



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
ESCUELA DE POSGRADO VICTOR ALZAMORA CASTRO

**“EVALUACIÓN METABÓLICA
Y EFECTO ANTIOXIDANTE DE
CAMU CAMU Y MACA COMO
NUTRACÉUTICOS EN JÓVENES
DE 18 A 25 AÑOS DE LA AMAZONÍA
PERUANA”**

**Tesis para optar el grado de Doctor en
Ciencias con mención en Fisiología**

Janeth Braga Vela

**Lima - Perú
2015**

MIEMBROS DEL JURADO

Dr. Francisco Villafuerte Castrillón	Presidente
Dr. Guillermo Santillán Zea	Vocal
Dra. Mónica Pajuelo Travezaño	Vocal
Dr. Francisco J. Peirano Blondet	Secretario

ASESOR

Dr. Gustavo F. Gonzales Rengifo

DEDICATORIA

A DIOS que es dueño y Señor de mi vida

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor Gustavo F. Gonzales, por todas sus sabias enseñanzas y contribución a la culminación de esta investigación.

A mi esposo Julio A. Meza, mi madre Lely Vela, mis hijos Julio Adriano, Gerson Manuel y Sorella Melina, mis nietos José David, Daniel Abel, Galilea, Josías y Ephraim, por su amor, ayuda y paciencia.

A mis colegas los Drs. Jorge L. Marapara, Juan C. Castro, Jorge Angulo, Gloria Pizango, Marina del Aguila, Luis E. Campos, de la UNAP por su apoyo y colaboración.

Al Dr. Manuel Gasco, Magister José L. Macarlupú, Magister Vilma Tapia, Magister Ana Colarossi y Magister Geraldine Salazar, por sus aportes y participación en el estudio.

A la UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA por el apoyo financiero y facilidades para la realización de este estudio.

AL CÍRCULO DE INVESTIGACIÓN EN PLANTAS CON EFECTO EN SALUD.

Al Laboratorio de Endocrinología y Reproducción de la UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA.

A todos los jóvenes voluntarios que participaron en el estudio, por su colaboración y responsabilidad para el éxito de esta investigación.

A los jóvenes egresados y estudiantes de la UNAP y UPCH que colaboraron en la realización de este estudio con dedicación, responsabilidad y entusiasmo.

A todo el personal de las Oficinas de Bienestar Universitario, del Laboratorio de Análisis Clínico de la UNAP, muchas gracias.

ÍNDICE

	Pág.
RESÚMEN	
I. INTRODUCCIÓN	01
II. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	04
II.1 Planteamiento del problema	04
II.1.1 Pregunta de Investigación general	05
II.1.1.1 Pregunta de Investigación específica 1	05
II.1.1.2 Pregunta de Investigación específica 2	06
II.2 Marco teórico	06
II.2.1 El camu camu <i>Myrciaria dubia</i>	06
II.2.1.1 Clasificación taxonómica	06
II.2.1.2 Composición química y metabolitos primarios del camu camu	10
II.2.1.3 Metabolitos secundarios de camu camu	11
II.2.1.4 Actividad antioxidante del camu camu	13
II.2.1.4.1 Actividad antioxidante <i>in vitro</i>	13
II.2.1.4.2 Actividad antioxidante <i>in vivo</i>	14
II.2.1.4.2.1 Efecto antioxidante y antiinflamatorio	14
II.2.1.5 Actividad Biológica del camu camu	15
II.2.1.5.1 Actividad biológica del camu camu <i>in vitro</i>	15
II.2.1.5.1.1 Efecto citoprotector	15
II.2.1.5.2 Actividad biológica del camu camu <i>in vivo</i>	15
II.2.1.5.2.1 Actividad hepatoprotectora de la pulpa del camu camu	15
II.2.1.5.2.2 Efecto cicatrizante de la piel	15
II.2.1.5.2.3 Evaluación del valor nutricional del fruto de camu camu	16
II.2.1.6 Recomendaciones diarias de ácido ascórbico	17
II.2.1.7 Mercado y exportación del camu camu	17
II.2.2 La maca (<i>Lepidium meyenii</i> Walp)	19
II.2.2.1 Clasificación taxonómica	20
II.2.2.2 Composición química y metabolitos primarios de la maca	21
II.2.2.3 Metabolitos secundarios	23
II.2.2.3.1 Glucosinolatos	23
II.2.2.3.2 Macamidas y macaenos	25
II.2.2.3.3 Polifenoles	26
II.2.2.3.4 Alcaloides	26
II.2.2.3.5 Esteroles	27
II.2.2.4 Actividad antioxidante de la maca	27
II.2.2.4.1 Actividad antioxidante <i>in vitro</i>	27
II.2.2.4.2 Actividad antioxidante <i>in vivo</i>	29
II.2.2.5 Actividad biológica de la maca	31
II.2.2.5.1 Actividad biológica de la maca <i>in vitro</i>	32
II.2.2.5.2 Actividad biológica de la maca <i>in vivo</i>	32
II.2.2.5.2.1 Estudios nutricionales	32
II.2.2.5.2.2 Estudios sobre metabolismo	34

II.2.2.5.2.3 Estudios sobre rendimiento físico	35
II.2.2.5.2.4 Función cognitiva y neuroprotectora de la maca	35
II.2.2.5.2.5 Efecto de la maca sobre el estrés	37
II.2.2.5.2.6 Conducta sexual y función reproductiva	38
II.2.2.5.2.7 Estudio Toxicológico con la maca	40
II.2.2.6 Producción, mercado y exportación de la maca	41
II.2.3 Estrés oxidativo y antioxidantes	43
II.2.3.1 Estrés oxidativo	43
II.2.3.2 Estrés oxidativo-reductor	44
II.2.3.3 Radicales libres	45
II.2.3.4 Oxidantes o sustancias reactivas de oxígeno (ROS)	46
II.2.3.5 Potencial redox	49
II.2.4 Antioxidantes	49
II.2.4.1 Clasificación de los mecanismos de defensa antioxidante	51
II.2.4.2 Antioxidantes enzimáticos	52
II.2.4.2.1 Superóxido dismutasa (SOD)	52
II.2.4.2.2 Catalasa (CAT)	54
II.2.4.2.3 Glutatión peróxidasa (GPx)	54
II.2.4.3 Antioxidantes no enzimáticos	56
II.2.4.3.1 Antioxidantes liposolubles	56
II.2.4.3.2 Antioxidantes hidrosolubles	57
II.2.4.3.3 Óxido Nítrico (NO)	59
II.2.4.4 Pruebas para medir actividad antioxidante <i>in vitro</i>	62
II.2.4.4.1 Método para el ensayo de captura de radicales DPPH	62
II.2.4.4.2 Método de ensayo de captura de ABTS	62
II.2.4.4.3 Ensayo FRAP	63
II.2.4.4.4 La capacidad antioxidante total (TOSC)	63
II.2.4.4.5 Ensayo de capacidad de absorber radicales oxígeno (ORAC)	64
II.2.4.5 Pruebas para medir actividad antioxidante <i>in vivo</i>	64
II.2.5 Rendimiento físico	66
II.2.5.1 Esfuerzo físico submáximo	68
II.2.5.2 Elección de un protocolo de prueba de esfuerzo (PE)	69
II.2.5.3 Pruebas para medir esfuerzo físico	70
II.2.5.4 Ventajas para el uso de pruebas ergométricas submáximas para Estimar la capacidad aeróbica	71
II.2.5.5 Prueba de Astrand & Rhymin	72
II.2.6 Memoria Auditiva	74
II.2.6.1 Evaluación de la memoria auditiva	74
II.3 Justificación del estudio	75
II.4 Objetivos	78
II.4.1 Objetivo general	78
II.4.2 Objetivos específicos	78
II.4.3 Hipótesis	79
III. METODOLOGÍA	80
III.1 Diseño del estudio	80
III.2 Población	80
III.3 Muestra	80

III.3.1 Selección y aleatorización de la muestra	81
III.3.2 Criterios de inclusión	82
III.3.3 Criterios de exclusión	82
III.4 Operacionalización de variables	83
III.4.1 Variables independientes	83
III.4.2 Variables dependientes	83
III.4.2.1 Determinación del estado de salud	84
III.4.2.2 Determinación de moléculas marcadoras de actividad Hepática, renal, lipídica, nutricional y hormonal	85
III.4.2.3 Determinación de rendimiento físico	87
III.4.2.4 Determinación de la respuesta antioxidante	87
III.4.2.5 Determinación de memoria auditiva	88
III.5 Procedimientos y técnicas	88
III.5.1 Aspectos controlados	88
III.5.2 Preparación de soluciones de nutraceuticos	88
III.5.3 Administración de los nutraceuticos	90
III.5.4 Aceptabilidad de los nutraceuticos	91
III.5.5 Cuestionario de percepción de salud SF20	91
III.5.6 Procedimiento de esfuerzo físico submáximo (EFSM)	92
III.5.7 Determinación de la memoria auditiva	94
III.6 Consideraciones éticas	95
III.7 Plan de análisis	95
IV. RESULTADOS	97
IV.1 Composición química de nutraceuticos	97
IV.2 Evaluación basal de cuestionario de salud y variables fisiológicas	98
IV.3 Aceptabilidad de camu camu y maca como nutraceuticos	101
IV.4 Percepción del estado de salud	101
IV.5 Registro de efectos adversos	102
IV.6 Cambios de parámetros fisiológicos asociados a la ingesta de maca negra y camu camu	102
IV.7 Cambios en los marcadores metabólicos por efecto de ingesta de maca negra y camu camu	106
IV.8 Hormonas séricas evaluadas en el ensayo	108
IV.9 Prueba de esfuerzo físico sub máximo	111
IV.10 Antioxidantes evaluados en el ensayo	115
IV.11 Prueba de memoria auditiva	121
IV.11.1 Prueba de memoria auditiva: N° de palabras	122
IV.11.1.1 Delta de N° de Palabras (final-inicial)	123
IV.11.2. Prueba de memoria auditiva: N° de ensayos	124
IV.11.2.1 Delta de N° de ensayos (final – inicial)	125
IV.11.3 Prueba de memoria: N° de Palabras / N° de ensayos	125
IV.11.3.1 Delta de la relación N° de palabras/N° de ensayos	126
IV.12. Efecto de tratamiento con maca y camu camu solos o combinados frente al placebo luego de controlar la actividad antioxidante	127

