

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TRUJILLO**  
**BENEDICTO XVI**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**PROGRAMA DE ESTUDIOS DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**EFFECTO DEL FRUTO *Vaccinium corymbosum* L. (ARÁNDANO)**  
**SOBRE MEMORIA Y APRENDIZAJE EN *Rattus norvegicus* var.**  
**albinus CON NEUROTOXICIDAD INDUCIDA**

**TESIS PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE**  
**QUIMICO FARMACEUTICO**

AUTOR

Marín Charcas Carlos

ASESOR

Mg. Cerna Reyes Francisco Tito

LINEA DE INVESTIGACION  
Plantas medicinales y productos naturales

TRUJILLO – PERÚ  
2023

## Revisión final

### INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>12%</b> INDICE DE SIMILITUD	<b>11%</b> FUENTES DE INTERNET	<b>1%</b> PUBLICACIONES	<b>4%</b> TRABAJOS DEL ESTUDIANTE
-----------------------------------	-----------------------------------	----------------------------	--------------------------------------

### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<a href="http://repositorio.uladech.edu.pe">repositorio.uladech.edu.pe</a> Fuente de Internet	<b>4%</b>
<b>2</b>	<a href="http://dspace.unitru.edu.pe">dspace.unitru.edu.pe</a> Fuente de Internet	<b>2%</b>
<b>3</b>	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>4</b>	<a href="#">Submitted to Universidad Catolica Los Angeles de Chimbote</a> Trabajo del estudiante	<b>1%</b>
<b>5</b>	<a href="http://patents.google.com">patents.google.com</a> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>6</b>	<a href="http://repositorio.uct.edu.pe">repositorio.uct.edu.pe</a> Fuente de Internet	<b>&lt; 1%</b>
<b>7</b>	<a href="http://www.scielo.org.mx">www.scielo.org.mx</a> Fuente de Internet	<b>&lt; 1%</b>
<b>8</b>	<a href="http://www.codhes.org.co">www.codhes.org.co</a> Fuente de Internet	<b>&lt; 1%</b>

Activar Windows

9	<a href="#">Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga</a> Trabajo del estudiante	< 1 %
10	<a href="#">Submitted to Universidad Científica del Sur</a> Trabajo del estudiante	< 1 %
11	<a href="#">dokumen.pub</a> Fuente de Internet	< 1 %
12	<a href="#">etd.aau.edu.et</a> Fuente de Internet	< 1 %
13	<a href="#">www.revistas.unitru.edu.pe</a> Fuente de Internet	< 1 %
14	<a href="#">discourse-in-society.org</a> Fuente de Internet	< 1 %
15	<a href="#">prezi.com</a> Fuente de Internet	< 1 %
16	<a href="#">repositorio.ual.edu.pe</a> Fuente de Internet	< 1 %
17	S. G. Fernández-Michel, C. L. García-Díaz, M. G. Alanís-Guzmán, M. G. Ramos-Clamont. " <a href="#">ÁCIDOS GRASOS : CONSUMO E IMPLICACIONES EN LA SALUD EN NIÑOS</a> FATTY ACID: INTAKE AND IMPLICATIONS FOR CHILD HEALTH ", Ciencia y <a href="#">Tecnología Alimentaria</a> , 2008 Publicación	< 1 %

## **AUTORIDADES**

Exemo Mons. Dr. Héctor Miguel Cabrejos Vidarte, O.F.M.

**Arzobispo Metropolitano de Trujillo  
Fundador y Gran Canciller de la Universidad  
Católica de Trujillo Benedicto XVI**

Dr. Luis Orlando Miranda Díaz  
**Rector de la Universidad Católica de Trujillo Benedicto XVI**

Dra. Mariana Geraldine Silva Balarezo  
**Vicerrectora académica**

Dra. Anita Jeanette Campos Marquez  
**Decana de la Facultad de Ciencias de la Salud**

Dr. Winston Rolando Reaño Portal  
**Director de la Escuela de Posgrado**

Dr. Francisco Alejandro Espinoza Polo  
**Vicerrector de Investigación (e)**

Dra. Teresa Sofía Reategui Marin  
**Secretaria General**



**ACTA APROBACIÓN DE ASESOR**

Yo Francisco Tito Cerna Reyes, con DNI N°19021556, Asesor del Trabajo de Investigación titulado "Efecto del fruto *Vaccinium corymbosum* L. (Arándano) sobre memoria y aprendizaje en *Rattus norvegicus* var| *albinus* con neurotoxicidad inducida"; desarrollado por el Bach. **Carlos Marín Charca** con DNI N° 20563343, egresado de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica, considero que dicho trabajo de investigación reúne los requisitos tanto técnicos como científicos y corresponden con las normas establecidas en el reglamento de titulación de la Universidad Católica de Trujillo Benedicto XVI y en la normativa para la presentación de trabajos de graduación de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Por tanto, autorizo la presentación del mismo ante el organismo pertinente para que sea sometido a evaluación por los jurados designados por la referida Facultad.

**Apellidos y nombres de asesor. Cerna Reyes Francisco Tito**  
**Q.F. MS.c**

**Firma.....**  
**ASESOR**

## **Dedicatoria**

Mi eterno agradecimiento a **Dios** por derramar muchas bendiciones, sabiduría e inteligencia, por darme fuerza y voluntad para hacer realidad mis objetivos y metas.

A mi **familia**, en especial a mi esposa y mis dos hijos, por el apoyo incondicional que siempre me brindaron día a día en el transcurso de cada año de mi carrera.

## **Agradecimientos**

A mi esposa, por sus palabras de aliento y confianza, por su amor, por permitirme mi espacio para desarrollarme como profesional, a mis dos hijos, que son el motivo de seguir adelante y sembrar en ellos la perseverancia.

A mi asesor por su paciencia y dedicación, en lo cual el proyecto se ha encaminado de manera correcta y de mucha satisfacción.



## DECLARACIÓN JURADA DE VERACIDAD DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL EN LA UCT

Yo, Carlos Marin Charca identificado con DNI N°20563343, con domicilio en Pasaje Santa María 362 La Esperanza Bellavista, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, con correo electrónico mhc01@gmail.com a donde acepto me notifiquen, y teléfono 948216369, soy bachiller de la carrera profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Trujillo “Benedicto XVI” (UCT) y declaro bajo juramento lo siguiente:

1. **Al haber obtenido mi grado de bachiller en la Universidad Católica de Trujillo “Benedicto XVI” de conformidad con la normatividad contenida en la Ley N° 30220, Ley Universitaria y el Reglamento de Grados y Títulos de la SUNEDU, así como la normatividad interna de la universidad para estos casos, es mi deseo iniciar el trámite para obtener mi título profesional en la UCT, universidad licenciada.**
2. **Declaro también que toda la documentación que presento para obtener mi título profesional es información y documentación veraz y fidedigna, bajo responsabilidad.**
3. **Declaro bajo juramento que, respecto a mi proyecto de investigación (tesis) para optar por el título profesional, me encuentro en el siguiente supuesto:**

- Mi Tesis no se encuentra alojada en el Repositorio de la ULADECH ni de ninguna otra universidad.
- Mi tesis se encuentra alojada en el repositorio de la ULADECH y de manera voluntaria he solicitado y se encuentra en trámite la baja de mi tesis del mencionado repositorio, para lo cual cumplo con adjuntar la solicitud presentada ante ULADECH.

Así mismo declaro bajo juramento que la documentación que entrego adjunta a esta Declaración Jurada es veraz, y de no ser así, esta será causal de aplicación de las medidas disciplinarias correspondiente por UCT, así como las acciones judiciales, civiles y penales a las que haya lugar, bajo responsabilidad.

Atentamente,

FIRMA: \_\_\_\_\_

DNI: 20563343

LUGAR Y FECHA: Trujillo, 26 de noviembre de 2022

HUELLA DIGITAL:



## ÍNDICE

	Pág.
Portada	
Páginas Preliminares	
Página de autoridades.....	iii
Página de conformidad del asesor.....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
Declaratoria de autenticidad.....	vii
Índice (contenidos, de tablas y figuras) .....	vii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT .....	x
I- INTRODUCCIÓN.....	01
II: METODOLOGÍA.....	06
2.1. Objeto de estudio.....	06
2.2. Instrumentos, técnicas, equipos de laboratorio de recojo de datos.....	09
2.3. Análisis de la información.....	14
2.4. Aspectos éticos en investigación.....	14
III. RESULTADOS.....	16
IV. DISCUSIÓN.....	18
V. CONCLUSIONES.....	20
VI. RECOMENDACIONES.....	20
VII- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21
ANEXOS.....	26

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto del fruto *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) sobre memoria y aprendizaje en *Rattus norvegicus* var. albinus con neurotoxicidad inducida. Fue un trabajo de tipo experimental, cuantitativo y longitudinal; a los datos se aplicó la prueba ANOVA y el post Hoc de Tukey para los tres tiempos, los resultados indican que si existe diferencia estadísticamente significativa entre ellos. ( $p < 0.05$  en los tres tiempos 0h, 12h y 72h); por lo que se acepta la hipótesis alternativa, se concluye que el extracto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta protección contra un estrés oxidativo neuronal.

