

---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA**

**EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA  
SEMILLA DE *Glycine max* (SOYA) SOBRE LA MEMORIA  
Y APRENDIZAJE ESPACIAL EN *Rattus rattus var albinus*  
CON MENOPAUSIA INDUCIDA**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DEL QUÍMICO  
FARMACÉUTICO

AUTORA:

**Bach. ENRIQUEZ FLORES, YASMIN DIANA**

ASESOR:

**Mgtr. LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO**

**TRUJILLO-PERÚ**

**2019**

## **JURADO EVALUADOR DE TESIS**

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

**Presidente**

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

**Miembro**

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

**Miembro**

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

**Docente Tutor Investigador**

## **AGRADECIMIENTOS**

En estas cortas palabras quiero agradecer primeramente a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad.

Agradecer a mis padres por apoyarme en cada momento, formarme con buenos valores, darme la oportunidad de tener una buena educación y motivarme a ser mejor cada día con el ejemplo.

Agradecer al Docente Tutor de Investigación designado por la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, por la dedicación, paciencia y apoyo que me ha brindado con sus sugerencias e ideas.

## **DEDICATORIA**

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A Mis Padres, pilares fundamentales en mi vida. Sin ellos, jamás hubiese podido conseguir lo que hasta ahora. Su tenacidad y lucha insaciable han hecho de ellos el gran ejemplo a seguir y destacar, no solo para mí, sino para mis hermanos y familia en general.

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental, nivel explicativo y enfoque cuantitativo. Se realizó con el objetivo de evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus rattus var albinus* con menopausia inducida. Para este trabajo de investigación se utilizaron 24 especímenes de experimentación y distribuidos en cuatro grupos, grupo blanco (sin ovariectomía), grupo control (ovariectomía bilateral), grupo estándar (ovariectomía bilateral más Benzoato de estradiol a dosis de 0.25mg/kg) y grupo experimental (ovariectomía bilateral más extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (Soya), administrado en dosis de 720 mg/kg/día por sonda orogástrica); durante 14 días, todos los grupos realizaron el test de la piscina de Morris. Los resultados del tiempo inicial y final fueron: para el grupo blanco  $102.67 \pm 54.74$  y  $16.33 \pm 14.44$ , grupo control  $52 \pm 27.00$  y  $25.16 \pm 16.84$ , grupo estándar  $48.16 \pm 28.24$  y  $13 \pm 12.01$  y experimental  $48.16 \pm 28.24$  y  $16.16 \pm 11.17$ . Los resultados fueron sometidos a la prueba ANOVA, se observa una significancia  $< 0.05$ , es decir existe diferencia estadísticamente significativa. Así mismo el efecto fitoestrogénico del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) es similar al Benzoato de estradiol, con una significancia de 0.78, siendo  $> 0.05$ . Se concluye que el extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (Soya) presenta efecto fitoestrogénico, sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus rattus var albinus* con menopausia inducida.

Palabras claves: ovariectomía, semilla de *Glycine max*, isoflavonas, fitoestrogénico, memoria y aprendizaje.

## ABSTRACT

This research was experimental, explanatory level and quantitative approach. It was conducted to evaluate the effect of the hydroalcoholic extract of the seed of *Glycine max* (soybean) on memory and spatial learning in *Rattus rattus var albinus* with induced menopause. For this research 24 experimental specimens were used and divided into four groups, group blank (without ovariectomy), control group (bilateral oophorectomy), standard group (bilateral ovariectomy plus estradiol benzoate at doses of 0.25mg / kg) and group experimental (bilateral oophorectomy more hydroalcoholic extract Seed *Glycine max* (Soybean), administered at doses of 720 mg / kg / day via gavage); for 14 days, all test groups performed the Morris pool. The results of the initial and final times were: for the white group  $102.67 \pm 54.74$  and  $16.33 \pm 14.44$ , Control group  $52 \pm 27.00$  and  $25.16 \pm 16.84$ , standard group  $48.16 \pm 28.24$  and  $13 \pm 12.01$  and experimental  $48.16 \pm 28.24$  y  $16.16 \pm 11.17$ . The results were submitted to ANOVA test, a significance  $<0.05$ , ie observed statistically significant difference exists. Likewise, the phytoestrogen effect of hydroalcoholic extract of the seed of *Glycine max* (soybean) is similar to estradiol benzoate, with a significance of 0.78, being  $> 0.05$ . It is concluded that the hydroalcoholic extract of seed of *Glycine max* (Soybean) It presents phytoestrogen effect on memory and spatial learning in *Rattus rattus var albinus* with induced menopause.

Keywords: ovariectomy, *Glycine max* seed, isoflavone, phytoestrogen, memory and learning.

## CONTENIDO

AGRADECIMIENTO .....	iii
DEDICATORIA .....	iv
RESUMEN .....	v
ABSTRACT .....	vi
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA .....	12
2.1. Antecedentes .....	12
2.2. Bases teóricas .....	15
III. HIPÓTESIS.....	20
IV. METODOLOGÍA .....	21
4.1. Diseño de la investigación. ....	21
4.2. Población y muestra.....	22
4.3. Definición y Operacionalización de las variables.....	24
4.4. Técnicas e Instrumentos: .....	26
4.6. Plan de análisis .....	29
4.5. Matriz de consistencia.....	30
4.7. Principios éticos .....	31
V. RESULTADOS .....	32
5.1. Resultados .....	32
5.2. Análisis de resultados .....	34
VI. CONCLUSIONES.....	40
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS.....	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	42
ANEXOS .....	51

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i> (soya) sobre la memoria y aprendizaje espacial en <i>Rattus rattus var albinus</i> con menopausia inducida expresado en tiempo según el test de Morris.....	32
<b>Tabla 2:</b> Efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i> (soya) sobre la memoria y aprendizaje espacial en <i>Rattus rattus var albinus</i> con menopausia inducida comparado con <i>Rattus rattus var albinus</i> con Benzoato de estradiol expresado en tiempo según el test de Morris.....	33



## **I. INTRODUCCIÓN**

La presente investigación considera como principal propósito de estudio en el contexto de salud, la investigación en plantas medicinales para recursos de importancia terapéutica. La medicina moderna, por medio de los análisis clínicos, ha conseguido detallar la efectividad de aquellas plantas que por costumbre habían sido utilizadas a base del método de ensayo y error, muchas lograron ser válidas; otras demostraron ser inofensivas; otras eventualmente peligrosas. Debido a los beneficios de la utilización de las plantas, en los últimos años viene reuniéndose una cantidad progresiva de evidencias clínicas que amparan la utilización de preparados a base de plantas para la terapia de muy diversas afecciones, y precisamente para el abordaje terapéutico de los problemas provenientes de la menopausia <sup>(1)</sup>.

La menopausia es en general, un momento complicado para la mujer, se debe estimar que los problemas psicofísicos relacionados con ella implican alteraciones en el conjunto del organismo. La menopausia es la etapa en que termina la fase reproductiva de la mujer. También la menopausia comienza al cesar la menstruación. Con el transcurrir del tiempo, los ovarios dejan gradualmente la posibilidad de elaborar estrógeno y progesterona que son las hormonas que gradúan el periodo menstrual, como cuando la fabricación de estrógeno disminuye, la ovulación y menstruación acontece a muy menudo, y eventualmente se detienen. La menopausia es una fase común de la vida, así como la pubertad, esta es la fase final del ciclo menstrual, pero las manifestaciones pueden acontecer varios años antes <sup>(1)</sup>.

Alguna de las manifestaciones de la menopausia puede persistir por meses o permanecer por varios años después. La variación en los niveles de estrógeno y progesterona, las cuales son dos hormonas femeninas que se reproducen en los ovarios, podrían generar estas manifestaciones. Las mujeres pueden experimentar distintas señales o síntomas durante la menopausia, eso acontece porque el estrógeno es utilizado por abundantes partes de nuestro organismo. En consecuencia, a medida que va teniendo menos estrógeno, la mujer va adquiriendo varios síntomas <sup>(2)</sup>.

El fenómeno fisiológico de la menopausia se traduce en una insuficiencia en la secreción cíclica mensual de los ovarios. El ovario produce una serie de hormonas desde la pubertad hasta la menopausia (estrógenos, progesterona y testosterona en pequeñas cantidades), que, al actuar sobre diversos órganos, darán lugar al ciclo menstrual. Como resultado de esto se produce mensualmente la liberación de un óvulo fecundable, y si éste no es fecundado se producirá la menstruación <sup>(3)</sup>.

Las hormonas ováricas provocan una serie de estímulos que llegan al sistema nervioso central donde tras su integración se emite unas señales periódicas a la hipófisis. Ésta responde con la liberación cíclica de gonadotrofinas (GnRH), entre ellas la llamada “hormona estimuladora del folículo”, conocida como FSH y la hormona lutenizante (LH). Ambas hormonas controlan directamente el crecimiento y desarrollo del folículo ovárico. Cuando se produce un aumento en sangre de estrógenos hasta una cifra conocida como “pico” provoca una señal en el hipotálamo informando de que el óvulo ya está preparado para la siguiente fase. La GnRH hipotalámica transfiere dicha información a la hipófisis para que produzca LH, finalizando así la etapa de maduración del óvulo, promoviendo la

rotura folicular y la salida de éste. En este mismo momento se está produciendo el cuerpo lúteo (folículo sin huevo), a partir de ese momento el cuerpo lúteo asume la producción de estrógenos y progesterona durante unos 14 días. Durante estos días los niveles de estas hormonas van disminuyendo provocando la menstruación que es la respuesta de la capa interna del útero <sup>(3)</sup>.

A medida que van pasando los años, el ovario de una mujer almacena menor número de óvulos y de forma paralela disminuye la producción de hormonas (estrógenos y progesterona). Así en torno a los 50 años la producción hormonal del ovario es tan baja que ya no puede seguir estimulando al endometrio, por tanto, desaparece la menstruación, dando paso a la menopausia. La disminución de estrógenos, en sangre produce una serie de modificaciones en todo el organismo, uno de ellos es en el sistema nervioso central, la falta de éstos puede provocar alteraciones nerviosas, comportamentales y problemas de memoria y aprendizaje durante la menopausia <sup>(3)</sup>.

El resultado de las variaciones hormonales y la evolución del envejecimiento que acontece en el tiempo de la menopausia, presenta diferentes manifestaciones que perjudican a varias mujeres en su condición de vida. Así mismo la menopausia y la posmenopausia se han vinculado con numerosos síntomas. Este momento ha conducido a que varias mujeres y profesionales posean un enfoque negativo de la menopausia considerándose a medicar en exageración en este periodo de vida, por eso en esta etapa de la vida de las mujeres es notable distinguir los síntomas y dilemas de salud que están coligados con la interrupción de la función ovárica y cual no; de esa manera es fundamental reconocer que tratamientos y participación son eficientes y confiables y en qué ocasión es aconsejable determinado modelo de actuación <sup>(3)</sup>.