V. DISCUSIÓN	130
V.1 Aceptabilidad	130
V.2 Encuesta de salud	131
V.3 Efectos adversos	133
V.4 Parámetros fisiológicos	135
V.5 Marcadores metabólicos	138
V.6 Actividad hormonal	140
V.7 Prueba de esfuerzo físico submáximo	142
V.8 Antioxidantes	143
V.9 Evaluación de la memoria auditiva	147
V.10 Limitaciones del estudio	150
V.11 Fortalezas del estudio	152
VI. CONCLUSIONES	154
VI.1 Conclusiones generales	154
VI.2 Conclusiones específicas	155
VII. RECOMENDACIONES	156
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	158
ANEXOS	173
Anexo 1: Cuestionario de Salud	174
Anexo 2: Test de Likert	178
Anexo 3: Ficha de registro y evaluación de rendimiento físico	179
Anexo 4: Prueba de memoria auditiva	181
Anexo 5: Formato de consentimiento	183
Anexo 6: Gráfica de Frecuencia cardiaca submáxima y $VO_{2máx}$	187
Anexo 7: Composición nutricional de camu camu	190
Anexo 8: Composición nutricional de la maca (Carhuamayo-Junín)	191

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 01. Composición química del camu camu	11
Tabla 02. Contenido de aminoácidos en la proteína de maca	22
Tabla 03. Ácidos grasos de fracción alcohólica de maca	23
Tabla 04. Biomarcadores de la actividad antioxidante y métodos de análisis	66
Tabla 05. Operacionalización de variables	84
Tabla 06. Composición de nutraceuticos utilizados en el ensayo	91
Tabla 07. Composición química de nutraceuticos	97
Tabla 08. Composición de metabolitos en nutraceuticos	98
Tabla 09. Parámetros basales de Cuestionario de salud SF20 y de variables fisiológicas	99
Tabla 10. Parámetros basales de marcadores metabólicos	100
Tabla 11. Resultado de aceptabilidad	100
Tabla 12. Porcentaje de cambio cuestionario de salud	101
Tabla 13. Efectos adversos (1ª Semana)	102
Tabla 14. Resultados iniciales y finales de parámetros fisiológicos	103
Tabla 15. Porcentaje de cambio de presión sistólica con respecto al basal	104
Tabla 16. Porcentaje de cambio de presión diastólica con respecto al basal	105
Tabla 17. Porcentaje de cambio de marcadores metabólicos respecto al basal	106
Tabla 18. Basal de hormonas testosterona/estradiol en suero por grupos	109
Tabla 19. Basal de hormonas cortisol y T3 en suero por grupos	110
Tabla 20. Cortisol inicial -final:	110
Tabla 21. T3 inicial - final:	111
Tabla 22. Basal de esfuerzo físico submáximo por grupos	112
Tabla 23. Porcentaje de cambio del VO_{2max} en prueba de esfuerzo físico con respecto al basal	114
Tabla 24. Basales de antioxidantes evaluados	115
Tabla 25. Resultados de antioxidantes en porcentaje de cambio con respecto al basal	116

Tabla 26. Delta de SOD controlado por valor basal	118
Tabla 27. Basales de prueba de memoria por grupos	121
Tabla 28. Memoria auditiva en jóvenes luego de ingesta de nutraceuticos	122
Tabla 29. Tabla de regresión múltiple entre variables con antioxidantes y por grupos de tratamiento	128
Tabla 30. Tabla de regresión múltiple entre variables de rendimiento físico ($VO_{2máx}$) y memoria auditiva con antioxidantes y por grupos de tratamiento	129
Tabla 31. Conclusión de resultados significativos comparados al control	155

ABREVIATURAS

- (•OH): radical hidroxilo
- (H₂O₂): peróxido de hidrógeno
- (NO•): radical óxido nítrico
- (O₂^{•-}): radical anión superóxido
- (ONOO⁻): peroxinitrito
- (ROO•): peróxido de hidróxido
- °Brix: grados Brix
- 8-OHdG: 8-hidroxiguanosina
- ABTS: (Cación 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)
- AChE: acetilcolinesterasa
- ANOVA: análisis de varianza
- AOAC: Association of Official Analytical Chemists
- CAT: catalasa
- Certificación GRAS: “Generalmente reconocido como seguro”
- CRP: proteína C reactiva
- IL-6 e IL-8: Interleucinas marcadoras de inflamación 6 y 8.
- CuZnSOD (SOD-1, cSOD): superóxido dismutasa con zinc y cobre en el citosol
- DPPH: (1, 1 –difeníl 2-picril hidrazil hidrato)
- DRI: Dietary reference intakes (Ingesta recomendada)
- ECG: electrocardiograma
- ECSOD (SOD-3, ecSOD) CuZnSOD: superóxido dismutasa extracelular
- Ensayo FRAP: capacidad para reducir el hierro férrico (Fe⁺³)
- FAAH: enzima hidrolasa de ácidos grasos amidados
- FC: frecuencia cardiaca
- FCMT: frecuencia cardiaca máxima teórica
- FDA: Food and Drug Administration de Estados Unidos
- FIA-UNAP: Facultad de Industrias Alimentarias de la UNAP
- FOB: Free on Board – Incoterms
- FW: peso fresco

GC: gasto cardíaco

GPx: glutatión peroxidasa

GPx-C: glutatión peróxidasa forma intracelular o celular

GPx-P: glutatión peróxidasa forma extracelular o plasmática

GPx-PH: glutatión peróxidasa asociada a membrana específica para fosfolípido

GRd: glutatión reductasa

GSH: glutatión reducido

GSSG: glutatión oxidado.

Hb: hemoglobina

Hcto: hematocrito

HHTg: hipertrigliceridemia hereditaria

Hormonas: luteinizante (LH), folículo estimulante (FSH), prolactina (PRL),

T: Testosterona

E2: Estradiol

T3: triyodotironina.

HPLC: cromatografía líquida de alta eficiencia

IBPGR: International Board for the Protection of Genetic Resources

IIAP: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana

IIEF-5: (Índice internacional de función eréctil)

IMC: Índice de masa corporal

Kcal: kilo calorías

KMBA: (ácido 2- ceto- 4- mercaptobutírico)

LD₅₀: dosis letal media

LMPs: polisacáridos de *Lepidium meyenii*

MAO: monoaminoxidasa

MDA: malonaldehido

metHb: metahemoglobina (Hemoglobina desoxigenada)

MnSOD (SOD-2, mSOD): superóxido dismutasa de matriz mitocondrial

MTT: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2.5-difeniltatrazolium bromuro

NO: óxido nítrico

NOS: especies reactivas de nitrógeno

ORAC: ensayo de capacidad de absorber radicales de oxígeno

OVX: ovariectomizadas

PAS: presión arterial sistólica

PAD: presión arterial diastólica

PE: prueba de esfuerzo

PER: la razón de eficiencia proteica (peso ganado/ingesta proteica)

PPO: polifenoloxidasas

PUFAs: ácidos grasos poliinsaturados

RAVLT-S: Prueba de Memoria Rey Auditory Verbal Learning Test-Spanish

RDA: Recommended diet allowances

ROS: Oxidantes o Sustancias reactivas de oxígeno

RPE: puntaje de esfuerzo percibido

score SAT-P: (Perfil de satisfacción) relacionado con performance psicológica

Siicex: Sistema integrado de información de comercio exterior

SOD: Superóxido dismutasa

SpO₂: saturación arterial de oxígeno

Stata versión 10: Paquete de software para análisis estadístico

TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

TG: triglicéridos

TGO: transaminasa glutámico oxalacético

TGP: transaminasa glutámico pirúvico

TOSC: capacidad antioxidante total

TPTZ: (2, 4, 6, Tripiridil-s-triazina)

TRAP: Potencial reactivo antioxidante total (radicales peroxilo)

Trolox: (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8 tetrametil croman-2 carboxílico)

TE: Trolox equivalente

VES: Volumen de expulsión sistólica

VLDL: Lipoproteína de muy baja densidad

Vitamina E: α tocoferol

VO_{2máx}: Volumen de consumo máximo de oxígeno

β carotenoides: precursores de la vitamina A

RESÚMEN

En 80 jóvenes de 18 a 25 años, (20 por grupo de tratamiento) antes y después del consumo, durante 42 días, de extracto hidroalcohólico de maca negra y pulpa de camu camu atomizados solos y combinados, controlados por placebo (maltodextrina), se evaluaron: el estado de salud, la aceptabilidad al producto, los efectos adversos, algunos marcadores del metabolismo y el rendimiento físico submáximo, la actividad de superóxido dismutasa y catalasa en hematíes, los niveles séricos de óxido nítrico y la memoria auditiva.

Los resultados se analizaron por la prueba de ANOVA y prueba pos hoc de Bonferroni. También, por un análisis de regresión multivariado con corrección de Holm-Bonferroni. El valor de $p < 0.05$ determinó la significancia estadística.