**Palabras clave:** *Vaccinium corymbosum* (arándano), extracto alcohólico, efecto antioxidante

## **ABSTRACT**

The objective of this research was to determine the effect of the fruit *Vaccinium corymbosum* L. (blueberry) on memory and learning in *Rattus norvegicus* var. *albinus* with induced neurotoxicity. It was an experimental, quantitative and longitudinal type of work; The ANOVA test and Tukey's post Hoc test were applied to the data for the 3 times, the results indicate that there is a statistically significant difference between them. ( $p < 0.05$  in the 3 times 0h, 12h and 72h); Therefore, the alternative hypothesis is accepted, it is concluded that the extract of *Vaccinium corymbosum* (blueberry) presents protection against neuronal oxidative stress.

Key words: *Vaccinium corymbosum* (cranberry), alcoholic extract, antioxidant effect

## I. INTRODUCCIÓN

El aumento global de la esperanza de vida está provocando un aumento de las enfermedades no transmisibles relacionadas con la edad, con tendencias crecientes en el deterioro cognitivo y los trastornos neurodegenerativos. El envejecimiento de la población ha transformado las sociedades a nivel mundial, con tasas de fertilidad más bajas y una mayor longevidad que sustenta cambios marcados en las normas y estructuras sociales a lo largo del ciclo de vida. La vejez se asocia con una creciente heterogeneidad de la población, caracterizada por múltiples morbilidades y perfiles de salud complejos <sup>(1,2)</sup>.

La población mundial está envejeciendo a un ritmo alarmante, según la División de Población de las Naciones Unidas, en el año 2000 unos seiscientos seis millones de personas, que constituyen aproximadamente el diez por ciento de la población mundial, tenían más de sesenta años; para el año 2050, se espera que este porcentaje se duplique a dos mil millones de personas, o el veintiuno punto cuatro por ciento de la población. Aún más dramático será el aumento en el porcentaje de personas mayores de ochenta años, a menudo llamados los “viejos más viejos”. Hoy hay sesenta y nueve millones de personas en esta categoría, constituyendo el 1.1% de la población mundial; para el año 2050, el porcentaje casi se cuadruplicará al cuatro por ciento, con trescientos setenta y nueve millones de personas mayores de ochenta años vivas <sup>(3,4)</sup>.

El proceso de envejecimiento es el principal elemento de riesgo para la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas, entre las que se incluyen la enfermedad de Alzheimer (EA) y la enfermedad de Parkinson (EP). La prevalencia de la EA aumenta con la edad, afectando aproximadamente al 10% de las personas mayores de 65 años y sin una cura o tratamiento eficaz conocido. Estas enfermedades suelen avanzar de manera irreversible y están relacionadas con costos socioeconómicos y personales significativos. <sup>(5)</sup>. El interés científico por los compuestos del metabolismo secundario de las plantas se ha incrementado en los últimos años, esto debido a que los estudios epidemiológicos sugieren que las dietas con un alto consumo de verduras y frutas pueden reducir la incidencia de algunas enfermedades degenerativas <sup>(4,5)</sup>.

Algunas frutas son ricas en pigmentos de antocianina, un grupo que pertenece a los flavonoides, la clase más extendida de compuestos fenólicos. Son glucósidos de polihidroxi y polimetoxi derivados de 2-fenilbenzopirilio o sales de flavilio. Numerosos estudios experimentales y clínicos han demostrado una alta eficacia de los compuestos polifenólicos vegetales para restaurar los trastornos de la memoria y el aprendizaje relacionados con la edad <sup>(6,7)</sup>.

Son particularmente abundantes en bayas y frutas rojas y moradas, así como en vinos tintos; por lo tanto, juegan un papel importante en la nutrición humana y animal; dependiendo de los hábitos de nutrición, se ha estimado que la ingesta diaria de antocianinas en humanos oscila entre varios miligramos y cientos de miligramos. No obstante, los consumidores podrían aumentar fácilmente su ingesta diaria de antocianinas ya que los niveles en algunas bayas contienen un exceso de cien miligramos por cien gramos. Se ha estimado que el consumo dietético en algunas personas es de hasta doscientos miligramos por día, que es más alto que el de otros flavonoides como la quercetina <sup>(7,8)</sup>.

Las bayas son algunas de las frutas más populares que se consumen en todo el mundo. Se consideran ricas en antocianinas. Las antocianinas tienen propiedades farmacológicas notorias y han sido utilizadas por humanos con fines terapéuticos. Al igual que otros flavonoides, se ha discutido la importancia de las antocianinas en relación con una amplia gama de funciones fisiológicas, como la mejora de la visión, la actividad anticancerígena y también en su implicación en la disfunción neuronal y el deterioro cognitivo <sup>(6,8)</sup>.

Flanagan et al., en el año 2022, investigaron si es que el consumo crónico de arándanos (*Vaccinium macrocarpon*) durante doce semanas mejora la memoria episódica y la perfusión cerebral regional en adultos mayores sanos: un estudio de viabilidad aleatorizado, controlado con placebo y de grupos paralelos. La suplementación con arándanos durante doce semanas se asoció con mejoras en la memoria episódica visual en participantes de edad avanzada en comparación con el placebo. Los mecanismos de acción pueden incluir un aumento de la perfusión regional en la corteza entorrinal derecha, el área accumbens y el caudado en el grupo de los arándanos. También se observó una disminución significativa del colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL) durante el curso de la

intervención. Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas para los niveles de BDNF entre los grupos <sup>(9)</sup>.

Cezarotto et al, en el año 2022, analizaron si el extracto hidroalcohólico de hojas de arándano ojo de conejo (*Vaccinium ashei*) mitiga el modelo de estrés leve crónico impredecible que induce un comportamiento similar al depresivo en ratas. El efecto de la administración repetida de HEV (50 mg/kg, po) sobre el tiempo de inmovilidad se evaluó en la prueba de natación forzada (FST) en un modelo de estrés leve crónico impredecible (UCMS). El tratamiento repetido con HEV revirtió el comportamiento depresivo inducido por UCMS al reducir el tiempo de inmovilidad. Además, la exposición a HEV no provocó cambios en los pesos relativos de los órganos en ratas sometidas a UCMS. Los resultados indicaron que la administración de VHE presentó acción antidepresiva desprovista de efectos tóxicos <sup>(10)</sup>.

Chellammal et al, en el año 2021, realizaron estudios neurofarmacológicos del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* sobre la demencia y catatonía tipo alzheimer en ratones albinos suizos; evaluó los efectos neuroprotectores del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* (EEVC) en la demencia tipo Alzheimer inducida por cloruro de aluminio ( $AlCl_3$ ) y los cambios de comportamiento asociados a la catalepsia inducida por haloperidol. Los animales tratados con 200 mg/kg y 400 mg/kg de EEVC exhibieron un impacto neuroprotector en la neurodegeneración inducida por  $AlCl_3$  y cambios de comportamiento inducidos por haloperidol con una inhibición significativa ( $P < 0.05$  y  $P < 0.01$ , respectivamente) en enzima acetilcolinesterasa. Concluyen que el EEVC es un agente terapéutico prometedor para el tratamiento de disfunciones conductuales y cognitivas. Investigaciones adicionales sobre citocinas proinflamatorias y regulación neuroendocrina en modelos transgénicos de la enfermedad de Alzheimer (EA) complementan el valor terapéutico de *V. corymbosum* <sup>(6)</sup>.

Oh et al., en el año 2021, realizaron un estudio sobre *Vaccinium bracteatum* y su capacidad de mejorar el aprendizaje espacial y la memoria mediante la regulación de los receptores de N-metil-D-aspartato y la fosforilación de tau en ratones con problemas de memoria inducidos por estrés de restricción crónica. Los ratones expuestos a CRS tratados

con VBL mostraron una alternancia espontánea significativamente mayor en las pruebas de memoria a corto plazo (STM) y memoria a largo plazo (LTM), y el número total de entradas de brazo en las pruebas de LTM según lo medido por la prueba del laberinto Y. Concluyeron que VBL ejerce una mejora de la memoria espacial al regular la neurotoxicidad del receptor NMDA inducida por CRS y la hiperfosforilación de Tau <sup>(11)</sup>.

