

TRABAJOS ORIGINALES

Disminución del daño oxidativo y efecto hipoglicemiante de la maca (*Lepidium meyenii* Walp) en ratas con diabetes inducida por streptozotocina

Hypoglycemic and antioxidant effect of maca (*Lepidium meyenii* Walp) in streptozotocin-induced diabetic rats

María Elena Rodrigo¹, Rubén Valdivieso², Silvia Suárez², Rosa Oriondo², Raquel Oré²

¹Unidad de Postgrado, Facultad de Medicina, Maestría en Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

²Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

Resumen

Introducción: La maca es consumida desde tiempos ancestrales como parte de la dieta. Se le ha atribuido propiedades medicinales y se encuentra incluida en la medicina tradicional peruana. Estudios recientes describen que la administración de maca reduce la glicemia en animales normoglicémicos, pero los mecanismos involucrados no están muy claros. **Objetivos:** Determinar el efecto hipoglicemiante y antioxidante de la harina de maca (*Lepidium meyenii* Walp) del ecotipo amarillo, en ratas con diabetes inducida por estreptozotocina. **Diseño:** Experimental. **Institución:** Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. **Material biológico:** Harina de maca amarilla y ratas albinas *Holtzmann* machos con diabetes inducida. **Intervenciones:** Se administró la harina de maca amarilla a las ratas distribuidas en 4 grupos: grupo I control (solo dieta); II, harina de maca 4 g/día; III, harina de maca 6 g/día; y IV, dieta + glibenclamida 10 mg/kg de peso; el experimento duró 46 días. Se evaluó diariamente la glicemia y el peso; al final del experimento se determinó en sangre los niveles de insulina, parámetros de daño oxidativo (vitamina C) y se midió la peroxidación lipídica (TBARS), como indicador del proceso oxidativo. **Principales medidas de los resultados:** Modificación de los niveles de glicemia, insulina, vitamina C y formación del complejo MDA-TBARS. **Resultados:** La administración de harina de maca en la dieta (4 a 6 g/día) de animales diabéticos redujo la glicemia en 50%, incrementó los niveles de insulina 22% y mejoró los niveles de vitamina C respecto al grupo control. La administración de maca 4 g/día disminuyó el daño oxidativo, pues redujo la formación del complejo MDA-TBARS en 54% con respecto al grupo control. **Conclusiones:** La administración de harina de maca amarilla a animales diabéticos mejoró el metabolismo de la glucosa, regulando la glicemia y elevando los niveles de insulina. También, incrementó las defensas antioxidantes y protegió del daño oxidativo que se presenta en la diabetes.

Palabras clave: Diabetes, maca amarilla, daño oxidativo, especies reactivas de oxígeno, lipoperoxidación, insulina, malondialdehído-ácido tiobarbitúrico (MDA-TBARS).

Abstract

Introduction: Maca is consumed since ancient times as part of the diet. Its ability to reduce the effects of stress and fatigue is mentioned among its medical properties by Peruvian traditional medicine. Recent studies describe that administration of maca reduces glycemia in normoglycemic animals; however mechanisms remain unclear. **Objectives:** To determine hypoglycemic and antioxidant effects of yellow ecotype maca flour (*Lepidium meyenii* Walp) in diabetic rats. **Design:** Experimental. **Setting:** Biochemistry and Nutrition Research Center, Faculty of Medicine, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru. **Biologic material:** Yellow maca flour, male rats. **Interventions:** Yellow maca flour was administered to male rats divided into four groups: I, control group; II, maca flour 4 g/day; III, maca flour 6 g/day; and IV, glibenclamide 10 mg/kg. Glycemia and body weight were determined daily for 46 days. At the end of the experiment insulin and parameters of oxidative damage (vitamin C and MDA-TBARS) were determined. **Main outcome measures:** Glycemia, insulin, vitamin C levels modification and formation of MDA-TBARS complex. **Results:** Administration of maca flour in the diet (4- 6 g/day) to diabetic animals decreased glycemia by 50%, increased insulin levels 22% and improved vitamin levels C compared to the control group. Administration of maca 4 g/day decreased oxidative damage 54% compared to control group as evaluated by formation of MDA-TBARS complex formation. **Conclusions:** Administration of yellow maca flour to diabetic animals improved glucose metabolism by regulating blood sugar, raising insulin levels, increasing antioxidant defenses and protecting against oxidative damage that occurs in diabetes.

