



**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y  
BIOLÓGICAS**

**CARRERA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y  
ZOOTECNIA**

**“Determinación de la actividad antiinflamatoria y citotóxica *in vitro* de los compuestos bioactivos del *Tropaeolum tuberosum*  
Ruiz & Pavón (Mashua negra)”**

Tesis para optar el título profesional de:

Médico Veterinario Zootecnista

Presentado por:

Jenifer Arenas Mejía (0000-0002-8189-5533)

Asesor:

Oscar Reátegui Arévalo (0000-0001-9773-2176)

Lima – Perú

2022

### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 04 de diciembre del 2021.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: <b>Mg. MARIO MARTÍN PAUTA GÁLVEZ</b>
Miembro: <b>Mg. ANTONIO HERRERA ROSALINO</b>
Miembro: <b>Mg. ROSINA JULIETA CAMARGO HURTADO</b>

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

**“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA Y CITOTÓXICA *in vitro* DE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón (Mashua negra)”**

Presentada por la bachiller:

**JENIFER ARENAS MEJÍA**

Para optar el Título Profesional de **Médico Veterinario Zootecnista**

Asesorada por el: **Mg. ÓSCAR REÁTEGUI ARÉVALO**

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de la bachiller de la carrera de **Medicina Veterinaria y Zootecnia** en la sustentación, concluyen de manera unánime (X) por mayoría simple ( ) calificar a:

Tesisista: <b>JENIFER ARENAS MEJÍA</b>			Nota: veinte (20)
Aprobado ( )	Aprobado - Muy buena ( )	Aprobado - Sobresaliente (X)	Desaprobado ( )

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



**Mg. MARIO MARTÍN PAUTA GÁLVEZ**  
Presidente



**Mg. ÓSCAR REÁTEGUI ARÉVALO**  
Asesor



**Mg. ANTONIO HERRERA ROSALINO**  
Miembro 1



**Mg. ROSINA JULIETA CAMARGO HURTADO**  
Miembro 2

## DEDICATORIA

Este trabajo de investigación se lo dedico en primer lugar a Dios, quien guía mi camino todos los días de mi vida, fortaleciendo mi mente, espíritu y corazón, que para mí es lo más divino que existe en el universo, a mi padre, por darme la oportunidad y nunca dejar de creer en mis metas y sueños; a mi querido esposo Gabriel y a mi pequeño tesoro Liam quienes me dieron aliento y motivación para continuar con mi objetivo, asimismo también a Mónica que estuvo conmigo durante este camino para cumplir esta meta en mi vida profesional.

## AGRADECIMIENTOS

A mis asesores, Ing. Oscar Reátegui Arévalo, Dr. Iván Best Cuba por su constante apoyo incondicional sin importar lo lejos que se encuentren, también al Fondo Nacional de Innovación Agraria (PNIA) por permitirme ser parte del proyecto Desarrollo de un nutracéutico con actividad antioxidante y antiinflamatoria elaborado a partir de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P) procedente de la provincia de San Román-Puno, enriquecido con pulpa de Camu camu (*Myrciaria dubia*): Evaluación in vitro e in vivo” (Convenio N 005-2016-INIA-PNIA/UPMSI/IE), y finalmente a mi casa de estudios la Universidad Científica del Sur, que me preparó e inculcó valores durante 5 años y permitió que se desarrollará esta investigación dentro de sus instalaciones.

## RESUMEN

**Objetivo.** Se evaluó la actividad citotóxica y antiinflamatoria *in vitro* de un extracto mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón). **Materiales y Métodos.** El contenido total de polifenoles y flavonoides se determinó mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu y método colorimétrico de cloruro de aluminio, respectivamente. El efecto citotóxico *in vitro* se evaluó en células de cáncer de próstata (DU-145) con el ensayo de Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5difeniltetrazol (MTT) a diferentes concentraciones de extracto (1000, 500, 250, 125, 62.5 y 31.25 µg/mL). A las 24 y 48 horas de exposición, se determinó el porcentaje de inhibición y concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>). La actividad antiinflamatoria *in vitro* se evaluó en células de macrófagos de ratón (RAW264.7) estimulada con lipopolisacárido (LPS) por 20 horas y tratadas con las diferentes concentraciones de extractos por 2 horas. Los niveles de citocinas proinflamatorias (IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-12p70, IFN-γ) se expresaron en pg/mL. **Resultados.** En el extracto, se obtuvo un alto contenido de polifenoles totales (322.09±0.35 mg AGE/100 g peso fresco) y flavonoides totales (39.20±0.08 mg QE/100 g peso fresco). A las 24 y 48 horas de exposición, a 1000 µg/mL, se alcanzó un porcentaje de inhibición de 74.41% y 81.00%, respectivamente, así como una CI<sub>50</sub> de 151.6 µg/mL a las 24 horas de exposición. Asimismo, el extracto inhibió la producción de IL-1β y IL-6 de manera dosis dependiente. **Conclusiones.** El extracto de mashua negra presentó actividad citotóxica y antiinflamatoria *in vitro*, lo cual sugiere su uso preventivo en el tratamiento del cáncer y enfermedades de origen inflamatorio.

**Palabras claves:** Antineoplásicos, cáncer de próstata, citocinas, inflamación, plantas tuberosas, polifenoles (*Fuentes: DeCS, Mesh*).

## ABSTRACT

**Objetivo.** *In vitro* cytotoxic and anti-inflammatory activity of a black mashua extract (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) was evaluated. **Materials and methods.**

The total content of polyphenols and flavonoids was determined by the FolinCiocalteu assay and the aluminum chloride colorimetric method, respectively.

*In vitro* cytotoxic effect was evaluated in prostate cancer cells (DU-145) with the 3(4,5dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazole (MTT) Bromide assay at different concentrations of extract (1000, 500, 250, 125, 62.5 and 31.25 µg/mL). At 24 and 48 hours of exposure, the inhibition percentage and median inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) were determined. *In vitro* anti-inflammatory activity was evaluated in mouse macrophage cells (RAW264.7) stimulated with lipopolysaccharide (LPS) for 20 hours and treated with the different concentrations of extracts for 2 hours.