Entre las principales alternativas terapéuticas más eficientes para las mujeres con síntomas de la menopausia que no desean recurrir a fármacos de síntesis, tenemos la Soya <sup>(4)</sup>.

La soya es un alimento abundante en proteína, lo que establece que sea una opción para vegetarianos. Además, diferentes estudios han comprobado que favorece a reducir el colesterol, atenúa los síntomas de la menopausia y la osteoporosis, evita ciertos cánceres hormono dependientes como el cáncer de mama, del endometrio y próstata. Es uno de los designados alimentos funcionales, por los grandes beneficios que aporta, no solo nutricionales <sup>(4)</sup>.

A través de distintas investigaciones, se han podido distinguir componentes bio-activos en la soya que, además, tienen magníficos efectos beneficiosos para la salud. Entre ellos, las isoflavonas forman parte de una subclase de un grupo mayor de fitoquímicos, llamados flavonoides, los más conocidos son las isoflavonas, que se hallan en una gran diversidad de vegetales, especialmente en la soya, son constituyentes vegetales que logran estimular receptores de estrógeno en la persona. Las isoflavonas se agrupan como interruptores endocrinos, químicos que intervienen con las funciones naturales de las hormonas. Las isoflavonas importantes presentes en la soja son la genisteína, la daidzeína y la gliciteína <sup>(5)</sup>.

La soya es el origen esencial de proteína y aceite vegetal del mundo, y uno de los cultivos más tradicionales conocidos por el hombre. En Oriente se utilizó con éxito en la alimentación humana como grano entero, harina tostada, grano germinado y fermentado, leche, queso y salsa de soya, etcétera. Se trata de una leguminosa con excelente valor nutrimental, pues la semilla comprende un alto grado proteico y de fibra (carbohidratos),

un nivel disminuido en la cantidad de grasa saturada y cenizas, donde se encuentran minerales como hierro, calcio y zinc. Además, por su origen vegetal, no presenta colesterol. La soya, a diferencia de otros vegetales, proporciona proteína de alta condición biológica semejante a la de origen animal, que complementa a las de los cereales <sup>(5)</sup>.

Entre los efectos esperados de la incorporación de la soya se encuentran la ampliación en el consumo de proteínas, un cambio de rutina de consumo, el incremento de las alternativas alimentarias y la adquisición de una mayor variedad y combinación de alimentos. Por otra parte, existe un íntimo vínculo entre el funcionamiento normal del cuerpo y el aspecto físico de una persona, ya que ambos reflejan su condición actual de salud. Una alimentación rebotante en granos, leguminosas, frutas y verduras proporciona las cantidades necesarias de proteínas, carbohidratos, lípidos, minerales y vitaminas para sostener una vida saludable y, por consiguiente, un buen aspecto físico <sup>(6)</sup>.

El frijol de soya tiene una virtud muy peculiar: con él se pueden preparar muchos alimentos idénticos en su apariencia y sabor a los de origen animal, como leche, carne, queso, etcétera. Y además es tan grande su poder proteico, que un kilo de harina de soya contiene numerosas proteínas como las que se existen en 2.3 kilos de carne sin hueso, o en seis docenas de huevo, o en 15 litros de leche, o en dos kilos de queso. Además, tiene un precio muy bajo en comparación con los costos de los alimentos de procedencia animal <sup>(6)</sup>.

Las isoflavonas de la soya son un conjunto de elementos que presentan una configuración semejante a los estrógenos del ser humano. Por eso interviene como tales en el organismo, suministrando ganancia a la mujer en la menopausia, también, tiene efecto como una

molécula capaz de demorar o impedir la oxidación de otras moléculas en el organismo. Las isoflavonas son una agrupación de componentes vegetales que se encuentran en la semilla de la soya, una legumbre utilizada por costumbre en China, Japón y otros países orientales. Químicamente, las isoflavonas son polifenoles, un conjunto de más de seiscientos elementos distintos muy difundidos en medio de todos los productos de procedencia vegetal. El rol de las isoflavonas es valorado grandemente y ahora es causa de fuerte investigación <sup>(7)</sup>.

La duplicada función de las isoflavonas (actuando a la vez como estrogénicas y antiestrogénicas), le otorgan una secuencia de características que posibilitan regularizar el balance hormonal en la mujer, logrando prever la osteoporosis e intervenir como fuertes antioxidantes que resguardan frente a la evolución de cáncer de mama; las Isoflavonas provocan esto al luchar con el mismo estrógeno del ser humano por los semejantes espacios receptores en las células. Las Isoflavonas también pueden obtener acción estrogénica, si durante la menopausia, el nivel innato del cuerpo del estrógeno decae, las isoflavonas pueden recompensar esto juntándose a los mismos sitios del receptor de tal forma que calma las manifestaciones de la menopausia <sup>(7)</sup>.

El especial modo de alimentarse de isoflavonas es en la manera de soya, así se consigue favorecerse de diferentes ingredientes beneficiosos de la misma. La soya comprende muchas Isoflavonas, pero los más provechosos son genisteína y daidzeína, pueden localizarse las proporciones más elevadas de isoflavonas en las semillas de la soya. Las Isoflavonas son suficientemente inalterables y no se rompen bajo circunstancias habituales de cocción <sup>(7)</sup>.

En algunos casos las isoflavonas forman parte importante de la terapia de reemplazo hormonal, ya que el tratamiento incluye mejorar el estilo de vida de una forma natural <sup>(8)</sup>. La terapia de reemplazo hormonal (HRT) es una especie de tratamiento en el que el cuerpo acepta hormonas para prevenir o tratar determinadas afecciones médicas (como lidiar los síntomas de la menopausia en las mujeres y prevenir la osteoporosis). Las hormonas que se usan en la HRT son hormonas sintéticas llamadas fitoestrogenos, que denota que están creadas en un laboratorio (y no por el cuerpo) pero, una vez que están dentro del cuerpo, se comportan como si fueran hormonas naturales <sup>(8)</sup>.

A los fitoestrógenos se les han asignado abundantes actos beneficiosos, y quizás la más trascendental sea la probabilidad de menguar el peligro de cáncer de mama. Desde hace varios años se comprende que las poblaciones con dominante alimentación de soya, como las de China y Japón, tienen un peligro insignificante de desarrollar cáncer de mama, estos elementos tienen una interesante labor antioxidante y también operaciones semejantes, aunque notablemente más frágiles, que los estrógenos u hormonas sexuales femeninas. Este singular acto “hormonal” atribuye a los fitoestrógenos determinadas peculiaridades muy atractivas en la profilaxis y cura de algunas enfermedades, por lo que han sido quizás los fitoquímicos más investigados <sup>(8)</sup>.

Se reporta que los cambios cognitivos que ocurren durante la mitad de la vida se relacionan con el envejecimiento y la transición a la menopausia, debido a la abrupta disminución de las concentraciones de estrógenos <sup>(9)</sup>.

A la disminución de las concentraciones de estrógeno se le han atribuido problemas con la memoria porque el estrógeno tiene efectos neuroprotectores y neurotróficos. En el

sistema colinérgico los receptores de estrógeno intervienen en la regulación de la memoria y el aprendizaje, en el hipocampo, encargado de la función cognitiva, el estradiol modula los procesos de atención primaria y viso-espacial, la memoria episódica verbal, la de evocación y la reciente. De igual manera, el sistema glutamato, un segundo sistema neurotransmisor que participa en el aprendizaje y la memoria, está influido por el estrógeno. Éste estimula las neuronas y su capacidad para comunicarse entre sí y puede contribuir a la regulación de genes que influyen en la supervivencia, diferenciación, regeneración y plasticidad de éstas <sup>(9)</sup>.

Las hormonas sexuales verifican la flexibilidad neuronal al transformar la densidad de las puntas dendríticas en una neurona. La carencia o el descenso de la calidad de hormonas sexuales, como acontece en mujeres menopáusicas, pueden estar en paralelo con el incremento de padecimientos neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson o demencia. Se aspira que la terapia hormonal sustitutiva en la mujer menopáusica puede menguar la progresión de este modelo de patologías, esto alude que los estrógenos y progestágenos conseguirían tener una actuación crucial en el dominio de la plasticidad y la transferencia de la información entre neuronas y un impacto protector contra los daños originados de las enfermedades neurodegenerativas <sup>(10)</sup>.

Ante lo expuesto propongo dilucidar el siguiente problema de investigación:

¿Cuál es el efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus rattus var albinus* con menopausia inducida?



## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General.**

- Evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus rattus var albinus* con menopausia inducida.

### **Objetivos específicos.**

- Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) a dosis de 720 mg/kg/día sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus rattus var albinus* con menopausia inducida expresado en tiempo según el test de Morris.
- Comparar el efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus rattus var albinus* con menopausia inducida y en *Rattus rattus var albinus* con Benzoato de estradiol expresado en tiempo según el test de Morris.

La investigación propuesta busca, mediante la aplicación de la teoría y la experimentación proponer a la semilla de *Glycine max* “SOYA” como una alternativa de fitoestrógenos naturales con efecto fitoestrogénico, para comprobar que existe mejoras en la memoria y aprendizaje espacial y también como terapia de reemplazo hormonal en la etapa de la menopausia, ya que esta etapa representa la transición entre el período fértil y la vejez. a

pesar de no ser una enfermedad, estimula, en la mayoría de las mujeres, síntomas molestos que modifican la dinámica social y laboral <sup>(3)</sup>.

Es momento de entender que solo se lograra un importante impacto en la salud pública cuando los profesionales de salud y la población se informe sobre el tema de fitoestrógenos de la semilla de *Glycine max* (soya), y adquieran técnicas y estrategias alimenticias para poder tratar y reducir los sintamos molestos de la menopausia y mejorar el aprendizaje y memoria espacial ya que las hormonas sexuales interviene mucho en el aprendizaje y memoria de las personas, por eso se propone la utilización de la semilla de *Glycine max* (soya), que es un complemento alimenticio y además es un fitoestrógeno natural para las mujeres en la etapa de la menopausia <sup>(4)</sup>.

Los estrógenos son esteroides endocrinos que tienen un papel elemental en la normalización de la evolución sexual y los periodos reproductivos en las mujeres. El estrógeno también se localiza en hombres, pero mínimas proporciones. El sistema en la que los estrógenos trabajan es emigrando al núcleo de las células y estimulando al receptor de estrógeno, cuando esto acontece, hay variaciones en la manifestación genética que encaminan a algunas consecuencias fisiológicas. El dilema con el receptor de estrógeno es que no selecciona muy bien en correlación a las sustancias que logran estimular, y algunas semejantes al estrógeno también pueden ocasionar una respuesta <sup>(6)</sup>.