Keywords: Diabetes, yellow maca, oxidative damage, reactive oxygen species, lipoperoxidation, insulin, malondialdehyde-thiobarbituric acid (MDA-TBARS).

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica considerada como un problema de salud pública. Esta enfermedad es de etiopatogenia diversa, siendo las causas más frecuentes los trastornos metabólicos, fundamentalmente la hiperglicemia crónica, además de estar asociada a otros factores de riesgo, como dislipidemias, obesidad, hiperinsulinismo y –aunado a estos problemas– las complicaciones cardiovasculares y la hipertensión arterial ⁽¹⁾.

Es característico en la diabetes el desarrollo de complicaciones crónicas microvasculares y macrovasculares, donde está involucrada la generación de especies reactivas derivadas del oxígeno (EROs), que causarían el daño oxidativo de las células del organismo ⁽²⁾. Se ha comunicado que la hiperglicemia crónica es el principal factor etiológico de las complicaciones diabéticas. Sin embargo, los mecanismos bioquímicos involucrados en el proceso fisiopatológico no son del todo claros ^(3,4). También se ha descrito que la hiperglicemia desencadena procesos bioquímicos dañinos para el organismo, tales como el estrés oxidativo y procesos inflamatorios crónicos ^(5,6).

Si bien es cierto que los organismos vivos soportan múltiples factores endógenos y exógenos de estrés oxidativo debido a que poseen antioxidantes enzimáticos (superóxido dismutasa, catalasa, GSH-peroxidasa, quinonas reductasas y hemoxigenasa) y no enzimáticos (Se, Zn, vitaminas C y E, carotenoides y fenoles), los que conforman la defensa antioxidante frente a las ERO's, no obstante no siempre resultan ser una barrera efectiva ⁽⁷⁾.

El incremento en la incidencia de la diabetes a nivel mundial es preocupante. La Organización Mundial de la Salud calcula que para el año 2025 existirán aproximadamente unos 300 millones de diabéticos. Parte de este incremento se producirá en países en vías de desarrollo, donde la edad, dietas y estilos de vida contribuyen a la aparición de la enfermedad ⁽¹⁾. Los tra-

tamientos son diversos, tanto farmacológicos (hipoglicemiantes orales e insulina) como modificación de los estilos de vida (alimentos, actividad física). Sin embargo, para el tratamiento de diversas enfermedades crónicas –entre ellas la diabetes– se ha incluido terapias alternativas y naturales, como el uso de diversas plantas medicinales o metabolitos secundarios ^(8,9).

El Perú es un país con una gran diversidad biológica, donde actualmente se trata de identificar plantas con propiedades medicinales utilizadas desde tiempos muy antiguos, siendo una de ellas la maca, que es utilizada en la alimentación del hombre andino. Esta raíz tiene diversos efectos en el organismo, habiéndose estudiado y encontrado una alta capacidad antioxidante de la maca amarilla, y se asume que se deba al contenido de fenoles y flavonoides, según lo hemos demostrado en estudios anteriores ⁽¹⁰⁾, y puede ser considerada como fuente importante de antioxidantes naturales, que podrían contrarrestar el exceso de radicales libres que perjudican el estado general de los pacientes diabéticos. Por ello, su empleo en estos pacientes podría tener utilidad terapéutica, para mejorar su calidad de vida.

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto hipoglicemiante y antioxidante del extracto acuoso de maca ecotipo amarillo, en ratas diabéticas.