Hong et al., en el año 2018, realizaron un estudio sobre los efectos de mejora cognitiva del vinagre Highbush Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) en un modelo de ratones con amnesia inducida por escopolamina. En este estudio, se utilizó Sco (1 mg/kg, inyección intraperitoneal) para inducir amnesia. A los ratones se les administró por vía oral donepezilo (5 mg/kg), extracto de arándano (120 mg/kg) y BV (120 mg/kg) durante siete días. Después de inducir el deterioro cognitivo por escopolamina, se realizó una evaluación del comportamiento mediante pruebas de comportamiento. El grupo BV mostró una función cognitiva significativamente restaurada en las pruebas de comportamiento. BV facilitó la actividad colinérgica al inhibir la actividad de la acetilcolinesterasa y mejoró la actividad de la enzima antioxidante <sup>(12)</sup>.

El desarrollo de la presente investigación se justifica en la necesidad de encontrar alternativas para mejorar y mantener en buen estado la memoria y el aprendizaje espacial, ya que en cualquier momento estamos expuestos a un ambiente tóxico y como consecuencia presenta un grave riesgo para la salud. Hallar nuevas formas de cómo mantener nuestra integridad cognitiva de manera natural y económica nos impulsa a trabajar con *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) en la memoria espacial en ratas.

Tras lo indicado se plantea la siguiente interrogante: ¿Cuál es el efecto del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) sobre la memoria y aprendizaje en *Rattus norvegicus* var albinus con neurotoxicidad inducida?

#### **Objetivo general:**

- Determinar el efecto del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus norvegicus* var. albinus con neurotoxicidad inducida.

### **Objetivos específicos:**

- “Evaluar el efecto del fruto de *Vaccinium corymbosum* en dosis de doscientos y cuatrocientos miligramos por kilo pc sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus norvegicus* var. *albinus* con neurotoxicidad inducida.”
- “Comparar el efecto del fruto de *Vaccinium corymbosum* entre las dosis de doscientos y cuatrocientos miligramos por kilo pc sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus norvegicus* var. *albinus* con neurotoxicidad inducida.”

### **HIPÓTESIS**

- **Hipótesis Nula:**

El de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) no tiene efecto sobre la memoria y el aprendizaje espacial en *Rattus norvegicus* var. *albinus* con Neurotoxicidad Inducida.

- **Hipótesis Alternativa**

El de *Vaccinium corymbosum* L.(arándano) tiene efecto sobre la memoria y el aprendizaje espacial en *Rattus norvegicus* var. *albinus* con Neurotoxicidad Inducida.

## II. METODOLOGÍA

### 2.1. Objeto de Estudio

El objeto de estudio de la presente investigación fue la evaluación a la memoria espacial de ratas con un consumo previo de arándanos y una exposición posterior a un agente neurotóxico, relacionando de esta manera la presencia de ciertos metabolitos secundarios presentes en los arándanos y su capacidad neuro protectora.

La investigación fue experimental, cuantitativa, longitudinal, el diseño de la investigación queda descrito de la siguiente manera:

#### **G1 (Grupo Blanco):**

Formado por 6 *Rattus norvegicus* var albinus, a los que se les administró por sonda orogástrica agua destilada durante veintiuno días, en la tercera semana de administración se indujo neurotoxicidad con CCl<sub>4</sub> por vía IP a dosis de 1ml/kg pc. La memoria espacial fue evaluada a las cero horas, veinticuatro horas, cuarenta y ocho horas y setenta y dos horas posteriores al término de la administración.

#### **G2 (Grupo Experimental 01):**

Formado por 6 *Rattus norvegicus* var albinus, a los que se les administró por sonda orogástrica el extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* a una dosis de 200mg/kg pc durante veintiuno días, en la tercera semana de administración se indujo neurotoxicidad con CCl<sub>4</sub> por vía IP a dosis de 1ml/kg pc. La memoria espacial fue evaluada a las cero horas, veinticuatro horas, cuarenta y ocho horas y setenta y dos horas posteriores al término de la administración.

#### **G3 (Grupo Experimental 02):**

Formado por 6 *Rattus norvegicus* var albinus, a los que se les administró por sonda orogástrica el extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* a una dosis de 400mg/kg pc durante veintiuno días, en la tercera semana de administración se indujo neurotoxicidad con CCl<sub>4</sub> por vía IP a dosis de 1ml/kg pc.

La memoria espacial fue evaluada a las cero horas, veinticuatro horas, cuarenta y ocho horas y setenta y dos horas posteriores al término de la administración.

**Población de estudio:**

Estuvo conformada por las plantas de *Vaccinium corymbosum* cultivadas en el distrito de Chao, provincia de Virú, departamento de La Libertad , ubicado en las coordenadas siguientes: 8°32'26"S 78°40'42"O.

**Muestra vegetal:**

Estuvo conformada por los frutos de *Vaccinium corymbosum* cultivadas en el distrito de Chao, provincia de Virú, departamento de La Libertad", ubicado en las coordenadas siguientes: 8°32'26"S 78°40'42"O.

Criterios de inclusión:

- Frutos de *Vaccinium corymbosum* con características organolépticas adecuadas.
- Frutos de *Vaccinium corymbosum* con un grado de maduración semejante.

Criterios de exclusión:

- Frutos de *Vaccinium corymbosum* incompletos.
- Frutos de *Vaccinium corymbosum* con señales de haber sido atacado por alguna plaga o haber sido expuestos a algún plaguicida.

**CUADRO DE OPERACIONALIZACION DE VARIABLES**

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Ítems	Instrumento	Escala de medición
<b>Independiente:</b> Las concentraciones del extracto de vaccinium corymbosum L(Arandano)	Los Extractos Hidroalcohólicos son extractos líquidos concentrados, obtenidos de la extracción de una planta o parte de ella.	Se recolectaron 3kg de frutos, estos frutos limpios fueron sometidos a trituración en un procesador usando etanol al 70% como solvente en una proporción frutos/solvente de 1/4; luego de cinco días el macerado fue filtrado y se llevó a evaporación por ventilación con temperaturas inferiores a los 40°C. Cuando el extracto se encontraba seco se colocaron en frascos ámbar y fueron guardados en refrigeración a 4°C hasta su utilización.	Los grupos de experimentación son 3: blanco, experimental 01, experimental 02; cada uno consta de 6 Rattus norvegicus var albinus.	Se utilizó concentraciones: en grupo blanco con toxicidad de 1ml/kg, grupo 01 con toxicidad 1ml/kg y extracto de 200mg/kg, grupo 02 con toxicidad 1ml/kg y extracto 400mg/kg.	Experimental 1: 200mg/kg pc Experimental 2: 400mg/kg pc	Concentración	Cualitativa nominal
<b>Dependiente:</b> Efecto sobre memoria y aprendizaje espacial.	La habilidad de aprender y mantener en la memoria las conexiones entre las características del entorno es lo que permite que un organismo se mueva sin dificultad en su entorno	En la actualidad, el Laberinto Acuático Morris es una de las pruebas más comunes en la neurociencia conductual.	Los valores del tiempo de latencia en el Test Acuático tienen efecto sobre la memoria y aprendizaje espacial en los animalitos.	Tiempo de latencia en segundos por grupo de experimentación sobre la memoria y aprendizaje espacial.	Latencia: Día 01 Día 02 Día 03 Día 04	Tiempo de latencia	Cuantitativa

## **2.2. Instrumentos, técnicas, equipos de laboratorio de recojo de datos.**

### **Preparación del Extracto:**

Se recolectaron 3kg de frutos de *Vaccinium corymbosum* los cuales fueron lavados con agua corriente y posteriormente desinfectados con una solución de Hipoclorito de sodio al dos por ciento, luego de la desinfección fueron lavados con agua destilada tres veces. Estos frutos limpios fueron sometidos a trituración en un procesador de alimentos marca Halminton Beach ® usando etanol al setenta por ciento como solvente en una proporción frutos/solvente de uno a cuatro; posteriormente el triturado fue colocado en frascos de vidrio boca ancha protegidos con papel aluminio para su maceración por cinco días, este proceso se realizó a temperatura ambiente, bajo sombra y protegido de la luz con agitación diaria para favorecer a la extracción.