Proinflammatory cytokine levels (IL-1β, IL-6, TNFα, IL-12p70, IFN-γ) were expressed in pg/mL. **Results.** In the extract, a high content of total polyphenols (322.09±0.35 mg AGE/100 g fresh weight) and total flavonoids (39.20±0.08 mg QE/100 g fresh weight) were obtained. At 24 and 48 hours of exposure, at 1000 µg/mL, an inhibition percentage of 74.41% and 81.00%, respectively, was reached, as well as an IC<sub>50</sub> of 151.6 µg/mL at 24 hours of exposure. Likewise, the extract inhibited the production of IL-1β and IL-6 in a dose-dependent manner.

**Conclusions.** The black mashua extract presented cytotoxic and anti-inflammatory activity *in vitro*, which suggests its preventive use in the treatment of cancer and inflammatory diseases.

**Keywords:** Antineoplastics, prostate cancer, cytokines, inflammation, plant tubers, polyphenols (*Sources: DeCS, Mesh*).

## INTRODUCCIÓN

Actualmente, entre las muchas enfermedades recurrentes que afectan a la población humana y especie canina, se encuentra el cáncer, el cual constituye un problema importante de salud pública (1). En el Perú, durante el 2019, se registró 10,650 casos de cáncer; de los cuales el 70.8% son casos nuevos, presentándose una incidencia de 20% en hombres (2). En el mundo, el cáncer de próstata es el segundo cáncer más diagnosticado y la sexta causa principal de muerte por cáncer en hombres (3).

En la población canina se han registrado hiperplasia prostática (32.3%) y neoplasias (1.6%), teniendo menor prevalencia en machos castrados (4). Asimismo, el cáncer de próstata en caninos es una enfermedad poco estudiada, además, es la única especie conocida aparte de los humanos donde se produce dicha patología de manera espontánea, debido a la sobreexpresión de la pequeña proteína alfa que contiene repetición del tetratricopeptido rico en glutamina (SGTA), lo que parece confirmar la hipótesis del escaso papel de los andrógenos en este tipo de tumores (5). En la actualidad, como tratamiento, en humanos se utiliza el abordaje laparoscópico radical del cáncer de próstata, mientras que en la especie canina se opta por la prostatectomía (6).

La inflamación crónica afecta la homeostasis y el metabolismo de las células normales, causando un crecimiento celular descontrolado y proliferación de la tumorigénesis. Por esta razón, cada vez más se recurre a la fitomedicina para el desarrollo de nuevos tratamientos que no presenten efectos adversos en comparación con drogas de origen sintético (7).

La mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) conocida también como “añu” o “isaño” es un tubérculo andino que se encuentra en Perú, Bolivia, Ecuador y Colombia. Es una planta herbácea perenne, cultivada desde los 1,500 hasta los 4,200 msnm, capaz de resistir bajas temperaturas y crecer en suelos poco fértiles, siendo el Perú uno de los mayores productores andinos. Dicho tubérculo presenta un alto contenido de compuestos fenólicos tales como antocianinas y carotenoides, los cuales están relacionados con su capacidad antioxidante y sus propiedades nutraceuticas en comparación con otros tubérculos tales como la papa, olluco y oca (8,9).

Se ha reportado también la presencia de glucosinolatos (GSL) (10), y sus metabolitos como el isotiocianato de bencilo, que actúa como una potente agente quimioprotector; importante en patologías de carácter inflamatorio, enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares (11), así como en la prevención de mutagénesis y diferentes tipos de cáncer; sin afectar células sanas como sucede durante la quimioterapia (12). Estudios recientes muestran las múltiples propiedades de la mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) como su actividad antioxidante

(13), sin embargo; no existen reportes sobre su actividad anticancerígena, antiinflamatoria, y su potencial aplicación en el campo de la medicina veterinaria.

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar la actividad citotóxica y antiinflamatoria *in vitro* del extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.).

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetal.** La accesión de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) codificada como Tt-23 (Figura 1) procedente de la provincia de Yunguyo, Región Puno, Perú, ubicada a una altura de 3,826 msnm y temperatura promedio de 8°C, fue proporcionada por el Instituto Nacional de Innovación Agraria ILLPA-Puno, Perú. Esta accesión presentó una pigmentación de color púrpura (piel/pulpa: púrpura/púrpura) y se desinfectó con hipoclorito de sodio al 5% durante 15 minutos, luego se cortó a 2.5 mm de espesor. Se utilizó liofilización al vacío, para preservar sus propiedades fisicoquímicas y organolépticas (14). La muestra fue secada por congelación durante 30 horas a -105°C y una presión de 0.013 mbar mediante un liofilizador (Stellar, Millrock Technology, NY, USA). Posteriormente, se realizó un proceso de molienda en un molino de rotor (malla 0.08 mm). El polvo liofilizado se almacenó a -20°C hasta la extracción y purificación de los compuestos bioactivos.



**Figura 1.** Accesión de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) Tt-23 procedente de la Provincia de Yunguyo, Región Puno, Perú.

**Preparación de la muestra.** La extracción de los compuestos fenólicos se realizó según Betalleluz et al (15). Brevemente, se pesó 5 g de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) liofilizada utilizando una balanza analítica (Sartorius Extend Scale, ED224S), y se homogenizó durante 15 minutos con metanol (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O), etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH), (SigmaAldrich, USA), y agua destilada (45:45:10). Luego, se acidificó con 5 gotas de ácido clorhídrico (HCl) al 1% (Sigma-Aldrich, USA), y centrifugó a 2,700 g durante 10 minutos a 4°C. El sobrenadante de la muestra extraída se colocó en un rotavapor (Selecta, España) a 38°C por 24 horas. El residuo sólido purificado obtenido fue de 444.3 mg, éste se diluyó en 5.53 mL de dimetilsulfóxido



(DMSO) para obtener un stock de 80 mg/mL. La muestra fue filtrada (0.45  $\mu\text{m}$ ) y almacenada a  $-80^{\circ}\text{C}$  en un congelador (Thermo Scientific, USA) hasta la realización de los ensayos posteriores.

**Polifenoles totales.** El contenido de polifenoles totales se determinó mediante la metodología propuesta por Herrera et al (16). Brevemente, se mezcló 0.1 mL de muestra con 1 mL de reactivo FolinCiocalteu al 10% durante 5 minutos a  $25^{\circ}\text{C}$ , luego se añadió 1 mL de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 5% (Sigma-Aldrich, USA) y se colocó la mezcla en baño de agua a  $45^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos. La lectura se realizó a 725 nm mediante un espectrofotómetro (Pharo 300, Spectroquant, USA). Los resultados se expresaron en mg de ácido gálico equivalente (AGE) por 100 g de peso fresco.