Con base en esta preocupación, se han desarrollado productos fitoterapéuticos, que son los fitoestrógenos que se promocionan como alternativas eficaces y más seguras. La soya abarca enormes proporciones de elementos biológicamente activos nominados isoflavonas, que trabajan como fitoestrógenos, es decir, elementos vegetales que logran estimular receptores de estrógeno en el ser humano <sup>(7)</sup>.

Sin ninguna desconfianza, integrar la soya y sus productos a la dieta será muy provechosa para la etapa de la menopausia, asimismo, obrar por medio de la leche de soya brinda también calcio, tan inevitable para prevenir la osteoporosis, pero también, es conveniente incluir también ciertas rutinas de vida saludable para que el resultado sea favorecido, entre ellos se ubica: tener una vida activa y con escaso sedentarismo; exponerse al sol quince minutos diarios con cuidado solar para otorgar vitamina D, que nos permite absorber de una mejor forma el calcio de los alimentos; eludir el tabaco y el alcohol, y, ante todo, portar una dieta agradable en frutas, verduras y calcio <sup>(4)</sup>.

## II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

### 2.1 ANTECEDENTES

Bansal N., Parle M. En el 2010 en la India, realizaron un estudio designado “Efecto de la suplementación con soja en la memoria de ratones amnésicos inducidos por alprazolam”, donde demuestra que la soja contiene isoflavonas (genisteína, daidzeína y glicetina) en cantidad abundante; es muy posible que los efectos antiamnésicos observados se deban a estas isoflavonas. Las isoflavonas de soja tienen un efecto estrogénico y se ha informado que las isoflavonas de soja pueden mejorar las funciones cognitivas al imitar los efectos del estrógeno (especialmente a través del receptor de estrógeno  $\beta$ ) en el cerebro. Se ha demostrado que el estrógeno puede mejorar significativamente la función basal, la función colinérgica del cerebro anterior, aumenta la captación de colina y estimula la liberación de acetilcolina. La acetilcolina se considera el neurotransmisor más importante involucrado en la regulación de las funciones cognitivas <sup>(11)</sup>.

Catalino de la Rosa T. y col., en el 2012 en Colombia, realizaron un estudio designado “Cuantificación de flavonoides totales en el extracto metanólico de *Glycine max* (soya) y su efecto larvicida contra *Aedes Aegypti*.”, donde muestran la marcha fitoquímica realizada al extracto metanólico de la semilla de *Glycine max*, confirmó la presencia de flavonoides, dando resultados positivos para las pruebas de Shinoda y Pacheco. El contenido de flavonoides totales fue 16.528%. Por HPLC se determinó el contenido de

isoflavonas como daidzeína  $4.779 \times 10^{-3}$  mg/mL, genistina 0.012002 mg/mL, gliciteína 0.065597 mg/mL, genisteína 0.00008 mg/mL <sup>(12)</sup>.

Hamad A. et al. en el 2016 en Malasia, realizaron una investigación designada “Mejora de la memoria en ratas por extractos de soja y Tempeh se asocia con aumento de la actividad colinérgica y reducción de la actividad inflamatoria”, en donde menciona que las neuronas colinérgicas del cerebro desempeñan un papel vital en los déficits cognitivos, ya que la actividad excesiva de acetilcolinesterasa conduce a una deficiencia constante de acetilcolina y deterioro cognitivo, se utilizó el laberinto de brazos radiales (RAM) para evaluar los efectos de los extractos de soja y tempeh sobre el aprendizaje espacial y la memoria de los animales, dando como resultado que las isoflavonas de soja y el extracto de tempeh facilitaron la actividad colinérgica central al elevar los niveles de acetilcolina e inhibir la actividad de la enzima colinesterasa en el cerebro. Concluyeron que ambos extractos tienen la capacidad de mejorar el rendimiento cognitivo <sup>(13)</sup>.

Go J. et al. En el 2016 en Corea, realizaron una investigación designada “Efectos neuroprotectores de los productos de soja fermentadas (cheonggukjang) fabricados por cultivo mixto de *Bacillus subtilis* MC31 y *Lactobacillus sakei* 383 en trimethyltin- ratones con defectos cognitivos inducidos”, en el estudio menciona que la barrera hematoencefálica (BBB) juega un papel importante en el control de xenobióticos que entran en el cerebro y mantenimiento de microambiente del cerebro; el estudio ha

demostrado que los flavonoides, así como los polifenoles son capaces de atravesar BBB, aunque su potencial de penetración es dependiente de la lipofiliidad compuesta y que los flavonoides y los polifenoles detectados en CGK podrían ser transportados con éxito al cerebro de ratones con daño neurotóxico, dando como resultado que la pérdida memoria a corto y largo plazo inducida por el tratamiento TMT se mejoró significativamente en el grupo pretratado-CGK en una forma dependiente de la dosis, también se observó una supresión significativa de la acetilcolinesterasa actividad (AChE). Concluyeron que CGK juega un papel importante en el desarrollo y la supervivencia de las neuronas periféricas y centrales específicos, así como la mejora en el punto del aprendizaje y la actividad de la memoria <sup>(14)</sup>.

Xiao Y. et al. en 2017 en China, realizaron una investigación designada “Evaluación integral del papel de la soja y los suplementos de isoflavona en los seres humanos y animales durante las últimas dos décadas”, en el estudio se dio como resultado que las isoflavonas, que incluyen genisteína, daidzeína y glicitina, pueden unir a los Receptores de Estrógenos (RE) porque las isoflavonas tienen una estructura similar al 17 -  $\beta$ -estradiol. Las ER tienen dos formas, ER $\alpha$  y ER $\beta$ , que son distribuidos entre diferentes tejidos. La genisteína tiene una mayor afinidad por ER $\beta$  que por ER $\alpha$  (20-30 veces) <sup>(15)</sup>.

## **2.2 BASES TEÓRICAS**

### **Fitoterapia**

La fitoterapia es la medicina que emplea las plantas medicinales con el objetivo de prevenir, tratar o curar las enfermedades. Las clases vegetales que suelen utilizarse son de cualquier tipo desde las hojas hasta las raíces <sup>(16)</sup>.

### **Plantas Medicinales**

Las plantas medicinales, son las que engloban en algunas de sus porciones, elementos activos, los cuales, suministrados en dosificaciones convenientes, reportan resultados medicinales en los padecimientos de los hombres y de los animales en general. Las plantas medicinales han formado parte significativa de la historia y cultura de los pueblos. El uso y aplicación para el alivio de enfermedades, constituye una cultura que se otorga en forma oral de generación en generación <sup>(17)</sup>.

### **Droga Vegetal**

Son sus partes enteras, molidas o pulverizadas (flores, frutos, semillas, tubérculos, cortezas, etc.) frescas o secas, que se utilizan puras o mezcladas, que al obrar de modo selectivo en el individuo vivo son aptos de tratar, atenuar o evitar padecimientos <sup>(18)</sup>.

### **Principio Activo**

Componente responsable del comportamiento o propiedades farmacológicas, biológicas o tóxicas de alguna sustancia o producto fitosanitario. La procedencia de los principios activos puede ser animal, vegetal o artificial <sup>(19)</sup>.

## **Extracto Hidroalcohólico**

Los Extractos Hidroalcohólicos son extractos líquidos concentrados, adquiridos de la extracción de una planta o parte de ella, empleando como solvente alcohol y agua. <sup>(20)</sup>.

## **Soya**

La soya es una hortaliza famosa, empleada hace bastantes siglos, fundamentalmente en el Oriente, debido a sus características alimenticias y también por las cualidades de su aceite, aplicado para múltiples propósitos. La clase botánica encaja al género *Glycine*, correspondiente al género de las Fabaceae <sup>(21)</sup>.

### **Descripción botánica**

La soya es una hortaliza de sembrado periódico, presenta un aspecto bajo, tallo recto, hojas trifoliadas revestidas de filamentos, similares a los vástagos e inflorescencia de aspecto blanco o violáceo, organizado en ramos pequeños de flores que brotan en las axilas de las hojas. Su grano, en cascara, es muy veloso y encierra en su interno entre 1 y 4 granos lisos de tonos heterogéneos. Brotan en verano <sup>(21)</sup>.

### **Composición Química**

Las semillas de soya contienen carbohidratos (15-35%); proteínas: aminoácidos importantes como histidina, lisina, isoleucina, tirosina, etc. (35-40%) y lípidos (15-20%), con un dos a tres por ciento de fosfolípidos, particularmente lecitina. La soya abarca también esteroides saponinas, carotenoides, vitaminas (singularmente del conjunto B), enzimas, ácido fítico e isoflavonas <sup>(21)</sup>.



## **Ovariectomía**

La ovariectomía es la extirpación quirúrgica de los ovarios, la porción del aparato reproductor de la mujer que guarda y libera óvulos para la fecundación y fabrica las hormonas sexuales femeninas <sup>(22)</sup>.

## **Menopausia**

La menopausia es la etapa que vive una mujer en la que se ocasiona el cese común y continuo de la menstruación, en el momento que paulatinamente sus gónadas dejan de trabajar. Este periodo habitual en la mujer suele producirse entre los cuarenta y cincuenta y cinco años de edad. Ellas padecen las irregularidades representativas de esta fase (derivadas de la pérdida de estrógenos): sensaciones repentinas de calor, desvelarse, irritabilidad, variación de humor, etc. <sup>(23)</sup>.

La menopausia se distingue por un descenso de estrógeno, que desencadena los síntomas desagradables de sofocos, sudores nocturnos, trastornos del sueño y sequedad vaginal. Entre estos síntomas de la menopausia, los sofocos son los más molestos. Los síntomas de la menopausia como consecuencia de la disminución de los niveles de estrógenos pueden impactar considerablemente la calidad de vida <sup>(24)</sup>.

La menopausia intensifica el peligro de padecer circunstancias incurables como afección coronaria cardíaca, síndrome metabólico, osteoporosis, confusiones cognitivas y de condiciones de ánimo, por causa de un descenso de la fabricación de forma interna de estrógenos por parte de las gónadas <sup>(25)</sup>.

La menopausia, señala un momento de importantes cambios que tienen como producto modificaciones en todo el organismo femenino. También hay evidentes repercusiones sobre la psiquis de la mujer, que influyen sobre su interrelación con el entorno familiar, laboral y social en general <sup>(26)</sup>.

### **Terapia de Reemplazo Hormonal**

Se designa Terapia de Reemplazo Hormonal (TRH) al manejo de dosis pequeñas de estrógenos y progestinas, en diferentes esquemas y a través de otras vías de administración, para dominar los síntomas peculiares del climaterio femenino y para prevenir o manejar enfermedades crónicas originadas de la carencia duradera de la función ovárica. Los estrógenos pueden ser naturales, semi-sintéticos y sintéticos. De los naturales, el más manejado en Europa es el Estradiol en dosis de uno y dos miligramos diarios <sup>(27)</sup>.