Luego de cinco días el macerado fue filtrado usando un equipo de filtración al vacío y posteriormente el filtrado se llevó a evaporación por ventilación con temperaturas inferiores a los cuarenta grados centígrados. Cuando el extracto se encontraba seco se colocaron en frascos ámbar y fueron guardados en refrigeración a cuatro grados centígrados hasta su utilización.

### **Material Biológico**

Estuvo conformado por ratas adquiridas en el bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Los animales de experimentación posterior a ser adquiridos se aclimataron en ciclos luz-oscuridad de doce horas. Por un periodo de siete días. A temperatura de aproximadamente diecisiete a veintidós grados en lugar de aclimatación.

### **Administración del Extracto**

El extracto seco fue reconstituido diariamente usando agua destilada para su dilución usando dos dosis para cada grupo de experimentación (200mg/kg pc y 400 mg/kg pc). El extracto se administró por tres semanas (21 días) a la misma hora de la mañana (8:00 – 9:00am) usando una sonda orogástrica para garantizar la correcta administración del extracto.

## **Inducción de Neurotoxicidad**

El daño neurotóxico fue causado por Tetracloruro de Carbono (CCl<sub>4</sub>), fue administrado en aceite de maíz (20% v/v) en una proporción de 1ml/kg pc tres días a la semana durante dos semanas, usando una inyección por vía intraperitoneal <sup>(13)</sup>.

## **Medición de la Memoria y Aprendizaje Espacial:**

### **Test de Laberinto de Morris:**

El Laberinto Acuático Morris (LAM) es una prueba utilizada en estudios conductuales de neurociencia que consiste en una piscina circular con agua donde se colocan animales, generalmente ratas o ratones, los cuales deben nadar hasta encontrar una plataforma ligeramente sumergida en el agua para evitar seguir nadando. La temperatura del agua se mantiene entre dieciocho y veintisiete grados centígrados para evitar que los animales se sientan demasiado estresados y para no inhibir su conducta de búsqueda de la plataforma. <sup>(14,15)</sup>.

En estudios conductuales de neurociencia, el aprendizaje se mide por el tiempo que tarda una rata en encontrar una base sumergida durante cada prueba de entrenamiento. Una menor latencia significa un mayor aprendizaje. Aunque se ha utilizado leche u otra sustancia no tóxica para opacar el agua y evitar que el animal vea la plataforma, esto no es posible ya que los animales nadan con la cabeza por encima del agua, lo que les impide verla. Alrededor del LAM se compone de diversas claves espaciales, como luces, cajas, muñecos y cepillos de dientes, estos proporcionan mejor orientación en su búsqueda de la plataforma. Este ambiente permite una amplia variedad de tareas, desde lo más simples hasta su complicación de protocolos de entrenamiento, que involucran diferentes mecanismos de navegación, aprendizaje y memoria. <sup>(14)</sup>.

El LAM es una prueba muy común en neurociencia conductual, especialmente para estudiar los procesos de aprendizaje y memoria espacial. La idea de utilizar un tanque de agua como "laberinto" surgió después de que Morris

observara grandes tanques que contenían diversas criaturas marinas. Con esto, buscaba estudiar la navegación espacial y la función de las células de lugar, que habían sido descubiertas recientemente (ver sección de Memoria espacial arriba). Aunque a menudo se describe al LAM como una tarea simple, en realidad es un instrumento muy versátil que permite realizar diversas tareas. Es importante destacar que el LAM no es una tarea en sí misma, sino más bien un medio para llevar a cabo múltiples tareas de manera sencilla. <sup>(14)</sup>.

El Laberinto Acuático de Morris (LAM) no se considera un laberinto convencional debido a que el objetivo del animal es encontrar una plataforma oculta y relativamente pequeña como única salida. A pesar de su aparente simplicidad, el LAM es una herramienta altamente sensible para evaluar el impacto de diversas alteraciones del sistema nervioso y la eficacia de nuevas drogas terapéuticas. Por esta razón, las tareas del LAM son incluidas en baterías de pruebas conductuales utilizadas para evaluar el aprendizaje y la memoria espacial. El éxito del LAM se debe en gran parte a su simplicidad relativa y a su capacidad para evitar los problemas generados por los estímulos olfativos presentes en los laberintos de brazos tradicionales. <sup>(16)</sup>.

### **Protocolo de Entrenamiento**

El protocolo fundamental de aprendizaje en el LAM implica la memoria referencial, que consiste en esconder una plataforma en una ubicación fija en relación con las pistas de la habitación. Los animales son colocados en el agua, de frente a la pared del tanque, desde diferentes puntos de entrada, y gradualmente disminuyen su tiempo de latencia y aumentan la directividad de sus trayectorias hacia la plataforma. <sup>(14)</sup>.

En la mayoría de los estudios conductuales que involucran el LAM, se pueden distinguir tres fases del aprendizaje: habituación, adquisición y retención. La fase de habituación implica introducir al animal en la piscina sin las claves espaciales presentes y dejarlo nadar libremente durante sesenta a ciento veinte segundos, durante varios ensayos con la plataforma en su posición sumergida. El objetivo de

esta fase es familiarizar al animal con la situación experimental y minimizar los efectos emocionales causados por estímulos nuevos. Al finalizar el ensayo, se guía manualmente al animal hasta la plataforma sumergida, donde permanece durante treinta segundos. La fase de adquisición implica esconder la plataforma y registrar el tiempo que el animal tarda en encontrarla en cada ensayo. En la fase de retención, también llamada prueba o test, se evalúa la memoria del animal al retirar la plataforma y registrar el tiempo que tarda en buscarla. <sup>(15)</sup>.

Durante la fase de adquisición, el animal es introducido en el agua de forma similar a la fase de habituación y se le permite nadar libremente durante aproximadamente sesenta a ciento veinte segundos mientras busca la plataforma. En esta fase, se utilizan las claves espaciales para ayudar al animal a orientarse. Se considera que el animal ha encontrado la plataforma cuando permanece en ella durante al menos cinco a diez segundos. Si el animal no logra encontrar la plataforma, el experimentador lo guía hasta ella y le permite permanecer en ella durante unos treinta segundos. <sup>(14)</sup>.

Después de la fase de adquisición o entrenamiento, el animal es retirado de la piscina y se le permite descansar cómodamente en su jaula antes de empezar el siguiente ensayo. Este protocolo se repite uno y otra vez en los diferentes ensayos y sesiones de entrenamiento. El aprendizaje del animal para llegar a su objetivo eficientemente a la plataforma depende de las claves que rodean a la piscina. Una vez completada la fase de aprendizaje, se lleva a cabo un aprueba de retención retirando la base flotante de la piscina. <sup>(16)</sup>.

En este experimento, se otorga libertad al animal para nadar en la piscina durante un período de tiempo habitualmente de sesenta segundos, mientras se registran varias variables. Esta prueba se utiliza para evaluar la preferencia espacial del animal, y si ha aprendido a localizar la plataforma utilizando claves distales del laberinto, mostrará una trayectoria que se centra en el emplazamiento anterior de la plataforma. <sup>(17)</sup>.

Durante los ensayos de entrenamiento, los animalitos pueden emplear principalmente tres estrategias de nado para llegar a la plataforma: pueden asimilar los pasos de movimientos que las lleve hacia la base flotante (estrategia práxica); pueden acercarse a la base flotante utilizando pistas cercanas (estrategia taxica); o pueden nadar hacia la base flotante utilizando informaci3n sobre la ubicaci3n de la base flotante que les brinda la configuraci3n espacial de pistas distales (estrategia de mapeo).<sup>(16)</sup>.

Las claves que permiten a las ratas localizar la plataforma no solo son visuales, sino tambi3n pueden ser olfativas, seg3n se ha demostrado. De hecho, los animales pueden utilizar rastros de olor para encontrar la plataforma en un laberinto acuático, tal como han señalado Dalm y sus colaboradores. Asimismo, se ha encontrado que las ratas pueden usar tanto estrategias praxicas como claves espaciales para localizar la plataforma, incluso cuando las posiciones de partida de los animales son aleatorias.<sup>(15)</sup>.

### **Etapas de Pruebas**

Que la latencia de escape disminuya podra deberse a la adopci3n de estrategias no espaciales por parte de la rata, como nadar en forma circular a ciertos centímetros de la pared hasta encontrar la base flotante. Las ratas con dificultades oftálmicas pueden mostrar una disminuci3n notable en la latencia de escape durante la fase de preparaci3n. Por lo tanto, para distinguir entre estrategias espaciales y no espaciales, se lleva a cabo un ensayo de prueba, conocido como ensayo de retenci3n, ahí se retira la base flotante para evidenciar si los animalitos, al nadar, buscan en el cuadrante del LAM donde debera estar seg3n el entrenamiento previo. A este cuadrante se le llama cuadrante objetivo.<sup>(17)</sup>.