**Flavonoides totales.** El contenido total de flavonoides se realizó según la metodología descrita por Coronado-Olano et al (17). Brevemente, a 0.250 mL de muestra, se agregó 125  $\mu\text{l}$  de agua destilada y 75  $\mu\text{L}$  de nitrito de sodio ( $\text{NaNO}_2$ ) al 5% (Sigma-Aldrich, USA) y se dejó reaccionar por 5 minutos, luego se agregó 0.150 mL de cloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ), y se dejó reposar por 5 minutos. Por último, se añadió 0.5 mL de hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ) 1M a la mezcla y se incubó durante 15 minutos. La lectura se realizó a 510 nm mediante un espectrofotómetro (Pharo 300, Spectroquant, USA). Los resultados se expresaron en mg de quercetina equivalente (QE) por 100 g de peso fresco.

**Cultivo celular.** Los ensayos biológicos se realizaron en una línea celular de cáncer de próstata (DU-145) y una línea celular de macrófagos de ratón (RAW264.7). Estas se cultivaron en medio de cultivo DMEM con alta concentración de glucosa (Gibco, Gaithersburg, MD, USA) y RPMI-1640 (Sigma, St. Louis, MO, USA) respectivamente. Ambos medios de cultivo fueron suplementados con suero fetal bovino (FBS) al 10% (Hyclone, GE Life Sciences, Logan, UT, USA) y 1% de antibacterianos (penicilina y estreptomycin) (Life Technologies, Waltham, MA, USA). En cada uno de los experimentos, se utilizaron cultivos con una confluencia del 80% (18).

### **Efecto citotóxico en una línea celular de cáncer de próstata (DU-**

**145).** El efecto citotóxico *in vitro* se determinó a través de la reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5difeniltetrazol (MTT) (19,20). Las células DU-145 se sembraron en placas de cultivo de 24 pozos, a una densidad de 3,000 células/pozo. Se agregó el extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) a concentraciones de 1000, 500, 250, 125, 62.5 y 31.25  $\mu\text{g/mL}$  y se dejó incubar por 24 y 48 horas. Luego, se agregó 10  $\mu\text{l}$  de MTT (soluto) y se incubó por 4 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  y 95% de humedad. Posteriormente, las placas fueron lavadas con tampón fosfato salino (PBS); y se adicionó 10  $\mu\text{l}$  de isopropanol ácido para solubilizar los cristales de formazan durante 15 minutos en agitación suave. La lectura se realizó a 570 nm mediante un Lector de ELISA (GloMax®Multi Promega,

USA). El ensayo se realizó por triplicado para cada concentración de extracto. El porcentaje de inhibición del crecimiento de las células expuestas a cada una de las concentraciones, se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{Inhibición} = 100 - (\text{Absorbancia muestra} / \text{Absorbancia control negativo}) \times 100.$$

La concentración necesaria para inhibir el 50% del crecimiento celular ( $CI_{50}$ ) se calculó analizando la relación entre las concentraciones de extracto y el porcentaje de inhibición, mediante una regresión no lineal usando el programa GraphPad Prism 5.0 (San Diego, USA).

**Efecto antiinflamatorio en una línea celular de macrófagos de ratón (RAW264.7).** El efecto antiinflamatorio *in vitro* se evaluó en la línea celular RAW.264 sembrada en placas de cultivo de 96 pozos a una densidad de 200,000 células/pozo. Las células fueron inducidas con lipopolisacárido (LPS) de *E.coli* a 0.1  $\mu\text{g/mL}$  durante 20 horas a 37°C, 5%  $\text{CO}_2$  y 95% de humedad para generar estrés celular y liberación de citocinas proinflamatorias (21). Posteriormente, se agregó el extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) a

concentraciones de 1000, 500, 250, 125, 62.5 y 31.25  $\mu\text{g/mL}$  durante un período de 2 horas. Finalmente, los sobrenadantes celulares fueron recolectados para la cuantificación de las citocinas proinflamatorias (IL1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-12p70, IFN- $\gamma$ ) mediante el equipo MAGPIX<sup>®</sup> System (Austin, TX, USA) de acuerdo a las instrucciones del kit comercial MILLIPLEX<sup>®</sup> Mouse Cytokine (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL12p70, IFN- $\gamma$ ). El ensayo se realizó por triplicado para cada concentración de extracto y los resultados se expresaron en pg/mL.

**Análisis estadístico.** Los resultados fueron expresados como la media  $\pm$  desviación estándar de tres ensayos independientes, El análisis estadístico fue realizado usando el programa Graph Pad Prism 5 (San Diego, USA).

## RESULTADOS

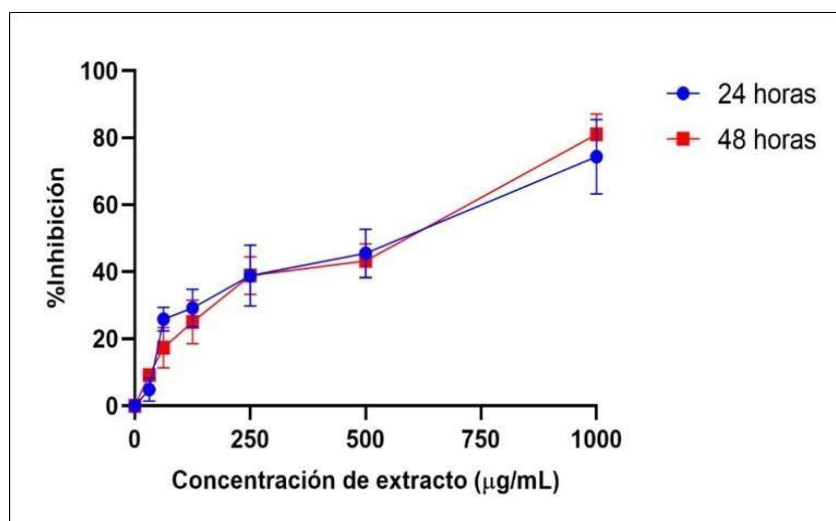
**Polifenoles y Flavonoides Totales.** La Tabla 1 muestra el contenido total de polifenoles y flavonoides del extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.).