MÉTODOS

Se realizó un estudio de tipo experimental, en el que se evaluó 24 ratas albinas Holtzmann, machos, de 13 a 15 meses de edad, adquiridas en la Universidad Agraria La Molina. Los animales fueron colocados en cajas individuales, con condicionamiento previo de 4 días, alimento balanceado y agua *ad libitum*, mantenidos a una temperatura promedio de 20°C y un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 horas, en el bioterio del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Mar-

cos (UNMSM). Los animales fueron pesados diariamente durante el tiempo que duró el estudio. Para el manejo de animales de laboratorio se tuvo en cuenta las normas y procedimientos éticos establecidos internacionalmente ⁽¹⁰⁾.

Los animales fueron asignados al azar a uno de los cuatro grupos, conformados por 6 animales cada uno:

- Grupo I (CO): Grupo control.
- Grupo II (M4): Harina de maca 4 g/día.
- Grupo III (M6): Maca amarilla 6 g/día.
- Grupo IV (GI): Glibenclamida 10 mg/kg.

Al grupo control se le administró agua destilada y al grupo IV glibenclamida, la que fue disuelta en suero fisiológico y administrada vía orogástrica. Los grupos II y III recibieron la maca en diferentes concentraciones en la dieta.

La diabetes experimental fue inducida por inyección de 40 mg/kg de peso corporal de estreptozotocina intraperitoneal, después de 12 horas de ayuno. El fármaco fue disuelto en 10 mM de buffer citrato, a pH 4,5, y fue aplicado inmediatamente.

Se recolectó la maca (ecotipo amarillo) en la localidad de Carhuamayo en el departamento de Junín. Fue identificada taxonómicamente en el Museo de Historia Natural de la Universidad de San Marcos. Se utilizó raíces de maca de 5 a 7 cm de diámetro, enteras; fueron limpiadas y se eliminó las raicillas. Luego, se las lavó para eliminar detritus y otros elementos extraños. Se las cortó en pedazos delgados, dejándolas sobre unas bandejas, y fueron secadas en una estufa de aire circulante, entre 37 y 40°C, por 48 horas. Durante el secado, los trozos de maca fueron removidos por lo menos tres veces al día, para garantizar un secado homogéneo, hasta que el peso fuera constante.

Los trocitos secos fueron molidos en un molino marca Retsch K3 N° 5. Luego se los tamizó hasta obtener un polvo fino, que fue conservado en recipientes

de plástico estériles y sellados herméticamente, para evitar la contaminación microbiana.

Se preparó las dietas con la harina de maca, a una concentración de 4 o 6 g/día.

Completado el periodo experimental (46 días), se tomó muestras de sangre para las determinaciones bioquímicas, y posteriormente los animales fueron anestesiados y sacrificados, para extraer muestras de hígado, que fueron colocadas en suero fisiológico y mantenidas a 4°C.

Una de las teorías que trata de explicar las complicaciones que se presentan en la diabetes o que, inclusive, podría intervenir en el origen de la diabetes tipo 2 es el daño oxidativo (generación de radicales libres). Uno de los órganos principales que suele usarse con marcador de las defensas antioxidantes en el organismo es el hígado, razón por lo cual lo hemos utilizado.

La determinación de glucosa se realizó utilizando un kit comercial que tiene como fundamento la oxidación de la glucosa mediante la glucosa oxidasa (GOD) acoplada a la actividad de la peroxidasa (POD), para formar el complejo coloreado, que se mide a 505 nm; la absorbancia es proporcional a la cantidad de glucosa presente en la muestra.

La insulina fue determinada mediante el método de quimioluminiscencia. La determinamos, porque está asociada a los mecanismos de la regulación de la glicemia, y cualquier alteración puede producir intolerancia a la glucosa o diabetes.

Los niveles de malondialdehído-ácido tiobarbitúrico (MDA-TBARS) fueron cuantificados en suero según Buege y Aust⁽¹¹⁾. Se utilizó este marcador porque permite evaluar de manera indirecta el daño oxidativo por la generación de peróxidos derivados de los lípidos de las membranas biológicas.

Se evaluó los niveles de vitamina C en suero, usando el reactivo de Folin Ciocalteu⁽¹²⁾.

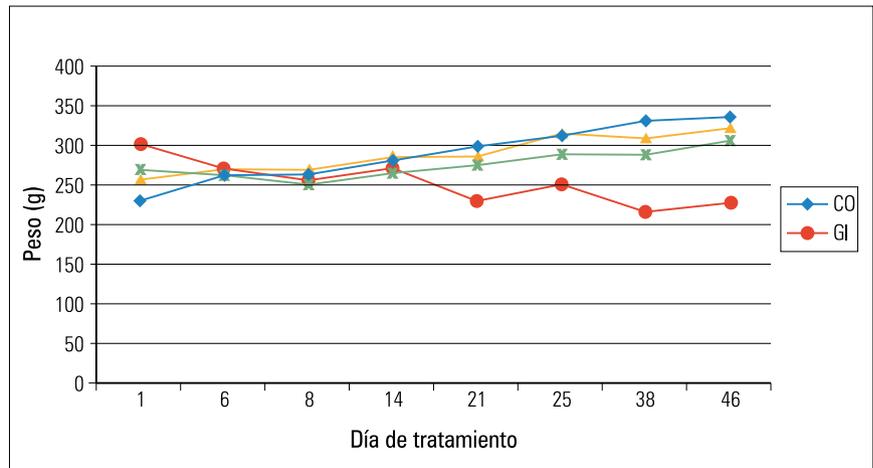


Figura 1. Pesos (g) en ratas, por día, según grupo de tratamiento. Como influencia del tratamiento en el peso de las ratas, se observa una pérdida de peso en el grupo tratado con glibenclamida.

Los datos de los parámetros bioquímicos fueron expresados como media aritmética, desviación estándar y el estadístico t-student para la prueba de diferencia de medias, con un nivel de significancia $p=0,05$, para cada uno de los parámetros investigados.

RESULTADOS

Pudo observarse que la administración del fármaco glibenclamida (10 mg/kg de peso) produjo una reducción mayor

del peso que el control y de los grupos tratados con maca (figura 1).

La administración de 6 g/día de harina de maca en la dieta produjo una reducción de la glicemia de aproximadamente 37% respecto a su basal, y la dosis de 4 g/día solo causó una disminución del 20% (figura 2); el grupo CO mostró una disminución de 22% y es de notar que el grupo GI -que recibió el hipoglicemiente de referencia- apenas mostró un 13%, presumiblemente por la susceptibilidad del grupo a la estrep-

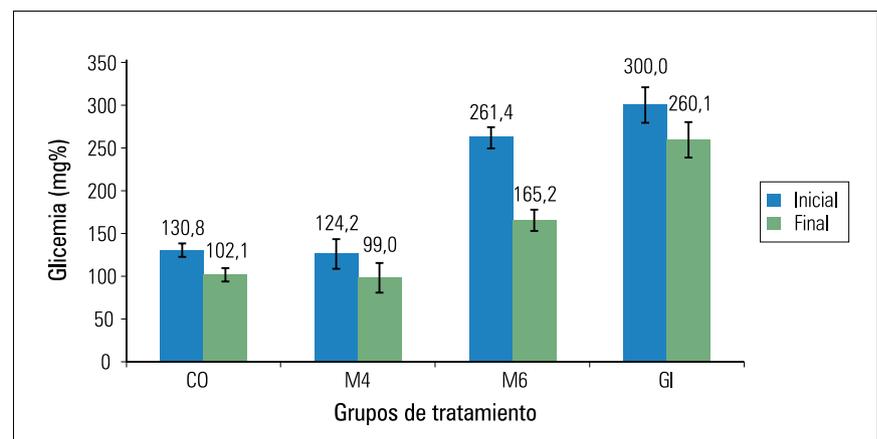


Figura 2. Niveles de glicemia (mg%) al inicio y al final del tratamiento. CO=diabéticos, M4=diabéticos + maca (4 g/día), M6=diabéticos + maca (6 g/día), GI=diabéticos + glibenclamida (10 mg/día).

tozotocina, que habría destruido tejido pancreático, lo que podría sustentarse en los niveles de insulina mostrados en la figura 3. No se realizó estudio anatómopatológico.