Los animales que han captado una estrategia espacial durante el entrenamiento buscaran cerca de la ubicaci3n habitual de la plataforma. Una mejora tecnol3gica del LAM es una base flotante que se regula la altura, que permanece en el fondo de la piscina y solo se eleva al nivel alcanzable por el animal si este permanece nadando sobre ella durante un período de tiempo específico (normalmente

varios segundos). Esta técnica permite descartar reducciones en las latencias de escape que no se deben al uso de una estrategia espacial. <sup>(18)</sup>.

En ciertos protocolos de entrenamiento, realizan múltiples ensayos de prueba para seguir el avance del proceso de consolidación de la memoria. Estos ensayos permiten observar cómo la preferencia de los animalitos por el cuadrante objetivo va emergiendo gradualmente en el transcurso de las sesiones y días de entrenamiento. Sin embargo, es importante tener en cuenta que estos ensayos adicionales pueden dar lugar a la extinción de la respuesta aprendida y ralentizar el proceso de condicionamiento. <sup>(16,17)</sup>.

### **Parámetros en LAM:**

En los entrenamientos de adquisición, la latencia de escape de los animales es la medida de aprendizaje más comúnmente utilizada debido a su baja sensibilidad a los cambios ambientales. En el entrenamiento de prueba, se pueden evaluar diferentes parámetros, como la precisión del ángulo de la cabeza, el porcentaje de pasadas por el cuadrante de entrenamiento y la cantidad de recorridos que realiza el animal al cruzar el lugar donde solía estar la plataforma <sup>(15,16)</sup>.

### **2.3. Análisis de la información.**

Los datos recolectados en el presente estudio fueron presentados en una matriz de recolección de datos, los resultados fueron sometidos a la prueba ANOVA para variables cuantitativas y el Post prueba de TUKEY se consideró un 95% confianza y un valor alfa de 0.05. Los datos fueron analizados en el Paquete estadístico SPSS v 25.0. <sup>(19,20)</sup>.

### **2.4. Aspectos éticos en investigación**

En la presente investigación de tipo experimental, se trabajó con *Rattus norvegicus* var. albinus, respetando debidamente las normas de bioseguridad dentro y fuera del laboratorio, se siguieron los principios y leyes para la Investigación Biomédica con

Animales y los principios éticos de la Universidad Católica Benedicto XVI. Los animales fueron cuidados y mantenidos en ambientes higiénicos y a una temperatura y humedad dentro de los rangos establecidos.<sup>(21,22)</sup>.

### III. RESULTADOS

**Tabla 1.** Determinación del efecto del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) en función al tiempo de latencia en segundos por grupo de experimentación sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus norvegicus* var. albinus con neurotoxicidad inducida.

Grupo	Tiempo en segundos			
	T1	T2	T3	T4
Control (Agua)	19.0±1.96	16.75±2.0	14.63±3.23	13.76±0.99
Experimental 01 ( <i>V. corymbosum</i> 200mg/kg pc)	13.17±3.89	11.58±3.1	10.85±1.46	10.63±2.21
Experimental 02 ( <i>V. corymbosum</i> 400mg/kg pc)	11.82±5.16	11.21±2.78	10.5±3.35	9.68±1.02
Significancia (valor p)	0.000*	0.000*	0.001*	0.001*

Prueba ANOVA obtenida en IBM SPSS v 25.00; (\*) Estadísticamente significativo (Valor de p < 0.05)

En esta tabla se observa los valores del tiempo de latencia en el Test Acuático de Morris en los 4 tiempos (0 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas) posteriores a terminada la administración del extracto etanólico de los frutos de *V. corymbosum* a dos dosis 200mg/kg pc y 400mg/kg pc. Los valores de p para los 4 tiempos indican que la prueba de hipótesis se cumple para la hipótesis afirmativa es decir la administración del extracto etanólico de los frutos de *V. corymbosum* si tiene efecto sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus norvegicus* var albinus.

**Tabla 2.** Comparación del efecto del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) en función al tiempo de latencia en segundos por grupo de experimentación sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus norvegicus* var. albinus con neurotoxicidad inducida.

Grupo	Tiempo en segundos			
	T1	T2	T3	T4
Control (Agua) VS	19.0±1.96	16.75±2.0	14.63±3.23	13.76±0.99
Exp. 01( <i>V. corymbosum</i> 200mg/kg pc)	13.17±3.89	11.58±3.1	10.85±1.46	10.63±2.21
<b>Significancia (valor p)</b>	<b>0.000*</b>	<b>0.000*</b>	<b>0.000*</b>	<b>0.000*</b>
Control (Agua) VS	19.0±1.96	16.75±2.0	14.63±3.23	13.76±0.99
Exp. 02 ( <i>V. corymbosum</i> 400mg/kg pc)	11.82±5.16	11.21±2.78	10.5±3.35	9.68±1.02
<b>Significancia (valor p)</b>	<b>0.000*</b>	<b>0.000*</b>	<b>0.001*</b>	<b>0.000*</b>
Exp. 01( <i>V. corymbosum</i> 200mg/kg pc) VS	13.17±3.89	11.58±3.1	10.85±1.46	10.63±2.21
Exp. 02( <i>V. corymbosum</i> 400mg/kg pc)	11.82±5.16	11.21±2.78	10.5±3.35	9.68±1.02
<b>Significancia (valor p)</b>	<b>0.002*</b>	<b>0.213**</b>	<b>0.724**</b>	<b>0.089**</b>

Prueba TUKEY obtenida en IBM SPSS v 25.00;

(\*) Estadísticamente significativo (Valor de  $p < 0.05$ );

(\*\*) Estadísticamente no significativo (Valor de  $p > 0.05$ )

En esta tabla se observa la comparación de los valores del tiempo de latencia en el Test Acuático de Morris en los 4 tiempos (0 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas) posteriores a terminada la administración del extracto etanólico de los frutos de *V. corymbosum* a dos dosis 200mg/kg pc y 400mg/kg pc.

#### IV. DISCUSIÓN

En la **tabla 1** se muestra los valores del tiempo de latencia en el Test Acuático de Morris en 4 tiempos (0 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas) posteriores a terminada la administración del extracto etanólico de los frutos de *V. corymbosum* a dos dosis 200mg/kg pc y 400mg/kg pc. Los valores de p para los 4 tiempos indican que la prueba de hipótesis se cumple para la hipótesis afirmativa es decir la administración del extracto etanólico de los frutos de *V. corymbosum* si tiene resultados favorables sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus norvegicus* var albinus.

Si se comparan estos resultados con los obtenidos por Ramírez et al <sup>(23)</sup> resultan similares a pesar de usar una dosis más baja (32mg/kg pc), por otro lado, en el presente proyecto, se observó una mejoría significativa en el tiempo 4 (T4), que según lo explicado para la Prueba de Morris correspondería a la consolidación de la memoria <sup>(24)</sup>, esto no se observó en el trabajo de Ramírez, lo que podría indicar que el efecto protector de *V. corymbosum* es dependiente de la dosis.

Se ha podido documentar el género *Vaccinium* contiene principalmente delphinidina y cianidina; en una proporción de 1:1, seguido de petunidina, peonidina y malvidina. Sin embargo, en el caso de *V. corymbosum* contiene principalmente delphinidina y peonidina está ausente. Las antocianinas presentes comprenden alrededor del 90% de los compuestos fenólicos totales de la fruta, Todos estos compuestos fenólicos son altamente antioxidantes, con todas las ventajas que este efecto conlleva <sup>(25)</sup>.

Por otro lado, la quercetina es el principal flavonol de los frutos de arándano, representando más del 50% del contenido total de flavonoides, el segundo más abundante es la miricetina, otros flavonoles, como la jeringatina, laricitrina e isorhamnetina, solo se han detectado en niveles bajos <sup>(26)</sup>. También se sabe que el kaempferol, aunque es abundante en las hojas del arándano, está presente en los frutos solo en cantidades mínimas <sup>(27)</sup>. Las plantas de todo el género *Vaccinium* son una de las más ricas fuentes de taninos, tanto de tipo hidrolizable como condensado, así como de sus diversos derivados. Se han

encontrado abundantes catequinas y epicatequinas tanto en hojas como en frutos, un dímero de catequina tipo B se encontró en frutos, además, galocatequina y la epigalocatequina se pueden encontrar predominantemente en las hojas <sup>(28)</sup>.