**Tabla 1.** Polifenoles y flavonoides totales de la accesión Tt-23 de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) de la Región Puno, Perú.

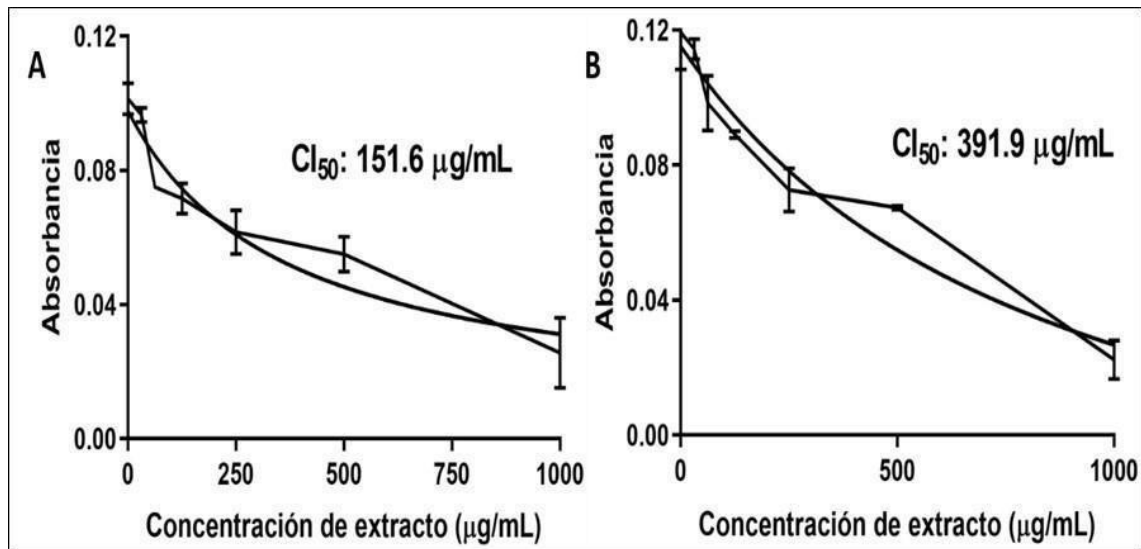
	Accesión Tt-23
<b>Polifenoles totales</b> (mg AGE /100 g peso fresco)	322.09±0.35
<b>Flavonoides totales</b> (mg QE /100 g peso fresco)	39.20 ±0.08

AGE: ácido gálico equivalente, QE: quercetina equivalente.

**Efecto citotóxico en una línea celular de cáncer de próstata (DU145).** De acuerdo a la Figura 2, a las 24 y 48 horas de exposición, se pudo observar que la proliferación celular fue inhibida de forma dosis dependiente respecto a la concentración del extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.). A las 24 y 48 horas de exposición, desde 31.25 a 125  $\mu\text{g/mL}$  se observó un incremento en el porcentaje de inhibición de 4.83% a 29.17% y 9.17% a 25.02%, respectivamente. Sin embargo, a partir de 250  $\mu\text{g/mL}$ , se observó un incremento mayor del porcentaje de inhibición. A las 24 y 48 horas de exposición, a 1000  $\mu\text{g/mL}$ , se alcanzó una inhibición de 74.41% y 81.00%, respectivamente. Entre ambos tiempos de exposición, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes concentraciones de extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) evaluadas.



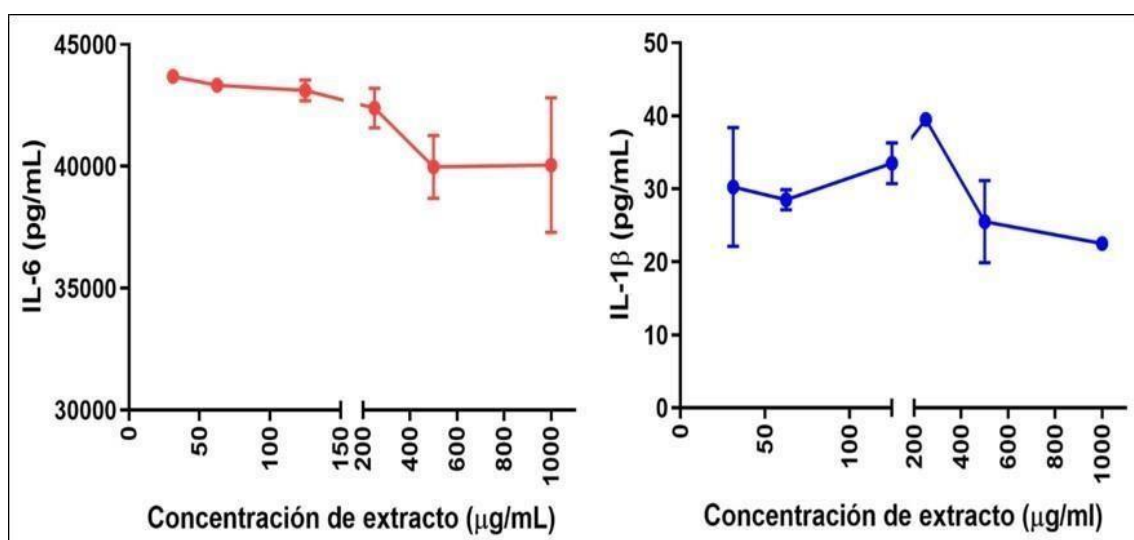
**Figura 2.** Porcentaje de inhibición celular a diferentes concentraciones del extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) sobre la línea celular DU-145, a las 24 y 48 horas de exposición. Valores representan la media de tres experimentos. Asimismo, se muestra en la Figura 3, que a las 24 horas de exposición se requirió menos concentración de extracto ( $CI_{50}$ : 151.6  $\mu\text{g/mL}$ ) para inhibir el 50% en la población celular respecto a las 48 horas de exposición ( $CI_{50}$ : 391.9  $\mu\text{g/mL}$ ).



**Figura 3.** Determinación de la concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) a las (A) 24 y (B) 48 horas de exposición en la línea celular de cáncer de próstata DU-145.

**Efecto antiinflamatorio en una línea celular de macrófagos de ratón (RAW264.7).** El extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) mostró una actividad antiinflamatoria respecto a los niveles de IL6 e IL-1β en la línea celular de macrófagos de ratón RAW264.7. Como se muestra en la Figura 4, a 1000 µg/mL el extracto de mashua negra.