La terapia hormonal de reemplazo (THR) ha revelado normalizar el organismo en mujeres posmenopaúsicas. La THR evidencia una elevación en los grados de IFN- $\gamma$  en mujeres con menopausia habitual y operatoria. Igualmente, la THR disminuye rupturas vinculadas a la osteoporosis en mujeres con manifestaciones de la menopausia por su potencial para acomodar los niveles de IFN- $\gamma$  en mujeres con falta de estrógenos <sup>(28)</sup>.

### **Fitoestrógenos**

Los fitoestrógenos son sustancias constituidas por la mezcla de dos o más componentes diferentes no esteroideos procedentes de las plantas, con frágil acción estrogénica, cien a mil veces mínimo que el estradiol. Corresponden químicamente al grupo de los

polifenoles y se distribuyen en configuración estructural en tres grupos según su estructura molecular: isoflavones, lignans y coumestans. Se han separado fitoestrógenos de bastantes tipos de plantas, entre las cuales la soya es el alimento con gran concentración. De los componentes polifenoles de la soya están las saponinas, los lignans, los fitoesteroles, los inhibidores de proteasa, los fitatos y las isoflavonas. Los fitoestrógenos producen el efecto estrogénico en el momento que existe interrelación con agentes que reciben la señal del 17β-estradiol, aunque su participación es débil <sup>(29)</sup>.

El sistema de operación de los fitoestrógenos es intercedido por la incitación o impedimento de los receptores ERa y ERb los cuales son exclusivos de los estrógenos, por eso se estiman de mucha significancia en los procesos productivos y en la salud de los seres vivos por cambios que logran ocasionar en la fisiología reproductiva <sup>(29)</sup>.

### **Isoflavonas**

Las isoflavonas son impresionantemente equivalentes en estructura química a los estrógenos humanos. El anillo fenólico es un elemento estructural esencial en la totalidad de los compuestos que se juntan a los receptores de estrógenos <sup>(30)</sup>.

Las isoflavonas son el conjunto más grandemente conocido. Las isoflavonas procedentes de la soya dentro de los cuales genisteína y daidzeína son ventajosos en la superación de las manifestaciones neurovegetativos del síndrome climatérico, singularmente en los sofocos, así también en el avance positivo de los criterios de peligro cardiovascular, profilaxis en la disminución mineral ósea afiliada a la menopausia y arreglo del estancamiento genitourinaria posterior a la menopausia <sup>(30)</sup>

### **III. HIPÓTESIS**

#### **3.1 Hipótesis alternativa (H1)**

- ✓ EL extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya), posee efecto fitoestrogénico y realiza mejoras en el aprendizaje y la memoria espacial en la etapa de la menopausia.

#### **3.2 Hipótesis nula (H0)**

- ✓ EL extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya), no posee efecto fitoestrogénico y no realiza mejoras en el aprendizaje y la memoria espacial en la etapa de la menopausia.

## **IV. METODOLOGÍA**

La presente investigación ha sido de tipo experimental, nivel explicativo y enfoque cuantitativo.

### **4.1 Diseño de la investigación**

#### **Grupo Blanco**

El grupo consistió de 6 ratas hembras sin ovariectomía bilateral y recibieron su alimentación normal (agua y comida) durante 2 semanas.

#### **Grupo Control**

El grupo consistió de 6 ratas hembras a las cuales se les realizó una ovariectomía bilateral y recibieron su alimentación normal (agua y comida) durante 2 semanas.

#### **Grupo Estándar**

El grupo consistió de 6 ratas hembras a las cuales se les realizó una ovariectomía bilateral y luego de una semana de recuperación de la cirugía, se les administró Benzoato de estradiol a dosis de 0.25mg/kg<sup>(33)</sup>, solo una vez, ya que la dosis duraba para un mes y recibieron su alimentación normal (agua y comida) durante 2 semanas.

#### **Grupo Experimental**

El grupo consistió de 6 ratas hembras a las cuales se les realizó una ovariectomía bilateral y luego de una semana de recuperación de la cirugía, se les administró extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) a dosis 720 mg/kg/día<sup>(31,32)</sup> por sonda

orogástrica, una vez al día por 14 días y paralelamente recibieron su alimentación normal (agua y comida) durante 2 semanas.

## **4.2 Población y Muestra**

### **Población**

- **Población Animal**

La población estaba constituida por *Rattus rattus var albinus* hembras procedentes del Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia cumpliendo con todo el requisito de bioseguridad en el manejo de animales de experimentación. Los animales de experimentación después de su adquisición fueron aclimatados en ciclos luz - oscuridad de 12 horas. Por un periodo de 7 días. A temperatura de aproximadamente 23°C en lugar de aclimatación.

- **Población Vegetal**

La planta de *Glycine max* (soya) fue recolectada en la ciudad de San Francisco, ubicada en la Región Ayacucho, Provincia La Mar, Distrito de Ayna. Puede crecer desde 20 cm hasta 1 metro de altura y tarda por lo menos 1 día en germinar. Las vainas, tallos y hojas están cubiertas por finos pelos marrones o grises. Las hojas son trifoliadas, tienen de 3 a 4 prospectos por hoja, y los prospectos son de 6-15 cm de longitud y de 2-7 cm de ancho. Las hojas caen antes de que las semillas estén maduras. Las flores grandes nacen en la axila de la hoja y son blancas, rosas o púrpuras. El fruto es una vaina pilosa que crece en

grupos de 3-5, cada vaina tiene 3-8 cm de longitud y usualmente contiene 2-4 (raramente más) semillas de 5-11 mm de diámetro.

## **Muestra**

- **Muestra Animal**

La muestra fue constituida por 24 especímenes *Rattus rattus var albinus*, hembras adultas con un peso entre 250 y 300g

## **Criterios de Inclusión**

- Ratas hembras adultas en perfecto estado sanitario y fisiológico.

## **Criterios de Exclusión**

- Ratas hembras adultas enfermas y en mal estado sanitario.

- **Muestra vegetal**

Se utilizó 2 kg de semillas de *Glycine max* (soya). La *Glycine max* (soya) es una especie de la familia de las leguminosas (Fabaceae) cultivada por sus semillas, de medio contenido en aceite y alto de proteína.

## **Criterios de Inclusión**

- ✓ La planta se encontró en buen estado, no presentaba plagas.
- ✓ Se recolectó una soya robusta y de calidad

## **Criterios de Exclusión**

- ✓ Semillas de soya que presentaban hendiduras o estaban partidas.

### 4.3 Definición y Operacionalización de variables

Variables	Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicadores	Escala de Medición
<b>Extracto Hidroalcohólico de La Semilla de <i>Glycine max</i> (Soya)</b>	Son extractos líquidos concentrados, adquiridos de la extracción de una planta o parte de ella, empleando como solvente alcohol y agua <sup>(20)</sup> .	Se Utilizó una Técnica de extracción para obtener un extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i>	Concentración: Grupo Experimental: Extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i> (soya): 11.34 % Dosis: 720 mg/kg/día	Cualitativa Nominal
<b>Efecto Fitoestrógeno</b>	Los fitoestrógenos presentan acción similar a los estrógenos humanos debido a la afinidad por el receptor estrogénico y, especialmente, por 17β-estradiol <sup>(30)</sup> .	Se determinó mediante la realización del test de la Piscina de Morris para memoria y aprendizaje espacial.	Test de La Piscina de Morris (tiempos de latencia inicial, 12 horas, 72 horas en un Basal, luego a los 7 días y 14 días)	Cuantitativa de Razón



### **Variable dependiente**

#### Efecto Fitoestrógeno

Los fitoestrógenos son compuestos químicos no esteroideos, que se encuentran en los vegetales pero son similares a los estrógenos humanos, y con acción similar (efecto estrogénico) a estos, ya que se ha comprobado la afinidad de los fitoestrógenos por el receptor estrogénico, y especialmente, por 17 B- estradiol. Normalmente se encuentran en muy pequeñas cantidades en los alimentos. Su actividad estrogénica se debe sobre todo a su similitud química con las hormonas animales. Los micoestrógenos tienen efectos similares.

### **Variable independiente.**

Extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya).

Son extractos líquidos concentrados, adquiridos de la extracción de una planta o parte de ella, empleando como solvente alcohol y agua <sup>(20)</sup>. Los fitoestrógenos son una serie de compuestos de origen vegetal, de naturaleza no esteroidea. Las isoflavonas constituyen la categoría química de fitoestrógenos mejor conocida. Se encuentran en numerosas especies vegetales, sobre todo en la familia de las leguminosas; destacan entre ellas, por su alto contenido, la soja (*Glycine max* (L.) Merr., *Fabaceae*) <sup>(34)</sup>.

#### **4.4 Técnicas e Instrumentos de la Investigación.**

##### **Preparación del Extracto Hidroalcohólico de la Semilla de *Glycine max* (soya):**

Se extrajo la semilla del fruto de la Soya que en total fue de 2k de soya (*Glycine Max*), obtuve una soya robusta de alta calidad que no presentaba hendiduras ni estaba partida. Inicialmente lo lave con agua potable para limpiar la soya, luego lo remoje en 4 litros de agua durante 12 horas, luego se retiró toda la cascara de la soya, después mezcle 2 litro de agua y 1 litro de alcohol de 96° (2:1) en una botella, después repartí los 2 k de soya pelada en tres ollas de aluminio y agregue la mezcla de agua y alcohol suficiente hasta tapar la soya, luego realice la cocción a 90 °C por 10 minutos, después retire la soya de la cocina, lo cole con la ayuda de un colador, lo coloque en un recipiente plano de vidrio y procedí a secarlo en el horno a 65 °C por 10 minutos; el proceso de cocción y secado lo realice 39 veces y la numero 40 deje a la soya por medio día en el horno, las sucesivas cocciones y secados logran que las proteínas de la soya se hidrolicen a poli-péptidos, lo cual permite una mejor absorción por el organismo. Con estas sucesivas cocciones y secados también se logra minimizar alguno de los elementos dañinos para el organismo humano como los oligosacaridos, filatos y otros, y permitiendo la exposición de las isoflavonas. Ya que todo este proceso no se pudo realizar en un día, para guardar la soya y continuar a los días siguientes coloque la soya sobre papel kraft, lo cual impedía que la soya se malograra. Luego tuve que proceder a la molienda con molino donde las partículas de la soya alcanzaron un tamaño de 0.3 mm a 0.5 mm, lo cual lo comprobé con la ayuda de un tamiz de 0.5 mm <sup>(35)</sup>.

Para que la soya pueda ser diluida en agua y sea más fácil administrar a las ratas por medio de sondeo, tuvo que ser liofilizada, lo cual duro 4 días. Al finalizar se obtuvo como peso neto de 755 g de extracto, logrando como porcentaje de rendimiento de 37%, deposite y guarde la soya en un frasco, que lo almacene en un lugar que no tenía contacto con la luz, temperaturas altas, ni humedad, para su posterior dilución y administración. (ver anexo N° 06).