Los estudios farmacológicos de Milke et al demuestran que estos polifenoles exhiben efectos neuro protectores potenciales, incluida la inhibición de la muerte neuronal y la atenuación de las respuestas neuroinflamatorias in vitro e in vivo <sup>(29)</sup>.

En la **tabla 2** se aprecia la comparación de los valores en el tiempo de latencia para el Test de Morris en los 4 tiempos (0 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas) posteriores a la administración del extracto etanólico de los frutos de *V. corymbosum* a dos dosis 200mg/kg pc y 400mg/kg pc. Es apreciable los resultados encontrados al comparar el grupo control con el extracto de los frutos de *V. corymbosum* tanto a dosis 200mg /kg pc y 400 mg/kg pc estas comparaciones son estadísticamente significativas en todos los tiempos lo que indicaría un efecto protector de los frutos a ambas dosis en comparación con el grupo que no recibió el extracto; sin embargo, si se observa las significancias entre los dos grupos experimentales sólo en el primer tiempo (T1) existe una diferencia estadística a favor de la dosis 400mg/kg pc, más no en el T2, T3 y T4 donde la diferencia no es significativa estadísticamente, esto podría reflejar que no hay una relación directa dependiente de la dosis entre las respuestas encontradas en el Test de Morris.

La falta de diferencia significativa al duplicar la dosis del extracto de los frutos de *V. corymbosum* puede deberse a la baja biodisponibilidad, de los polifenoles en circulación sistémica, asociada con una baja absorción de los mismos y una limitada estabilidad de la molécula; por lo que se podría presumir que la modificación de la estructura y de la formulación, así como una terapia combinada entre fármacos y nutraceuticos; brinden más oportunidades del laboratorio a la clínica para estos los polifenoles <sup>(30)</sup>.

Las antocianinas pueden ejercer una acción neuroprotectora al activar mecanismos antioxidantes y antiinflamatorios; el potencial terapéutico de las antocianinas se basa en que se ha demostrado que estas moléculas y sus metabolitos son capaces de atravesar la Barrera hematoencefálica (BHE) llegando al sistema nervioso central, especialmente al hipocampo y al neocórtex, y ejercen actividad anti-neuroinflamatoria <sup>(31)</sup>.

## V. CONCLUSIONES

- El efecto del fruto de *Vaccinium corymbosum* en dosis de doscientos y cuatrocientos miligramos por kilo pc sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus norvegicus* var. albinus con neurotoxicidad inducida fue significativamente superior comparado con el grupo control ( $p < 0.005$ ) por lo tanto tuvo efecto protector sobre la memoria y aprendizaje espacial.
- En los tiempos T2, T3 y T4 estadísticamente no hubo diferencia significativa entre las dosis de 200 y 400 mg/Kg, pero en el T1 si hubo significancia entre ambas dosis, esto podría entenderse que no hay una relación directa dependiente de la dosis.

## VI. RECOMENDACIONES

- Se necesitan más estudios científicos para respaldar el efecto protector de *Vaccinium corymbosum* sobre la memoria y aprendizaje espacial *Rattus norvegicus* var. albinus con neurotoxicidad inducida
- Aislar los metabolitos del fruto de *Vaccinium corymbosum* para probar de forma separada el resultado sobre la memoria y aprendizaje espacial *Rattus norvegicus* var. albinus con neurotoxicidad inducida.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kiely, K. M., Brady, B., & Byles, J. Gender, mental health and ageing. *Maturitas*. [Internet]. 2019 [citado 2023 Ene 01]; 129, 76-84. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378512219306711>
2. Hou, Y., Dan, X., Babbar, M., Wei, Y., Hasselbalch, S. G., Croteau, D. L., & Bohr, V. A. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neurology*. [Internet]. 2019 [citado 2023 Ene 01]; 15(10), 565-581. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41582-019-0244-7>
3. Korkki, S. M., Richter, F. R., Jeyarathnarajah, P., & Simons, J. S. Healthy ageing reduces the precision of episodic memory retrieval. *Psychology and Aging*. [Internet]. 2020 [citado 2023 Ene 01]; 35(1), 124. Disponible en: <https://psycnet.apa.org/doi/10.1037/pag0000432>
4. Giebel, C. M., Worden, A., Challis, D., Jolley, D., Bhui, K. S., Lambat, A., ... & Purandare, N. Age, memory loss and perceptions of dementia in South Asian ethnic minorities. *Aging & mental health*. [Internet]. 2019 [citado 2023 Ene 01]; 23(2), 173-182. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/13607863.2017.1408772>
5. Jahn, H. Memory loss in Alzheimer's disease. *Dialogues in clinical neuroscience*. [Internet]. 2022 [citado 2023 Ene 01]. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.31887/DCNS.2013.15.4/hjahn>
6. Chellammal, H. S. J., Menon, B. V., Hasan, M. H., Azil, A., Suhaimi, M. T. B., Chandarasekaran, P., & Murugan, Y. Neuropharmacological studies of ethanolic extract of *Vaccinium corymbosum* on Alzheimer's type dementia and catatonia in Swiss albino mice. *Journal of Herbmед Pharmacology*. [Internet]. 2021 [citado 2023 Ene 01]; 10(2), 241-248. Disponible en: <http://herbmedpharmacol.com/Article/jhp-36819>
7. Sidorova, Y. S., Petrov, N. A., Shipelin, V. A., Zorin, S. N., Kochetkova, A. A., & Mazo, V. K. The impact of bilberry leaves' polyphenols on the anxiety level, spatial learning and memory of db/db mice. *Voprosy Pitaniia*. [Internet]. 2019 [citado 2023 Ene 01]; 88(3), 53-62. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31265775/>

8. Borowiec, K., Matysek, M., Szwajgier, D., Biala, G., Kruk-Slomka, M., Szalak, R., ... & Targonski, Z. The influence of bilberry fruit on memory and the expression of parvalbumin in the rat hippocampus. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. [Internet]. 2019 [citado 2023 Ene 01]; 22(3). Disponible en: <https://www.proquest.com/openview/5d3a44ee9ac51c5dc3d78e5ea5b49ec9/1?pq-origsite=gscholar&cbl=54205>
9. Flanagan, E., Cameron, D., Sobhan, R., Wong, C., Pontifex, M. G., Tosi, N., ... & Vauzour, D. Chronic consumption of cranberries (*Vaccinium macrocarpon*) for 12 weeks improves episodic memory and regional brain perfusion in healthy older adults: A randomised, placebo-controlled, parallel-groups feasibility study. *Frontiers in Nutrition*. [Internet]. 2022 [citado 2023 Ene 01]; 992. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.849902>
10. Cezarotto, V. S., Mota Ferreira, L., Dal'Pupo, R. P., Dos Santos, A., Santos, K. F., Blanco Linares, C. E., ... & Cruz, L. Hydroalcoholic extract of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) leaves mitigates Unpredictable Chronic Mild Stress Model inducing depressive-like behavior in rats. *Chemistry & Biodiversity*. [Internet]. 2022 [citado 2023 Ene 01]; Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbdv.202200514>
11. Oh, D. R., Kim, Y., Im, S., Oh, K. N., Shin, J., Jeong, C., ... & Choi, C. *Vaccinium bracteatum* improves spatial learning and memory by regulating N-methyl-D-aspartate receptors and Tau phosphorylation in chronic restraint stress-induced memory impaired mice. *The American Journal of Chinese Medicine*. [Internet]. 2021 [citado 2023 Ene 01]; 49(01), 69-94. Disponible en: <https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/S0192415X2150004X>
12. Hong, S. M., Soe, K. H., Lee, T. H., Kim, I. S., Lee, Y. M., & Lim, B. O. Cognitive improving effects by highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) vinegar on scopolamine-induced amnesia mice model. *Journal of agricultural and food chemistry*. [Internet]. 2018 [citado 2023 Ene 01]; 66(1), 99-107. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jafc.7b03965>
13. Zaib, S., & Khan, M. R. Protective effect of Cucurbita pepo fruit peel against CCl<sub>4</sub> induced neurotoxicity in rat. *Pak J Pharm Sci*. [Internet]. 2014 [citado 2023 Ene 01]; 27(6), 1967-73. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25362619/>