(*T. tuberosum* R. & P.) redujo los niveles de IL-6 e IL-1β un 8.4% y 25.0%, respectivamente. Sin embargo, a las diferentes concentraciones evaluadas, el extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) no mostró diferencias significativas sobre los niveles de TNF-α, IL-12p70 e IFN-γ.



**Figura 4.** Niveles de las citocinas proinflamatorias (IL-6 e IL-1β) en la línea celular RAW264.7 estimulada con LPS, luego de 2 horas de exposición con diferentes concentraciones del extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.).

## DISCUSIÓN

Las plantas han sido empleadas desde la antigüedad como fuente de principios activos con actividad farmacológica, por ello los conocimientos tradicionales sobre su uso han servido para el tratamiento de diversas enfermedades como el cáncer, el cual se ha incrementado durante los últimos años en humanos, así como en la población canina (22). En el presente estudio, el extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) de la accesión Tt-23 procedente de la región altoandina del Perú, presentó un alto contenido de polifenoles y flavonoides totales, similar al reportado por Behar et al (13). En este estudio, las accesiones de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.), presentaron niveles de polifenoles y flavonoides totales entre 172.62 a 220.83 mg AGE/100 g peso fresco y 10.03 a 79.66 mg QE/100 g peso fresco, respectivamente. Asimismo, nuestros resultados concuerdan con lo reportado por Chirinos et al (23), en tres accesiones de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.), las cuales mostraron un contenido total de polifenoles que osciló entre 174.9 y 374.4 mg AGE/100 g peso fresco. Estudios realizados en alimentos muestran que un contenido superior a 100 mg AGE/100 de muestra, se considera como un alto contenido de polifenoles totales (24). Interesamente, de acuerdo a estos resultados, la accesión de mashua negra (Tt-23) evaluada en el presente estudio, presentó un alto contenido de polifenoles totales, incluso superior a otros tubérculos andinos evaluados previamente por Chirinos et al (25).

Debido al alto contenido de polifenoles y flavonoides totales encontrado en el extracto de mashua negra (Tt-23), su actividad antitumoral y antiinflamatoria fue evaluada en un modelo *in vitro*. En el ensayo de actividad antitumoral frente a la línea celular de cáncer de próstata DU145, nuestros resultados mostraron que dicho extracto redujo la proliferación celular de manera dosis dependiente. Del mismo modo, un estudio realizado por Cosquillo et al (26), mostró el efecto citotóxico del extracto crudo y extracto etanólico de *Curcuma longa* L. de manera dosis dependiente en células DU-145, a las 48 horas de exposición, con concentraciones crecientes desde 3.9 µg/mL a 62.5 µg/mL. Asimismo, otro estudio realizado por Cacciola et al (27), reportó también un efecto dosis dependiente, a las 24 horas de exposición, con el extracto seco de castaña sativa Mill; el cual a 30, 55, y 100 µg/mL redujo la viabilidad de las células DU-145 un 20, 87 y 89%, respectivamente. En ambos casos, similar a nuestro estudio, la presencia de altos niveles de compuestos fenólicos estuvo asociada a la actividad quimioterapéutica frente a líneas celulares de cáncer de próstata.

En el presente estudio, la  $CI_{50}$  fue significativamente menor a las 24 horas de exposición con el extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.). Resultados similares fueron obtenidos con el extracto de *Costus pulverulentus* C. Presl (Costaceae) en células PC-3 (carcinoma de próstata), reportándose actividad citotóxica con una  $CI_{50}$  de 179 µg/mL a las 24 horas de exposición (28). Otro estudio en el cual se evaluó la actividad citotóxica en células PC3, encontró una

CI<sub>50</sub> de 500 µg/mL, a las 24 horas de exposición con el extracto hidroalcohólico de *Levisticum officinale* (29). Considerando estos valores de CI<sub>50</sub>, nuestro extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) presentaría una mayor actividad anticancerígena en comparación a otros estudios.

Asimismo, otra de las propiedades de los compuestos bioactivos presentes en el extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) estaría asociada con la reducción de patologías de origen inflamatorio (30), debido a su alto contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante reductora del estrés oxidativo. Un modelo para evaluar la actividad antiinflamatoria es estimular la línea celular de macrófagos de ratón (RAW 264.7) con LPS, un potente activador de células del sistema inmune, que promueve la liberación de citocinas proinflamatorias (31). Asimismo, la secreción de estas citocinas al torrente sanguíneo en respuesta a diferentes estímulos externos, desempeña un papel importante en la respuesta inmune, sin embargo, un nivel exacerbado podría estar involucrado en la expresión de muchos trastornos inflamatorios (32). Debido a ello, la inhibición en la liberación de estos mediadores constituiría un mecanismo antiinflamatorio y reduciría dichas patologías.

En el presente estudio, el extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.) presentó una actividad antiinflamatoria reduciendo los niveles de IL-6 y IL-1β de manera dosis dependiente. De manera similar, un estudio realizado por Zhang et al (33), reportó que un extracto etanólico de *Ilex latifolia* Thunb en macrófagos de ratón (RAW 264.7) estimulados con LPS, disminuyó la liberación de citocinas proinflamatorias (IL-6 y IL-1β) de manera dosis dependiente, a las 24 hora de exposición con concentraciones crecientes (100 a 300 µg/mL) de extracto. Dicha actividad fue debida a la presencia de polifenoles, lo que sugiere que dichos compuestos son capaces de inhibir la fase inicial de la respuesta inflamatoria, al suprimir la vía de señalización de NF-κB que regula la expresión génica de citocinas proinflamatorias y ciclooxigenasa-2 (COX-2), involucrados en la inhibición de las MAP quinasas (MAPK). Asimismo, un estudio realizado por Medina et al (34), obtuvo una disminución significativa en la producción de IL-6, luego del tratamiento con un extracto etanólico de chaya (*Cnidioscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnston). A las 12 horas de exposición, a una concentración de 100 µg/mL, se inhibió la producción de IL-6 un 48.38%. Dichos estudios muestran, similar a nuestro estudio, que los compuestos fenólicos procedentes de fuentes vegetales podrían disminuir los mediadores relacionados al estrés oxidativo e inflamación, y por lo tanto serían importantes en la prevención de enfermedades de origen inflamatorio.