Los resultados muestran que la maca negra y el camu camu, tienen alta aceptabilidad solos y combinados sin diferencia con el placebo ($p > 0.05$) y no afectan negativamente la salud ni producen efectos adversos ($p > 0.05$). Al término del tratamiento y a diferencia del placebo, los puntajes del cuestionario de estado de salud se incrementan en el grupo maca ($p = 0.01$) y la actividad antioxidante se evidencia con incremento de SOD ($p = 0.001$), en el grupo camu camu se observa el incremento de óxido nítrico, ($p = 0.01$) y en el tratamiento combinado el incremento de SOD y Óxido nítrico ($p = 0.001$).

La maca negra incrementa el rendimiento físico ($p = 0.001$) y el camu camu combinado con maca negra mejora la memoria auditiva ($p < 0.05$). En la regresión múltiple se aprecia que los efectos sobre puntaje de estado de salud, la presión arterial, rendimiento físico y memoria auditiva se asocian significativamente al tratamiento con maca o camu camu pero no a la actividad antioxidante.

En conclusión, la maca negra y el camu camu solos y combinados son aceptados, no tienen efectos adversos y los efectos observados sobre la percepción de estado de salud, la presión sistólica, el rendimiento físico y la memoria auditiva, son independientes del efecto de los antioxidantes.

Palabras clave: Camu camu, maca negra, aceptabilidad, marcadores del metabolismo, esfuerzo físico submáximo, antioxidantes, memoria auditiva.

ABSTRACT

In 80 young men and women aged 18-25 years, a spray dried hydroalcoholic extract of black maca and pulp of camu camu, alone or in combination, or placebo (maltodextrin) were administered during 42 days. Then, health status, acceptability, adverse effects, some markers of metabolism, physical submaximal efficiency, dismutase superoxide and catalase activities in erythrocytes, serum nitric oxide and auditive memory were assessed.

The results were analyzed by ANOVA test and the pos hoc Bonferroni test. Also multivariate regression analysis with Holm-Bonferroni correction was performed. The value of $p < 0.05$ determined statistical significances.

The results show that black maca and camu camu have high acceptability alone or in combination without difference with placebo ($p > 0.05$) and do not affect health negatively neither do they produce adverse effects, ($p > 0.05$). At the end of treatment with maca, health status score increased respect to values with placebo ($p = 0.01$), and enhanced the antioxidant activity with increased SOD ($p = 0.001$); in the camu camu group, serum nitric oxide levels increased ($p = 0.01$), and combined treatment increased SOD activity and nitric oxide levels ($p = 0.001$).

Black maca increased physical performance ($p = 0.001$), and camu camu combined with black maca showed a significant enhancement of the auditive memory ($p < 0.05$). In multivariate regression, the effects on score health, blood pressure, physical performance and auditive memory, are significantly associated to treatment with maca or camu camu but not to antioxidant activity.

In conclusion, black maca and camu camu alone or in combination, were accepted, without adverse effects, and the effects seen in the status health, blood pressure, physical performance and auditive memory were independent of antioxidant activity.

Key Words: Camu camu, black maca, acceptability, metabolism markers, sub maximal physical efficiency, antioxidants, auditive memory.

I. INTRODUCCIÓN

La maca *Lepidium meyenii* Walp y camu camu *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh, son plantas oriundas de la sierra y selva del Perú, respectivamente. Estas plantas son de utilidad debido a algunas propiedades nutraceuticas o funcionales estudiadas tanto en animales como en humanos.¹⁻³

Estas propiedades pueden deberse a la presencia de su alto contenido de metabolitos primarios como de sus metabolitos secundarios activos.^{4,5}

En la maca se han encontrado metabolitos secundarios tales como, alcaloides cuyo contenido varía de 0.15% a 0.84%.⁶ Igualmente se observan ácidos grasos como ácidos: palmítico, linoleico (omega 6), y linolénico (omega 3), glucosinolatos aromáticos y sus derivados isotiocianatos⁷. En la maca existe combinación de dos glucosinolatos, la sinigrina y la glucotropaelina que no se encuentra en ninguna otra brassicacea, que podría ser de utilidad para identificar adulteraciones.^{8,9}

En el caso del camu camu se caracteriza por su alta concentración de ácido ascórbico,^{2,10-13} polifenoles,¹⁴ antocianinas,¹⁵ carotenoides¹⁶ y posiblemente otras más.^{17,18} Un metabolito del camu camu, el 1-metilmalato protege del daño hepático producido con D-galactosamina en animales experimentales,¹⁹ además se ha comprobado que el camu camu aporta valor adicional importante en la

nutrición con micronutrientes tales como K, Mg, Ca, P, Zn, utilizadas en dietas para peces.²⁰

La maca muestra actividades antioxidantes, antiinflamatorias¹, favorece las funciones cognitivas²¹, la actividad física, la fertilidad, espermatogénesis²², o revierte la hiperplasia de próstata,²³ mejora parámetros reproductivos^{24,25} y revierte la osteoporosis.²⁶ Estas propiedades ubican a la maca como uno de los principales nutraceuticos de nuestro país y que puede ser aprovechado por la población mundial no solo para combatir a las enfermedades en las cuales la maca tiene efectos sino también para prevenirlas.

Por otro parte, diversos estudios demuestran que el camu camu tiene propiedades antioxidantes,^{15,27,28} citoprotectoras,²⁹ antiinflamatorias,² y hepatoprotectoras.¹⁹

Dabrowski sugiere combinar la dieta de camu camu con maca, y evaluar el aporte de estos alimentos en el estado nutricional y salud de los peces, y también hacer esta evaluación en humanos.²⁰ Otros autores, han demostrado en roedores que la mezcla de maca negra con camu camu es más efectiva que la administración individual de maca o camu camu en mejorar la espermatogénesis.²⁹

Debido a los efectos benéficos en estudios experimentales del camu camu, producto amazónico, y la maca negra, producto alto andino, tanto solos como

combinados, es necesario e importante realizar un estudio tipo Ensayo Clínico fase I, para demostrar su aceptabilidad, efectos adversos y algunas propiedades biológicas al ser administradas tanto solas como combinadas.

El presente estudio se realizó para evaluar el grado de aceptabilidad, y determinar el efecto de estos nutraceuticos en la salud de jóvenes voluntarios sanos que consuman estos productos solos o combinados; para conocer si la ingesta de estos productos solos o combinados es aceptable, si muestra efectos adversos basados en marcadores de función hepática, lipídica, renal, nutricional y hormonal, o por el contrario tiene efectos favorables para la salud basados en un cuestionario de estado de salud³⁰ y en evaluaciones de antioxidantes, rendimiento físico y memoria auditiva.

II. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACION

II.1 Planteamiento del problema

El Perú está considerado entre los 15 países de mayor diversidad global y uno de los centros más importantes de recursos genéticos, con aproximadamente 25,000 especies de plantas (10% del total mundial). El Perú tiene 4400 especies de plantas con propiedades conocidas y que son utilizadas por la población, de las cuales 182 son especies domesticadas nativas, 782 son especies con propiedades alimenticias, 1408 especies tienen propiedades medicinales, y 557 son frutales nativos.³¹

El camu camu (*Myrciaria dubia*), y la maca (*Lepidium meyenii*), son plantas de origen peruano que han concitado interés tanto nacional como internacional por sus propiedades como alimentos funcionales.³² Ello ha motivado un gran interés también en el ámbito científico, como se evidencian en las publicaciones científicas tanto para el camu camu^{3,32} como para la maca.^{1, 33-38}

Estudios realizados en humanos con camu camu² y con maca³⁹⁻⁴⁴ han permitido conocer la actividad biológica del consumo de estos productos.

Así por ejemplo, el camu camu ha mostrado su rol antioxidante y antiinflamatorio² y la maca su efecto en mejorar la percepción del estado de salud,⁴⁵ el deseo sexual^{40, 41} conteo de espermatozoides³⁹ y en el esfuerzo físico.^{34, 46}

Recientemente se ha evaluado el efecto de maca negra y camu camu combinados sobre la función espermática en un modelo animal.⁴⁷

No existe, sin embargo, ningún estudio en humanos que evalúe el efecto en el metabolismo y en la salud, de la administración conjunta de maca y camu camu y que permita contar con evidencias científicas de los beneficios que pueden proporcionar y que respalden el uso de estos productos con seguridad. Todo esto es importante para poder impulsar su desarrollo en la industria nacional e introducirlos en el mercado internacional con valor agregado, por sus propiedades como alimentos funcionales, nutraceuticos o nuevos productos. Por ese motivo se ha diseñado el presente ensayo clínico Fase I.

II. 1.1. Pregunta de Investigación general

¿La ingesta combinada de los extractos atomizados de camu camu y maca negra mejoran el desempeño metabólico y la respuesta antioxidante, que ingeridos por separado en jóvenes de la amazonía peruana?

II.1.1.1. Pregunta de Investigación específica 1

¿Los extractos de camu camu y maca negra combinados mejoran:

- El estado de salud
- Los niveles séricos de marcadores bioquímicos
- Los niveles séricos de marcadores hormonales
- El rendimiento físico?

II.1.1.2. Pregunta de Investigación específica 2

¿Los extractos de camu camu y maca negra combinados mejoran:

- La actividad intraeritrocitaria de la superóxido dismutasa
- La actividad intraeritrocitaria de la catalasa
- Los niveles séricos de óxido nítrico
- La memoria auditiva?

II.2 Marco Teórico

II.2.1 El Camu camu *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh.