**Dosificación y administración del Extracto Hidroalcohólico de la Semilla de *Glycine max* (soya):**

La dosis utilizada del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) fue de 720 mg/kg/día. La administración fue por vía oral, durante 14 días entre las 8:00am – 9:00am horas, utilizando sonda orogástrica

**Cirugía Ovariectomía Bilateral**

Los animales fueron anestesiados por vía intramuscular con la siguiente combinación de drogas: ketamina (K) (75mg/kg) + midazolam (M) (2mg/kg) + xilacina (X) (5 mg/kg), después se coloca en bandeja de disección y luego se rasuro el abdomen de la rata. Luego se realizó una pequeña incisión ventral en la línea media del abdomen, se alcanza el ovario que se separa con una ligadura junto con unos 0.5 cm. del cuerno uterino correspondiente y se extrae de la cavidad peritoneal. La incisión fue cerrada con 3 a 4 puntos de sutura, todos los animales de experimentación sobrevivieron a la cirugía, y fueron tratados con antibiótico Baytril 5% por 3 días y anti -inflamatorio Meloxisan Pet por 3 días. Todos los experimentos fueron realizados una semana después de la cirugía

## **El Test De La Piscina de Morris**

El laberinto acuático de Morris, consiste en una piscina circular de color oscuro, cuyas dimensiones: 180cm de diámetro y 55 cm de altura. Se llenó parcialmente de agua a una altura de 25 cm y se mantuvo a una temperatura de 24°C. La piscina se dividió en cuatro cuadrantes imaginarios iguales a los que se les asignó nombre de puntos cardinales (noreste NE, noroeste NO, sureste SE y suroeste SO). Una plataforma de acrílico transparente (12.5cm x 22cm) permaneció sumergida por debajo de la superficie del agua (1 cm) en uno de los cuadrantes y equidistante de la pared y del centro de la piscina <sup>(36)</sup>.

**En la fase de adquisición**, se introduce al animal con el hocico apuntando hacia las paredes de la piscina para que busque la plataforma durante 60 o 120 segundos. Caso de no encontrarla se le coloca entre 20 o 30 segundos en la plataforma. Se considera que un animal ha encontrado la plataforma cuando permanece en ella 5 o 10 segundos. Después se retira al animal de la plataforma y se le deja descansar brevemente antes de iniciar el siguiente ensayo. Este procedimiento se repite en los distintos ensayos y a lo largo del entrenamiento. La capacidad del animal para localizar eficientemente la plataforma depende de la utilización de las claves que rodean a la piscina <sup>(36)</sup>.

**Prueba final de retención**, durante 60 segundos. 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, siendo el único ensayo, que registró el tiempo que el espécimen permanece en el cuadrante noreste donde estuvo la plataforma (tiempo de permanencia) <sup>(36)</sup>.

Esta prueba permite medir aprendizaje espacial y orientación espacial haciendo uso de diversos tipos de memoria: memoria a corto plazo, memoria de trabajo y memoria a largo plazo <sup>(36)</sup>. (Ver Anexo N°07)

### **Evaluación del Test de La Piscina de Morris**

El Grupo Blanco: No se les realizó ovariectomía bilateral, se obtuvo antes un tiempo basal en segundos (tiempo de latencia inicial, 12 horas y 72 horas) y luego se les entrenó 7 días en la piscina de Morris.

El Grupo Control, Grupo Experimental y Grupo Estándar: Después de una semana de recuperación de realizarles una ovariectomía bilateral, se obtuvo un tiempo basal en segundos (tiempo de latencia inicial, 12 horas y 72 horas) y luego se les entrenó 7 días en la piscina de Morris.

Toma de tiempos en el test de la piscina de Morris a los 7 días de la administración y luego a los 14 días de la administración de estrógenos sintéticos al Grupo Estándar y fitoestrógenos del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) al Grupo Experimental en la piscina de Morris, también a los Grupos Blanco y control (Sin administración).

### **4.5 Plan de Análisis**

Para el análisis de datos se utilizó el programa informático Microsoft Excel y el Microsoft Office y el método estadístico TUKEY y ANOVA. Los resultados se obtendrán de los grupos de estudios, presentados en tablas.

## 4.6 Matriz de Consistencia

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de Investigación y diseño	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de Análisis
<b>EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA SEMILLA DE <i>Glycine max</i> (SOYA) SOBRE LA MEMORIA Y APRENDIZAJE ESPACIAL EN <i>Rattus rattus var albinus</i> CON MENOPAUSIA INDUCIDA</b>	¿Cuál es el efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i> (soya) sobre la memoria y aprendizaje espacial en <i>Rattus rattus var albinus</i> con menopausia inducida?	<p><b>Objetivo General:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i> (soya) sobre la memoria y aprendizaje espacial en <i>Rattus rattus var albinus</i> con menopausia inducida.</li> </ul> <p><b>Objetivos Específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i> (soya) a dosis de 720 mg/kg/día sobre la memoria y aprendizaje espacial en <i>Rattus rattus var albinus</i> con menopausia inducida expresado en tiempo según el test de Morris.</li> <li>• Comparar el efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i> (soya) sobre la memoria y aprendizaje espacial en <i>Rattus rattus var albinus</i> con menopausia inducida y en <i>Rattus rattus var albinus</i> con Benzoato de estradiol expresado en tiempo según el test de Morris.</li> </ul>	<p><b>Hipótesis alternativa (H1):</b></p> <p>EL extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i> (soya), posee efecto fitoestrogénico y realiza mejoras en el aprendizaje y la memoria espacial en la etapa de la menopausia.</p> <p><b>Hipótesis nula (H0):</b></p> <p>EL extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i> (soya), no posee efecto fitoestrogénico y no realiza mejoras en el aprendizaje y la memoria espacial en la etapa de la menopausia.</p>	<p><b>Tipo:</b></p> <p>Experimental, nivel explicativo de enfoque cuantitativo.</p>	<p><b>Variable Independiente</b></p> <p><b>Variable Dependiente</b></p>	<p><b>Extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i>:</b> Se utilizó una técnica de extracción para obtener un extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i></p> <p><b>Efecto Fitoestrógeno</b></p> <p>Se determinó mediante la realización del test de la piscina de Morris para memoria y aprendizaje espacial.</p>	<p>Una concentración % y dosis. Cualitativa Nominal</p> <p>Tiempo en segundos en la realización del test de la Piscina de Morris Cuantitativa de Razón</p>	<p>Prueba Estadística ANOVA</p>

#### 4.7 Principios Éticos

En la utilización de los animales de investigación (Ratas de laboratorio) se tuvieron en cuenta El presente Código de Ética de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote ULADECH que tiene como propósito la promoción del conocimiento y bien común expresada en principios y valores éticos que guían la investigación en la universidad <sup>(37)</sup>.

- **Protección a los animales de Investigación.** – El espécimen en toda investigación es el fin y no el medio, por ello necesitan cierto grado de protección, el cual se determinará de acuerdo al riesgo en que incurran y la probabilidad de que obtengan un beneficio <sup>(37)</sup>.
- **Beneficencia y no maleficencia.** - Se debe asegurar el bienestar de los animales de investigación que participan en las investigaciones. En ese sentido, la conducta del investigador debe responder a las siguientes reglas generales: no causar daño, disminuir los posibles efectos adversos y maximizar los beneficios <sup>(37)</sup>.
- **Justicia.** - El investigador debe ejercer un juicio razonable, ponderable y tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos, y las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas <sup>(37)</sup>.

## V. RESULTADOS

### 5.1. RESULTADOS

**Tabla 1:** Efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus rattus var albinus* con menopausia inducida expresado en tiempo según el test de Morris.

GRUPOS DE TRATAMIENTO	INICIAL	FINAL	SIGNIFICANCIA Valor P
	$\bar{X} \pm DS$ (Tiempo en s)	$\bar{X} \pm DS$ (Tiempo en s)	
<b>BLANCO</b> (Sin ovariectomía bilateral)	102.67 $\pm$ 54.74	16.33 $\pm$ 14.44	0.04
<b>CONTROL</b> (Con ovariectomía bilateral)	52 $\pm$ 27.00	25.16 $\pm$ 16.84	
<b>ESTANDAR</b> (Con ovariectomía bilateral más Benzoato de estradiol a dosis de 0.25mg/kg)	48.16 $\pm$ 28.24	13 $\pm$ 12.01	
<b>EXPERIMENTAL</b> (Con ovariectomía bilateral más extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i> (soya) a dosis de 720 mg/kg/día)	48.16 $\pm$ 28.24	16.16 $\pm$ 11.17	

❖ ANOVA (P < 0.05)



**Tabla 2:** Efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus rattus var albinus* con menopausia inducida comparado con *Rattus rattus var albinus* con Benzoato de estradiol expresado en tiempo según el test de Morris.

<b>Variable dependiente</b>	<b>GRUPOS</b>	<b>GRUPOS</b>	<b>Significancia</b>
FINAL	BLANCO (Sin ovariectomía bilateral)	CONTROL (Con ovariectomía bilateral)	.008
		ESTÁNDAR (Con ovariectomía bilateral más Benzoato de estradiol a dosis de 0.25mg/kg)	.016
		EXPERIMENTAL (Con ovariectomía bilateral más extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i> (soya) a dosis de 720 mg/kg/día)	.003
	CONTROL (Con ovariectomía bilateral)	ESTÁNDAR (Con ovariectomía bilateral más Benzoato de estradiol a dosis de 0.25mg/kg)	.009
		EXPERIMENTAL (Con ovariectomía bilateral más extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i> (soya) a dosis de 720 mg/kg/día)	.048
	ESTÁNDAR (Con ovariectomía bilateral más Benzoato de estradiol a dosis de 0.25mg/kg)	EXPERIMENTAL (Con ovariectomía bilateral más extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Glycine max</i> (soya) a dosis de 720 mg/kg/día)	.780

**FUENTE: SPSS 20.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDOS POR LA INVESTIGADORA**

## 5.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS

La soya (*Glycine max*), también conocida como soja, es una oleaginosa que ha despertado gran interés a nivel mundial por sus múltiples usos, derivados de su alto contenido de proteína y calidad de aceite, por eso surgió el interés de realizar la investigación para evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus rattus var albinus* con menopausia inducida<sup>(38)</sup>.

Según la literatura consultada menciona que cuando se adquieren nuevos conocimientos y se efectúa alguna reorganización más grande de la estructura cognoscitiva, la palabra aprendizaje resulta más conveniente y cuando se hace énfasis en la retención de la información, sin reorganización cognoscitiva radical, suele emplearse la palabra memoria. Pero también, es conocido como el marcador biológico que puede sufrir interferencias durante la menopausia y es posible encontrar una disminución sobre la función cognitiva por la deficiencia de estrógenos<sup>(34)</sup>.