Asimismo, en los últimos años, se han reportado los efectos adversos de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES) y corticoides, por su toxicidad gastrointestinal y renal, debido a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas en el estómago o en la médula renal (35,36). Por ello, la evaluación de la actividad antiinflamatoria de diversos alimentos con un alto contenido de polifenoles, resulta importante, ya que al ser compuestos naturales no presentarían efectos adversos durante su tratamiento (37).

En conclusión, el presente estudio muestra que los compuestos bioactivos (polifenoles y flavonoides totales) del extracto de mashua negra (*T. tuberosum* R. & P.), mostraron un efecto citotóxico sobre la línea celular de cáncer de próstata DU-145. Asimismo, dicho extracto presentó una actividad antiinflamatoria, inhibiendo la producción de IL6 e IL-1 $\beta$  en una línea celular de macrófagos de ratón RAW264.7, lo cual sugiere que dicho extracto es un potencial candidato en el campo de la medicina veterinaria para utilizarse como coadyuvante en el tratamiento de cáncer y enfermedades de origen inflamatorio. Sin embargo, se requieren estudios pre-clínicos para la obtención de una formulación galénica y su posterior evaluación en animales.

### AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por el Programa Nacional de Innovación Agraria (PNIA), Lima, Perú (Contrato N°005-2016-INIA-PNIA/UPMSI/IE) y Universidad Científica del Sur.

### CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses para la publicación de este manuscrito.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chang G, Perales R, Tabacchi L. Frecuencia de Neoplasias en Caninos de 0 a 5 Años Diagnosticadas en el Laboratorio de Histopatología Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (2003-2014). *Rev Investig Vet Perú*. 2017; 28(4):1071-1077. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13867>
2. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. enero de 2017; 67(1):7-30. <https://doi.org/10.3322/caac.21387>
3. Cancer today [Internet]. [citado 7 de marzo de 2022]. Disponible en: <http://gco.iarc.fr/today/home>
4. Peña N, Chavera A, Cahua J, Perales R. Alteraciones prostáticas en caninos determinadas mediante ultrasonografía y citología por aspiración eco-guiada. *Rev Investig Vet Perú*. 2013; 24(2):207-216. <https://doi.org/10.15381/rivep.v24i2.2502>
5. Kato Y, Ochiai K, Michishita M, Azakami D, Nakahira R, Morimatsu M, et al. Molecular cloning of canine co-chaperone small glutamine-rich tetratricopeptide repeat-containing protein  $\alpha$  (SGTA) and investigation of its ability to suppress androgen receptor signalling in androgenindependent prostate cancer. *Vet J*. 2015; 206(2):143-8. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.08.002>
6. Cordeiro P, Novás S, Honorato L, Martínez-Couceiro S, García-Freire C. Prostatectomía radical laparoscópica y abierta: experiencia en nuestro centro. *Rev Mex Urol*. 2015; 75(5):247-52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.uromx.2015.06.005>

7. Sciarra A, Gentilucci A, Salciccia S, Pierella F, Del Bianco F, Gentile V, et al. Prognostic value of inflammation in prostate cancer progression and response to therapeutic: a critical review. *J Inflamm.* 2016; 13(1):35. <https://doi.org/10.1186/s12950-016-0143-2>
8. Chirinos R, Campos D, Warnier M, Pedreschi R, Rees J, Larondelle Y. Antioxidant properties of mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) phenolic extracts against oxidative damage using biological in vitro assays. *Food Chem.* 2008; 111(1):98-105. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.038>
9. Campos D, Noratto G, Chirinos R, Arbizu C, Roca W, Cisneros L. Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (*Solanum* sp.), mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas). *J Sci Food Agric.* 2006; 86(10):1481-1488. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2529>
10. Martín C, Higuera L. Glucosinolate composition of Colombian accessions of mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón), structural elucidation of the predominant glucosinolate and assessment of its antifungal activity. *J Sci Food Agric.* 2016; 96(14):4702-4712. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7689>
11. Bellik Y, Boukraâ L, Alzahrani HA, Bakhotmah BA, Abdellah F, Hammoudi SM, et al. Molecular Mechanism Underlying AntiInflammatory and Anti-Allergic Activities of Phytochemicals: An Update. *Molecules.* 2013; 18(1):322-53. <https://doi.org/10.3390/molecules18010322>
12. Abbaoui B, Lucas CR, Riedl KM, Clinton SK, Mortazavi A. Cruciferous Vegetables, Isothiocyanates, and Bladder Cancer Prevention. *Mol Nutr Food Res.* 2018; 62(18):e1800079. [doi: 10.1002/mnfr.201800079](https://doi.org/10.1002/mnfr.201800079)
13. Behar H, Reategui O, Liviach D, Arcos J, Best I. Phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of six accessions of mashua (*Tropaeolum tuberosum* R. & P.) from Puno Region, Peru. *Rev Fac Nac Agron Medellín.* 2021; 74(3):9707-9714. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v74n3.93020>
14. Zvitov-Ya'ari R, Nussinovitch A. Browning prevention in rehydrated freeze-dried non-blanching potato slices by electrical treatment. *LWT - Food Science and Technology.* 2014; 56(1):194-9. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.10.017>
15. Betalleluz-Pallardel I, Chirinos R, Rogez H, Pedreschi R, Campos D. Phenolic compounds from Andean mashua (*Tropaeolum tuberosum*) tubers display protection against soybean oil oxidation. *Food Sci Technol Int.* 2012; 18(3):271-80. <https://doi.org/10.1177/1082013211427794>
16. Herrera Calderon O, Enciso-Roca E, Pari-Olarte B, Arroyo Acevedo JL. Phytochemical screening, antioxidant activity and analgesic effect of *Waltheria ovata* Cav. roots in mice. *Asian Pac J Trop Dis.* 2016; 6(12):1000-3. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(16\)61172-6](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(16)61172-6)
17. Coronado-Olano J, Repo-Carrasco-Valencia R, Reategui O, Toscano E, Valdez