Es un arbusto de hasta 3 metros de altura que habita en terrenos planos inundables. Las flores se producen en ciclo anual. Los frutos del camu camu son tipo baya de 2 a 3 cm de diámetro, rojos, violetas o negruzcos, con pulpa carnosa suave con 2 a 3 semillas, de sabor muy ácido y cuando están maduros son comestibles. El fruto presenta un alto contenido de ácido ascórbico.⁴⁸

II.2.1.1 Clasificación taxonómica.

El género *Myrciaria* (Berg), pertenece a la familia Myrtaceae con 15 especies, todas del nuevo mundo, distribuidas de México hasta Uruguay.⁴⁹

La taxonomía de la especie *Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh “camu camu” es:

Tipo: Fanerógamas
Sub tipo: Angiospermas
Clase: Dicotiledóneas
Orden: Myrtales

Familia: Myrtaceae
Género: Myrciaria
Especie: *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh

Nombres comunes: Camu camu (Perú); Guayabito, limoncillo (Venezuela); Caçari, arazá de agua, aracarana, aracazinho, miraúba (Brasil).⁴⁸

Sinonimias: *Myrciaria paraensis*, *Psidium dubium* Kunth, *Eugenia divaricata*, *Eugenia grandiglandulosa*, *Myrciaria caurenisi*, *Myrciaria divarticata*, *Myrciaria obscura*, *Myrciaria lanceolata*, *Marliera macedoi*.⁵⁰

Los sinónimos aceptados para la clasificación del camu camu son: *Myrciaria divaricata* (Bentham) O. Berg, *Myrciaria spruceana* O. Berg, *Psidium dubium* H.B.K.⁵¹

La máxima concentración de poblaciones naturales de la especie y la mayor variabilidad genética se encuentran en el territorio amazónico peruano, y el origen de la especie se encuentra, con alta probabilidad, en la Amazonía occidental peruana.⁵²

La especie presenta gran abundancia en el territorio amazónico de Perú, a la ribera de los ríos y lagos que están asociados con los ríos Napo, Nanay, Ucayali, Marañón y Tigre.⁴⁹

Con respecto a los frutos, el color varía de verde a rojo morado; cuando llega a la madurez, el peso de los frutos varía entre 4.02 a 15.30 g. La concentración de ácido ascórbico presenta un amplio rango desde 1263 a 2568 mg/100g. Los valores de °Brix oscilan de 4.2 a 6.3. Los grados Brix son indicadores de la concentración de sólidos suspendidos y el pH fluctúa entre 2.5 y 2.9.⁵²

El Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) realizó un estudio en 1999 sobre el conocimiento de los pobladores que viven en áreas vecinas a rodales naturales de la cuenca del río Ucayali del uso de camu camu. Las personas refieren diversas modalidades del uso popular de esta planta: la corteza es usada para preparar licor junto a otras especies; la corteza y la raíz en cocimiento son usadas para el reumatismo y las diarreas. La corteza raspada se utiliza para dolores musculares, y las hojas trituradas en agua se usa contra la fiebre, y dolor de cabeza.⁵³

En una encuesta a 108 pobladores, en la zona urbana de Iquitos y en zona rural de Jenaro Herrera, Requena, San Juan, Nauta y otros poblados del Departamento de Loreto, refieren que la parte más utilizada del camu camu es el fruto maduro (64%); el uso del tallo es significativamente menor (19%); otras partes de la planta, como las hojas, la raíz, la semilla y el fruto verde ocupan un bajo nivel de preferencia.⁵⁴

Con respecto al uso terapéutico, entre 36 enfermedades destacan la

artritis reumatoide (33%), el resfrío (17%), diabetes mellitus (11%), el colesterol elevado (7%), bronquitis (4%), deficiencia de ácido ascórbico (4%), inflamación (2%) y otros (22%). En las formas de preparación para uso medicinal, destaca el extracto o jugo fresco del fruto maduro (28.5%), la cocción de la corteza del tallo (11.8%), y el extracto macerado del fruto (11.1%). La pulpa del fruto maduro es consumida por el poblador rural para preparar refrescos y bebidas.⁵⁴

De acuerdo a estudios realizados con camu camu *in vitro*^{18,27,55-57} e *in vivo* en animales de experimentación,⁵⁸⁻⁵⁹ se conoce que tiene actividades como antioxidante,^{15,27,28,57} cito y hepatoprotector,^{19,29} y antiinflamatorio⁶⁰, que señalan la necesidad de continuar con la investigación para la validación clínica de estas propiedades.

En los últimos años, la industria utiliza la pulpa concentrada o deshidratada de camu camu para varios productos, donde el principal atractivo radica en el alto contenido de ácido ascórbico. Sin embargo, a la luz de los estudios de la composición química donde se demuestra la presencia de polifenoles, antocianinas y otros compuestos, está claro que aún no se aprovechan las propiedades de estos compuestos como valor agregado de la planta.

II.2.1.2 Composición química y metabolitos primarios del camu camu.

El fruto de camu camu tiene un bajo valor calórico (16-24 kcal/100 g), y alto contenido de agua (93 g/100 g). La cantidad de carbohidratos es de 5.9 g/100 g, la de proteínas de 0.5 g/100 g y las cenizas de 0.2 g/100 g. Entre los aminoácidos que se encuentran en mayor proporción en la proteína, están serina, valina y leucina; también se encuentran ácidos orgánicos tales como: ácido cítrico, isocítrico y málico. El contenido de grasa total es 0.1 g/100 g predominando ácido esteárico, linoleico y oleico.^{3,61}

Con respecto al contenido de los elementos químicos, los distintos reportes coinciden en que el potasio (Tabla 01) se encuentra en mayor proporción en el fruto y la pulpa, de diferente procedencia y con diferentes métodos de análisis.^{13, 62, 63}

Uno de los reportes más antiguos sobre frutos de camu camu indica la presencia de 2089 mg de ácido ascórbico/100 g.¹⁰ Reyes y col.⁶¹ en fruto encuentra 2780 mg de ácido ascórbico /100 g de pulpa. Este alto contenido de ácido ascórbico en el fruto, en diferentes partes y preparaciones del camu camu se reporta para muestras obtenidas en el Perú y Brasil.^{12,13,63}

Bradfield & Roca¹¹ encuentran 2994 mg de ácido ascórbico/100 g en fruto maduro, 1926 mg/100 g en fruto verde y 2373 mg /100 g en pintón.

Se ha reportado que existe variación del contenido del ácido ascórbico en los frutos y en las hojas dependiendo de la hora del día que se coseche, relacionado con las horas de mayor radiación solar.^{64, 65}

Tabla 01. Composición química del camu camu.

Elemento químico mg/100g	Yuyama 2003⁶² Pulpa (Uatumá-Brasil)	Zapata 1993⁶³ Fruto maduro (Iquitos)	Justi 2000¹³ Pulpa (Paraná - Brazil)
K	94.7 ± 49.4	71.1	83.8 ± 3.6
Ca	8.3 ± 2.3	6.5	15.73 ± 4.4
Na	0.19 ± 0.13	2.7	11.13 ± 0.43
Fe	0.44 ± 0.24	0.18	0.53 ± 0.04
Zn	0.24 ± 0.23	0.13	0.36 ± 0.01
Mg	n.d.	5.1	12.38± 0.87
Mn	n.d.	0.21	2.11 ± 0.11
Cu	n.d.	0.08	0.2 ± 0.02
Co	1.36 ± 1.1	n.d	n.d
Br	0.021 ± 0.006	n.d.	n.d
Cr	0.015± 0.005	n.d.	n.d
Se	0.0043± 0.008	n.d.	n.d
Método de análisis de Micronutrientes	AANI- Análisis instrum. Activación de neutrones.	HPLC-Espectro. Abs. Atómica	Espectrom. Abs. Atómica

n.d No determinado

II.2.1.3 Metabolitos secundarios del camu camu

En los últimos años se ha comenzado a poner atención en este fruto, no solo por su contenido de ácido ascórbico sino por la presencia de otros metabolitos bioactivos; estos incluyen a los polifenoles tales como flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, estilbenos y lignanos, compuestos

que dependen del estado de madurez del fruto y del método de extracción usado.^{13,27,56}

La cianidina-3-glucósido, la quercetina y sus glicósidos fueron encontrados solo en la pulpa en polvo, mientras que las proantocianidinas estaban presentes solo en la harina.⁵⁷ Las antocianinas se encuentran en cáscara de frutos maduros⁶⁶ y en cáscara seca.²⁸ La principal antocianina fue cianidin-3-glucósido que es el principal pigmento, seguido de delphinidin-3-glucósido.¹⁸

En la pulpa de camu camu se han identificado flavonoides. Los principales fueron quercetina y derivados de kaempferol, además del ácido clorogénico y ácido elágico y carotenoides¹⁶⁻¹⁸ y 21 compuestos volátiles.^{67,68}

El contenido total fenólico del camu camu es más alto que el rango de otros frutos tropicales analizados.^{69,70}

Estos metabolitos serían en conjunto responsables de los efectos benéficos⁵⁴ y que se están reconociendo gracias a la investigación científica.^{3,57-60} Un ejemplo de ello es la actividad hepatoprotectora del 1-metilmalato del camu camu.¹⁹

II.2.1.4 Actividad antioxidante del camu camu.