En el cerebro de los mamíferos, los estrógenos juegan un papel crucial en varias funciones no reproductivas, tales como la modulación de la excitabilidad neuronal, plasticidad sináptica. Además, se ha evidenciado su participación en otras funciones del sistema nervioso central (SNC), entre las cuales se encuentran el control de la actividad neuronal conectada con los procesos de cognición, la modulación del estado de ánimo y otros estados mentales, así como el mejoramiento del aprendizaje y la memoria<sup>(34)</sup>.

La adquisición de los resultados en cuanto al aprendizaje y memoria espacial se evaluó utilizando el test de Morris como se describe en el método. Cabe mencionar que los datos encontrados en el presente trabajo de investigación, se comprobó que con la dosis administrada del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) de 720 mg/kg/día, expresaba una mejora en la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus rattus* var. *Albinus* con menopausia inducida, luego de ser evaluada en diferentes parámetros del test de Morris.

En la tabla 1, se observa que aplicando la prueba ANOVA puede observarse que los valores para el tiempo inicial y final fueron: para el grupo blanco  $102.67 \pm 54.74$  y  $16.33 \pm 14.44$ , grupo control  $52 \pm 27.00$  y  $25.16 \pm 16.84$ , grupo estándar  $48.16 \pm 28.24$  y  $13 \pm 12.01$  y experimental  $48.16 \pm 28.24$  y  $16.16 \pm 11.17$ ., estos resultados muestran una significancia  $< 0.05$ , es decir existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ; por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, todo esto puede justificarse porque se obtuvieron los datos iniciales cuando algunos de los grupos estuvieron expuesto a estrés y no se aclimataron mayor tiempo, los otros grupos experimentaron una ovariectomía bilateral; y los datos finales fueron tomados después de a ver administrado Benzoato de estradiol al grupo estándar y al grupo experimental el extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya), dando a entender que estos resultados beneficiosos podrían deberse a que la semilla de *Glycine max* (soya) contiene fitoestrógenos que son compuestos similares a los estrógenos humanos, dentro de los cuales están los flavonoides, un tipo de ellos son las isoflavonas, que tiene influencia en

el sistema nervioso central , asociado a la mejora de la memoria, aprendizaje, el pensamiento lógico, control de las emociones, etc.

Según el análisis de los resultados, se puede observar que el extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) presenta efecto estrogénico, porque se pudo apreciar las mejoras en la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus rattus var albinus* con menopausia inducida

Hamad A. et al en el 2016 en Malasia, menciona que las neuronas colinérgicas del cerebro desempeñan un papel vital en los déficits cognitivos, ya que la actividad excesiva de acetilcolinesterasa conduce a una deficiencia constante de acetilcolina y deterioro cognitivo, Las isoflavonas de soja y el extracto de tempeh facilitan la actividad colinérgica central al elevar los niveles de acetilcolina e inhibir la actividad de la enzima colinesterasa en el cerebro <sup>(13)</sup>.

También Go J. et al. en el 2016 en Corea, ha demostrado que los flavonoides, así como los polifenoles son capaces de atravesar BBB, aunque su potencial de penetración es dependiente de la lipofilicidad compuesta y que los flavonoides y los polifenoles detectados en CGK podrían ser transportados con éxito al cerebro de ratones con daño neurotóxico, dando como resultado que la pérdida memoria a corto y largo plazo inducida por el tratamiento TMT se mejoró significativamente en el grupo pretratado-CGK en una forma dependiente de la dosis, también se comprobó una supresión significativa de la acetilcolinesterasa actividad (AChE) <sup>(14)</sup>.

Existen muchos sitios de acción potencial de las hormonas ováricas en el cerebro y muchas interacciones potenciales en el sistema de neurotransmisión que forma la base bioquímica del aprendizaje y de la memoria. Muchas acciones de los estrógenos en las estructuras y funciones cerebrales ofrecen explicaciones posibles de los mecanismos de acción por los cuales estas hormonas esteroideas podrían afectar las funciones cognitivas en mujeres, los estrógenos estimulan la síntesis y liberación de acetilcolina, la cual inhibe la liberación de GABA en el hipocampo. Esta inhibición de un sistema inhibitorio, un evento común en el sistema nervioso central, excita las principales neuronas del hipocampo, produciendo un incremento en su actividad eléctrica, una proliferación de sus receptores para el glutamato neurotransmisor excitatorio y una expansión de sus contactos sinápticos con otras neuronas. Estos eventos estructurales, eléctricos y bioquímicos parecen apoyar la capacidad de los estrógenos para incrementar la ejecución cognitiva. También promueve el crecimiento dendrítico e incrementa la densidad de espinas dendríticas <sup>(39)</sup>.

Este efecto fitoestrogénico es respaldado por Bansal N., Parle M. En el 2010 en la India, donde realizaron un estudio designado “Efecto de la suplementación con soja en la memoria de ratones amnésicos inducidos por alprazolam”, donde demuestra que la soja contiene isoflavonas (genisteína, daidzeína y glicetina) en cantidad abundante. Las isoflavonas de soya tienen un efecto estrogénico y se ha informado que las isoflavonas de soya pueden mejorar las funciones cognitivas al imitar los efectos del estrógeno (especialmente a través del receptor de estrógeno  $\beta$ ) en el cerebro. Se ha demostrado que el estrógeno puede mejorar significativamente la función basal la función colinérgica del

cerebro anterior aumenta la captación de colina y estimula la liberación de acetilcolina. La acetilcolina se considera el neurotransmisor más importante involucrado en la regulación de las funciones cognitivas <sup>(11)</sup>.

En la Tabla 2, se observa una significancia de 0.78 entre el grupo estándar con el grupo experimental, este valor da una significancia  $>0.05$  es decir no existe diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos, lo cual podría ser porque a esos dos grupos se les administro estrógenos; al grupo estándar, Benzoato de estradiol y al grupo experimental, fitoestrógenos en el extracto Hidroalcohólico de la Semilla de *Glycine max* (soya), entonces se podría decir que los fitoestrogenos tiene similitud en sus funciones en el organismo con los estrógenos humanos, lo cual podría deberse a que la semilla de *Glycine max* contiene metabolitos secundarios como los flavonoides dentro de las cuales están las isoflavonas que presentan efectos fitoestrogénicos, que son semejantes a los estrógenos, manifestando así mejoras la memoria y aprendizaje espacial.

Catalino de la Rosa T. y col., en el 2012 en Colombia, realizaron un estudio donde muestran la marcha fitoquímica realizada al extracto metanólico de la semilla de *Glycine max*, confirmó la presencia de flavonoides, dando resultados positivos para las pruebas de Shinoda y Pacheco. El contenido de flavonoides totales fue 16.528%. Por HPLC se determinó el contenido de isoflavonas como daidzeína  $4.779 \times 10^{-3}$  mg/mL, genistina 0.012002 mg/mL, gliciteina 0.065597 mg/mL, genisteina 0.00008 mg/mL <sup>(12)</sup>.

Según Xiao Y. et al. en 2017 en China, realizaron un estudio en donde dio como resultado que las isoflavonas, que incluyen genisteína, daidzeína y glicitina, pueden unirse a los Receptores de Estrógenos (RE) porque las isoflavonas tienen una estructura similar al 17- $\beta$ -estradiol. Las ER tienen dos formas, ER $\alpha$  y ER $\beta$ , que son distribuidos entre diferentes tejidos. La genisteína tiene una mayor afinidad por ER $\beta$  que por ER $\alpha$  (20-30 veces) <sup>(15)</sup>.

## VI. CONCLUSIONES

- El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus rattus var albinus* con menopausia inducida, mostro efecto fitoestrógeno.
- Se logró el efecto fitoestrogénico del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) a dosis de 720 mg/kg/día sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus rattus var albinus* con menopausia inducida, en donde los resultados del tiempo inicial y final en el test de Morris fueron: para el grupo blanco  $102.67 \pm 54.74$  y  $16.33 \pm 14.44$ , grupo control  $52 \pm 27.00$  y  $25.16 \pm 16.84$ , grupo estándar  $48.16 \pm 28.24$  y  $13 \pm 12.01$  y experimental  $48.16 \pm 28.24$  y  $16.16 \pm 11.17$ ; los cuales mostraron una significancia  $< 0.05$ , es decir existe diferencia estadísticamente significativa.
- El efecto fitoestrogénico del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) sobre la memoria y aprendizaje espacial en *Rattus rattus var albinus* con menopausia inducida es similar a *Rattus rattus var albinus* con Benzoato de estradiol, mostrando una significancia de 0.78, siendo una significancia  $>0.05$  es decir no existe diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos.



## ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- Realizar el efecto Fitoestrógeno con ratas de diferentes edades.
- Administrar el Extracto Hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) por mucho más tiempo.
- Realizar estudios para comprobar si el Extracto Hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) realiza mejoras en mujeres con ovarios poliquísticos.
- Recomiendo realizar estudios de investigación en personas para comprobar si se obtienen los mismos resultados que en los animales de investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Rollone S. Menopausia y remedios naturales. [Internet] Valencia, ES: Ediciones i, 2013. [Citado el 20 de septiembre del 2016]. Disponible en:<http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?docID=10758318>
2. Álvarez G. Alteraciones analíticas hormonales y biológicas en la menopausia. [Internet] Madrid, ES: Universidad Complutense de Madrid, 2006. [Citado el 20 de septiembre del 2016]. Disponible en:<http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladec hsp/reader.action?docID=10121517>
3. García C. Tratamiento Cognitivo Conductual En La Menopausia. [Internet]. Universidad Complutense De Madrid Facultad De Psicología. [Citado el 5 de marzo del 2019]. 2012. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/15064/1/T29223.pdf>
4. Ridner E. Soya Propiedades Nutricionales y su impacto en la salud. [Internet] Sociedad Argentina de Nutrición. 2006. [Citado el 20 de septiembre del 2016] Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=6740>
5. Chasquibol S., Lengua C., Delmás C., Bazán R., Aguirre M. Bravo A. Revista Peruana De Química E Ingeniería Química. Vol. 6. 2003.
6. Palacios R., Bacalla P., Campos K., Cusihuamán Y., Osorio M., Flores D. Efecto antinociceptivo de estriol y Glicina max (soya) en ratas ovariectomizadas. [Internet], UNMSM. An. Fac. med. v.72 n.1 Lima ene./mar. 2011. [Citado

el 20 de septiembre del 2016]. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1728-59172008000200008](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172008000200008)

7. Jiménez L. Soya integral para una vida saludable. Aguascalientes: Universidad Autónoma de Aguascalientes, 2010.
8. Sánchez M. Soya. BreastCancer. 2012.
9. Carranza S., Carpio P. Tiempo transcurrido a partir de la menopausia y su repercusión en el deterioro cognitivo. [Internet]. Ginecol Obstet Mex. 2018 mayo [Citado el 13 de julio del 2018] 86(5):289-296. Disponible en :<http://www.medigraphic.com/pdfs/ginobsmex/gom-2018/gom185b.pdf>
10. Urdaneta J., Cepeda M., Guerra M., Baabel N., Contreras B. Calidad de Vida en Mujeres Menopausicas con y sin Terapia de Reemplazo Hormonal. Rev. chil. obstet. ginecol. v.75 n.1 Santiago 2010.
11. Bansal N., Parle M. Efecto de la suplementación con soja en la memoria de ratones amnésicos inducidos por alprazolam. [Internet]. Universidad de Ciencia y Tecnología Guru Jambheshwar, Hisar, India. [Citado el 05 de marzo del 2019]. 2010. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3147100/>
12. Catalino De La Rosa, Torres G., Camacho R., Calderón M., Herrera U, Osorio Y. Cuantificación de Flavonoides Totales en el Extracto Metanólico de Glycine Max (Soya) y su Efecto Larvicida Contra Aedes Aegypti. [Internet]. Revista Colombia

Ciencias de La Salud Volumen 1 número 1, año-2012. [Citado el 13 de julio del 2018]. Disponible en: [http://investigaciones.uniatlantico.edu.co/sipvua/media/PDF/R\\_Col\\_C\\_S/articul6.pdf](http://investigaciones.uniatlantico.edu.co/sipvua/media/PDF/R_Col_C_S/articul6.pdf)

13. Hamad A., Mani V., Ramasamy K., Meng lim S, Majeed A. Mejora de la memoria en ratas por extractos de soja y Tempeh se asocia con aumento de la actividad colinérgica y reducción de la actividad inflamatoria. [Internet]. Facultad de Farmacia. Universidad Tecnológica MARA. 42300 Bandar Puncak Alam, Selangor Darul Ehsan Malasia. Sains Malaysiana [Citado el 12 de septiembre del 2018] 45(9)(2016): 12991310. Disponible en: [http://www.ukm.my/jsm/pdf\\_files/SM-PDF-4592016/02%20Alia%20Hamad.pdf](http://www.ukm.my/jsm/pdf_files/SM-PDF-4592016/02%20Alia%20Hamad.pdf)
14. Go J., Kim JE., Kwak MH., Koh EK., Song SH., Sung JE., Kim DS., Hong JT., Hwang DY. Efectos neuroprotectores de los productos de soja fermentadas (cheonggukjang) fabricados por cultivo mixto de *Bacillus subtilis* MC31 y *Lactobacillus sakei* 383 en trimethyltin- ratones con defectos cognitivos inducidos. [Internet]. Facultad de Farmacia y Centro de Investigación Médica, Universidad Nacional de Chungbuk, Corea. Neurociencia nutricional. [Citado 12 de septiembre del 2018] 2016:113. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25923>
15. Xiao Y., Zhang S., Tong H., Shi S. Evaluación exhaustiva del papel de la suplementación con soja e isoflavona en humanos y animales en las últimas dos décadas. [Internet]. Centro de innovación conjunta de Jiangsu. [Citado 12 de

- septiembre del 2018] *Phytother Res.* 2018 Mar; 32 (3): 384-394. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29193539>
16. Anónimo. La Fitoterapia. [Internet]-Enciclopedia-de-Salud. [Citado el 10 de septiembre-del-2016].-Disponible-en:-<https://www.hola.com/salud/enciclopedia-salud-2010060-545530/terapias/tipos/la-fitoterapia/>
17. Cosme I. El uso de plantas medicinales. [Internet]. *Revista Intercultural*. [Citado 10 de septiembre del 2016]. Disponible en:[https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/8921/tra6\\_p2326\\_20100.pdf;jsessionid=C05B69AACE2516FDEC0170110A338E78?sequence=1](https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/8921/tra6_p2326_20100.pdf;jsessionid=C05B69AACE2516FDEC0170110A338E78?sequence=1)
18. INFOLEG. Métodos de Farmacognosia. [Internet]. [Citado 10 de septiembre del 2016]. Disponible en:<http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/85000-89999/86181/dto202-2003-70.htm>
19. Carranza Y. Principio Activo o Sustancia Activa. [Internet]. Conacyt. [Citado 10 de septiembre del 2016]. Disponible en:<http://www.conacytprensa.mx/index.php/vocabulario/11727-principio-activo-o-sustancia-activa>
20. Valdés M. Extractos Hidroalcohólicos. [Internet]. Laboratorio de Remedios Herbolarios. [Citado 10 de septiembre del 2016]. Disponible en:<https://redsa.com.mx/extractos-hidroalcoholicos.html>

21. Plantas medicinales. Análisis de Extractos. [Internet]. [Citado 10 de septiembre del 2016]. Disponible en: <https://www.plantasmedicinalfarmacognosia.com/temas/extractos/extracto-seco/>
22. Villar A. Soja. Aplicaciones múltiples. [Internet]. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia. UCM. [Citado 10 de septiembre del 2016]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-soja-aplicaciones-multiples-13026464>
23. Gabica M. Ovariectomía. [Internet]. North Shore. Universidad Sistema de salud. [Citado 10 de septiembre del 2016].\_Disponible en: <https://www.northshore.org/healthresources/encyclopedia/encyclopedia.aspx?DocumentHwid=tv1854spec&Lang=es-us>
24. Suarez S. Soja y menopausia. Nuevas aportaciones. [Internet]. Elsevier. Farmacia Profesional 2003;17:48-53. [Publicado 7 de septiembre del 2003, Citado 10 de jun. del 2016]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-soja-menopausia-nuevas-aportaciones-13050138>
25. Chen MN., Lin CC., Liu CF. Eficacia de los fitoestrógenos para los síntomas de la menopausia: un metanálisis y una revisión sistemática. [Internet]. Climaterio. 18 (2): 260-269. [Publicado 11 de diciembre de 2014, Citado 10 de septiembre del 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4389700/>

26. Leiva J, Guerra F, Olcese P, Lozada I, Rubio J, Gonzales C, Gonzales G, .Efecto de la maca roja (*Lepidium meyenii*) sobre los niveles de IFN- $\gamma$  en ratas ovariectomizadas. [Internet]. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima-Perú. [Citado 10 de septiembre del 2016]. Disponible en: <http://www.rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/118/1886>
27. Heredia B, Lugones M. Edad de la menopausia y su relación con el hábito de fumar, estado marital y laboral. [Internet] Rev cubana Obstet Ginecol v.33 Ciudad de la Habana sep.-dic. 2007. [Citado 10 de septiembre del 2016]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138600X2007000300008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138600X2007000300008)
28. Peralta O. Terapia de reemplazo hormonal en la menopausia y riesgo de cáncer de mama. [Internet]. Universidad de Chile. Centro Integral de la Mama. Clínica Las Condes. Rev. Med. Clin. Condes - 2006; 17(4): 179 [Citado 10 de septiembre del 2016]. Disponible en: [http://www.clinicalascondes.com/areaacademica/pdf/MEED\\_17\\_4/ReemplazoHormonal\\_179.pdf](http://www.clinicalascondes.com/areaacademica/pdf/MEED_17_4/ReemplazoHormonal_179.pdf)
29. Bonilla C. Isoflavonas En Ginecología, Terapia No Convencional. [Internet]. Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología Vol. 55 No.3, 2004, (209-217). [Citado 10 de septiembre del 2016]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcog/v55n3/v55n3a05.pdf>

30. Lenis Y. Gutiérrez M, Tarazona A, Efectos De Los Fitoestrógenos En La Reproducción Animal. [Internet]. Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín, Volumen 63, Número 2, p. 5555-5565, 2010. [Citado 10 de septiembre del 2016]. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/25044/37036>
31. Bitto A., Altavilla D., Bonaiuto D., Polito F., Minutoli L., Di V., Giuliani D, Guarini V., Arcoraci V., Squadrito F. Efectos de la genisteína aglicona en un modelo experimental de rata. del síndrome metabólico posmenopáusico. [Internet]. Diario de endocrinología (2009) 200,-367-376-[Citado el 11 de septiembre del 2017] Disponible en:<https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/200/3/367.xml>
32. Kudou S., Fleury Y., r Welti D., Magnolato D., Uchida T., Kitamura K., Okubo K. Glucósidos de isoflavonas malonil en semillas de soja (*Glycine max* Merrill). [Internet]. Agric. BioI. Chem., 55 (9), 2227-2233, 1991376 [Citado el 11 de septiembre del 2017]. Disponible en:[https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb1961/55/9/55\\_9\\_2227/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb1961/55/9/55_9_2227/_pdf)
33. Brem J., Trulls, E., Ortíz L., Picot A. Brem C. Concentración de minerales en ratas ovariectomizadas tratadas con estrógeno y progesterona. [Internet]. Universidad Nacional de Nordeste.9[Citado el 05-de marzo del 2019]. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2005/4-Veterinaria/V-019.pdf>



34. Torres N., Armando R. La historia del uso de la soya en México, su valor nutricional y su efecto en la salud. Departamento de Fisiología de la Nutrición, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. México. 2009.
35. Kyu L. Composición de extractos de soya, arroz, ajonjolí y tuna para suplemento alimenticio. [Internet]. [Citado el 05 de septiembre del 2016]. Disponible en: <https://patents.google.com/patent/WO2009069992A1/es?q=isoflavonas&q=de+soya&oq=isoflavonas+de+soya+>
36. Vicens P., Redolat R., Carrasco C. Aprendizaje espacial y laberinto de agua: metodología y aplicaciones. [Internet]. Universidad de Valencia. Psicothema 2003. Vol. 15, nº 4 pp. 539-544. [Citado el 05 de marzo del 2019]. Disponible en: <http://www.psicothema.es/pdf/1104.pdf>
37. Uladech. Código De Ética Para La Investigación. [Internet]. Consejo Universitario con-Resolución N° 0108 2016 CU-ULADECH-Católica. [Citado el 5 de marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>
38. Ludueña B, Mastandrea C, Chichizola C, Francon C. Isoflavonas en soja, contenido de daidzeína y genisteína y su importancia biológica. [Internet]. Bioquímica y Patología Clínica. Argentina [Citado el 13 de julio del 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/651/651111118009.pdf>

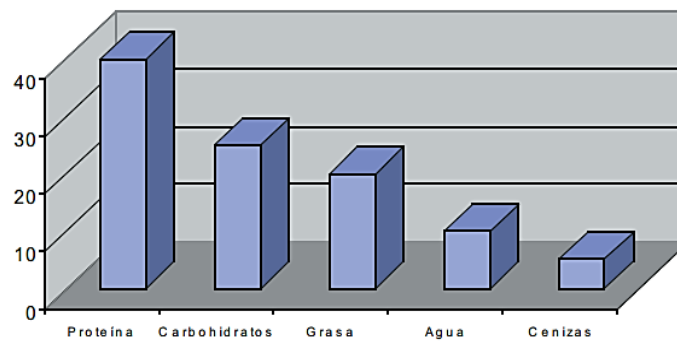
39. Malgor V. Farmacología De Las Hormonas Sexuales Femeninas. [Internet]. Diario de Nueva Inglaterra de Medicina. 302: 551-554 [Citado el 10 de marzo del 2019]. Disponible en: [https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/cap26\\_femen.pdf](https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/cap26_femen.pdf)

## ANEXOS

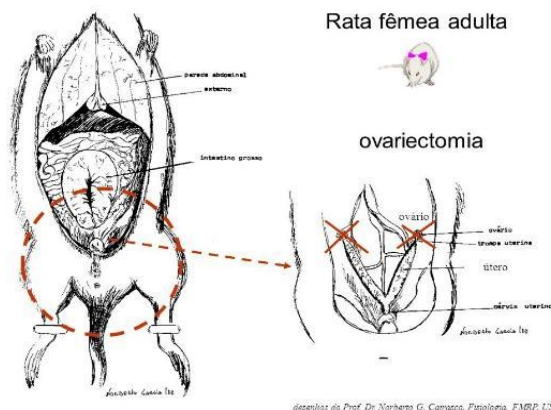
### Anexo N° 01: La *Glycine max* "SOYA"



### Anexo N° 02: Composición de la Soya.



### Anexo N° 03: Ovariectomía Bilateral



Anexo N° 04: Certificación de la Planta: *Glycine max* (soya)



**DESGLOSABLE**  
Apellidos y Nombres: Enrique Flores Yasmín Diana DNI 72541024  
Objeto de la Solicitud: (Indicar en forma clara lo que solicita y detallar documentos que adjunta)  
Determinación taxonomica de la planta.

N° Procedimiento del TUPA: 142  
Recibo N° 125-150-1  
Código: 10 días hábiles

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO**  
FACULTAD U OFICINA Herbario HUT  
FECHA 20/10/2017 HORA: 8:56 am.  
RECEPCIONISTA: Eric Rodriguez R.  
AUTOMATICO  S.A. (+)  S.A. (-)   
PLAZO ATENCIÓN (Según TUPA): 07 días háb.  
REGISTRO \_\_\_\_\_ FIRMA \_\_\_\_\_

**DISTRIBUCIÓN GRATUITA**



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**  
Bioterio - Vicerrectorado de Investigación

## CERTIFICADO

San Martín de Porres, 16 de octubre  
de  
20  
17

Mediante la presente se certifica que las 26 ratas de la cepa albina Wistar, hembras, adultas, adquiridas el 16 de octubre de 2017 por la Srta. Yasmin Diana Enríquez Flores, están en perfecto estado sanitario y fisiológico, para ser utilizada en cualquier protocolo Biomédico.

Atentamente;



**DR. CHRISTIAN PITOT ALVAREZ**  
Jefe de Bioterio  
LID - UPCH  
C.M.V. 8985

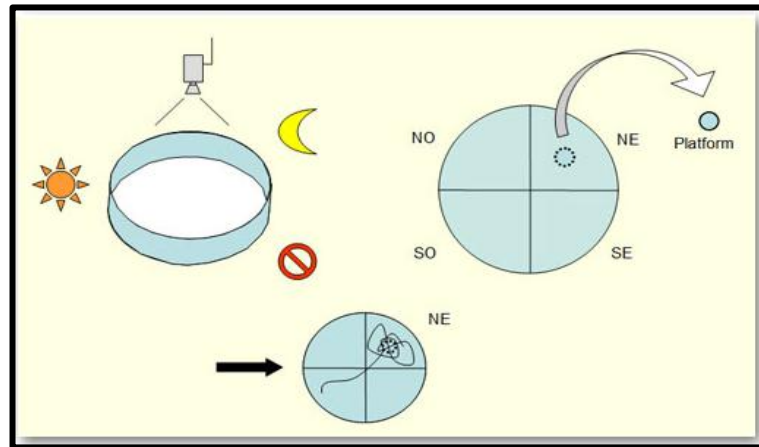
Av. Honorio Delgado 430, Lima 31. Apartado postal 4314, Lima 100  
Teléfono: (511) 319-0000 anexo:  
2710  
E-mail:  
Christian.pitot@upch.pe

Anexo N° 06: Esquema de la preparación del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya)





Anexo N° 07: El Test de Morris




Anexo N° 08: Semana de entrenamiento de los animales de experimentación en el test de Morris del grupo blanco y de los grupo control, estándar y experimental después de realizarles una ovariectomía bilateral.




Anexo N° 09: Carta de Consentimiento Informado para la Intervención Quirúrgica por parte del Veterinario encargado.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA EN ANIMALES EXÓTICOS

Yo, Yasmin Diana Enriquez Flores, con n° DNI: 92541024, como propietario, doy mi consentimiento para que mi mascota de nombre: 18 Animales de Experimentación sea intervenido quirúrgicamente bajo anestesia en las condiciones que me han sido propuestas. He sido informado y comprendo el alcance y los riesgos del procedimiento, así como de las posibles complicaciones que conlleva un acto quirúrgico en animales exóticos, por lo cual acepto la información indicada, pudiendo ser revocada mi decisión previo al procedimiento. Así mismo acepto las modificaciones de los métodos que se puedan producir en el transcurso de dichos procedimientos y que se justifiquen por una mejora de la calidad de los mismos y en beneficio del paciente, aunque ello pueda suponer un incremento del coste del procedimiento.

  
.....  
FIRMA DEL PROPIETARIO

  
.....  
MVZ Raúl Alejandro Pereda Sánchez  
CMVP 10586  
.....  
FIRMA Y SELLO DEL VETERINARIO TRATANTE

Fecha: 12/03/18



Anexo N° 10: Toma de tiempos basales (0, 12 y 72) con el test de Morris de los grupo blanco, control, estándar y experimental después del entrenamiento.



Anexo N° 11: Pesando a los animales de experimentación para sacar dosis de Benzoato de estradiol y de fitoestrógenos del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya).



Anexo N° 12: Sondeado del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) a los animales de experimentación durante catorce días



Anexo N° 13: Administración de Benzoato de estradiol por Via. IP. Una inyección dura para un mes.



Anexo N° 14: Toma de tiempos en el test de Morris a los 7 días de la administración y luego a los 14 días de la administración de Benzoato de estradiol al grupo estándar y fitoestrógenos del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Glycine max* (soya) al grupo experimental en la piscina de Morris, también a los grupos blanco y control (Sin administración)



#### Anexo N° 15: Pruebas De Normalidad

Tabla N° 1: Prueba De Normalidad

GRUPOS		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
INICIAL	BLANCO	.969	6	.886
	CONTROL	.935	6	.619
	ESTÁNDAR	.941	6	.670
	EXPERIMENTAL	.941	6	.670
FINAL	BLANCO	.824	6	.095
	CONTROL	.835	6	.118
	ESTÁNDAR	.828	6	.104
	EXPERIMENTAL	.852	6	.162

\* Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a Corrección de la significación de Lilliefors

**FUENTE: PROGRAMA SPSS 20.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDOS DURANTE EL ESTUDIO**

**INTERPRETACIÓN:** Teniendo en cuenta el número de muestra utilizado en la investigación la prueba que aplica para determinar la normalidad fue la de CHAPIRO – WILKS ( $n < 30$ ). En el gráfico observamos que la significancia el valor  $P > 0.05$  ES DECIR SE ACEPTA LA HIPOTESIS NULA por lo que se concluye que los datos provienen de una **DISTRIBUCIÓN NORMAL**.

Anexo N° 16:

**TABLA 1:** Tiempo de latencia en segundos de los grupos de estudio - Inicial - Test  
de Morris

<b>Especímenes</b>	<b>BLANCO</b>	<b>CONTROL</b>	<b>ESTÁNDAR</b>	<b>EXPERIMENTAL</b>
<b>RN° 01</b>	14	82	55	55
<b>RN° 02</b>	130	67	88	88
<b>RN° 03</b>	180	44	17	17
<b>RN° 04</b>	85	14	37	37
<b>RN° 05</b>	97	75	21	21
<b>RN° 06</b>	110	30	71	71
<b>MEDIA</b>	102.6666667	52	48.16666667	48.16666667
<b>DESVIACIÓN ESTANDAR</b>	54.7491248	27.00370345	28.24476353	28.24476353

**FUENTE: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS OBTENIDOS DURANTE EL ESTUDIO**

Anexo N° 17:

**TABLA 2:** Tiempo de latencia en segundos de los grupos de estudio – Final - Test  
de Morris

<b>Especímenes</b>	<b>BLANCO</b>	<b>CONTROL</b>	<b>ESTÁNDAR</b>	<b>EXPERIMENTAL</b>
<b>RN° 01</b>	32	63	6	9
<b>RN° 02</b>	37	2	35	34
<b>RN° 03</b>	3	3	3	12
<b>RN° 04</b>	7	6	15	10
<b>RN° 05</b>	7	53	4	6
<b>RN° 06</b>	12	24	15	26
<b>MEDIA</b>	16.33333333	25.16666667	13	16.16666667
<b>DESVIACIÓN ESTANDAR</b>	14.44529912	26.84337286	12.01665511	11.17884908

**FUENTE: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS OBTENIDOS DURANTE EL ESTUDIO**

Anexo N° 18:

**TABLA 3:** Prueba ANOVA Unifactorial para encontrar la significancia de los grupos de estudio

	<b>Sig.</b>
INICIAL	.450
FINAL	.044

**FUENTE: SPSS 20.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDOS POR LA INVESTIGADORA**

Anexo N° 19:

**TABLA 04:** Prueba de comparaciones múltiples de TUKEY para los grupos inicial

<b>Variable dependiente</b>	<b>(I) GRUPOS</b>	<b>(J) GRUPOS</b>	<b>Sig.</b>
			Límite inferior
INICIAL	BLANCO	CONTROL	.008
		ESTÁNDAR	.006
		EXPERIMENTAL	.046
	CONTROL ESTÁNDAR	ESTÁNDAR	.008
		EXPERIMENTAL	.048

**FUENTE: SPSS 20.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDOS POR LA INVESTIGADORA**

Anexo N° 20:

**TABLA 05:** Prueba de comparaciones múltiples de TUKEY para los grupos Final – Test de Morris

<b>Variable dependiente</b>	<b>(I) GRUPOS</b>	<b>(J) GRUPOS</b>	<b>Sig.</b>
FINAL	BLANCO	CONTROL	.008
		ESTÁNDAR	.016
		EXPERIMENTAL	.003
	CONTROL	ESTÁNDAR	.009
		EXPERIMENTAL	.048
		EXPERIMENTAL	.780

**FUENTE: SPSS 20.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDOS POR LA INVESTIGADORA**