- E, Zimic M, et al. Inhibitory Activity Against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ glucosidase by Phenolic Compounds of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) from the Andean Region of Peru. *Pharmacogn J.* 2021; 13(4):896-901. <https://www.phcogj.com/v13/i4>
18. Lamoral D, Fattorusso E, Mangoni A, Perinu C, Kiss R, Constantino V. Evaluation of the antiproliferative activity of diterpene isonitriles from the sponge *Pseudoaxinella flava* in apoptosis-sensitive and apoptosis-resistant cancer cell lines. *J Nat Prod.* 2011; 74:2299-2303. <https://doi.org/10.1021/np2005055>
19. Shaffer C, Cai S, Peng J, Robles A, Hartley R, Powell D, et al. Texas Native Plants Yield Compounds with Cytotoxic Activities against Prostate Cancer Cells. *J Nat Prod.* 2016; 79:531-40. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00908>
20. Timm M, Saaby L, Moesby L, Wind E. Considerations regarding use of solvents in *in vitro* cell based assays. *Cytotechnology.* 2013; 65(5):887-894. <https://doi.org/10.1007/s10616-012-9530-6>
21. Cortés Castell E, Veciana Galindo C, Torro Montell L, Sirvent Segura E, Rizo Baeza MM, Gil Guillén V. Actividad antiinflamatoria de un extracto polifenólico de hueso de olivas en la línea celular de monocitos humanos THP1-XBLUE-CD14. *Nutr Hosp.* 2014; 30(1):113-7. <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2014.30.1.7482>.
22. Avelino M, Bibbins M, Vallejo V, Reyes J. Evaluación *in vitro* de la actividad citotóxica y antitumoral de plantas medicinales recomendadas en Cuetzalan del Progreso, Puebla, México. *Polibotánica.* 2019; (47):113-135. <http://dx.doi.org/10.18387/polibotanica.47.9>
23. Chirinos R, Campos D, Costa N, Arbizu C, Pedreschi R, Larondelle Y. Phenolic profiles of andean mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers: Identification by HPLC-DAD and evaluation of their antioxidant activity. *Food Chem.* 2008; 106(3):1285-98. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.024>
24. Ovaskainen M-L, Törrönen R, Koponen JM, Sinkko H, Hellström J, Reinivuo H, et al. Dietary Intake and Major Food Sources of Polyphenols in Finnish Adults. *J Nutr.* 2008; 138(3):562-6. <https://doi.org/10.1093/jn/138.3.562>
25. Chirinos R, Campos D, Betalleluz I, Giusti M, Schwartz S, Tian Q, et al. Highperformance liquid chromatography with photodiode array detection (HPLCDAD)/HPLC-Mass Spectrometry (MS) Profiling of anthocyanins from andean mashua tubers (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavón) and their contribution to the overall antioxidant activity. *J Agric Food Chem.* 2006; 54(19):7089-7097. <https://doi.org/10.1021/jf0614140>
26. Cosquillo R, Martha F, Placencia M, Miranda T, Moreno M, Retuerto M. Efecto citotóxico y genotóxico *in vitro* del extracto crudo y etanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. *Rev Perú Med Exp Salud Pública.* 2020; 37(3):454-461. <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2020.373.4817>

27. Cacciola A, Squillaci D, Petillo V, La Cara F, Peluso G, Margarucci S, Morana A. *Castanea sativa* Mill. Shells Aqueous Extract Exhibits Anticancer Properties Inducing Cytotoxic and Pro-Apoptotic Effects. *Molecules*. 2009; 24(18): 3401. <https://doi.org/10.3390/molecules24183401>
28. Alonso-Castro AJ, Zapata-Morales JR, González-Chávez MM, CarranzaÁlvarez C, Hernández-Benavides DM, Hernández-Morales A. Pharmacological effects and toxicity of *Costus pulverulentus* C. Presl (Costaceae). *J. Ethnopharmacol.* 2016; 180:124-30. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.01.011>
29. Sargazi S, Saravani R, Galavi H, Mollashahee-Kohkan F. Effect of *Levisticum officinale* Hydroalcoholic Extract on DU-145 and PC-3 Prostate Cancer Cell Lines. *Gene Cell Tissue* [Internet]. 31 de octubre de 2017 [citado 8 de marzo de 2022];4(4). Disponible en: <https://brief.land/gct/articles/66094.html#abstract>
30. Zhu F, Du B, Xu B. Anti-inflammatory effects of phytochemicals from fruits, vegetables, and food legumes: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2018; 58(8):1260-70. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1251390>
31. Khajuria V, Gupta S, Sharma N, Tiwari H, Bhardwaj S, Dutt P, et al. Kaempferol 3-o-β-d-glucuronate exhibit potential anti-inflammatory effect in LPS stimulated RAW 264.7 cells and mice model. *Int. Immunopharmacol.* 2018; 57:62-71. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.01.041>
32. Aggarwal BB, Gupta SC, Sung B. Curcumin: an orally bioavailable blocker of TNF and other pro-inflammatory biomarkers. *Br J Pharmacol.* 2013; 169(8):1672-92. <https://doi.org/10.1111/bph.12131>
33. Zhang T-T, Hu T, Jiang J-G, Zhao J-W, Zhu W. Antioxidant and antiinflammatory effects of polyphenols extracted from *Ilex latifolia* Thunb. *RSC Adv.* 2018; 8(13):7134-41. <https://doi.org/10.1039/C7RA13569F>
34. Medina U, Millán M, Arana V, Segura R. Actividad antioxidante y antiinflamatoria *in vitro* de extractos de chaya (*Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst). *Nutr Hosp.* 2020; 37(1):46-55. <https://dx.doi.org/10.20960/nh.02752>
35. Harirforoosh S, Asghar W, Jamali F. Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update of gastrointestinal, cardiovascular and renal complications. *J Pharm Pharm Sci.* 2013; 16(5):821-47. doi: [10.18433/j3vw2f](https://doi.org/10.18433/j3vw2f)
36. Bacchi S, Palumbo P, Sponta A, Coppolino MF. Clinical pharmacology of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a review. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem.* 2012; 11(1):52-64. doi: [10.2174/187152312803476255](https://doi.org/10.2174/187152312803476255)
37. Haminiuk CWI, Maciel GM, Plata-Oviedo MSV, Peralta RM. Phenolic compounds in fruits - an overview. *Int J Food Sci.* 2012; 47(10):202344. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x>

**ANEXOS:**

← → ↻ [revistamvz.unicordoba.edu.co/authorDashboard/submission/2785](http://revistamvz.unicordoba.edu.co/authorDashboard/submission/2785) 🔍 📄 ⭐ 📄 📄 📄 📄 📄

Aplicaciones SN Springer Nature account... Usil - Eventos Virtuales Centrifuge 5810/ 5810... My IBM Vitamin C supplementat... » Otros marcadores Lista de lectura

Revista MVZ Córdoba Tareas 0

Español (España) Ver el sitio ibest

Biblioteca de envío Ver metadatos

### Actividad antiinflamatoria y citotóxica in vitro de mashua negra de la Región Puno, Perú

Ivan Best, Jenifer Arenas Mejía, MVZ, Oscar Reátegui, M.Sc., Danae Liviac, Ph.D.