14. Tian, H., Ding, N., Guo, M., Wang, S., Wang, Z., Liu, H., ... & Li, Z. Analysis of learning and memory ability in an Alzheimer's disease mouse model using the Morris water maze. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*. [Internet]. 2019 [citado 2023 Ene 01]: (152), e60055. Disponible en:  
<https://www.jove.com/t/60055/analysis-learning-memory-ability-an-alzheimer-s-disease-mouse-model>
15. Othman, M. Z., Hassan, Z., & Has, A. T. C. Morris water maze: a versatile and pertinent tool for assessing spatial learning and memory. *Experimental Animals*. [Internet]. 2022 [citado 2023 Ene 02]: 21-0120. Disponible en:  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/expanim/advpub/0/advpub\\_21-0120/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/expanim/advpub/0/advpub_21-0120/_article/-char/ja/)
16. Ahmadnezhad, M., Khodadadi, S., Nasiri Khalili, M. A., & Maleksabet, N. Evaluation of chronic stress on spatial memory using Morris water maze test in animal model. *Journal of Animal Environment*. [Internet]. 2020 [citado 2023 Ene 02]: 12(4), 179-186. Disponible en:  
[http://www.aejournal.ir/article\\_125405.html?lang=en](http://www.aejournal.ir/article_125405.html?lang=en)
17. Salman, T., Nawaz, S., Ikram, H., & Haleem, D. J. Enhancement and impairment of cognitive behaviour in Morri's water maze test by methylphenidate to rats. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. [Internet]. 2019 [citado 2023 Ene 02] 32(3), 899-903. Disponible en:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31278697/>
18. Meenakshi, P. K., Mehrotra, D., Nruthyathi, N., Almeida-Filho, D., Lee, Y. S., Silva, A., & Balaji, J. Novel measures of Morris water maze performance that use vector field maps to assess accuracy, uncertainty, and intention of navigational searches. *Hippocampus*. [Internet]. 2022 [citado 2023 Ene 02]:32(4), 264-285. Disponible en:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/hipo.23404>
19. Hernández-Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. *Metodología de la investigación México: McGraw-Hill Interamericana*. [Internet]. 2018 [citado 2023 Ene 02]Vol. 4, pp. 310-386. Disponible en:  
[http://bvirtual.ucol.mx/exploradores/archivos/gestor\\_bibliotecario.pdf](http://bvirtual.ucol.mx/exploradores/archivos/gestor_bibliotecario.pdf)
20. Melo, O., López, L., & Melo, S. *Diseño de experimentos: métodos y aplicaciones*. Universidad Hispanoamericana. [Internet]. 2020 [citado 2023 Ene 02]. Disponible en:

- <http://13.87.204.143/xmlui/bitstream/handle/123456789/7214/Dise%C3%B1o%20de%20experimentos,%20m%C3%A9todos%20y%20aplicaciones..pdf?sequence=1>
21. Téllez Ballesteros, E., & Vanda Cantón, B. Cuestionamientos éticos a la generación de conocimiento en la investigación biomédica con animales no humanos. *Revista de Bioética y Derecho*, [Internet]. 2020 [citado 2023 Ene 02]; (49), 173-189. Disponible en: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1886-58872020000200012](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1886-58872020000200012)
  22. Universidad Católica de Trujillo Benedicto XVI, Rectorado. "Código de Ética de la Investigación Científica". Aprobado o mediante Resolución Rectoral N° 014-2021/UCT-R, de fecha 03 de febrero 2021. Trujillo. [Internet]. 2021 [citado 2023 Ene 02] Disponible en: [https://www.uct.edu.pe/images/transp/RES\\_0142021\\_R\\_APROBAR\\_CODIGO\\_ETICA\\_INVESTIGACION\\_VERSION\\_10.pdf](https://www.uct.edu.pe/images/transp/RES_0142021_R_APROBAR_CODIGO_ETICA_INVESTIGACION_VERSION_10.pdf)
  23. Ramirez, M. R., Izquierdo, I., Raseira, M. D. C. B., Zuanazzi, J. Â., Barros, D., & Henriques, A. T. Effect of lyophilised Vaccinium berries on memory, anxiety and locomotion in adult rats. *Pharmacological research*. [Internet]. 2015 [citado 2023 Ene 02] 52(6), 457-462. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1043661805001301>
  24. Andre, P., Zaccaroni, M., Fiorenzani, P., Della Seta, D., Menzocchi, M., & Farabollini, F. Offline consolidation of spatial memory: do the cerebellar output circuits play a role? A study utilizing a Morris water maze protocol in male Wistar rats. *Brain Research*. [Internet]. 2019 [citado 2023 Ene 02] 1718, 148-158. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899319302598>
  25. Ichiyanagi, T., Kashiwada, Y., & Nashimoto, M. Large-Scale Isolation of Three O-Methyl Anthocyanins from Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) Extract. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. [Internet]. 2020 [citado 2023 Ene 02] c20-00593. Disponible en: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb/advpub/0/advpub\\_c20-00593/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb/advpub/0/advpub_c20-00593/_article/-char/ja/)
  26. Zorenc, Z., Veberic, R., Stampar, F., Koron, D., & Mikulic-Petkovsek, M. White versus blue: Does the wild ‘albino’ bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) differ in fruit quality compared to the blue one?. *Food chemistry*. [Internet]. 2016 [citado 2023 Ene 02] 211, 876-882. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616308317>

27. Cardeñosa, V., Girones-Vilaplana, A., Muriel, J. L., Moreno, D. A., & Moreno-Rojas, J. M. Influence of genotype, cultivation system and irrigation regime on antioxidant capacity and selected phenolics of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Food Chemistry*. [Internet]. 2016 [citado 2023 Ene 02] 202, 276-283. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616301212>
28. Ancillotti, C., Ciofi, L., Pucci, D., Sagona, E., Giordani, E., Biricolti, S., ... & Del Bubba, M. Polyphenolic profiles and antioxidant and antiradical activity of Italian berries from *Vaccinium myrtillus* L. and *Vaccinium uliginosum* L. subsp. *gaultherioides* (Bigelow) SB Young. *Food Chemistry*. [Internet]. 2016 [citado 2023 Ene 02] 204, 176-184. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461630276X>
29. Milke, L., Aschenbrenner, J., Marienhagen, J., & Kallscheuer, N. Production of plant-derived polyphenols in microorganisms: current state and perspectives. *Applied microbiology and biotechnology*. [Internet]. 2018 [citado 2023 Ene 02] 102(4), 1575-1585. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-018-8747-5>
30. Yan L, Guo MS, Zhang Y, Yu L, Wu JM, Tang Y, Ai W, Zhu FD, Law BY, Chen Q, Yu CL, Wong VK, Li H, Li M, Zhou XG, Qin DL, Wu AG. Dietary Plant Polyphenols as the Potential Drugs in Neurodegenerative Diseases: Current Evidence, Advances, and Opportunities. [Internet]. 2020 [citado 2023 Ene 02] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8885204/>
31. Caruso, G., Torrisi, S. A., Mogavero, M. P., Currenti, W., Castellano, S., Godos, J., ... & Caraci, F. Polyphenols and neuroprotection: Therapeutic implications for cognitive decline. *Pharmacology & Therapeutics*. [Internet]. 2021 [citado 2023 Ene 02] 108013. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725821002151#bb0805>

## ANEXOS

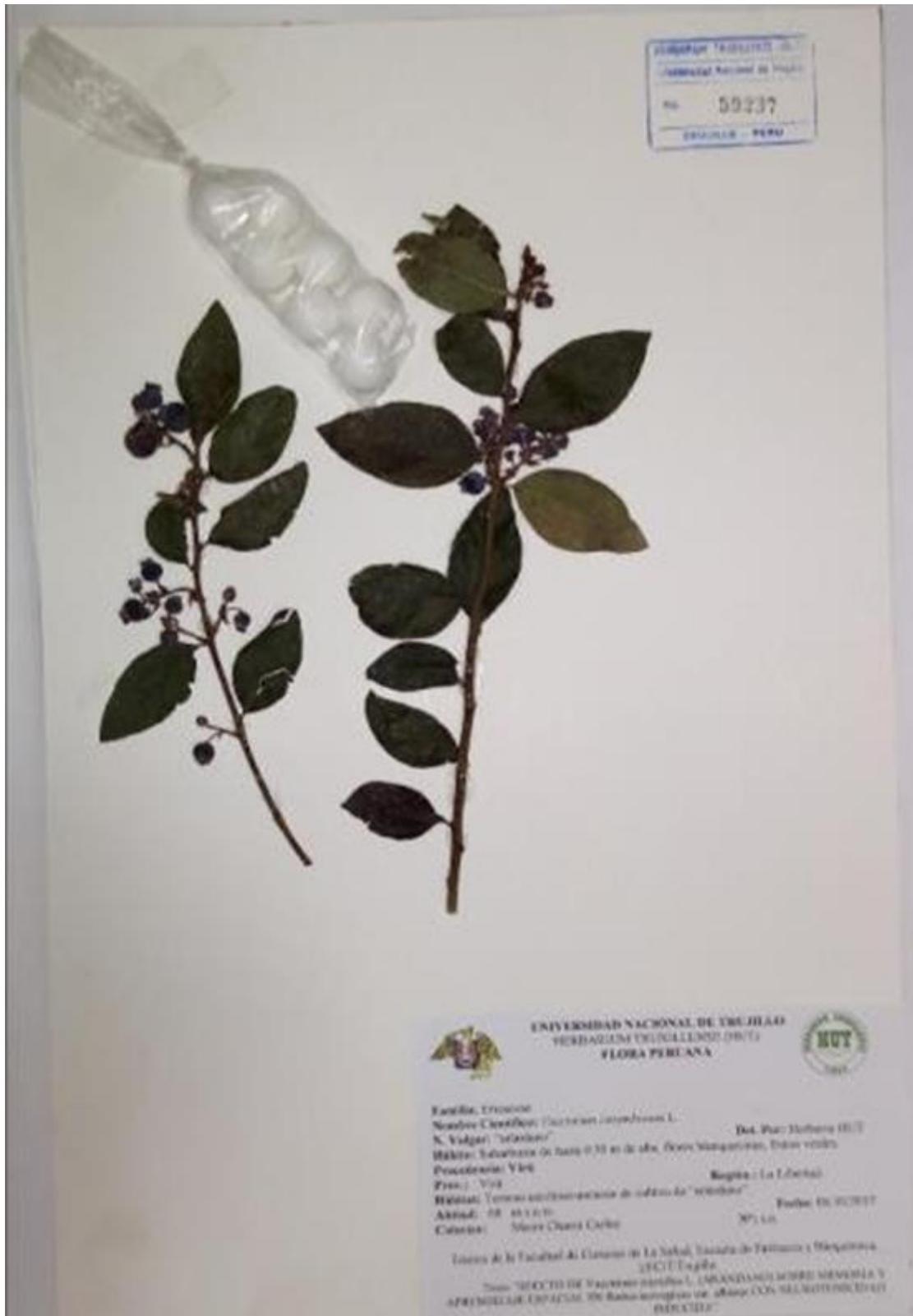
### BASE DE DATOS

Control (Agua)	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
R1	16.6	15.31	15.34	12.6
R2	17.8	18.02	19.06	13.9
R3	18.8	19.66	15.25	13.8
R4	20.2	15.74	10.2	13.5
R5	21.6	15.04	13.31	15
PROMEDIO	19.00	16.75	14.63	13.76
DS	2.0	2.0	3.2	0.9

Experimental 01	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
R1	17.25	16.1	12.6	14.41
R2	16.73	13.2	11.9	10.66
R3	13.12	11	10.58	9.74
R4	9.68	9.1	9.74	9.36
R5	9.05	8.5	9.43	8.98
PROMEDIO	13.17	11.58	10.85	10.63
DS	3.8	3.1	1.4	2.2

Experimental 02	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
R1	17.8	14.46	14.85	11.15
R2	15.2	12.85	10.05	9.91
R3	13	12.28	12.14	9.84
R4	7	8.13	9.44	8.66
R5	6.1	8.35	6.03	8.84
PROMEDIO	11.82	11.21	10.50	9.68
DS	5.1	2.8	3.3	1.0

CERTIFICACION DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT)





UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO  
HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT)  
FLORA PERUANA



**Familia:** Ericaceae

**Nombre Científico:** *Vaccinium corymbosum* L.

**N. Vulgar:** "arándano"

**Det. Por:** Herbario HUT

**Hábito:** Subarbusto de hasta 0.50 m de alto, flores blanquecinas, frutos verdes.

**Procedencia:** Virú

**Prov.:** Virú

**Región.:** La Libertad

**Hábitat:** Terreno arcilloso-arenoso de cultivo de "arándano".

**Altitud:** 68 m.s.n.m.

**Fecha:** 06/10/2017

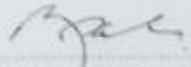
**Colector:** Marin Charca Carlos

**Nº:** s.n.

Tesista de la Facultad de Ciencias de La Salud, Escuela de Farmacia y Bioquímica,  
ULADECH-Trujillo.

Tesis: "EFECTO DE *Vaccinium myrtillus* L. (ARÁNDANO) SOBRE MEMORIA Y  
APRENDIZAJE ESPACIAL EN *Rattus norvegicus* var. *albinus* CON NEUROTOXICIDAD  
INDUCIDA"

# INSTITUTO NACIONAL DE SALUD- CERTIFICADO SANITARIO

	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO		
CERTIFICADO SANITARIO N°		215-2017	
Producto	: Rata Albina	Lote N°	: R - 09- 2017
Especie	: <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad	: 01
Cepa	: Holtzman	Edad	: Mes 1/2
Peso	: 10 g.	Sexo	: macho
G.R.	: 034845	Destino	: Marin Charca, Jorge
Lima	: 26-09-2017		
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, <b>Arturo Rosales Fernández</b>, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia : P.R.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p> <p>Chorrillos, 28 de Setiembre del 2017. (Fecha de atención y emisión del certificado)</p> <p>NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>			
		 M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586	

## EXTRACTO HIDROALCOLICO DEL ARANDANO



## LABERINTO ACUATICO DE MORRIS



### MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO	FORMULACION DEL PROBLEMA	HIPOTESIS	OBJETIVOS	VARIABLE	DIMENSIONES	METODOLOGIA
EFECTO DEL FRUTO <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (ARÁNDANO) SOBRE MEMORIA Y APRENDIZAJE EN <i>Rattus norvegicus</i> var. albinus CON TOXICIDAD INDUCIDA	¿Cuál es el efecto del fruto de <i>vaccinium corymbosum</i> l. (arándano) sobre la memoria y aprendizaje espacial en <i>rattus norvegicus</i> var albinus con toxicidad inducida por tetracloruro de carbono?	<p><b>Hipótesis general:</b> El fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.(arándano) tiene efecto sobre la memoria y el aprendizaje espacial en <i>Rattus norvegicus</i> var. albinus con toxicidad Inducida.</p> <p><b>Hipótesis específicas:</b> A dosis de 200mg/kg y 400mg/kg del extracto del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.(arándano) tiene efecto sobre la memoria y el aprendizaje espacial en <i>Rattus norvegicus</i> var. albinus con toxicidad Inducida.</p>	<p><b>Objetivo general:</b> Determinar el efecto del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano) sobre la memoria y aprendizaje espacial en <i>Rattus norvegicus</i> var. albinus con neurotoxicidad inducida.</p> <p><b>Objetivo específico:</b> .-Evaluar el efecto del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> en dosis de 200 y 400 mg/kg pc sobre la memoria y aprendizaje espacial en <i>Rattus norvegicus</i> var. albinus con neurotoxicidad inducida. .-Comparar el efecto del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> entre las dosis de 200 y 400 mg/kg pc sobre la memoria y aprendizaje espacial en <i>Rattus norvegicus</i> var. albinus con neurotoxicidad inducida.</p>	<p><b>Independiente:</b> Las concentraciones del extracto de <i>vaccinium corymbosum</i> L(Arandano)</p> <p><b>Dependiente:</b> Efecto sobre memoria y aprendizaje espacial.</p>	<p>.-Cualitativa nominal.</p> <p>.-Cuantitativa</p>	<p><b>Tipo:</b> Experimental</p> <p><b>Método:</b> La investigación fue experimental, cuantitativa, longitudinal</p> <p><b>Diseño:</b> Experimental</p> <p><b>Población:</b> Frutos de <i>Vaccinium corymbosum</i>.</p> <p><b>Muestra:</b> <b>Vegetal:</b> Se recolectó 3Kg de los frutos procedentes del distrito de Chao Provincia de Virú, Departamento de La Libertad. Animal:<i>Rattus norvegicus</i> de 10g del bioterio del Intituto Nacional de Salud-Lima, grupos de tres conformados por seis <i>rattus</i>. <b>Técnicas</b> El estudio consiste en la evaluación a la memoria espacial de ratas y una exposición posterior a un agente neurotóxico,</p>

						<p>relacionando de esta manera la presencia de ciertos metabolitos secundarios presentes en los arándanos y su capacidad neuro protectora</p> <p><b>Instrumento de recolección de datos:</b> Se utilizó una ficha para recolección de datos para cada grupo.</p> <p><b>Método de análisis de investigación:</b> La investigación fue experimental, cuantitativa, longitudinal</p>
--	--	--	--	--	--	---