La figura 3 muestra los niveles de insulina, observándose que la administración de la harina de maca (4 y 6 g/día) incrementó significativamente los valores de esta hormona en animales diabéticos, respecto al grupo diabético y al grupo que recibió el fármaco.

Con relación al marcador bioquímico de peroxidación lipídica -medido como la formación del complejo MDA-TBARS-, se observó que las dosis de maca de 4 y 6 g/día produjeron 54% y 42%, respectivamente, de inhibición del daño oxidativo, respecto al grupo control. Los grupos que recibieron la harina de maca (4 y 6 g/día) presentaron diferencia significativa ($p < 0,05$) respecto al grupo control y al grupo que recibió el fármaco (figura 4).

La figura 5 muestra que la administración de la harina de maca en las dos concentraciones produjo un incremento de vitamina C, sin tener diferencia significativa respecto al grupo control; pero, la administración de glibenclámi-da causó disminución de esta vitamina, siendo significativa ($p < 0,05$).

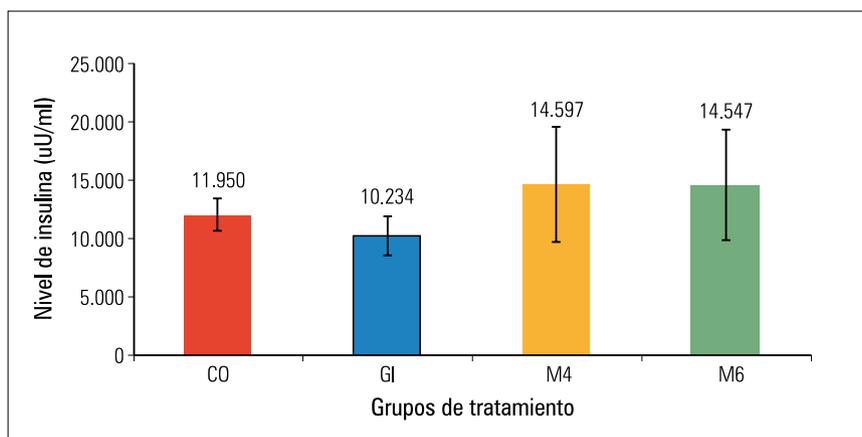


Figura 3. Niveles de insulina (uU/mL) en plasma. Los animales que fueron alimentados con harina de maca (4 y 6 g/día) presentaron un incremento significativo de insulina ($p < 0,05$) con respecto al grupo control y al grupo tratado con glibenclámi-da.

DISCUSIÓN

El Perú se caracteriza por presentar una gran diversidad biológica y por su rica tradición etnomedicinal. Existe diversidad de plantas utilizadas en la medicina folclórica. Se sabe que, en el año 2009, la maca y la uña de gato fueron las dos plantas medicinales peruanas de mayor demanda en el mercado internacional, por su amplio espectro para el tratamiento de diversas enfermedades. La maca ha sido tradicionalmente empleada para incrementar la fertilidad, tanto en hombres como mujeres, además de

actuar como antiestresante y para combatir la fatiga⁽¹⁴⁾.

Estudios realizados por López-Fando, en 2004, muestran que al administrar maca a animales de experimentación normoglicémicos se produce una reducción de la glicemia, pero los mecanismos no están todavía dilucidados.

Aún cuando el peso al inicio de nuestro experimento fue homogéneo y por lo tanto la inducción del cuadro de diabetes se realizó de manera homogénea, los niveles de hiperglicemia alcanzados han sido heterogéneos, pero dentro de los rangos considerados en la literatura internacional⁽¹⁵⁾. Partiendo de estos valores (figura 2), se ha hallado que solo la administración de 6 g/día de harina de maca ecotipo amarillo a animales experimentalmente diabéticos, produjo un ligero efecto hipoglicemiante, probablemente mediante un mecanismo modulador de la secreción de insulina y/o de la acción de la insulina (figura 3). Este ligero efecto hipoglicemiante, sin embargo, parece que produjo aumento de la defensa antioxidante, porque se estimula la producción de vitamina C en los animales, así como disminuye el parámetro oxidativo de MDA-TBARS en suero. Es probable que la maca también tenga efecto antioxidante al proteger a los animales diabéticos contra el daño celular, elevando la concentración de vitamina C circulante y dismi-

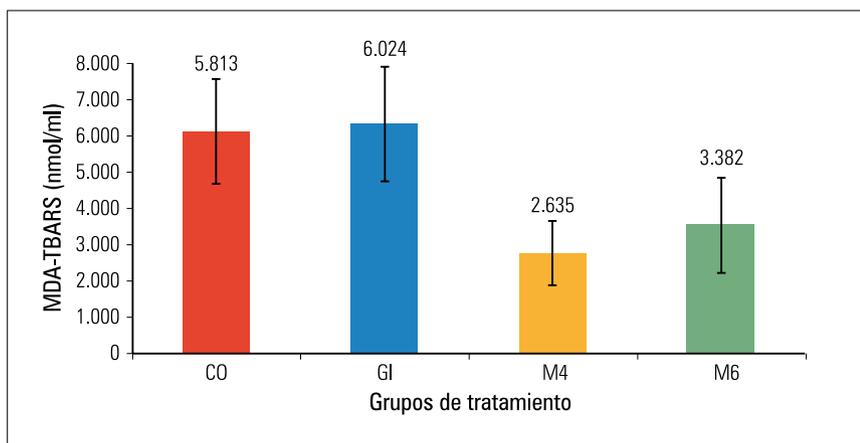


Figura 4. Niveles de MDA-TBARS (nmol/mL) en plasma. Los animales alimentados con harina de maca presentaron niveles significativamente más bajos de MDA-TBARS ($p < 0,05$), respecto al grupo control y el grupo tratado con glibenclámi-da.

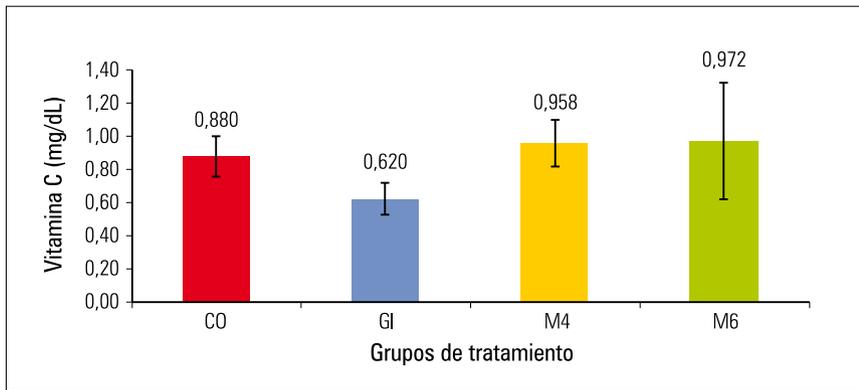


Figura 5. Niveles de vitamina C (mg/dL) en plasma. El tratamiento con harina de maca (4 y 6 g/día) produjo un incremento de los niveles de vitamina C, que no fue significativo con respecto al grupo control, pero que mostró diferencia significativa ($p < 0,05$) con respecto al grupo que recibió glibenclamida.

nuyendo el marcador de lipoperoxidación sérica. Además, la administración de la maca -que tuvo efecto hipoglicémico- no produjo una disminución en el peso de los animales, lo que sí se observa cuando se administra el hipoglicémico sintético, según comunicaciones en la literatura^(5,6,16) y como se observa en la figura 1.

No se dispone de estudios en la literatura especializada sobre la administración de harina de maca en la dieta en animales experimentalmente diabéticos, durante 46 días, por lo que los resultados obtenidos constituyen información inicial para posteriores estudios comparativos. Nakhaee y col. (2009) realizaron estudios con un esquema experimental similar, pero con un extracto acuoso de *Eucalyptus globulus* (eucalipto), en la dieta 20 g/kg y en el agua que bebieron 2,5 g/L, durante 4 semanas, lo que produjo disminución significativa de la glicemia y del complejo MDA-TBARS en plasma.

Es necesario realizar nuevos experimentos con este modelo, pero a dife-

rentes dosis, otros parámetros bioquímicos y con diversos ecotipos de maca, con el fin de tener resultados concluyentes que conduzcan a generar nuevas alternativas de terapia en diabetes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Untiveros F, Núñez O, Tapia L, Tapia G. Diabetes mellitus tipo 2 en el Hospital II Essalud - Cañete. Aspectos demográficos y clínicos. *Rev Med Hered*. 2004;15(1):19-23.
- Beristain-Pérez AS, Sánchez-Rodríguez MA, Ruiz-Ramos M, Mendoza-Núñez VM. Estrés oxidativo como factor de riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus, osteoartritis o hipertensión arterial en adultos mayores. *Bioquímica*. 2006;31(1):13-22.
- Rosado-Pérez J, Mendoza-Núñez VM. Mini-revisión: Inflamación crónica y estrés oxidativo en la diabetes mellitus. *Bioquímica*. 2007;32(2):58-69.
- Rolo AP, Palmeria CM. Diabetes and mitochondrial function: Role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2006;212(2):167-78.
- Miranda M, Muriach M, Johnsen S, Bosch-Morell F, Araiz J, Roma J, Romero FJ. Estrés oxidativo en un modelo de retinopatía diabética experimental: tratamiento con antioxidantes. *Arch Soc Esp Ophthalmol*. 2004;79(6):289-94.
- Arroyo J, Martínez J, Ronceros G, Palomino R, Villarreal A, Bonilla P, Palomino Ch, Quino M. Efecto hipoglicémico coadyuvante del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L (guanábana), en pacientes con diabetes tipo 2 bajo tratamiento de glibenclamida. *An Fac med*. 2009;70(3):163-7.
- Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea* (Concepción). 2006;494:161-72.
- Sandoval M, Okuhama NN, Angeles FM, Melchor VV, Condezo LA, Lao J. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chem*. 2002;79:207-13.
- Oré S. Efectos hipolipémico y antioxidante de *Lepidium meyenii* Walp en ratas. Tesis Doctoral en Ciencias Biológicas. UNMSM. 2008.
- National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington, DC: National Academy Press; 1996.
- Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978;52:302-10.
- Jagota SK. A new colorimetric technique for estimation of vitamin C using folin phenol reagent. *Anal Biochem*. 1992;127:178-82.
- González G. Maca: de la tradición a la ciencia. Instituto de investigaciones de la altura, Universidad Peruana Cayetano Heredia. 2006.
- Lopez-Fando A, Gomez-Serranillos MP, Iglesias I. *Lepidium peruvianum* chacon restores homeostasis impaired by restraint stress. *Phytother Res*. 2004;18(6):471-4.
- The Expert Committee on Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diab Care*. 2003;26:S5-S20.
- Nakhaee A, Bokaeian M, Saravani M, Farhangi A, Akbarzadeh A. Attenuation of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats by *Eucalyptus globules*. *Indian J Clin Biochem*. 2009;24(4):419-25.

Financiamiento:

Fondo Educativo de Desarrollo Educativo 2009.

Trabajo ganador del Premio al Mejor Trabajo en Ciencias Básicas de las IX Jornadas Científicas Sanfernandinas, XII Jornadas de Investigación en Salud, XIX Jornadas Sanfernandinas Estudiantiles, Facultad de Medicina, UNMSM, y Premio al Mejor trabajo del Docente menor de 40 años, de la Asociación de Exalumnos Sanfernandinos de la Peruvian American Medical Society-PAMS, setiembre 2010.

Agradecimiento:

A Joseph Pinto Oblitas.

Correspondencia:

Dra. María Elena Rodrigo Rojas

Correo electrónico: prodrigor@gmail.com.