II.2.1.4.1 Actividad antioxidante *in vitro*

Han sido evaluadas la actividad antioxidante en la cáscara seca de camu camu en diferentes estados de maduración (verde, pintón, maduro), observando una alta actividad para inhibir radicales libres. El extracto de cáscara seca del camu camu pintón presenta mayor porcentaje de inhibición (2.47 y 2.54 veces) más fuerte que las muestras de cáscara seca del fruto maduro y verde.¹⁵ Este resultado es confirmado por Chirinos.²⁷

Esta actividad antioxidante en las pruebas de reducción del radical DPPH (1,1-difenil 2-picrilhidrazil), ABTS (Cación 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) y para el radical, peróxido están relacionadas al contenido de ácido ascórbico y polifenoles totales de la cáscara seca del fruto pintón^{16,17} y encontraron que la actividad antioxidante era mayor en la cáscara que en la pulpa.²⁸

El camu camu tiene alta actividad antioxidante en DPPH, relacionada con el alto contenido de ácido ascórbico y contenido de fenoles total, y tiene baja actividad en la peroxidación lipídica.¹⁸

Es importante destacar que la capacidad antioxidante del camu camu es mayor que con el ácido ascórbico puro. Esto se debería a que el camu

camu tiene otros compuestos además del ácido ascórbico con propiedades antioxidantes, principalmente polifenoles, flavonoides etc.⁵⁵

Cuando se mide la actividad antioxidante de los frutos maduros a través de la capacidad de inhibir las polifenoloxidasas (% Inhibición a PPO), el extracto acuoso del fruto de camu camu presenta actividad antioxidante cuatro veces mayor comparada al ácido ascórbico sintético.⁷¹

Cuando se incluye la cáscara y la pulpa, la actividad antioxidante es mayor que cuando se usa solo la pulpa sin cáscara.³ La fracción de camu camu rica en ácido ascórbico es la que contribuye a su capacidad antioxidante (67.5-79.3%) y en menor % la fracción rica en compuestos fenólicos (20.7-32.5%).^{3,27}

II.2.1.4.2 Actividad antioxidante *in vivo*:

II.2.1.4.2.1 Efecto antioxidante y antiinflamatorio.

Inoue y col.² evaluaron en hombres saludables, fumadores, en estrés oxidativo acelerado, la actividad antioxidante y antiinflamatoria del camu camu, que tomaron 1,050 mg de ácido ascórbico ó 70 mL de jugo de camu camu conteniendo 1,050 mg de ácido ascórbico por 7 días.

El camu camu redujo marcadores de estrés oxidativo 8-OHdG en orina y ROS total de suero; también los marcadores de inflamación CRP, IL-6

e IL-8. Los niveles de estos marcadores excepto IL-6 se restablecieron un mes después de dejar de ingerir camu camu. Estos cambios no se observaron en el grupo que tomó tabletas de vitamina C a pesar del contenido equivalente de ácido ascórbico.

II.2.1.5 Actividad biológica del camu camu

II.2.1.5.1 Actividad biológica del camu camu *in vitro*

II.2.1.5.1.1 Efecto citoprotector.

Alvis y col.²⁹ con extracto acuoso de frutos de camu camu, estudiaron la actividad citoprotectora ante el daño oxidativo producido por bromato de potasio (KBrO₃) sobre el DNA de células polimorfonucleares de sangre venosa y de 2 tipos celulares de hígado y riñón en 3 tratamientos con ratones por 35 días. El camu camu muestra un efecto protector con respecto al daño inducido por KBrO₃.

II.2.1.5.2 Actividad biológica del camu camu: *in vivo*

II.2.1.5.2.1 Actividad hepatoprotectora de la pulpa de camu camu.

Akachi y col.¹⁹ demostraron que el camu camu tiene un efecto protector cuando se provoca daño al hígado de rata con D-Galactosamina. Se encontró adicionalmente que el 1-metilmalato es responsable de esta actividad.

II.2.1.5.2.2 Efecto cicatrizante de la piel.

Pacci-Salazar y col.⁵⁸ compararon el efecto de una crema a base de cáscara del fruto de *Myrciaria dubia* con el efecto antibiótico de la

crema sulfadiazina argéntica, con ratas que con un cautín modificado les hicieron 3 quemaduras térmicas de 1 cm² en el dorso de la piel.

La crema de camu camu aumentó significativamente los fibroblastos en las heridas y la presencia de epidermis era evidente en el grupo que recibió camu camu a diferencia de los demás grupos. Esto podría deberse a mayor activación de las células basales o a la detención de los procesos oxidativos debido a la propiedad antioxidante del fruto por su alto contenido de ácido ascórbico y flavonoides, lo que explicaría la detención de los procesos de necrosis en la dermis.

II.2.1.5.2.3 Evaluación del valor nutricional del fruto de camu camu

Dabrowski y col.²⁰ utilizaron 4 tipos de dietas con camu camu, aguaje, maca y un grupo control con harina de trigo para alimentar larvas de peces: gamitana *Colossoma macropomum* y paco *Piaractus brachypomus*.

La mejor razón de eficiencia proteica PER (peso ganado/ingesta proteica) se observó en el grupo alimentado con maca, el grupo camu camu fue menor y diferente a los otros grupos significativamente ($p < 0.05$). En contraste, la proteína total del cuerpo y la concentración de cenizas fueron significativamente mayores en el grupo de camu

camu. La composición mineral del pez alimentado con camu camu mostró niveles significativamente más altos de P, K, Ca, Mg, Na, Zn, y Al en comparación con las demás dietas ($p < 0.05$).

Nascimento, alimentó con pulpa de camu camu a ratas obesas inducidas por la dieta, quienes al final del experimento mostraron reducción en el peso del tejido adiposo blanco, colesterol total, triglicéridos, glucosa, grasa visceral y epididimal e insulina en la sangre y el incremento de colesterol de alta densidad.⁵⁹

II.2.1.6 Recomendaciones diarias de ácido ascórbico

El ácido ascórbico es un nutriente esencial y no se produce en el humano. Su deficiencia es causa de escorbuto.

Las recomendaciones diarias que hace Dietary Reference Intakes (DRIs)⁷² para la ingesta de ácido ascórbico es de 90 mg/día para hombres mayores de 19 años y 75 mg/día para mujeres. Estos valores se pueden obtener en la dieta con el consumo diario de la pulpa de un solo fruto de camu camu con 12 gramos de peso.

II.2.1.7 Mercado y exportación del camu camu

Una de las frutas más promisorias de la amazonía peruana, camu camu presenta un gran potencial de desarrollo en la actividad agroindustrial y farmacológica, con fines de exportación.

El principal destino de las exportaciones de camu camu en el 2014 fue Estados Unidos, seguido de Países Bajos, Chile, Canadá, Australia, y Alemania los principales países compradores. (*SUNAT 2015*)

La forma de presentación exportada en mayor proporción en el 2013 fue en polvo 52%, luego en pulpa 12 %, y extracto 5%, y esta tendencia continúa en el 2014, mostrando un cambio cualitativo pero poca transformación del producto, la deshidratación de la pulpa. *SUNAT 2015*. (www.sunat.gob.pe)

En relación a patentes se encontró 14 documentos de patentes posteriores a 1996 donde el camu-camu es utilizado como uno de los componentes de la invención. La mayoría de innovaciones se producen en la industria o para farmacia como alimento funcional o como parte de un cosmético.

De estas, trece registros se encuentran en la Oficina Japonesa de Patentes Internacionales como: antioxidante, antienvjecimiento de la piel, loción corporal, cosmético humectante, preparación de uso externo utilizada para mejorar la elasticidad de la piel, agente que suprime el efecto de la melanina y agente blanqueador entre otros.⁷³

Investigadores de varios países vienen realizando estudios en animales y humanos de las actividades biológicas, como antioxidante y beneficios que produce como fitoterapéutico.^{3, 31, 58, 59} La actividad científica en Perú sobre

camu camu es más escasa, por lo que es necesario impulsar a profundizar estos estudios y poder así, desarrollar nuevos productos nutracéuticos que aporten en la conservación de la salud y la prevención de las enfermedades, así como al desarrollo del Perú.

II.2.2 La maca (*Lepidium meyenii* Walp)

Es una planta de la familia Brassicaceae, conocida como maca según reportes de Cobo en 1653.⁷⁴ La maca es cultivada en Chinchaycocha (Meseta de Bombón) de los Andes centrales del Perú, desde 700 años a. c.⁷⁵

La parte comestible de esta planta, el hipocótilo, según reportes históricos de Cobo, se utilizaba como alimento en zonas donde otras plantas no podían crecer, y deben soportar grandes vientos, bajas temperaturas, fuerte sequedad, gran radiación solar, en altitudes mayores de 4000 m.s.n.m. Se menciona también el uso de la maca para la fertilidad tanto para hombres como para mujeres.^{74,76}

La clasificación botánica de la maca fue realizada por primera vez, en 1843 por Gerard W. Walpers.⁷⁷ La morfología descrita no presenta el hipocótilo engrosado, característico de la maca de los andes centrales; algo similar se observó en la maca cultivada con semillas obtenidas de los andes centrales peruanos en condiciones controladas en la República Checa, donde no engrosó el hipocótilo.⁷⁸ Esto sugiere que el medio ambiente donde crece la maca es propicio para ello.

II.2.2.1 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de acuerdo a la descripción realizada por Walpers y según Cronquist 1981 es la siguiente:

División: Magnoliophyta

Clase: Dicotyledonea Sub Clase: Dillenidae

Orden: Capparales,

Familia: Brassicaceae, (Crucíferas),

Género: *Lepidium*

Especie: *Lepidium meyenii* Walpers.

Nombres comunes: “Maca”, “Maka”, “Maino”, “Maca-maca”, “Ayak willku”.⁷⁹

Existen trabajos detallados sobre su descripción morfológica^{80,81} donde se describe a la maca como *Lepidium peruvianum*. Actualmente, en un estudio de secuencias de ADN para determinar diferencias taxonómicas entre *Lepidium meyenii* y *Lepidium peruvianum*, con muestras frescas y herborizadas, y con *Lepidium* sp (silvestre), se encontró que las relaciones filogenéticas no presentan diferencias significativas, corroborando su similitud genética; por lo tanto, *Lepidium meyenii* y *Lepidium peruvianum* se agrupan en un mismo clúster.⁸²

La maca es una planta, que crece arrosetada y postrada a ras del suelo, en condiciones de clima extremo a más de 4000 m.s.n.m en la puna.⁸³ La zona reservante (hipocótilos), parte comestible de la maca, varía en forma y color.

Los más comunes en el mercado son amarillo, crema, morado, amarillo-morado, rosado y negro, encontrándose en una parcela distintas combinaciones y con proporciones variables de estos colores, predominando alguno de ellos, como el amarillo, morado o crema- morado.⁸⁴

En 1982, la maca como planta domesticada, fue declarada en peligro de extinción por la International Board for the Protection of Genetic Resources (IBPGR)⁷⁹ por encontrarse muy pocas áreas de sembríos de maca. A partir de allí, se empezó a difundir las propiedades benéficas de la maca en el país y se incrementó su demanda y cultivo.

II.2.2.2 Composición química y metabolitos primarios de la maca.

La maca contiene proteínas hasta 16g por 100g de hipocótilo. Con respecto a los aminoácidos, se confirma la presencia de 16 aminoácidos de los cuales 8 son aminoácidos esenciales.⁸⁵ En la Tabla 02, se muestra el valor nutricional de la maca, y la cantidad de los aminoácidos que varían en las diferentes muestras de maca ^{86, 87} y de acuerdo a su procedencia.⁸⁸

Tabla 02. Contenido de aminoácidos en la proteína de maca.

Amino ácidos	(mg/g proteína)
Acido Aspártico	91.7
Acido Glutámico	156.5
Serina	50.4
Histidina+	21.9
Glicina	68.3
Treonina*	33.1
Alanina	63.1
Arginina+	99.4
Tirosina	30.6
Fenilalanina*	55.3
Valina*	79.3
Metionina*	28.0
Isoleucina*	47.4
Leucina*	91.0
Lisina*	54.5
OH-Prolina / Prolina	26.0 / 0.5

(Yllesca 1994)⁸⁶

* Aminoácidos esenciales + Ocasionalmente esenciales

Entre los minerales destaca el alto contenido de potasio, y la presencia de fósforo, calcio, magnesio, sodio, hierro, zinc, manganeso, boro y cobre.

Los carbohidratos están en alta proporción. Destaca la cantidad de azúcares solubles reductores indirectos y la baja proporción de grasa (2.2 a 3.7 %) y de éstos 52% son acidos grasos insaturados.^{7, 86} (Tabla 03)

Tabla 03. Ácidos grasos de fracción alcohólica de maca.

Ácidos grasos libres:	3.72 %
-A. caprílico	0.14
-A. cáprico	0.13
-A. láurico	0.97
-A. mirístico	0.38
-A. palmítico	0.67
-A. palmitoleico	0.92
-A. esteárico	0.17
-A. oleico	0.21
-A. linoleico	0.69
-A. linolénico	0.33

(Zheng y col 2000)⁷

Estudios realizados con algunas de las variedades de maca,^{86, 87} muestran que no hay diferencias en la composición cualitativa cuando se evalúan los hipocótilos de maca de colores diferentes, pero si hay diferencias en la cantidad de los diferentes minerales y metabolitos.^{87, 88}

II.2.2.3 Metabolitos secundarios de la maca

II.2.2.3.1 Glucosinolatos

En cuanto a los metabolitos secundarios, los glucosinolatos son componentes característicos de la familia Brassicaceae.

El contenido de glucosinolatos es muy variable. Los análisis de diversas muestras de maca por HPLC, y de diferentes órganos así lo evidencian; estos muestran que la semilla y el hipocótilo fresco tienen mayor cantidad de bencilglucosinolato 29.7 y 16.94%, que en hipocótilo seco 3.20% y glucosinolato-p-metoxibencilo está presente

en hipocótilo fresco (6.38%) y en menor proporción en el hipocótilo seco (0.89%).⁸⁹

Los dos glucosinolatos aromáticos más abundantes que se encuentran en la maca son: bencilglucosinolato y el p-metoxibencilo glucosinolato,⁹⁰ destacando la diferencia del contenido de estos en diferentes partes de la maca. El principal glucosinolato de la maca es la glucotropaeolina (bencil glucosinolato),⁹¹ que representa el 79 % del total de glucosinolatos.⁹

También el contenido de glucosinolato en los vegetales crucíferos es altamente variable, dependiendo de la edad de la planta y los factores ambientales que producen un amplio rango de valores reportados.⁹²

Cuando se produce la ruptura de las células por acción mecánica en la manipulación del hipocótilo maduro, los glucosinolatos entran en contacto con la enzima endógena mirosinasa, que es una β -tioglicósido glucohidrolasa, la cual hidroliza los glucosinolatos y produce D-glucosa y diferentes compuestos tales como isotiocianato, tiocianato y nitrilos, dependiendo del sustrato y las condiciones de la reacción como pH, temperatura y estructura del sustrato.⁹¹ Estos compuestos están relacionados con una actividad antiinflamatoria, anticáncer y de protección contra el cáncer de colon. Disponible en

<http://www.ansci.cornell.edu / plants/toxicag> (Consultado 22 de Agosto 2012).

II.2.2.3.2 Macamidas y Macaenos

La fracción lipídica de la maca, presenta alcanidas específicas para la maca como los macaenos y las macamidas⁷. Los macaenos son ácidos grasos poliinsaturados novedosos y las macamidas que son alcanidas benciladas.⁷

Las principales macamidas y macaenos de la maca que serían compuestos marcadores de calidad de *Lepidium meyenii* son ácido5-Oxo-6E, 8E-Octadecanoico; N-bencil-5oxo-6E, 8E octadecadienamida; y N Bencil hexa decamida, por ser moléculas encontradas hasta el momento, solo en la maca.^{6, 93}

También se evaluaron el contenido de N-bencilhexadecamida identificada por Muhammad y col,⁹³ en maca de diferente procedencia⁹⁴ y encontraron marcadas diferencias cuantitativas. La cantidad de macamidas en maca seca varía en un rango de 0.0016 a 0.0123%.⁹⁵

Zhao aisló 5 nuevas alcanidas adicionales: N-bencil -9-oxo -12Z-octadecenamida (1), N-bencil-9-oxo-12Z-15Z-octadecadienamida (2),

N-bencil-13-oxo-9E, 11E-octadecadienamida (3), N-bencil-15Z-tetracosenamida (4) y N-(metoxibencil) hexadecanamida (5).⁸

Las alcanidas bioactivas de la maca parecen producirse post cosecha de los hipocótilos como resultado de la práctica tradicional andina, la manipulación de los hipocótilos y el deshidratado natural.³⁸

II.2.2.3.3 Polifenoles

En la maca se ha encontrado que las catequinas y derivados de galocatequinas representan 97 % del total de compuestos fenólicos.⁹

El contenido de compuestos fenólicos totales de maca pre-tostada fue de 7.6 mg de ácido gálico/g peso seco, y su actividad antioxidante de 55% basado en la inhibición del radical DPPH. Al medir la actividad antioxidante de la harina de maca y la maca pre-tostada, no hubo diferencia, lo cual indica que el tratamiento térmico no tiene efecto negativo.⁹⁶

II.2.2.3.4 Alcaloides

En hipocótilos de maca se ha detectado la presencia del ácido (1R, 3S)-1-metiltetrahydro-β-carbolina-3- del ácido carboxílico, una molécula con propiedades favorables para la salud.⁹⁷

Se aisló dos nuevos alcaloides imidazoles de *Lepidium meyenii*, Lepidiline A (1,3-dibenzyl-4,5-dimetil imidazolium chloride) y Lepidiline B (1,3-dibencil-2, 4, 5-trimetilimidazolium chloride). También se midió la actividad citotóxica ante varias líneas celulares de cáncer humano, siendo principalmente el Lepidine B que mostró actividad citotóxica contra 4 líneas celulares.⁹⁸

II.2.2.3.5 Esteroles

En la fracción esteroidal el principal componente es el sitosterol, luego campesterol, ergosterol, brassicasterol y Δ^7 – ergostadienol.⁸⁵

II.2.2.4 Actividad antioxidante de la maca

II.2.2.4.1 Actividad antioxidante *in vitro*

El extracto acuoso de maca amarilla mostró mayor capacidad antioxidante *in vitro* (DPPH) que el extracto etanólico, (fenoles y flavonoides).⁹⁹

Para evaluar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de maca, se midió la inhibición de peroxinitrito, del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), la captura de peroxilos por el potencial reactivo antioxidante (radicales peroxilo) total (TRAP) y degradación de deoxiribosa midiendo la formación de Malonaldehido (MDA).

La maca contiene antioxidantes solubles en agua que pueden contribuir a descomponer los peróxidos producidos en los estados inflamatorios. Además el consumo de la maca puede ofrecer efectos citoprotectores, que se confirmó al usar maca (1mg/ml) contra la apoptosis inducida por peroxinitrito en macrófagos (RAW 264.7) demostrando que la maca tiene habilidad para proteger del daño contra el ADN inducido por peroxinitrito.¹⁰⁰

La maca puede ayudar a mantener el balance entre los oxidantes y antioxidantes. En general, los resultados indican que la maca tiene la habilidad de atrapar, remover radicales libres y proporciona citoprotección durante condiciones de estrés oxidativo.¹⁰⁰

Berlowsky y col. evaluaron las propiedades antioxidantes de la infusión de maca por los métodos de DPPH, de radical ABTS y FRAP en los cuales la maca presentó valores bajos al comparar con otras plantas y correlacionar con el contenido de polifenoles y no de carotenoides.¹⁰¹

En un ensayo *in vitro*, Pino-Figueroa y col.³⁶ usando extracto pentánico de maca previa dilución en agua aplicaron a neuronas de langostino *Orconectes limosus*, en cultivo en placas y luego de 3 horas fueron expuestas a H₂O₂. Las evaluaciones microscópicas y de viabilidad celular revelaron del estrés inducido por H₂O₂ en las células

tratadas con maca, con mejores formas dendríticas y mayor densidad celular. El efecto fue dosis dependiente indicando que este producto natural tiene propiedades neuroprotectoras potenciales.

Zha y col. aislaron polisacáridos de maca (LMPs) compuestos de ramnosa, arabinosa, glucosa y galactosa. En las pruebas de actividad antioxidante el polisacárido LMP-60 mostró buena capacidad de captura de los radicales hidroxilos libres, y de radical superóxido. La velocidad de captura era 52.9% y 85.8%, respectivamente, mostrando que los polisacáridos de la maca tenían una alta actividad antioxidante y podría ser explorado como fuente de compuestos bioactivos.³⁷

II.2.2.4.2 Actividad antioxidante *in vivo*

En ratas con hipertrigliceridemia hereditaria (HHTg) reportan que la maca no afectó significativamente los marcadores de peroxidación lipídica, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y catalasa en la sangre y el hígado; sin embargo, el sistema glutatión se incrementó significativamente con la actividad de glutatión peroxidasa (GPx) en sangre, y un alto nivel de glutatión reducido (GSH) y superóxido dismutasa (SOD) en el hígado.³⁵

Los resultados del mencionado ensayo, sugieren que la maca puede mejorar la eficiencia de la conversión del radical superóxido a peróxido de hidrógeno debido al incremento de la actividad de SOD,

seguido de la desactivación del peróxido de hidrógeno por el sistema glutatión. La maca disminuye los niveles de glucosa sanguínea; sus efectos antioxidantes se demostraron por medio de los marcadores antioxidantes: GPx, GSH reducido y SOD.³⁵

La administración de harina de maca amarilla a ratas diabéticas incrementó la relación GSH/GSSG a nivel plasmático, contribuyendo a mejorar su estado redox.¹⁰²

En ratas hipercolesterolémicas, con la harina de maca amarilla se observa mayor efecto antioxidante que con la maca negra, morada o roja, y con un efecto protector al disminuir los niveles de MDA-TBARS, además de incrementar la concentración de ácido ascórbico y reducir los niveles de fibrinógeno; también inhibió la enzima hepática hidroximetilglutaril CoA reductasa, similar a la atorvastatina, disminuyó las enzimas fosfatasa alcalina, transaminasa glutámico oxalacético (TGO), transaminasa glutámico pirúvico (TGP) y gammaglutamiltransferasa.⁹⁹

La administración de harina de maca en la dieta (4 a 6 g/día) de animales diabéticos redujo la glicemia en 50%, e incrementó los niveles de insulina 22% y mejoró los niveles de ácido ascórbico 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.¹⁰³

II.2.2.5 Actividad biológica de la maca

II.2.2.5.1 Actividad biológica de la maca *in vitro*

Almukadi y col. estudiaron el efecto de la macamida N-3 – metoxibenzil-linoleamida una de las macamidas del hipocótilo de *L. meyenii*, que es un inhibidor de la enzima hidrolasa de ácidos grasos amidados (FAAH). Esta macamida podría tener potencial actividad neuroprotectora, analgésica y antiinflamatoria. El mecanismo neuroprotector es actuar en el blanco del sistema endocannabinoide, el cual regula las actividades de otros neurotransmisores.

La enzima FAAH (hidrolasa de ácidos grasos amidados) degrada endocannabinoides neuroprotectores y liberan ácido araquidónico el cual es pro-inflamatorio. Las macamidas parecen inhibir esta hidrolasa por lo que favorecería la actividad endocannabinoide.¹⁰⁴

En estudios *in vitro*, la maca mostró tener actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina I (ACE)⁹⁶; otro estudio en hepatocitos de ratas tratados con extractos acuosos y metanólicos de maca, no presentaron citotoxicidad hasta 10mg/ml en test de viabilidad MTT 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2.5-difenil tatrazolum bromuro, ni hepatotoxicidad; en contraste observaron un ligero efecto citoprotector, probablemente no mediado por su capacidad

antioxidante.¹⁰⁵ También con diferentes extractos se evaluó su capacidad de unirse al receptor de andrógeno humano. La maca no fue capaz de regular la activación de GRE (Elemento de respuesta glucocorticoide).¹⁰⁶

II.2.2.5.2 Actividad biológica de la maca *in vivo*

Las actividades biológicas de la maca se han estudiado tanto en animales de experimentación^{21-26,47} como en humanos.³⁴ En humanos, se han realizado estudios en varones aparentemente sanos⁴⁰⁻⁴² y otros en sujetos con patologías previas⁷⁸. Estas actividades se orientan en evaluar la actividad antioxidante^{96,99-101}, el valor nutricional,^{33,107-110} funciones metabólicas,^{35,102,103} de memoria y aprendizaje,¹¹¹⁻¹¹⁶ antiestrés,¹¹⁸⁻¹¹⁹ así como sus efectos en la salud sexual y reproductiva.^{41,43,120-122}

II.2.2.5.2.1 Estudios nutricionales

En cuyes de la línea Junín, alimentados por 92 días con 5,10 y 25% de maca en su dieta, se encuentra que la dieta con 25% de maca resulta en mejor aumento del peso corporal.¹⁰⁷ Cuando se compara entre maca cruda y maca cocida se encuentra que el tratamiento con la maca cocida resultaba en mejor curva de crecimiento, mayor cantidad de proteínas, mayor fertilidad y número de crías y mejor peso al nacer que con la maca cruda o con el control.³³

Cuando se evalúa el efecto de los diferentes colores se observa en ratones un mejor efecto para la maca amarilla.¹⁰⁸

En estudios con alevinos de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* alimentados por 15 semanas con dietas de 5, 10, 15% de maca, y un grupo control sin maca, encontró un efecto significativo de la maca en mejorar la supervivencia y en el peso corporal comparado al control y a una dieta comercial.¹⁰⁹ También con juveniles de paco rojo *Piaractus brachipomus* se probó por 8 semanas dietas con camu camu, aguaje, maca y una dieta control, el resultado fue que con la dieta de 15% de maca tuvieron peso final más alto.¹¹⁰

En varones adultos tratados durante 12 semanas con maca gelatinizada no se encontró diferencias en el peso corporal, los niveles de hormona de crecimiento, y la percepción sobre el apetito con respecto al placebo.¹²³

Las propiedades nutricionales atribuidas a la maca pueden explicarse por la presencia de los metabolitos primarios tales como proteínas, aminoácidos, carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales que se encuentran en cantidades relativamente mayores que en otros tubérculos semejantes como la papa, zanahoria, nabo; y por la presencia de metabolitos secundarios

con actividad biológica como los glucosinolatos, macamidas, macaenos, y alcaloides lo que explicaría el interés que ha concitado esta especie como nutracéutico por sus actividades biológicas.

II.2.2.5.2.2 Estudios sobre metabolismo

Vecera y col. utilizaron ratas machos con hipertrigliceridemia hereditaria (HHTg). La maca redujo los triacilgliceroles y lipoproteína VLDL-triacilglicerol y el colesterol en el plasma; los triacilgliceroles se redujeron en el hígado, pero en el músculo no varió significativamente. La maca también redujo los niveles de glucosa, similar a las ratas que recibieron rosiglitazone.

Estos resultados sugieren que la maca podría ser utilizada como un suplemento dietético en el tratamiento de enfermedades crónicas caracterizadas por perfil lipoproteico aterógeno, esteatosis hepática, situación antioxidante agravada, tolerancia a la glucosa deteriorada, y también en su prevención.³⁵

En ratas hipercolesterolémicas, con la harina de maca se produce una reducción significativa de los niveles de colesterol total, lipoproteína LDL y triacilgliceroles. La protección de la

maca a nivel hepático y del tejido aórtico se verificó histológicamente.⁹⁹

II.2.2.5.2.3 Estudios sobre rendimiento físico

La administración de maca fresca micropulverizada a dosis de 1500 mg/día por 60 días en 10 deportistas en la altura aumentó el $VO_{2máx}$ final en 10%;³⁴ igualmente Stone y col. demuestran que 8 ciclistas de alto rendimiento, recorrieron 40 km más rápido luego de las 2 semanas de suplementación con extracto de maca, y no hubo mejoría significativa en el grupo placebo. No se observaron cambios en frecuencia cardiaca y en puntaje de esfuerzo percibido (RPE).⁴⁶

II.2.2.5.2.4 Función cognitiva y neuroprotectora de la maca

El extracto acuoso de la maca negra y no la maca roja o amarilla fue capaz de contrarrestar el efecto deletéreo de la ovariectomía sobre la memoria y aprendizaje espacial evaluado por la prueba de búsqueda de agua.¹¹¹ Igual efecto se observó en ratones machos orquidectomizados, donde el tiempo de latencia de escape en la prueba de Morris-Maze disminuyó en el grupo de maca negra, revertiendo el efecto de la castración.¹¹²

En ratas recién destetadas, el extracto acuoso de maca amarilla durante 15 días también mejora la memoria y aprendizaje usando la prueba de Morris-Maze. También se redujo significativamente la actividad de la butirilcolinesterasa

en tejido cerebral en los grupos de maca e incrementó el contenido total de glutatión, marcador de estrés oxidativo y reduce la formación del complejo MDA-TBARS, como protección del daño oxidativo.¹¹³