Envío Revisión Editorial Producción

#### Archivos de envío 🔍 Buscar

▶ 14681-1	ibest, Actividad antiinflamatoria y citotóxica de mashua negra_10.03.22.docx	Texto del artículo
▶ 14682-1	ibest, FORMULARIO PARA LOS AUTORES_ESP_10.03.22.pdf	Carta de Autores
▶ 14683-1	ibest, formulario-autorevision-autores_10.03.22.pdf	Formulario de autorrevisión
▶ 14684-1	ibest, Figura 1.tiff	Otro
▶ 14685-1	ibest, Figura 2.tiff	Otro
▶ 14686-1	ibest, Figura 3.tiff	Otro
▶ 14687-1	ibest, Figura 4.tiff	Otro

[Descargar todos los archivos](#)

**ANEXO 8**  
**FORMATO DE CONSTANCIA DE APTITUD PARA**  
**PUBLICACIÓN DE LA TESIS**

Villa El Salvador, 04 de diciembre del 2021

M.V.Z. María Lourdes Velarde Marcos  
**Decana de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia**  
**Universidad Científica del Sur**

De mi consideración:

Quien suscribe, Mg. MARIO MARTÍN PAUTA GÁLVEZ, Presidente del jurado examinador de la tesis titulada “DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA Y CITOTÓXICA *in vitro* DE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL *Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavón (Mashua negra)*” sustentada por la Bachiller en MVZ JENIFER ARENAS MEJÍA da constancia de haber verificado que el autor ha cumplido con efectuar las recomendaciones hechas por el Jurado y en consecuencia, el original de la Tesis se encuentra apto para su impresión y publicación.



Mg. MARIO MARTÍN PAUTA GÁLVEZ

Presidente

**COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN CON ANIMALES Y BIODIVERSIDAD**

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Constancia N° 107-CIEI-AB-CIENTÍFICA-2020

El presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación con Animales y Biodiversidad de la Universidad Científica del Sur (CIEI-AB-CIENTÍFICA) da constancia que el proyecto de investigación, cuyos datos se registran a continuación, ha sido aprobado.

Código de registro: 068-2019-PRE16

Título: **Determinación de la actividad antiinflamatoria y citotóxica in vitro de los compuestos bioactivos de *Tropaelum tuberosum* Ruiz & Pavón (mashua negra)**

Investigador(a): **Jenifer Arenas Mejía**

La aprobación del proyecto de investigación implica que el documento presentado a evaluación cumple con los lineamientos de Universidad en materia de investigación y ética, los cuales se sustentan en la normativa intencional vigente. Adicionalmente, en el contexto de la pandemia de enfermedad por COVID -19, le recomendamos cumplir con las normas publicadas por el estado peruano.

En tal sentido, esta aprobación carecerá de valor si es que el proyecto de investigación indicado arriba es modificado de cualquier forma. Toda modificación, añadido, eliminación o eventualidad (eventos adversos, etc.) posterior a la fecha de aprobación debe ser reportado al CIEI-AB-CIENTÍFICA.

La vigencia de la aprobación de este documento es de dieciocho (18) meses (hasta el 20 de enero del 2022), periodo en el que puede desarrollarse el proyecto. Cualquier trámite para su renovación deberá ser enviado antes del término de la vigencia de este documento, debiendo suspenderse todo desarrollo hasta que la renovación sea aprobada.

Villa El Salvador, 21 de julio de 2020




Méd. Vet. Gianmarco Paolo Rojas Moreno  
 Presidente  
 Comité Institucional de Ética en Investigación  
 con Animales y Biodiversidad

RESOLUCIÓN DIRECTORAL ACADÉMICA DE CARRERA N° 092-DACMVZ-  
DAFCVB-

U. CIENTÍFICA-2020

Lima, 17 de agosto de 2020

Visto el proyecto de tesis presentada por la Señorita **JENIFER ARENAS MEJIA**, egresada de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, se expide la presente Resolución:

**CONSIDERANDO:**

- ✓ Que, para optar el título profesional de Médico Veterinario Zootecnista en la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Científica del Sur, es necesario la realización y sustentación de una tesis. ]
- ✓ Que, el Reglamento de Tesis pertinente, dispone que el Proyecto de Tesis debe ser presentado a la Carrera de acuerdo al perfil aprobado, el cual debe ser dictaminado por el Comité de Investigación.
- ✓ Que, la Señorita **JENIFER ARENAS MEJIA**, ha cumplido con presentar su proyecto de tesis titulado "**Determinación de la actividad antiinflamatoria y citotóxica in vitro de los compuestos bioactivos del *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón (*Mashua negra*)**", bajo la Asesoría del **Mg. ÓSCAR REÁTEGUI ARÉVALO**.
- ✓ Que la Comisión de Grados y Títulos de la Carrera ha emitido una evaluación favorable, habiendo sido aceptado por el Comité de Ética y recomienda la inscripción del proyecto citado.

Estando a lo dispuesto por el Reglamento General de la Universidad Científica del Sur, el Reglamento de Tesis de la Carrera y a las normas vigentes, en uso de las atribuciones conferidas a la Carrera, **SE RESUELVE:**

1. **APROBAR** el Proyecto de Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario Zootecnista titulado: "**Determinación de la actividad antiinflamatoria y citotóxica in vitro de los compuestos bioactivos del *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón (*Mashua negra*)**".
2. Declarar a la señorita **JENIFER ARENAS MEJIA**, expedita para la realización del Proyecto de Tesis aprobado.
3. Nombrar al **Mg. ÓSCAR REÁTEGUI ARÉVALO** como Asesor del Proyecto de Tesis que se realizará.
4. Disponer la inscripción del proyecto de tesis aprobado en el Registro de Tesis para optar el Título Profesional de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la CIENTÍFICA.

Regístrese, comuníquese y archívese.



**M.V.Z. María Lourdes Velarde Marcos**

Directora Académica Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia