos mucho más que el ER $\alpha$ . El ER $\beta$  se expresa en el estrato lucidum CA3, estrato radiado CA1, en las regiones del giro dentado y en el nivel subcelular se encuentra en los axones, dendritas y espinas dendríticas del hipocampo; allí el E2 tiene dos vías de ingreso, uniéndose a receptores citoplasmáticos o uniéndose a receptores ligados a membrana, ambos conllevando a la transcripción de proteínas, la vía de señalización se presenta de esta forma: Al unirse el E2 a sus receptores de membrana activa la cinasa fosfatidilinositol-3-fosfato (PI3K), que a su vez activa a la proteincinasa C (PKC) independiente de calcio, el cual permite el aumento intracelular de calcio, con la consecuente activación de PKC dependiente de calcio, que activa la vía MEK/ERK  $\frac{1}{2}$ , translocándose el ERK (cinasa que regula las señales extracelulares) activando al núcleo, la misma que se ha asociado al estímulo de la expresión génica y la síntesis de proteínas, mejorando así la memoria, esto se explica porque después de activarse fosforila al CREB (elemento ligado a la respuesta del AMPc) que transcribe para proteínas anti-apoptóticas como el Bcl-2, y si es fosforilada mediante la proteincinasa A (PKA) transcribe para proteínas involucradas en la sinapsis. Es por esto que se ha demostrado que el E2 aumenta la excitabilidad sináptica del hipocampo, aumenta la liberación de factores de crecimiento (neurotrofinas) y la expresión de proteínas sinápticas (por

ejemplo, sinaptofisina, espinofilina y PSD-95), también se ha hallado que el E2 en ratas hembras jóvenes y ratones previene la disminución de densidad de la espina dendrítica inducida por ooforectomía en la CA1 del hipocampo (Morote, 2012).

En el proceso de la menopausia existe un factor sujeto a estudios actuales, que disminuye la memoria por la vía del estrés oxidativo (Nilsen, 2008), al respecto, se ha demostrado que la memoria y la densidad de las espinas dendríticas de las neuronas piramidales del hipocampo se ven alterados (Avila, 1999). El estrés oxidativo es un desequilibrio entre la producción y la destrucción de especies reactivas del oxígeno (EROs), los cuales son un subproducto inevitable del metabolismo celular a nivel de fosforilación oxidativa mitocondrial en el complejo I y III. Dentro de las EROS se encuentran en mayor grado, los radicales superóxido, peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo altamente reactivo, que degradan moléculas tales como al ADN, las proteínas y los lípidos a través de la lipoperoxidación (Bocchino, 2005).

Las acciones antioxidantes de los estrógenos se ven comprometidos, por la deficiencia del 17  $\beta$ -estradiol (E2), que están por una parte involucrados en la transcripción de enzimas antioxidantes a nivel del cerebro como catalasa, glutatión peroxidasa y manganeso superóxido dismutasa; y por otra a la naturaleza del anillo fenólico "A" como un donador de electrones y potente captador de radicales libres evitando así la lipoperoxidación inducida por daño de la membrana (Rao, 2011).

El proceso de la memoria, ante el estrés oxidativo o desbalance redox, donde existe el incremento en la producción de radicales libres y la disminución de las defensas antioxidantes, también se encuentra afectado con la exposición a las radiaciones electromagnéticas emitidas por campos con frecuencias ultra altas (0,3-3 Ghz) y conllevan el peligro de efectos biológicos que pueden convertirse en efectos adversos para la

salud, investigadores cubanos concluyeron, que existía una influencia de las radiaciones electromagnéticas sobre un grupo de personas expuestas al compararlas con otro grupo no expuesto tomado como control, encontrándose un incremento de la superóxido dismutasa, un incremento de  $H_2O_2$ , una disminución de la capacidad antioxidante total del plasma, un aumento de malondialdehído y no cambios en la concentración de catalasa en los sujetos expuestos (Pérez, 2006).

El número de personas expuestas a radiaciones electromagnéticas emitidas por teléfonos móviles, antenas y otros equipos y por lo tanto a la formación de radicales libres, es cada vez mayor, en la actualidad es el único medio para dar servicio telefónico a las zonas urbano-marginales y ciertas zonas rurales en el país. Los estudios de efectos biológicos y en la salud, debido a exposición a los campos electromagnéticos o la exposición externa a radiaciones no ionizantes de las estaciones de telecomunicaciones, se mide en términos del campo eléctrico (V/m), campo magnético (A/m o Teslas) y densidad de potencia (W/m<sup>2</sup>), medidas que para campos de radiofrecuencia y para regiones de campo lejano, están completamente relacionados. La exposición interna para las radiofrecuencias se mide en términos de la tasa de absorción específica (SAR) (W/kg). La relación entre el campo y la tasa de absorción específica no es directa y se calcula mediante modelamiento matemático (Cruz, 2009).

Respecto a las fuentes principales de exposición externa se encuentran dos formas, la primera es la radiación de las estaciones fijas que provocan exposición de cuerpo entero, con niveles de exposición relativamente pequeños, para el caso de las estaciones base, las radiaciones no ionizantes normalmente están muy por debajo de los límites permisibles y generalmente la exposición es involuntaria. Los máximos valores de exposición producidos en ambientes poblacionales para estaciones bases de telefonía móvil son del orden de 5 V/m (1,5% de

los límites ICNIRP poblacionales). La segunda fuente está dada, por la radiación de estaciones portátiles; los teléfonos móviles, que provocan una exposición básicamente localizada en la cabeza, donde al utilizarlos para distancias menores de 1 cm pueden ser cientos de V/m. De acuerdo con cálculos realizados, los valores máximos del campo entre 2 y 3 cm de la cabeza fueron de 400 V/m (424,4 W/m<sup>2</sup>) para un teléfono móvil de 2W a 900 MHz y 200 V/m para 1W a 1800 MHz (106,1 W/m<sup>2</sup>) siendo la potencia absorbida por la cabeza aproximadamente del 40% de la potencia emitida (Zmirou, 2001).

En cuanto a la exposición interna, se ha encontrado, para voluntarios humanos expuestos a SAR de 4 W/kg por 15 a 20 minutos, que el promedio de incremento de temperatura fue de 0,2 a 0,5 °C, lo que es completamente aceptable para gente sana. Asimismo, en recientes estudios con modelos de teléfonos móviles, se pudo encontrar que para potencias promedio temporal de 0,25 W en la banda de 900 MHz, el SAR era aproximadamente 1,6 W/kg y predecía un máximo incremento de temperatura del cerebro de 0,1 °C, pero dependerá también de la forma del tejido. En el caso de tejidos en forma de película se ha evaluado niveles de SAR de hasta 2,28 W/kg y el incremento de la temperatura llegó a 0,25 °C. Pero, en experimentos realizados para personas que realizan una llamada de 30 minutos, se encontró que la ausencia de propagación del calor por convección debido a la sola presencia del teléfono, causa un incremento de temperatura (0,9 °C) que es mayor que el incremento de temperatura por el SAR (0,1 °C). La población expuesta está constituida por un gran porcentaje de la población, incluyendo fetos, bebés, niños, jóvenes, adultos y ancianos (Cruz, 2009).

De manera especial, para el grupo de estudio, representaría las radiaciones electromagnéticas durante la menopausia, otro factor que incrementaría la pérdida de la funcionalidad de la memoria, desde ya con limitaciones por la deficiencia de estrógenos, al respecto, para esta nueva

fase de la vida, el abordaje desde el punto de vista farmacológico, se realiza a través de la terapia de reemplazo hormonal (TRH) o estrógeno terapia, sin embargo, se le atribuyen resultados inconsistentes (Coker, 2010), por lo que ha perdido hegemonía como en el caso del tratamiento de primera línea para la osteoporosis posmenopáusica debido a los riesgos que esta implica, como aumento del riesgo cardiovascular y de cáncer de mama. No obstante, su indicación actualmente se restringe a utilizarla por cortos períodos y en las dosis más bajas y efectivas posibles. En contraste, las isoflavonas se han convertido en una alternativa interesante, y el estudio de sus beneficios ha recibido mucha atención (Bolaños, 2009).

Las isoflavonas suele encontrarse en diversas plantas existentes en el Perú, país con una gran diversidad biológica, los últimos trabajos tratan de identificar plantas que tienen propiedades medicinales y que han sido utilizadas desde tiempos muy antiguos, siendo una de ellas *Lepidium peruvianum* Chacón (también conocida como *Lepidium meyenii* Walp.) «Maca», una Brassicacea nativa de los Andes Peruanos, que se cultiva principalmente en las regiones Suni y Puna de los departamentos de Junín y Pasco, entre los 3700 y 4500 m., que es utilizada en la alimentación del hombre andino. Esta raíz tiene diversos efectos en el organismo, habiéndose estudiado y encontrado una alta capacidad antioxidante, se asume que se deba al contenido de fenoles y flavonoides los cuales pueden ser consideradas como fuente importante de antioxidantes naturales, que podrían contrarrestar el exceso de radicales libres que perjudican el estado general de personas, un ejemplo de ello son los pacientes diabéticos donde está involucrada la generación de especies reactivas derivadas del oxígeno (EROs), que causarían el daño oxidativo de las células del organismo. Sandoval et al., (2002) reportaron el efecto antioxidante de un extracto acuoso de maca, evidenciado por su capacidad citoprotectora contra la apoptosis inducida (Rodrigo, 2011; Alzamora, 2007).

En estudios con animales, se han evidenciado el desequilibrio oxidativo en los cambios ocurridos en la menopausia, mostrándose una disminución de la superóxido dismutasa extracelular (ecSOD) y la superóxido dismutasa mitocondrial (MnSOD), y un aumento de producción de radicales libres en ratas, asociado a niveles decrecientes de estrógenos, luego de ser ooforectomizadas, por otro lado Wassmann y cols. evidenciaron un incremento en la actividad de NADPH oxidasa (el cual cataliza la transferencia de un electrón desde el NADPH hacia el O<sub>2</sub> en la cadena respiratoria) y en la producción de la superóxido dismutasa en ratas, luego de ser ooforectomizadas (Escalante, 2009).

Sin embargo, una de las formas de detener el daño por el exceso de radicales libres, es utilizando donadores naturales de electrones o con capacidad de capturar radicales libres, que pueden ingerirse en la alimentación como es el caso de *Lepidium meyenii* walp (maca), que según los estudios fitoquímicos contienen variedad de componentes como alcaloides, aminas secundarias alifáticas, aminas terciarias, compuestos fenólicos, flavonoides, xantinas, xantofilas, esteroides, saponinas, glicósidos, tioglucósidos. Se han identificado positivamente isotiocianatos, p metoxibencilo, esteroides (sitosterol, campesterol, ergosterol y 7-22 ergostadienol), ácidos grasos: linoléico, palmítico y linoléico entre otros (Marín, 2003). Asimismo, se ha determinado que contiene: entre 8.87 a 11.6% de proteínas, 1.09 a 2.2% de lípidos, 54.6 a 60% carbohidratos, de 18 a 19 tipos de aminoácidos siendo 7 esenciales, varios tipos de vitaminas y minerales (Fe, Mn, Cu, Zn, Na, K y Ca) (Castañeda, 2007).

La mayoría de investigaciones sobre procesos de memoria y menopausia se vienen llevando a cabo bajo estudios in-vivo en ratas y ratones ooforectomizadas, que es un modelo que simula la menopausia por el déficit de estrógenos. Al respecto, se encuentra que la Terapia de Reemplazo Hormonal, en algunos casos mejora los defectos en la cognición y en otros no se evidencia mejoría ya que dependen de la edad

o el tiempo de administración. El aprendizaje y la memoria espacial se relacionan con la capacidad de adquirir y retener asociaciones de las características del ambiente, lo que permite al organismo desenvolverse en el espacio (Ruíz, 2007). La memoria espacial consiste en múltiples mecanismos especializados en codificar, almacenar y recuperar información acerca de rutas, configuraciones y localizaciones espaciales (Vicens 2003).

El laberinto de agua fue diseñado por R.G. Morris para evaluar la memoria espacial en ratas (Morris, 1984). El modelo del laberinto de agua refleja la complejidad de la navegación espacial, mostrando cómo los animales se orientan eficientemente en el espacio mediante su capacidad de establecer y retener asociaciones entre estímulos ambientales. A pesar de tratarse de una tarea aversivamente motivada que causa cierto grado de estrés, lo que podría estar influyendo en su ejecución, este paradigma resulta muy útil para investigar los mecanismos neurobiológicos implicados en el aprendizaje y la memoria espacial. Un aspecto metodológico importante es que permite una evaluación exhaustiva de la capacidad espacial de los animales, tanto en los ensayos de entrenamiento como en la prueba final, pudiéndose obtener diferentes medidas de su conducta espacial (Vicens,2003).

La evaluación mediante el laberinto de agua, de los deterioros cognitivos asociados al envejecimiento, constituye actualmente una técnica de investigación importante. Las ratas envejecidas no muestran necesariamente pérdida de neuronas en el hipocampo, aunque podrían existir alteraciones en el funcionamiento hipocampal. La causa principal del deterioro podría ser el fallo hipocampal en la codificación de las diferencias en la información contextual que difiere a través de las experiencias. La heterogeneidad de la capacidad de la memoria espacial asociada al envejecimiento podría estar relacionada con las diferentes capacidades de procesamiento del hipocampo joven y viejo. Estudios

recientes señalan una estrecha correlación entre la memoria espacial evaluada en el laberinto de agua y las representaciones espaciales en el hipocampo (Vicens, 2003).

Los estudios sobre la determinación de daños por acción de los radicales libres se realizan a través de la medición de los productos de esta oxidación celular, considerándose en particular a la lipoperoxidación como un gran fenómeno, a través del cual las EROs alteran la estructura e integridad funcional de las células por la formación de los radicales peroxilo que se pueden reorganizar a través de una reacción de ciclación a endoperóxidos, siendo los productos finales más importante el malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxi-2-nonenal (HNE), los llamados marcadores de lipoperoxidación y aunque son difíciles de medir por su corta duración, existen métodos indirectos como la reacción a la sustancias del ácido tiobarbitúrico (TBARS). Por estos productos, la lipoperoxidación induce un cambio en la fluidez de la membrana, en el potencial y en la permeabilidad a los iones como el calcio, que es sustancial para procesos de memoria; adicionalmente el tejido nervioso es vulnerable al daño inducido por radicales libres debido a su alta demanda de oxígeno, proteínas, lípidos y alto contenido de metales de transición, así como por tener bajos niveles de antioxidantes y su naturaleza post-mitótica que actúa agravando más la susceptibilidad al daño del ADN mitocondrial por lo que se ha asociado a múltiples enfermedades neurodegenerativas (Bocchino, 2005).

### **Justificación de la investigación.-**

Con el incremento en la esperanza de vida para la mujer, se estima que pase más de un tercio de la misma en la etapa de la menopausia, dentro de cuyos síntomas encontramos la falta de concentración y pérdida de la memoria, por otro lado, la existencia en el entorno de radiaciones electromagnéticas tales como las producidas por el uso de los teléfonos móviles, se constituyen en factores que contribuyen en la generación de

radicales libres, ya de por sí establecidos por la deficiencia estrogénica, cuyo abordaje terapéutico implica serias reacciones adversas, por lo que se requieren de alternativas naturales como las isoflavonas existentes en la maca, cuya ingestión se constituiría en un medio para disminuir el deterioro de la memoria y con ello la pérdida de los aprendizajes logrados a lo largo de la vida durante la educación formal e informal. El presente estudio pretende determinar el efecto de *Lepidium meyenii*, planta oriunda del Perú, sobre los parámetros de memoria espacial y en la concentración de Malondialdehído, que es un producto resultante de la lipoperoxidación neuronal, en *Rattus rattus* var. albinus ovariectomizadas para simular la menopausia femenina.

#### **Planteamiento del problema.-**

¿Cuál es el efecto de *Lepidium meyenii* (maca), en la memoria espacial y en el nivel de malondialdehído neuronal de tejido cerebral en *Rattus rattus* var. albinus ovariectomizadas sometidas a radiaciones producidas por los teléfonos móviles?

Se postula que *Lepidium meyenii* walp (maca), tiene efecto antioxidante expresado en la disminución de niveles de malondialdehído en membranas neuronales del tejido cerebral y en la mejora de los parámetros de la memoria espacial en *Rattus rattus* variedad albinus ovariectomizadas sometidas a radiaciones de teléfonos móviles.

Por lo que se plantea lo siguiente:

#### **a) Objetivo General:**

1. Determinar el efecto de *Lepidium meyenii* walp (maca) en la memoria espacial y en el nivel de malondialdehído neuronal del tejido cerebral en *Rattus rattus* variedad albinus ovariectomizadas sometidas a radiaciones de teléfonos móviles.

## **b) Objetivo específicos:**

1. Demostrar el efecto antioxidante de *Lepidium meyenii* ecotipo roja, a dosis de 2 g/Kg, expresado en mejor respuesta en las pruebas de memoria espacial en *Rattus rattus* var albinus ovariectomizadas sometidas a radiaciones de teléfonos móviles.
2. Demostrar el efecto antioxidante de *Lepidium meyenii* ecotipo roja, a dosis de 2 g/Kg, expresado en la disminución de los niveles de malondialdehído en tejido cerebral de *Rattus rattus* var albinus ovariectomizadas sometidas a radiaciones de teléfonos móviles.

## **II. MATERIAL Y MÉTODO**

### **1. Material:**

#### **1.1 Material biológico:**

- 36 *Rattus rattus* var. Albinus procedentes del bioterio del Instituto Nacional de Salud del Perú (INS).
- Liofilizado de *Lepidium meyenii* walps. Ecotipo roja obtenidos del centro de ventas "CAYENATUR" de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Sobres de 3 gramos. LOTE 201011. F.V: 10-2014

1.2 **Material Químico:** Para determinación de malondialdehído en tejido cerebral. (Anexo 1)

1.3 **Material de Vidrio:** Los de uso común de laboratorio

#### **1.4 Fármacos:**

- Ketamina 50 mg/ml Fco de 10 ml

### **1.5 Equipos de laboratorio:**

Centrífuga refrigerada SIGMA  
Espectrofotómetro JENWAY  
Balanza analítica RADWAG  
Termostato THERMOSTAT PLUS  
Congeladora  
Refrigeradora FAEDA  
Cocina eléctrica  
Cámara fotográfica SONY  
Cronómetro SAMSUNG  
Laberinto Acuático de Morris. (LAM)

### **1.6 Otros materiales:**

- De bioseguridad, de disección y mantenimiento de células neuronales.
- Equipos móviles de telefonía: Con potencia para una tasa de absorción específica (SAR) mayor a 4W/ kg en 30 minutos.
- Calculadora CASIO

## **2. Método:**

### **2.1. Tipo de estudio.-**

Es un estudio experimental in-vivo siguiendo el diseño clásico o con prueba – post prueba y grupo control.

### **2.2. Diseño de investigación.-**

36 *Rattus rattus* var. albinus, hembras de 3 meses de edad, con un peso promedio de 200 – 250 g p.c. que fueron obtenidas del Bioterio del Instituto Nacional de Salud de la ciudad de Lima, expuestas a ciclo día/oscuridad por 30 días y alimentadas con Purina (NUTRIMAX) con una composición mínima de proteínas 9%

, Grasa 1% y máxima de fibra 17% , humedad 14% y ceniza 20%.  
Asímismo; agua ad libitum.

Se realizó la distribución de los subgrupos de trabajo : Blanco, Grupo I, Grupo II, Grupo III, Grupo IV, Grupo V y Grupo VI.

### **2.3. Descripción de procesos.-**

#### **a. Simulación de menopausia (Rubio 2006).**

La ovariectomía se realizó a 30 de los 36 animales de experimentación. Separándolas en jaulas individualizadas, 80 días antes de la evaluación de los parámetros estudiados (Morote 2012).

La extirpación bilateral de los ovarios de los animales de experimentación originan la disminución en la producción de estrógenos endógenos, con la consecuente inducción del estrés oxidativo. En el grupo irradiado, se incrementó la formación de MDA por acción de la radiación de los teléfonos móviles.

#### **b. Realización de la ovariectomía:**

Las 30 ratas de 3 meses de edad, fueron anestesiadas con Ketamina 100 mg/Kg vía intraperitoneal, luego se realizó una incisión de 3 cm de largo en la línea media ventral de la piel, aproximadamente a dos cm de la terminación de zona urinaria.

Se accedió a la cavidad peritoneal hasta encontrar el ovario, ubicándose la conexión entre la trompa de Falopio y el cuerno uterino y se procedió a la extirpación.

Se suturó con catgut individual sobre la piel, y se evaluó el estado post-quirúrgico.

A los 80 días de la ovariectomía, para una mejor provocación de síntomas de la menopausia, se inició la administración de los estrógenos y la maca a los grupos seleccionados al azar.

#### **c. Análisis de la Memoria Espacial usando el Laberinto Acuático de Morris (LMA) (Morote, 2012). (Anexo N° 3)**

Para medir los parámetros de la memoria espacial se usó la prueba del Laberinto Acuático de Morris (LAM) antes de la ovariectomía y después de la irradiación. (Ruiz 2007, Sharma 2010).

El Laberinto Acuático de Morris es un modelo ampliamente usado en neurofarmacología y permite estudiar diferentes tipos de memoria de manera exacta y reproducible, se aplicó el siguiente esquema :

El laberinto acuático de Morris constó de una piscina circular de 120 cm de diámetro y 56 cm de altura, que estuvo llena de agua a una temperatura entre 18 y 27 °C, Se dividió imaginariamente en cuatro cuadrantes, en donde se sumergió en la zona media del cuadrante noreste; una plataforma de 19 cm de altura y 12 cm de diámetro; este cuadrante es la única forma de escape. Todo el interior de esta piscina estuvo pintada de color negro para disminuir la visibilidad a la plataforma y se pintó dos dibujos o claves visuales (Una cruz entre el cuadrante noroeste y suroeste y un aspa entre el cuadrante noreste y sureste), que sirvió de referencia respecto a la plataforma.

Condiciones de experimentación:

La condición importante es la no existencia de ruidos ni otras señales que provocaran inatención o desorientación de las 30 ratas sometidas al experimento, ni señales extralaberínticas

### **Procedimiento:**

Una semana antes de la ovariectomía y una semana antes de terminar con la administración de los tratamientos (maca o estrógenos) a los diferentes grupos de estudio se evaluó la memoria espacial a través del Laberinto Acuático de Morris.

La evaluación se realizó durante 5 días, los 4 primeros corresponden a la fase de adquisición o aprendizaje y el último día de la prueba a la fase de retención de memoria.

**Fase adquisición o aprendizaje:** en esta fase la piscina tuvo las claves visuales (cruz y aspa) y además se encontró presente la plataforma.

a) Se introdujo a cada rata con el hocico orientado hacia las paredes de la piscina, cada día se le depositó en el agua en un cuadrante diferente exceptuando el cuadrante noreste, para permitir que el animal aprenda la tarea de encontrar la plataforma usando las claves visuales y no vías directas; posteriormente se le dejó nadar libremente durante 120 seg.

b) Después de los 120 seg., si no logró encontrar la plataforma, se colocó la rata en la plataforma por 15 seg más, y luego se le retiró, se le secó con una toalla para que se recupere durante 5 min. Se repitió nuevamente el ensayo, (solamente 2 ensayos, cada uno de 120 seg) hasta que encontró la plataforma, si en una de las pruebas la rata, lo hizo antes de ese tiempo, o si no encontró la plataforma en las dos oportunidades; se culminó el ensayo del día.

c) En cada uno de los tres ensayos se registró el tiempo que el animal encontró la plataforma sumergida (tiempo de latencia de escape), si en alguno de los ensayos, logro alcanzar la plataforma antes de 120 seg., el tiempo considerado es como cero segundos en los ensayos restantes.

**Fase de retención de memoria:** En esta prueba la piscina tuvo las claves visuales (cruz y aspa) y no se encontró presente la plataforma.

a) Se dejó nadar a los especímenes durante 60 seg., siendo este el único ensayo, se registró el tiempo que el espécimen permaneció en el cuadrante noreste donde estuvo la plataforma (tiempo de permanencia) y el número de veces que cruzó por el lugar donde estuvo la plataforma (número de cruzamientos).

**d. Irradiación de los especímenes:**

Se elaboró un porta celular apropiado al tamaño de los animales de experimentación, que permitiera el contacto corporal, simulando similares condiciones en personas que portan un celular.

Se irradió por 30 minutos diarios por 7 días, con equipos móviles de telefonía de segunda generación, con potencia para una tasa de absorción específica (SAR) mayor a 4W/ kg en los 30 minutos (Cruz, V; 2009).

#### **e. Aislamiento de cerebros de *Rattus rattus* variedad albinus (Mathis, 2011)**

##### **Recolección de la muestra biológica:**

Los animales de experimentación fueron decapitados, todo este proceso de manipulación del material biológico se realizó a temperaturas bajas para lo cual se usó hielo, el proceso fue realizado en los siguientes pasos:

- Se colocó la cabeza en papel toalla doblada y utilizando el bisturí # 11, se realizó una incisión en el medio, cerca del hueso nasal y corriendo en dirección caudal hasta el hueso occipital, se cortó por completo a través del músculo cutáneo, y se expuso los puntos de sutura en la superficie dorsal del cráneo.
- Se cortó a través de las placas de cráneo con tijeras de estuche de disección y sosteniendo firmemente la cabeza con las manos sobre la mesa se ingresó la parte baja de la tijera en el agujero occipital y se cortó a través de la placa occipital, siguiendo el corte a lo largo de la línea media de la sutura de las placas parietales hasta la parte frontal.
- Se retiró 1 g del cerebro con la ayuda una espátula y de una cuchara de plástico.
- Se homogenizaron en 5 ml de solución de Krebs, se extrajo 0.1 ml de la muestra y se procedió a realizar la marcha explicada en el anexo N°1. (Dilek, 2010).

- Se utilizó el método del TBARS (Especies Reactivas para el Ácido Tiobarbitúrico) para determinar los niveles de malondialdehído, formado luego de la lipoperoxidación inducida por la irradiación como por la ovariectomía en membranas neuronales cerebrales de *Rattus rattus* variedad albinus (Weiss 2011).

### **2.3 Variables y operativización de variables**

#### **Distribución de los Grupos de trabajo:**

Todos los grupos de trabajo fueron alojados en jaulas individualizadas y alimentados con NUTRIMAX y agua a libre albedrío.

GRUPO I: Blanco, Conformado por 6 *Rattus rattus* variedad albinus, sin ovariectomía.

GRUPO II: Conformado por 6 *Rattus rattus* variedad albinus, ovariectomizadas.

GRUPO III: Conformado por 6 *Rattus rattus* variedad albinus, ovariectomizadas, quienes después de 80 días recibieron tratamiento con estrógenos 200 µg/Kg vía oral por dos meses.

GRUPO IV: Conformado por 6 *Rattus rattus* variedad albinus, ovariectomizadas y después de 80 días recibieron tratamiento con estrógenos 200 ug/Kg vía oral por dos meses, y que fueron irradiados por teléfonos móviles por 30 minutos durante 7 días.

GRUPO V: Conformado por 6 *Rattus rattus* var albinus ovariectomizadas que recibieron tratamiento con extracto acuoso de *Lepidium meyenii* walp (maca) ecotipo roja, vía oral por dos meses en dosis 2 g/Kg que no fueron irradiados.

GRUPO VI: Conformado por 6 especímenes ovariectomizados que recibieron tratamiento con extracto acuoso de *Lepidium meyenii* walp (maca) ecotipo roja, vía oral por dos meses en dosis 2 g/Kg que fueron irradiados por 30 minutos diarios durante 7 días.

#### **2.4. Instrumentos de recolección de datos.-**

Se elaboró un formato en Excel para registrar la información obtenida (Anexo N° 2, anexo N° 6).

#### **2.5. Procedimiento y análisis estadístico de datos**

Se usó el paquete estadístico SSPS versión 20 para procesar los datos. Se realizaron análisis estadísticos para determinar si se encuentran diferencias significativas entre los parámetros de memoria espacial y los niveles de concentración de MDA, los análisis de varianza (ANOVA) y para comparar los diferentes grupos de estudio se empleó las pruebas de comparaciones múltiples, utilizando la diferencia mínima significativa de la prueba de Tukey y Duncan con un valor de significancia del 95% ( $p < 0.05$ )

### III. RESULTADOS

Los resultados fueron obtenidos luego de utilizar el paquete estadístico SSPS Versión 20, con la finalidad de determinar si hay diferencia significativa entre los parámetros de memoria espacial y niveles de concentración de Malondialdehído de los grupos de *Rattus rattus* var. albinus evaluados.

Con respecto a la memoria espacial, se ha considerado presentar los cuadros N° 1 y 2 con los datos de tiempo de latencia y tiempo de permanencia. En ambos, se trabajó con la prueba de ANOVA para identificar en qué grupos se produce las diferencias de las variables estudiadas.

En relación a la concentración de malondialdehído, que se determinó en el espectrofotómetro con una absorbancia a 532 nm, se presenta en el cuadro N° 3 los resultados como promedio de cada grupo, en umol de malondialdehído por cada gramo de tejido cerebral de las 36 ratas estudiadas.

Finalmente, el cuadro N° 4, muestra la comparación de las concentraciones de malondialdehído encontradas para evaluar la significancia entre los 6 grupos estudiados, para lo cual se utilizó el test de comparaciones múltiples utilizando las pruebas de Duncan y Tukey ( $p \leq 0.05$ )

El primer cuadro registra el tiempo de latencia, que es el tiempo que los animales necesitan para encontrar la plataforma. Es conocida también como fase de adquisición o aprendizaje.

**CUADRO N° 1. COMPARACIÓN DE TIEMPO DE LATENCIA DE LOS GRUPOS DE *Rattus rattus* var. albinus PARA EVALUAR MEMORIA ESPACIAL EN EL LAM**

**TOTAL TEST- TIEMPO DE LATENCIA  
(Resumen de Anexo N° 3)**

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO I No ovariect.	5	.056000	.0750333	.0335559	-.037166	.149166	0.0000	0.1800
GRUPO II Ov	6	.045000	.0308221	.0125831	.012654	.077346	0.0000	0.0800
GRUPO III Ov + Est	6	.035000	.0207364	.0084656	.013238	.056762	0.0000	0.0500
GRUPO IV Ov. + Est + Irrad. Teléf.	6	.055000	.0356371	.0145488	.017601	.092399	0.0200	0.1000
GRUPO V Ov + Maca	6	.028333	.0204124	.0083333	.006912	.049755	0.0000	0.0600
GRUPO VI Ov + Maca + Irrad. Teléf.	6	.061667	.0444597	.0181506	.015009	.108324	0.0100	0.1300
Pret	6	.396800	.0000000	.0000000	.396800	.396800	0.3968	0.3968
Total	35	.097824	.1304844	.0203782	.056638	.139010	0.0000	0.3968

**ANOVA de un factor**

Total test - Permanencia

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	.633	6	0.106	75.178	0.000
Intra-grupos	.048	34	0.001		
Total	.681	40			

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

**Fuente:** Base de datos SPSS V.20. Efecto de *Lepidium meyenii* (maca) en la memoria espacial y en el nivel de malondialdehído neuronal en *Rattus rattus* var. albinus ovariectomizadas sometidas a radiaciones de teléfonos móviles.

El siguiente cuadro, permite apreciar el tiempo empleado en cada cuadrante, así como el tiempo en que el animal encuentra la plataforma.

**CUADRO N° 2. COMPARACIÓN DEL TIEMPO DE PERMANENCIA DE RATTUS RATTUS VAR. ALBINUS EN EL LAM.**

**TOTAL TEST- TIEMPO DE PERMANENCIA O RETENCIÓN DE MEMORIA  
(Resumen de Anexo N° 3)**

Grupos	N	Media	Desv. típica	Error típico	Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
<b>GRUPO I No ovariect.</b>	5	5.0000	1.00000	.44721	3.7583	6.2417	4.00	6.00
<b>GRUPO II Ov</b>	6	5.5000	1.04881	.42817	4.3993	6.6007	4.00	7.00
<b>GRUPO III Ov + Est</b>	6	5.0000	.63246	.25820	4.3363	5.6637	4.00	6.00
<b>GRUPO IV Ov. + Est + Irrad. Teléf.</b>	6	5.0000	.63246	.25820	4.3363	5.6637	4.00	6.00
<b>GRUPO V Ov + Maca</b>	6	5.8333	.98319	.40139	4.8015	6.8651	5.00	7.00
<b>GRUPO VI Ov + Maca + Irrad. Teléf.</b>	6	5.3333	.51640	.21082	4.7914	5.8753	5.00	6.00
<b>Pret</b>	6	2.1190	.70438	.28756	1.3799	2.8582	1.00	2.83
<b>Total</b>	35	4.8223	1.38731	.21666	4.3844	5.2602	1.00	7.00

Total test - Cruces

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	54.838	6	9.140	14.031	.000
Intra-grupos	22.147	34	.651		
Total	76.985	40			

**Fuente:** Base de datos SPSS V.20. Efecto de *Lepidium meyenii* (maca) en la memoria espacial y en el nivel de malondialdehído neuronal en *Rattus rattus* var. albinus ovariectomizadas sometidas a radiaciones de teléfonos móviles.

A continuación se muestran los resultados de las concentraciones de Malondialdehído detectados en los tubos conteniendo tejidos cerebrales de los animales estudiados, luego del procedimiento descrito en el anexo N° 1. Se dio lectura de las absorbancias a 532 nm.

**CUADRO N° 3. CONCENTRACIONES DE MALONDIALDEHIDO EN TUBOS CONTENIENDO TEJIDO CEREBRAL DE *Rattus rattus* VAR. ALBINUS.**

<b>GRUPOS</b>	<b>DOSIS</b>	<b>N</b>	<b>MDA (umolMDA/g tej. cerebral)</b>
<b>I No ovariectomizados</b>	-	5	0.023313
<b>II Blanco ovariectom. No irradiado, no maca, no estrógenos</b>	-	6	0.185833
<b>III Ov. + Estrógenos no irradiados</b>	-	6	0.243085
<b>IV Ov. + Estrógenos + irradiados</b>	-	6	0.348056
<b>V Ov. + Maca no irradiados</b>	2 g/Kg	6	0.145722
<b>VI Ov. + Maca + irradiados</b>	2 g/Kg	6	0.228722

**Fuente:** Base de datos SPSS V.20. Efecto de *Lepidium meyenii* (maca) en la memoria espacial y en el nivel de malondialdehído neuronal en *Rattus rattus* var. albinus ovariectomizadas sometidas a radiaciones de teléfonos móviles.

El siguiente cuadro, muestra las medias, desviación y error típico respecto a las concentraciones de malondialdehído reportados en las lecturas del cuadro N° 3, permite conocer si los valores son significativamente diferentes y si se atribuye a la dosis de maca utilizada.

**CUADRO N° 4. COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE MALONDIALDEHÍDO DE LOS GRUPOS DE *Rattus rattus* VAR. ALBINUS.**

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO I No ovariect.	5	.243085	.1167984	.0522338	.098061	.388110	.1263	.4329
GRUPO II Ov	6	.023313	.0277933	.0113466	-.005854	.052480	.0042	.0656
GRUPO III Ov + Est	6	.185833	.1014190	.0414041	.079401	.292266	.0980	.3643
GRUPO IV Ov. + Est + Irrad. Teléf.	6	.228722	.1176950	.0480488	.105209	.352236	.0813	.3657
GRUPO V Ov + Maca	6	.348056	.1251995	.0511125	.216667	.479444	.1607	.5213
GRUPO VI Ov + Maca + Irrad. Teléf.	6	.145722	.0661091	.0269889	.076345	.215100	.0633	.2337
Total	35	.194437	.1361453	.0230127	.147670	.241205	.0042	.5213

**ANOVA de un factor**

Total test - Permanencia

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	.351	5	.070	7.285	.000
Intra-grupos	.279	29	.010		
Total	.630	34			

**Fuente:** Base de datos SPSS V.20. Efecto de *Lepidium meyenii* (maca) en la memoria espacial y en el nivel de malondialdehído neuronal en *Rattus rattus* var. albinus ovariectomizadas sometidas a radiaciones de teléfonos móviles.

#### IV. DISCUSIÓN

La prueba realizada para demostrar que *Lepidium meyenii* (maca) ecotipo roja a dosis de 2 g/Kg mejora los parámetros de la memoria espacial en *Rattus rattus* var. albinus, ovariectomizadas sometidas a radiaciones de teléfonos móviles, evaluados con el método del Laberinto Acuático de Morris (LAM), se pueden observar en el **cuadro N° 1** donde se observan los tiempos de latencia o aprendizaje adquirido en los primeros 4 días. Según el método estadístico de análisis de la varianza con un nivel de significancia de  $p < 0.05$  para los grupos estudiados, se evidencia que los tiempos de llegada a la plataforma son diferentes.

Al analizar los animales no irradiados por los teléfonos móviles, se encontró que el grupo al que se le administró *Lepidium meyenii* (maca) en dosis de 2g/Kg de peso corporal sin irradiar, responde mejor a las pruebas de memoria que el grupo tratado con estrógenos sin irradiar.

Con respecto a los grupos irradiados, los que fueron tratados con estrógenos responden más favorablemente que el tratado con maca, sin embargo ante la prueba de comparación de grupos, esto no es atribuido a la variable, sino al azar, con una significancia del 95%.

Se demostraría en este parámetro, el efecto de protección de la maca, ante el estrés oxidativo generado en las condiciones del estudio (Vicens, 2003). Esta propiedad fué estudiada con el mismo método en otras plantas, dentro de ellas en *Physalis peruviana* (aguaymanto) donde la capacidad de captación de los radicales ejercido por el extracto crudo en dosis de 3 y 4.5 g ES/Kg , no mejoró el tiempo de latencia (Enríquez, 2014), como el que si se encuentra, en la presente investigación.

La maca provee efectos beneficiosos también en otros sistemas, como el encontrado en un estudio con los extractos hidroalcohólicos de dos

ecotipos (rojo y negro) de *Lepidium meyenii* (maca), al aumentar significativamente las células acidófilas cornificadas en el epitelio vaginal en *Rattus norvegicus* var. *albinus* ooforectomizadas expuestas a gran altura, evidenciándose un mayor efecto estrogénico con el ecotipo rojo. El ecotipo negro, en este mismo estudio, aumentó significativamente el peso uterino en los animales estudiados (Burgos, 2012).

La tarea de aprender a encontrar la plataforma sumergida debajo del agua, tiene como objetivo medir la alteración de la función del lóbulo temporal medial, típica en la ancianidad. Los resultados evidencian diferencias significativas entre ratas ancianas y jóvenes en el aprendizaje espacial de la plataforma oculta para escapar del agua, mientras que no las hay cuando la misma está visible (Gallagher & Colombo, 1995; Gill & Gallagher, 1998; Markowska & Savonenko, 2002). Esto demostraría que los sujetos no presentan alteraciones motoras o perceptuales para encontrar la plataforma, sino un deterioro en el aprendizaje espacial per-se. Esta alteración en las ratas muy adultas (Markowska, 1999), se produce en la memoria referencial (o de largo término), evaluada por la dificultad para evocar la posición de la plataforma, que es constante a lo largo de todas las sesiones y en la memoria de trabajo, cuando se requiere que el animal aprenda una nueva ubicación de la plataforma cada día (Bentosela, 2005).

Estudios sugieren que el hipocampo participaría en la consolidación de la información contextual. Se observa que sólo en las ratas muy adultas este deterioro se produce, también con intervalos mayores de tiempo entre el aprendizaje y la lesión, sugiriendo la existencia de un efecto aditivo del envejecimiento y la lesión sobre el hipocampo (Bentosela, 2005).

En 1978, O'Keefe y Nadel propusieron que el hipocampo podría ser la estructura cerebral a través de la cual se forma el mapa cognitivo que permite al animal navegar en el espacio. Los animales realizarían una representación de las relaciones espaciales mediante las estimaciones de

la distancia y las relaciones entre estímulos. Investigaciones posteriores indicaron que esta estructura podría ser importante en la formación del «engrama» o estructura de interconexión neuronal estable, observando que la potenciación a largo plazo (PLP) ocurre más rápidamente en el hipocampo. Aunque la PLP del hipocampo se ha asociado a diversos tipos de aprendizaje, se ha relacionado más claramente con el aprendizaje espacial (D'Hooge y De Dyen, 2001). Los circuitos del hipocampo son marcadamente plásticos, y esta capacidad está mediada en gran parte por procesos de potenciación y depresión a largo plazo. Los mecanismos de plasticidad sináptica en el hipocampo son un paso hacia la formación de la memoria a largo plazo y su alteración podría subyacer a los déficits de memoria observados en sujetos de edad avanzada (Shapiro, 2001). El descubrimiento de O'Keefe y Dostrovsky (1971) sobre la existencia de las células de lugar o espacio en el hipocampo, las cuales se activan cuando el animal se encuentra en una localización concreta dentro de un ambiente, evidencia la importancia de esta estructura en el aprendizaje espacial. El hipocampo contendría un mapa cognitivo formado por células de lugar o espaciales con el que el animal podría moverse en su entorno. Estas células han sido descritas en ratas y ratones y parecen codificar una representación polimodal del lugar (Cho, Giese, Tanila, Silva y Eichenbaum, 1998), lo que apoyaría la hipótesis de que el hipocampo está implicado en la formación del mapa cognitivo (Cain, 1998). El envejecimiento podría modificar el patrón de activación de las células de lugar, aunque los datos no son totalmente concluyentes (Tanila, Shapiro, Gallagher y Eichenbaum, 1997).(Vicens, 2003)

Dentro de las sustancias que participan en la regulación de la función neuronal, que disminuye con el envejecimiento, se encuentran los estrógenos, quienes participan en la generación de nuevas neuronas en el hipocampo del cerebro adulto. En la menopausia, estudios refieren que la TRH, disminuye los efectos depresivos sugiriendo la existencia de mecanismos complejos en el que posiblemente participan tres

componentes: los receptores a estrógenos, las monoaminas y la neurogénesis (Vega-Rivera, 2012).

Estos conceptos se corroboran con los resultados del estudio en la fase de latencia donde se observó que las ratas con tratamiento estrogénico, alcanzan en un menor tiempo la plataforma en la fase de latencia que aquellas ovariectomizadas irradiadas e inclusive con las no ovariectomizadas.

Asímismo, para determinar si *Lepidium meyenii* (maca) ecotipo roja administradas en *Rattus rattus* var. albinus ovariectomizadas ejerce un efecto de mejora de los parámetros de la memoria espacial, en el **cuadro N° 2** se muestra los resultados de la fase de permanencia o retención de memoria, que es la prueba posterior a la fase de adquisición o de latencia, es considerada como un «ensayo de prueba» sin plataforma durante 60 o 100 seg. Ésta es una prueba de preferencia espacial en la que si el animal ha aprendido nadará más tiempo en el cuadrante meta, es decir, donde previamente estaba situada la plataforma. Durante la prueba final se pueden valorar distintos parámetros: exactitud del ángulo de la cabeza, porcentaje del camino recorrido en el cuadrante de entrenamiento o número de cruces sobre el lugar donde se localizaba anteriormente la plataforma (Vicens, 2003), esto último se evaluó en el presente estudio.

Se encontró que el promedio de tiempo medido en segundos, del grupo conformado por los animales de experimentación tratados con maca tanto irradiados como no irradiados, fue mayor en el cuadrante meta y presentaron el mayor número de cruces por esta zona, con un nivel de significancia de  $p < 0.05$  con respecto a los especímenes que fueron tratados con estrógenos tanto irradiados como no irradiados.

Las pruebas de comparación de grupos demuestran que estos resultados son altamente significativos. Resultados que son atribuidos a la utilización de *Lepidium meyenii* (maca) a la dosis de 2g/Kg p.c. la que estaría

ejerciendo un efecto protector en estos animales que fueron ovariectomizados para la simulación de la menopausia o envejecimiento.

Recientemente, se ha mostrado que los estrógenos modulan los procesos oxidativos y antioxidativos, logrando una disminución en la producción de radicales libres, un aumento en la expresión de enzimas antioxidativas y, a la vez, participando como una molécula antioxidante en sí. Es muy llamativo que luego de la menopausia, cuando bajan los niveles de estrógenos en la mujer, la incidencia de muchas enfermedades asociadas a posibles causas oxidativas, aumenta notablemente. Es de suponer que al disminuir los niveles estrogénicos en la mujer, el equilibrio oxidativo se inclinaría hacia el estrés oxidativo, exponiendo a la mujer a una mayor cantidad de noxas propiciadoras de enfermedades (Escalante-Gómez, 2009).

Una de las enfermedades que afecta la memoria, es el Alzheimer (EA), la incidencia y la prevalencia de ésta, aumentarán sustancialmente en el futuro. Los efectos de un tratamiento, aunque sean modestos, pueden tener un impacto significativo sobre la calidad de vida de estos pacientes, sus cuidadores, sus familias y la sociedad en general (Casanova, 2004).

Por otro lado el Deterioro de la Memoria Asociado con la Edad (DEMAE) es un trastorno relativamente benigno que puede ser bastante común por el hecho de estar vinculado con el envejecimiento normal y el evidente incremento de la expectativa de vida en el ámbito mundial y nacional, con una mayor población de personas de la tercera edad y el consecuente aumento de enfermedades crónicas, propias de este segmento poblacional. En particular, las demencias y los trastornos cognitivos se han convertido en un problema importante de salud (Casanova, 2004).

Se destaca la mayor frecuencia del DEMAE en el sexo femenino, si se relaciona con el déficit de estrógenos según los mecanismos antioxidantes de éstos, una de las formas de contención sería el tratamiento con la TRH, sin embargo cuando está contraindicada, son recomendados los fitoestrógenos, compuestos químicos naturales

derivados de ciertas plantas. Tienen actividad estrogénica y en algunos casos, actividad antiestrogénica o antiandrogénica en animales y humanos. Los dos grupos más importantes encontrados en la alimentación humana son las isoflavonas y las lignonas. Las primeras se encuentran en la soja, frutas cítricas, piel de la uva y el vino; las segundas en los granos enteros, linazas y ciertos frutos y verduras. Las isoflavonas también tienen propiedades antioxidantes y se han estudiado por su efecto aterogénico en los lípidos de la sangre, es conocida la maca por contar con estas características, en el estudio se comprueba el efecto benéfico en la fase de retención de memoria con la prueba del Laberinto de Morris (Capote, 2011).

Los datos encontrados en el presente trabajo, se corroboran con una investigación realizada con el extracto acuoso de *Lepidium meyenii* walp “maca”, ecotipo amarilla en dosis de 0.25, 0.5, 0.75 g/Kg , donde se encontró que mejoró la memoria de trabajo en *Rattus rattus* var. albinus ovariectomizadas luego de evaluar los diferentes parámetros establecidos en el Test de Olton (Cieza, 2012).

La prueba realizada para demostrar el efecto antioxidante de *Lepidium meyenii* (maca) ecotipo roja, a dosis de 2 g/Kg, expresado en la disminución de los niveles de malondialdehído en tejido cerebral de *Rattus rattus* var albinus ovariectomizadas sometidas a radiaciones de teléfonos móviles, cuyos resultados se puede observar en **cuadro N° 3**, muestra que los especímenes ovariectomizados demostraron tener los más altos niveles de malondialdehído, que el grupo no ovariectomizado, datos que concuerdan con estudios similares realizados por Morote en el año 2012.

En el modelo in vivo simulando menopausia, se encuentra que el grupo al que se le administró estrógenos y fueron sometidos a las irradiaciones por teléfonos móviles por 30 minutos durante 7 días, tienen los más altos niveles de malondialdehído (MDA) con respecto a los que fueron irradiados pero tratados con maca. Estos resultados son mayores que los

encontrados en un estudio previo con la misma planta, donde se determinó concentraciones de MDA pero en ratas no sometidas a radiaciones por teléfonos móviles (Morote,2012).

Con respecto a los grupos estrogenizados irradiados, se encontró que presentan mayores niveles de malondialdehído que los estrogenizados no irradiados.

Similar situación ocurre entre los grupos irradiados tratados con maca que tienen mayores niveles con respecto a los tratados con maca pero no irradiados.

Ante la prueba de comparaciones múltiples, como se muestra en el **Cuadro N° 4**; se encuentra que los resultados son altamente significativos. Por lo que se relacionaría la irradiación por teléfonos móviles con la producción de más radicales libres. Existen estudios realizados en animales (cobayos) que recibieron la irradiación también proveniente de teléfonos móviles, como en el presente estudio, donde se observó cambios fisiológicos tales como la desmielinización neuronal, esto debido a que las ondas de teléfonos celulares de segunda generación pueden llegar hasta un valor de 900 MHz, que es el rango de radiaciones microondas, el cuál provoca un stress y formación de especies reactivas de oxígeno sobre el galactocerebrósido que es el lípido principal de la vaina de mielina del conejillo de indias, ocasionando así un daño por parte de los radicales libres, ya que afectan a los ácidos grasos insaturados provocando la peroxidación lipídica la cual representa una forma de daño hístico (Meral et al. 2007).

En el presente estudio, se evaluó las concentraciones de malondialdehído (MDA) en neuronas cerebrales, como metabolito secundario en el estrés oxidativo, debido a que estudios refieren que los radicales libres son responsables de los efectos citotóxicos y de muerte neuronal. En esta investigación se han generado estos niveles por la ovariectomía y por la radiación de teléfonos móviles, demostrando que *Lepidium meyenii*

disminuye los niveles de malondialdehído de manera significativa ( $p < 0.005$ ).

Este metabolito también se encontró disminuido al administrar extracto acuoso de *Physallys peruviana* en dosis de 1.5 y 3.0 g/Kg en la lipoperoxidación en mucosa gástrica de *Rattus rattus* var. albinus , atribuyéndose este efecto positivo, a algunos de sus componentes comunes con la maca; las ubiquinonas (Cueva, 2014).

Los componentes fitoquímicos de *Lepidium meyenii* a los que se les atribuiría el efecto protector de formación de radicales libres, tal como se observó en los dos grupos tratados con maca, se deberían a la presencia de flavonoides, fenoles, esteroides, antraquinonas, saponinas, taninos y especialmente alcaloides tales como el (1R,3S)-1-metiltetrahydro-B-carbolino-3-acido carboxílico el mismo, que actuaría como antioxidante (Piacente S et al. 2002).

Estas propiedades favorables, estarían incrementadas en la variedad ecotipo roja, que presenta más contenido de glucosilatos que otros ecotipos (negra y amarilla), especialmente los bencilglucosinolatos, este metabolito secundario es el más importante contenido en la maca, y se ha encontrado tanto en los hipocotilos, semillas y hojas de la maca; sin embargo es difícil determinar que metabolito secundario de la maca actuaría específicamente a nivel neuronal, debido a que se han descubierto además alcaloides imidazólicos como lepidina A y B, bencilamidas (macamidas) por lo que podría actuar por otros mecanismos independientes al estrógeno. (González y col.2005; Ruíz-Luna AC y col 2005).

## V. PROPUESTA

Considerando la esperanza de vida de la mujer que le permitirá vivir casi la mitad de su vida en la etapa menopáusica constantemente sometida al estrés oxidativo generado por factores tales como las radiaciones emitidas por teléfonos móviles, *Lepidium meyenii* ecotipo roja, se constituye en una alternativa fitoterapéutica para disminuir los síntomas propios de esta condición.

## VI. CONCLUSIONES

Se determinó que *Lepidium meyenii* (maca) ecotipo roja, a dosis de 2 g/Kg p.c. presenta mejor respuesta en las pruebas de memoria espacial evaluadas por el Método del Laberinto Acuático de Morris (LAM) en *Rattus rattus* var. albinus ovariectomizadas sometidas a radiaciones por teléfonos móviles ( $p \leq 0.05$ ).

Se comprobó que *Lepidium meyenii* (maca) ecotipo roja a dosis de 2 g/Kg p.c. tiene un efecto antioxidante expresado en la disminución de los

niveles de malondialdehído en tejido cerebral de *Rattus rattus* var. *albinus* ovariectomizadas sometidas a radiaciones de teléfonos móviles ( $p \leq 0.05$ ).

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Agilent technologies **Familiarización con ChemStation**. Agilent Technologies©, Inc. Alemania 2005-2009:128.
2. Alzamora L y col. **Efecto de cuatro ecotipos de *Lepidium peruvianum* Chacón sobre la producción de óxido nítrico in vitro**. Rev. peru. biol. número especial 13(3): 215 - 217 (Julio 2007)
3. Avila M y col. **Memory deterioration in an oxidative stress model and its correlation with cytological changes on rat hippocampus CA1**. Neuroscience Letters. 1999; 270 (2):107-109.
4. Bentosela, Mariana y MUSTACA, Alba E. **Efectos cognitivos y emocionales del envejecimiento: aportes de investigaciones basicas para las estrategias de rehabilitación. Interdisciplinaria** [online]. 2005, vol.22, n.2 [citado 2014-10-04], pp. 211-235 . Disponible en:

<[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1668-70272005000200005&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1668-70272005000200005&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 1668-7027.

5. Bocchino E. **Aspectos psiconeuroendócrinos de la perimenopausia, menopausia y climaterio**. Rev Psiquiatr Urug 2005;70(1):66-79
6. Bolaños R, Sanabria C, Francia J, De La Puente C. **Análisis costo-efectividad de la terapia de reemplazo hormonal (TRH) frente a isoflavonas en osteoporosis posmenopáusica**. Acta méd. peruana, ene./mar. 2009, vol.26, no.1, p.27-34. ISSN 1728-5917.
7. Bruton L, Lazo J y Parker K. Goodman E. Gilman: **Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica**. 11<sup>o</sup>ed. Colombia: Mc.Graw Hill; 2006. p. 1541-1543.
8. Burgos J. y Murga D. **Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Lepidium meyenii* (ecotipo rojo y negro), sobre citología vaginal y peso uterino en *Rattus norvegicus* variedad *albinus* ooforectomizadas expuestas a gran altura**. [Trabajo de investigación tesis I].Trujillo: Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. 2012; p.41
9. Capote Bueno María Isabel, Segredo Pérez Alina María, Gómez Zayas Omar. **Climaterio y menopausia**. Rev Cubana Med Gen Integr [revista en la Internet]. 2011 Dic [citado 2014 Oct 05] ; 27(4): 543-557. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21252011000400013&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252011000400013&lng=es).
10. Casanova Sotolongo Pedro, Casanova Carrillo Pedro, Casanova Carrillo Carlos. **Deterioro cognitivo en la tercera edad**. Rev Cubana Med Gen Integr [revista en la Internet]. 2004 Dic [citado 2014 Oct 05] ; 20(5-6): . Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21252004000500012&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252004000500012&lng=es).

11. Castañeda B, Castro de la Mata R, Manrique R y Ibañez L. **Efectos Metabólicos de *Lepidium meyenii* Walpers, “MACA” y *Lupinus mutabilis* Sweet, “CHOCHO” en Ratas.** Revista Horizonte Médico. 2007; 7 (1):32-38.
12. Cieza M. y Muñoz L. **Efecto del extracto acuoso de *Lepidium meyenii* walp “maca”, ecotipo amarilla en la lipoperoxidación de membranas neuronales en cerebro de *Rattus rattus* variedad *albinus* ovariectomizadas** [Trabajo de investigación tesis II]. Trujillo: Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. 2012; p.43.
13. Coker L y col. **Postmenopausal hormone therapy and cognitive outcomes: The Women's Health Initiative Memory Study (WHIMS).** The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. 2010; 118 (4-5): 304–310.
14. Cruz, V; (2009). **Riesgo para la salud por radiaciones no ionizantes de las redes de telecomunicaciones en el Perú.** Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2009; 26(1): 94-103.
15. Cueva V. y Esquén K. **Efecto del extracto crudo de *Physalis peruviana* sobre los niveles de malondialdehído en mucosa gástrica de *Rattus norvegicus* variedad *albinus*.** [Trabajo de investigación tesis I]. Trujillo: Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. 2012; p.41.
16. Dilek M y col. **Melatonin Modulates Hippocampus NMDA Receptors, Blood and Brain Oxidative Stress Levels in Ovariectomized Rats** *J Membrane Biol.* 2010; 233:135–142.
17. Enríquez V. y Gerónimo D. **Efecto del extracto crudo de *Physalis peruviana*, sobre memoria espacial y niveles de malondialdehído en membranas neuronales de *Rattus rattus* variedad *albinus* ooforectomizadas.** [Trabajo de investigación tesis I]. Trujillo: Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. 2012; p.44.

18. Escalante-Gómez C, Quesada-Mora S, Zeledón-Sánchez F. **Perfil oxidativo de la mujer menopáusica: Papel de los estrógenos en la prevención y tratamiento de las enfermedades.** ISSN 0001-6002/2009/51/4/206-212 Acta Médica Costarricense 2009.
19. Gonzáles y col. **Red maca (*Lepidium meyenii*) reduced prostate size in rats.** Reproductive Biology and Endocrinology. 2005,3:5.
20. Henderson VW. **Neurología de la menopausia.** Revista del climaterio 2007;11(61):16-31.
21. Hunter M. **Bio-psycho-socio-cultural perspectives on menopause.** *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology.* 2007; 21 (2): 261-274
22. **INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA (INEI)** (2012). Nota de prensa N° 152-2012. Recuperado 14 Noviembre 2012 de: <http://www.inei.gob.pe/web/NotaPrensa/Attach/14889.pdf>
23. López N, Errasti T y Santiago E. **Estrógenos y desarrollo del cerebro femenino en la adolescencia: anticoncepción de emergencia.** Cuad. Bioét. XXII, 2011/2ª. Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Navarra. Recuperado Noviembre 15 2012 de: <http://aebioetica.org/archivos/04-BIOETICA-75.pdf>
24. Maki PM, Henderson VW. **Terapia hormonal, demencia y cognición: la Iniciativa para la Salud de las Mujeres a 10 años.** Revista del Climaterio 2012;15(90):254-262
25. Marín M, Arroyo J, Bonilla P. **Efecto de fracciones lipícas de *Lepidium meyenii* walpers “maca”, en el aparato reproductor de ratones.** Ciencia e Investigación 6(1),9-18 2003. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
26. Marín C, Guevara A, Mejía B, Guerrero J, Lombardi L. **Respuesta celular esofágica en *Rattus rattus* var. *albinus* irradiados con rayos X a la administración de una dieta reforzada con**

- Triticum aestivum (trigo).** V Jornada de Investigación Farmacéutica. Universidad Nacional de Trujillo. 2011.
27. Mathis D, Furman J, Norris C. **Preparation of Acute Hippocampal Slices from Rats and Transgenic Mice for the Study of Synaptic Alterations during Aging and Amyloid Pathology.** *Journal of Visualized Experiments.* 2011; 49:8.
28. Meral et al. **Effects of 900-MHz electromagnetic field emitted from cellular phone on brain oxidative stress and some vitamin levels of guinea pigs.** *Brain Research.* 169(2007) :120-125
29. Morote J. y Yaro R. **Efecto de *Lepidium meyenii walp* (maca), ecotipo roja en la lipoperoxidación inducida en membranas neuronales de *Rattus rattus* variedad *albinus ooforectomizadas*.** [Trabajo de investigación tesis I]. Trujillo: Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. 2012; p.22-29.
30. Noriega-Reyes M, Langley E. **Correguladores del Receptor de Estrógenos y su Implicación en el Cáncer Mamario.** Noriega y Langley, *Cancerología* 3 (2008): 29-40
31. Pérez A, Piñón A, Morera L, García M, Martín S, Falcón M. **El balance redox en personas expuestas a las radiaciones electromagnéticas (radiaciones no ionizantes).** *Rev Cubana Med Milit* 2006;35(1)
32. Piacente S, Carbone V, Plaza A, Zampelli A, Pizza C. **Investigación of the tuber constituents of maca (*Lepidium meyenii Walp*)** *J Agric Food Chem.* 2002,50:5621-5625.
33. Portugal R. **Determinación del Efecto Antioxidante *in vitro* del *Lepidium peruvianum* chacón (maca).** [Tesis para optar al Título de Químico Farmacéutico]. Arequipa: Universidad Católica Santa María. 2004; p. 46-48, 51-52.
34. Rao A, Dietrich A, Ziegler Y, Nardulli A. **17 $\beta$ -Estradiol-mediated Increase in Cu/Zn Superoxide Dismutase Expression in the**

- Brain: a Mechanism to Protect Neurons From Ischemia.** J Steroid Biochem Mol Biol. 2011; 127(3-5):382-9.
35. Rodrigo M , Valdivieso R, Suárez S, Oriundo R, Oré R. **Disminucion del daño oxidativo y efecto hipoglicemiante de la maca (*Lepidium meyenii* Walp) en ratas con diabetes inducida por streptozotocina.** An. Fac med. 2011;72(1):7-11
36. Rubio J y col. **Effect of Three Different Cultivars of *Lepidium meyenii* (Maca) on Learning and Depression in Ovariectomized Mice.** *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 2006; 6:23.
37. Rubio J, Dang H, Gong M, Liu X, Chen S y Gonzales G. **Aqueous and Hydroalcoholic Extracts of Black Maca (*Lepidium meyenii*) Improve Scopolamine-Induced Memory Impairment in Mice.** *Food Chem Toxicol.* 2007; 45(10):1882-90.
38. Ruiz J. **Facilitación del aprendizaje y la memoria de una tarea de referencia espacial en el Laberinto Acuático de Morris por autoestimulación eléctrica intracraneal en ratas wistar.** [Trabajo de investigación para optar al grado de Doctor]. Barcelona: Departamento de Psicobiología y Metodología de las Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma de Barcelona. 2007; p.23-36.
39. Ruíz-Luna AC, Salazar S, Aspajo NJ, Rubio J, Gasco M, Gonzákes GF. ***Lepidium meyenii* (Maca) increases litter size in normal adult female mice.** *Reprod Biol Endocrinol.* 2005, 3:17.
40. Ruiz S, Villalobos J, Boncún B y Zari G. **Guía de Prácticas del Curso de Farmacognosia II.** Departamento de Farmacotecnia. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú 2010.
41. Sanchez M y col. **Menopause as Risk Factor for Oxidative Stress. Menopause.** 2012; 19(3):361-7.
42. Seshadri L. **Terapia hormonal prolongada en mujeres perimenopáusicas y postmenopáusicas: Comentario de la BSR** (última revisión: 6 de marzo de 2006). La Biblioteca de Salud

Reproductiva de la OMS; Ginebra: Organización Mundial de la Salud.

43. Sharma S, Rakoczy S y Brown-Borg H. **Assessment of spatial memory in mice.** *Life Sciences.* 2010; 87 (17-18): 521–536.
44. Talboom J y col. **Higher levels of estradiol replacement correlate with better spatial memory in surgically menopausal young and middle-aged rats.** *Neurobiology of Learning and Memory.* 2008; 90 (1): 155–163.
45. Téllez A. **La memoria humana: Revisión de los hallazgos recientes y propuesta de un modelo neuropsicológico.** Tesis de Maestría para obtener el grado de Maestría en Metodología de las Ciencias. Universidad Autónoma de Nuevo León. México. Agosto 2003
46. Téllez J. **Hormonas sexuales y cerebro. Climaterio: una visión integradora,** Gaviria S., Luna I., Correa E. (eds.) CES, Editorial Marín Vieco, Medellín, 2003.
47. Vega-Rivera Nelly Maritza, Fernández-Guasti José Alonso, Ramírez-Rodríguez Gerardo Bernabé, Castro-García Mario, Estrada-Camarena Erika. **Regulación de la neurogénesis hipocámpica por los estrógenos: su relación con la depresión.** *Salud Ment [revista en la Internet].* 2012 Dic [citado 2014 Oct 04] ; 35( 6 ): 527-533. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33252012000600011&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33252012000600011&lng=es).
48. Vicens P. **Aprendizaje espacial y laberinto de agua: metodología y aplicaciones.** *Rev. Psicothema* 2003. Vol. 15, nº 4, pp. 539-544
49. Weis S. **Early Biochemical Effects after Unilateral Hypoxia–Ischemia in the Immature Rat Brain.** *International Journal of Developmental Neuroscience.* 2011; 2 (29): 115-120.
50. Zmirou D, Abineau P, Bardou A, Dixsaut G, Goldberg G. M, de Seze, et al. **Les téléphones mobiles, leur stations de base et**

santé. Etat des connaissances et recommandations. Paris:  
Direction Général de la Santé ;2001

**ANEXO N° 1** <sup>\*(Dilek, 2010).</sup> **Marcha para determinación de malondialdehído en membranas neuronales de *Rattus rattus* var. albinus**

<b>MARCHA DETERMINACIÓN MALONDIALDEHÍDO (MDA)</b>				
<b>TUBOS</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>KREBS</b>	<b>1.6</b>	<b>1.9 ml</b>	<b>1.7ml</b>	<b>1.5</b>

	ml			ml
<b>MUESTRA</b>	<b>0.1 ml</b>	<b>0.1 ml</b>	.....	<b>0.1 ml</b>
	ml		....	ml
<b>Fe (0.05mM)</b>	<b>0.1 ml</b>	.....	<b>0.1 ml</b>	<b>0.1 ml</b>
	ml	....		ml
<b>Ascorbato (0.4mM)</b>	<b>0.2 ml</b>	.....	<b>0.2 ml</b>	<b>0.2 ml</b>
	ml	.		ml
<b>INCUBAR A 37 GRADOS CENTÍGRADOS POR 30 MINUTOS</b>				
<b>ACIDO TRICLOROACÉTICO (TCA)</b> <b>20%</b>	<b>1 ml</b>	<b>1 ml</b>	<b>1 ml</b>	<b>1 ml</b>
<b>BAÑO MARÍA 100 GRADOS CENTÍGRADOS POR 30 MINUTOS</b>				
<b>DECANTAR (EXTRAER EL SOBRENADANTE CON GOTERO ESPECIAL Y TRABAJAR CON ÉSTE)</b>				
<b>CENTRIFUGAR A 1,700 GRADOS CENTÍGRADOS POR 20 MINUTOS</b>				
<b>ACIDO TIOBARBITÚRICO (TBA) AL</b> <b>1%</b>	<b>1 ml</b>	<b>1 ml</b>	<b>1 ml</b>	<b>1 ml</b>
<b>BAÑO MARÍA 100 GRADOS CENTÍGRADOS POR 30 MINUTOS</b>				
<b>CENTRIFUGAR A 1,700 GRADOS CENTÍGRADOS POR 20 MINUTOS</b>				
<b>LEER A 532 nm de longitud de onda</b>				

**ANEXO N° 2 : Efecto de *Lepidium meyenii* (maca) en el tiempo de latencia y tiempo de permanencia o número de cruces de *Rattus rattus* var. *Albinus* ovariectomizadas**

**Resultados de memoria espacial en especímenes tratados con estrógenos**

		Test de Morris				
		Tiempo de latencia			N° de Cruces	
		Especimen	Pre test	Post test	Pre test	Post test
<b>GRUPO IV</b>	<b>Ov. + Estrog +Irrd.</b>	1	0.28	0.04	0.00	5.00
		2	0.27	0.10	1.00	7.00
		3	0.47	0.04	3.00	6.00
		4	0.38	0.02	3.00	5.00
		5	0.47	0.10	5.00	7.00
		6	0.35	0.03	3.00	5.00
		Test de Morris				
		Tiempo de latencia			N° de Cruces	
		Especimen	Pre test	Post test	Pre test	Post test
<b>GRUPO III</b>	<b>Ov. + Estrog</b>	1	0.09	0.05	0.00	6.00
		2	0.33	0.02	1.00	5.00
		3	0.44	0.05	2.00	5.00
		4	0.34	0.05	1.00	5.00
		5	0.52	0.00	2.00	4.00
		6	0.53	0.04	0.00	5.00

**Resultados de memoria espacial en especímenes tratados con  
*Lepidium meyenii***

		Test de Morris				
		Tiempo de latencia			N° de Cruces	

		Especimen	Pre test	Post test	Pre test	Post test
<b>GRUPO VI</b>	<b>Ov. + Maca + Irrd.</b>		<b>0.38</b>	<b>0.08</b>	<b>0.00</b>	<b>6.00</b>
			<b>0.43</b>	<b>0.02</b>	<b>2.00</b>	<b>5.00</b>
			<b>0.38</b>	<b>0.01</b>	<b>3.00</b>	<b>5.00</b>
			<b>0.38</b>	<b>0.05</b>	<b>2.00</b>	<b>5.00</b>
			<b>0.26</b>	<b>0.13</b>	<b>1.00</b>	<b>6.00</b>
			<b>0.51</b>	<b>0.08</b>	<b>2.00</b>	<b>5.00</b>
			<b>Test de Morris</b>			
			<b>Tiempo de latencia</b>		<b>N° de Cruces</b>	
		Especimen	Pre test	Post test	Pre test	Post test
<b>GRUPO V</b>	<b>Ov. + Maca</b>		<b>0.32</b>	<b>0.03</b>	<b>1.00</b>	<b>5.00</b>
			<b>0.47</b>	<b>0.06</b>	<b>2.00</b>	<b>6.00</b>
			<b>0.43</b>	<b>0.04</b>	<b>2.00</b>	<b>5.00</b>
			<b>0.46</b>	<b>0.02</b>	<b>2.00</b>	<b>5.00</b>
			<b>0.45</b>	<b>0.00</b>	<b>1.00</b>	<b>4.00</b>
			<b>0.34</b>	<b>0.02</b>	<b>4.00</b>	<b>5.00</b>

**Resultados de memoria espacial en especímenes ovariectomizados y no ovariectomizados**

			<b>Test de Morris</b>			
			<b>Tiempo de latencia</b>		<b>N° de Cruces</b>	
		Especimen	Pre test	Post test	Pre test	Post test
<b>GRUPO</b>	<b>Ov. + Biot.</b>		<b>0.37</b>	<b>0.04</b>	<b>1.00</b>	<b>5.00</b>

<b>III</b>			<b>0.50</b>	<b>0.00</b>	<b>6.00</b>	<b>4.00</b>
			<b>0.29</b>	<b>0.08</b>	<b>1.00</b>	<b>6.00</b>
			<b>0.28</b>	<b>0.08</b>	<b>0.00</b>	<b>7.00</b>
			<b>0.35</b>	<b>0.04</b>	<b>4.00</b>	<b>5.00</b>
			<b>0.37</b>	<b>0.03</b>	<b>5.00</b>	<b>6.00</b>
			<b>Test de Morris</b>			
			<b>Tiempo de latencia</b>		<b>N° de Cruces</b>	
		<b>Especimen</b>	<b>Pre test</b>	<b>Post test</b>	<b>Pre test</b>	<b>Post test</b>
<b>GRUPO I</b>	<b>No Ov. + Biot.</b>		<b>0.49</b>	<b>0.00</b>	<b>3.00</b>	<b>4.00</b>
			<b>0.51</b>	<b>0.00</b>	<b>1.00</b>	<b>4.00</b>
			<b>0.38</b>	<b>0.18</b>	<b>2.00</b>	<b>6.00</b>
			<b>0.48</b>	<b>0.07</b>	<b>5.00</b>	<b>6.00</b>
			<b>0.44</b>	<b>0.03</b>	<b>2.00</b>	<b>5.00</b>
		*	<b>0.47</b>	—	<b>3.00</b>	—
		*	<b>0.47</b>	—	<b>3.00</b>	—

\* Fallecieron

**ANEXO N° 3: Prueba de Tukey del Efecto de *Lepidium meyenii* (maca) en el tiempo de latencia de *Rattus rattus* var. *Albinus* ovariectomizadas.**

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Total test - Permanencia

(I) GRUPOS	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	95%		
				Límite inferior	Límite superior	
HSD de Tukey	E1 E2	.0200000	.0216335	.966	-.047742	.087742
	E1 E3	-.0066667	.0216335	1.000	-.074408	.061075
	E1 E4	.0266667	.0216335	.876	-.041075	.094408
	E1 C	.0100000	.0216335	.999	-.057742	.077742
	E1 B	-.0010000	.0226894	1.000	-.072048	.070048
	E1 Pret	-.3418000*	.0216335	.000	-.409542	-.274058
	E2 E1	-.0200000	.0216335	.966	-.087742	.047742
	E2 E3	-.0266667	.0216335	.876	-.094408	.041075
	E2 E4	.0066667	.0216335	1.000	-.061075	.074408
	E2 C	-.0100000	.0216335	.999	-.077742	.057742
	E2 B	-.0210000	.0226894	.966	-.092048	.050048
	E2 Pret	-.3618000*	.0216335	.000	-.429542	-.294058
	E3 E1	.0066667	.0216335	1.000	-.061075	.074408
	E3 E2	.0266667	.0216335	.876	-.041075	.094408
	E3 E4	.0333333	.0216335	.719	-.034408	.101075
	E3 C	.0166667	.0216335	.986	-.051075	.084408
	E3 B	.0056667	.0226894	1.000	-.065381	.076715
	E3 Pret	-.3351333*	.0216335	.000	-.402875	-.267392
	E4 E1	-.0266667	.0216335	.876	-.094408	.041075
	E4 E2	-.0066667	.0216335	1.000	-.074408	.061075
	E4 E3	-.0333333	.0216335	.719	-.101075	.034408
	E4 C	-.0166667	.0216335	.986	-.084408	.051075
	E4 B	-.0276667	.0226894	.882	-.098715	.043381
	E4 Pret	-.3684667*	.0216335	.000	-.436208	-.300725
C E1	-.0100000	.0216335	.999	-.077742	.057742	
C E2	.0100000	.0216335	.999	-.057742	.077742	
C E3	-.0166667	.0216335	.986	-.084408	.051075	
C E4	.0166667	.0216335	.986	-.051075	.084408	
C B	-.0110000	.0226894	.999	-.082048	.060048	
C Pret	-.3518000*	.0216335	.000	-.419542	-.284058	
B E1	.0010000	.0226894	1.000	-.070048	.072048	
B E2	.0210000	.0226894	.966	-.050048	.092048	
B E3	-.0056667	.0226894	1.000	-.076715	.065381	
B E4	.0276667	.0226894	.882	-.043381	.098715	
B C	.0110000	.0226894	.999	-.060048	.082048	
B Pret	-.3408000*	.0226894	.000	-.411848	-.269752	
Pret E1	.3418000*	.0216335	.000	.274058	.409542	
Pret E2	.3618000*	.0216335	.000	.294058	.429542	
Pret E3	.3351333*	.0216335	.000	.267392	.402875	
Pret E4	.3684667*	.0216335	.000	.300725	.436208	
Pret C	.3518000*	.0216335	.000	.284058	.419542	
Pret B	.3408000*	.0226894	.000	.269752	.411848	

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

**ANEXO N° 4 : Prueba de Tukey del Efecto de *Lepidium meyenii* (maca) en el tiempo de permanencia o de cruz de *Rattus rattus* var. *Albinus* ovariectomizadas.**

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Total test - Cruces

(I) GRUPOS			Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD de Tukey	E1 Grupo V	E2	.83333	.46597	.564	-.6258	2.2925
		E3	.50000	.46597	.932	-.9591	1.9591
		E4	.83333	.46597	.564	-.6258	2.2925
		C	.33333	.46597	.991	-1.1258	1.7925
		B	.83333	.48872	.617	-.6970	2.3637
		Pret	3.71429*	.46597	.000	2.2552	5.1734
	E2 Grupo III	E1	-.83333	.46597	.564	-2.2925	.6258
		E3	-.33333	.46597	.991	-1.7925	1.1258
		E4	0.00000	.46597	1.000	-1.4591	1.4591
		C	-.50000	.46597	.932	-1.9591	.9591
		B	0.00000	.48872	1.000	-1.5303	1.5303
		Pret	2.88095*	.46597	.000	1.4218	4.3401
	E3 Grupo VI	E1	-.50000	.46597	.932	-1.9591	.9591
		E2	.33333	.46597	.991	-1.1258	1.7925
		E4	.33333	.46597	.991	-1.1258	1.7925
		C	-.16667	.46597	1.000	-1.6258	1.2925
		B	.33333	.48872	.993	-1.1970	1.8637
		Pret	3.21429*	.46597	.000	1.7552	4.6734
	E4 Grupo IN	E1	-.83333	.46597	.564	-2.2925	.6258
		E2	0.00000	.46597	1.000	-1.4591	1.4591
		E3	-.33333	.46597	.991	-1.7925	1.1258
		C	-.50000	.46597	.932	-1.9591	.9591
		B	0.00000	.48872	1.000	-1.5303	1.5303
		Pret	2.88095*	.46597	.000	1.4218	4.3401
	C Grupo II	E1	-.33333	.46597	.991	-1.7925	1.1258
		E2	.50000	.46597	.932	-.9591	1.9591
		E3	.16667	.46597	1.000	-1.2925	1.6258
		E4	.50000	.46597	.932	-.9591	1.9591
		B	.50000	.48872	.945	-1.0303	2.0303
		Pret	3.38095*	.46597	.000	1.9218	4.8401
	B	E1	-.83333	.48872	.617	-2.3637	.6970
		E2	0.00000	.48872	1.000	-1.5303	1.5303
		E3	-.33333	.48872	.993	-1.8637	1.1970
		E4	0.00000	.48872	1.000	-1.5303	1.5303
		C	-.50000	.48872	.945	-2.0303	1.0303
		Pret	2.88095*	.48872	.000	1.3506	4.4113
Pret	E1	-3.71429*	.46597	.000	-5.1734	-2.2552	
	E2	-2.88095*	.46597	.000	-4.3401	-1.4218	
	E3	-3.21429*	.46597	.000	-4.6734	-1.7552	
	E4	-2.88095*	.46597	.000	-4.3401	-1.4218	
	C	-3.38095*	.46597	.000	-4.8401	-1.9218	
	B	-2.88095*	.48872	.000	-4.4113	-1.3506	

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

**ANEXO N° 5 : Prueba de Tukey del Efecto de *Lepidium meyenii* (maca) en la producción de malondialdehído en membranas neuronales de *Rattus rattus* var. *Albinus* ovariectomizadas.**

Comparaciones múltiples							
Variable depe		Malondialdehido					
(I) GRUPOS		Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	95%		
					Límite inferior	Límite superior	
HSD de Tukey	E1 Grupo V	E2	.1622222	.0566646	.075	-.010519	.334963
		E3	.2023333*	.0566646	.014	.029593	.375074
		E4	.1193333	.0566646	.312	-.053407	.292074
		C	.3247427*	.0566646	.000	.152002	.497483
		B	.1049701	.0594303	.502	-.076202	.286142
	E2 Grupo III	E1	-.1622222	.0566646	.075	-.334963	.010519
		E3	.0401111	.0566646	.979	-.132630	.212852
		E4	-.0428889	.0566646	.973	-.215630	.129852
		C	.1625205	.0566646	.074	-.010220	.335261
		B	-.0572521	.0594303	.926	-.238424	.123920
	E3 Grupo VI	E1	-.2023333*	.0566646	.014	-.375074	-.029593
		E2	-.0401111	.0566646	.979	-.212852	.132630
		E4	-.0830000	.0566646	.688	-.255741	.089741
		C	.1224094	.0566646	.286	-.050331	.295150
		B	-.0973632	.0594303	.581	-.278535	.083809
	E4 Grupo IV	E1	-.1193333	.0566646	.312	-.292074	.053407
		E2	.0428889	.0566646	.973	-.129852	.215630
		E3	.0830000	.0566646	.688	-.089741	.255741
		C	.2054094*	.0566646	.013	.032669	.378150
		B	-.0143632	.0594303	1.000	-.195535	.166809
	C Grupo II	E1	-.3247427*	.0566646	.000	-.497483	-.152002
		E2	-.1625205	.0566646	.074	-.335261	.010220
		E3	-.1224094	.0566646	.286	-.295150	.050331
		E4	-.2054094*	.0566646	.013	-.378150	-.032669
B		-.2197726*	.0594303	.011	-.400945	-.038601	
B Grupo I	E1	-.1049701	.0594303	.502	-.286142	.076202	
	E2	.0572521	.0594303	.926	-.123920	.238424	
	E3	.0973632	.0594303	.581	-.083809	.278535	
	E4	.0143632	.0594303	1.000	-.166809	.195535	
	C	.2197726*	.0594303	.011	.038601	.400945	

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

**ANEXO N° 6 : Consolidado de información del Efecto de *Lepidium meyenii* (maca) en la memoria espacial y en la producción de malondialdehído en membranas neuronales de *Rattus rattus* var. *albinus* ovariectomizadas**

EFECTO DE MACA EN MEMORIA ESPACIAL Y CONCENTRACIÓN DE MDA NEURONAL EN RATAS SOMETIDAS A RADIACIONES POR TELÉFONOS MÓVILES (PESO, LABERINTO ACUÁTICO MORRIS INICIAL OVARIECTOMIZADAS DESPUÉS DE SER IRRADIADAS)																					
																		DÍA 5			
Rata	Peso (g.)	SIS ANEST.	PRIMER CRUCE			SEGUNDO CRUCE			TERCER CRUCE			CUARTO CRUCE			QUINTO CRUCE	SUMA DE TIEMPOS DE CRUCE	TIEMPO DE PERMANENCIA EN EL CUADRANTE DONDE ESTABA LA	Número cruce por lugar de la plataforma	SEXTO CRUCE	SÉPTIMO CRUCE	
			T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3							T1
1	228	0.456	6.76	0.07		4.07	0.0407		4.86	0.0486		1.78	0.0178		3.67	0.038	0.038	5			
2	242	0.484	2.07	0.0207		1.4	0.014		3.11	0.0311		3.26	0.0326		3.36	0.095	0.095	7	2.82	3.23	
3	224.50	0.449	6.36	0.0636		8.67	0.0867		2.1	0.021		4.34	0.0434		1.26	0.037	0.037	6	2.2		
4	188.30	0.3766	4.94	0.0494		6.76	0.0676		6.43	0.0643		13.87	0.1387		1.97	0.023	0.023	5			
5	216.60	0.4332	3.03	0.0303		1.28	0.0128		2.92	0.0292		3.1	0.031		3.43	0.098	0.098	7	5.23	1	
6	250	0.5	2.79	0.0279		2.16	0.0216		4.14	0.0414		2	0.02		3.21	0.033	0.033	5			
7	206	0.412	6.93	0.0693		1.65	0.0165		10.74	0.1074		2.55	0.0255		3.76	0.051	0.051	6	1.17		
8	246	0.492	7.06	0.0706		3.54	0.0354		10.81	0.1081		7.79	0.0779		1.97	0.023	0.023	5			
9	206	0.412	4.24	0.0424		6.62	0.0662		4.43	0.0443		6.06	0.0606		4.77	0.050	0.050	5			
10	236	0.472	3.04	0.0304		7.28	0.0728		10.01	0.1001		2.18	0.0218		4.96	0.052	0.052	5			
11	215	0.43	6.24	0.0624		6.84	0.0684		12.56	0.1256		5.17	0.0517		0.003	0.003	4				
12	236.50	0.473	3.17	0.0317		0.71	0.0071		4.64	0.0464		9.84	0.0984		3.76	0.039	0.039	5			
13	226	0.452	3.4	0.034		7.21	0.0721		5.23	0.0523		2.43	0.0243		6.27	0.080	0.080	6	1.55		
14	223	0.446	7.89	0.0789		4.81	0.0481		4.68	0.0468		4.06	0.0406		1.74	0.020	0.020	5			
15	228	0.456	12.52	0.1252		0.71	0.0071		3.58	0.0358		11.42	0.1142		0.6	0.009	0.009	5			
16	211.5	0.423	4.25	0.0425		8.06	0.0806		8.95	0.0895		8.52	0.0852		4.66	0.050	0.050	5			
17	211	0.422	1	0.01		7.39	0.0739		3.28	0.0328		5.46	0.0546		11.37	0.130	0.130	6	1.45		
18	236.50	0.473	6.34	0.0634		1.61	0.0161		5.14	0.0514		4.55	0.0455		7.87	0.080	0.080	5			
19	231.50	0.463	1.03	0.0103		7.85	0.0785		1.62	0.0162		11.72	0.1172		3.24	0.035	0.035	5			
20	234	0.468	4.2	0.042		2.54	0.0254		0.6	0.006		5.66	0.0566		2.55	0.056	0.056	6	2.89		
21	221	0.442	5.62	0.0562		4.01	0.0401		4.36	0.0436		2.86	0.0286		3.44	0.036	0.036	5			
22	221	0.442	4.11	0.0411		3.73	0.0373		5.78	0.0578		1.14	0.0114		1.43	0.016	0.016	5			
23	221.50	0.443	3.31	0.0331		9.12	0.0912		5.77	0.0577		4.13	0.0413		0.002	0.002	4				
24	222	0.444	7.07	0.0707		3.55	0.0355		6.03	0.0603		3.62	0.0362		2.13	0.023	0.023	5			
25	218	0.436	5.08	0.0508		4.11	0.0411		13.24	0.1324		5.08	0.0508		3.38	0.037	0.037	5			
26	237	0.474	3.75	0.0375		12.51	0.1251		6.44	0.0644		5	0.05		0.003	0.003	4				
27	217	0.434	2.03	0.0203		4.28	0.0428		7.9	0.079		9.73	0.0973		4.13	0.084	0.084	6	4		
	225.50	0.451	2.85	0.0285		2.39	0.0239		3.96	0.0396		3.86	0.0386		1.34	0.084	0.084	7	3.06	3.89	
29	221	0.442	3.83	0.0383		4.16	0.0416		3.23	0.0323		3.61	0.0361		4.29	0.044	0.044	5			
30	218	0.436	2.25	0.0225		0.76	0.0076		5.83	0.0583		3.78	0.0378		2.63	0.028	0.028	6			
31	227.50	0.455	2.97	0.0297		1.38	0.0138		4.34	0.0434		5.58	0.0558		0.001	0.001	4				
32	210.80	0.4216	7.23	0.0723		5.04	0.0504		2.85	0.0285		14.58	0.1458		0.003	0.003	4				
33	199.50	0.399	2.83	0.0283		2.54	0.0254		1.49	0.0149		3.11	0.0311		4.29	0.182	0.182	6	13.84		
34	206.50	0.413	6.38	0.0638		6.66	0.0666		2.71	0.0271		2.08	0.0208		4.3	0.066	0.066	6	2.15		
35	217	0.434	8.13	0.0813		4.86	0.0486		6.05	0.0605		8.34	0.0834		2.87	0.031	0.031	5			
36	273	0.546	0			0			0			0			0.00	0.000					