En varios estudios para evaluar la memoria y aprendizaje con ratas y ratones, se encontraron resultados positivos con la maca negra que parece tener mayor efecto benéfico en el aprendizaje.¹¹⁴ También la maca mejoró significativamente la memoria dañada por escopolamina, inhibiendo la actividad de acetilcolinesterasa (AChE) sin afectar a la monoaminooxidasa (MAO).¹¹⁵

En otro experimento, la maca negra y el ácido ascórbico revirtieron el daño inducido por el etanol en la memoria de ratones.^{21,}

Igualmente, ratas ovariectomizadas (OVX) tratadas con extracto acuoso de maca negra por 35 días mejoró la memoria comparadas con ratas OVX tratadas solo con el vehículo; también la maca negra disminuyó los niveles de MDA y AChE en ratas OVX, por lo que concluyen que la maca negra mejoró la memoria del daño inducido por ovariectomía debido en parte a

su actividad antioxidante inhibitoria de Acetilcolinesterasa (AChE).¹¹⁶

II.2.2.5.2.5 Efecto de la maca sobre el estrés

Al evaluar condiciones de estrés con ratones albinos alimentados con maca, cruda o cocida por 15 semanas, ambos tuvieron un puntaje de estrés significativamente menor que el grupo control, en todos los puntos de observación ($P < 0.05$), y tuvieron una recuperación, es decir desaparición de los signos de neuroticismo, más rápida que el grupo control.¹¹⁷

Ai y col, con dosis de 250 y 500 mg/kg de extracto de éter de petróleo de maca que ingirieron ratones sometidos a estrés, encontraron reducción de los niveles de corticosterona en suero, y en el tejido cerebral después de 6 semanas de tratamiento; igualmente, hallaron que los niveles de noradrenalina y dopamina se incrementaron y la actividad de las especies reactivas al oxígeno fueron inhibidas significativamente. La serotonina no se alteró significativamente.

Estos resultados mostraron efecto tipo antidepresivo relacionados con la activación de los sistemas noradrenérgicos y dopaminérgicos y también la atenuación del estrés oxidativo en el cerebro de los ratones.¹¹⁸

II.2.2.5.2.6 Conducta sexual y función reproductiva

Se han realizado dos estudios clínicos doble ciego, placebo, controlado al azar, con hombres saludables usando maca gelatinizada, en grupos con dosis de 1500 y 3000 mg y grupo control con placebo por 12 semanas, para evaluar la autopercepción de mejora del deseo sexual, y las hormonas LH, FSH, Prolactina, 17- α hidroxiprogestero, testosterona y 17 β estradiol.

A las 8 semanas mejoró la percepción de mejora del deseo sexual por acción de la maca, pero los niveles de testosterona y estradiol no fueron diferentes entre los grupos y el análisis multivariado de regresión mostró que el efecto en el deseo sexual era independiente al score de depresión o ansiedad de Hamilton, o niveles de testosterona y estradiol sérico del suero.^{40, 41}

Gonzales y col. determinaron el efecto del tratamiento oral por 4 meses con tabletas de 500 mg de *Lepidium meyenii* a hombres adultos y encontraron incremento en el volumen seminal, en la cantidad de espermatozoides por eyaculación, en la cantidad de espermatozoides móviles y en la movilidad espermática, pero no se modificaron los niveles de hormonas luteinizante (LH), folículo estimulante (FSH), prolactina (PRL),

testosterona (T) y estradiol (E₂) por lo que concluyen que la maca puede mejorar la producción y motilidad espermática en hombres adultos sin afectar los parámetros hormonales.³⁹

Zenico y col. en un ensayo clínico doble ciego, con 50 hombres tratados con tabletas de maca deshidratada y pulverizada (2400 mg/día) o placebo por 12 semanas, encontraron que al final ambos grupos presentaron significativo incremento de IIEF-5 (Índice Internacional de Función Erectil) ($p < 0.05$), pero los que tomaron maca, tuvieron un incremento más significativo ($p < 0.001$) y en comparación con score SAT-P (Perfil de satisfacción) relacionado con performance psicológica, sin cambio significativo en los niveles hormonales (FSH, LH, prolactina, testosterona total y libre).⁴³

Gonzales en una revisión, concluye que el extracto de maca parece tener mejor efecto que la maca gelatinizada o la harina de maca; esta diferencia parecería ser debido a la mayor concentración de los metabolitos secundarios en el extracto que en la maca gealtinizada.¹¹⁹

Se sugiere que la fracción lipídica de la maca, entre ellos los macaenos y macamidas, es la responsable de la mejor conducta sexual,^{7,120} y los extractos acuosos actuarían en la

espermatogénesis,¹²¹ fertilidad,⁴¹ reduciendo la glicemia³⁵ memoria¹¹⁵ y revertiendo la hiperplasia prostática,²³ lo que sugiere que los responsables de estas actividades serían otros compuestos, diferentes a las macamidas.¹¹⁹

Sin embargo, no se ha podido señalar de manera individual a alguna de estas moléculas una actividad en particular, antes bien, se considera que sería la asociación de éstas actuando de manera complementaria o asociada, responsables de los efectos benéficos hasta ahora demostrados en la maca.^{1,119}

También otros estudios demuestran la actividad benéfica de la maca sobre la protección de la piel a los rayos UV.^{124- 126}

II.2.2.5.2.7 Estudios toxicológicos con la maca

Valerio & Gonzales, en una sinopsis crítica sobre aspectos toxicológicos de la maca, se refieren a datos obtenidos en ensayos con ratones de 30 días a los que se administró de 11 a 15 g/kg de maca micro-pulverizada por 7 días y luego fueron evaluados. Los resultados sugieren que dosis menores a 15 g/kg de maca son inocuas a los ratones.⁵

En otro ensayo con 25 ratones adultos (*Mus musculus*), a quienes se les administran extracto acuoso de maca

intraperitoneal en dosis de 1 a 4 g/kg no se presentó ninguna mortalidad. Según los canones internacionales establecidos no existe toxicidad del extracto acuoso de harina de maca (< 2 g/kg peso del animal).¹²⁷

Otros estudios usando maca gelatinizada en ratas y ratones establece una LD₅₀ de 7.5 g maca/kg peso corporal, considerando esta una dosis segura para la administración oral en preparaciones dietéticas y terapéuticas.^{128, 129}

La maca fresca en humanos no modifica los niveles de transaminasas (TGO, TGP) y creatinina sérica.³⁴

II.2.2.6 Producción, mercado y exportación de la maca.

La mayor producción de maca *Lepidium meyenii* Walp, se realiza en la Meseta de Bombón, en los Andes centrales del Perú, entre los Departamentos de Pasco y Junín, alrededor del Lago de Junín (antes Chinchaycocha), entre altitudes de 3700 a 4500 msnm.⁸⁰

La producción de maca en 2004 era de 9,886 toneladas métricas; en el 2008 fue de 5,517 t, recuperándose en estos últimos años, llegando en el 2013 a 21,300 t, siendo el Departamento de Junín el que produjo la mayor cantidad de maca, gracias a la demanda del producto en el

mercado, para el consumo nacional y la exportación. Disponible en: <http://www.minag.gob.pe> (acceso 2 abril 2015).

En el 2014, se exportó maca a 35 países siendo los principales Estados Unidos, China, Hong Kong, Australia, Alemania, Reino Unido, Japón, Canadá, etc. Disponible en: <http://www.siicex.gob.pe/siicex/portal5ES.asp> (Acceso 2 abril 2015).

El Valor FOB de las exportaciones de maca, muestran igualmente un incremento desde 2004 al 2014 variando desde USD 1'608,000 el 2004, a 6'253,000 el 2011 y 35'670,000 para el 2014, confirmando el crecimiento de la demanda y puesta en valor de este producto peruano en el extranjero. Disponible en: <http://www.minag.gob.pe> (acceso 2 abril 2015).

El mayor porcentaje de maca se exportaba en polvo, como insumo para que empresas en el extranjero elaboren sus productos. Ahora la exportación comienza a diversificarse con otros 7 productos, lo que habla bien del desarrollo e innovación que se está generando en el país y en el 2014 la mayor proporción exportada está en el rubro de otras presentaciones (42%) y en segundo lugar, en polvo (33.7%) www.siicex.gob.pe (acceso 2 abril 2015)

En los últimos 12 años se han incrementado las publicaciones registradas en Pubmed. En 2002 se tenían 10 publicaciones sobre maca *Lepidium meyenii*; en 2015, reporta 100 artículos solo en este rubro y éstas se correlacionan con la mayor demanda del mercado y la producción, confirmando que el desarrollo del conocimiento científico de un recurso, proporciona desarrollo sustentable del recurso y a la región donde se produce el recurso, y favorece el desarrollo tecnológico, incrementando los niveles de calidad de vida de los pobladores y contribuyendo a desterrar la pobreza.¹³⁰

II.2.3 Estrés oxidativo y reductivo

II.2.3.1 Estrés oxidativo

El oxígeno es un elemento imprescindible para la vida, aproximadamente el 95% sigue la ruta fisiológica en condiciones normales; el resto sufre sucesivas reducciones donde se generan moléculas altamente tóxicas denominadas especies reactivas del oxígeno (ROS). El oxígeno en su forma más estable (O_2) es poco reactivo y tiene una velocidad de reacción baja a temperatura fisiológica.

Sin embargo, por reacciones puramente químicas, por acciones enzimáticas o por efecto de las radiaciones ionizantes, se pueden producir una serie de especies químicas reactivas, prooxidantes o radicales libres (altamente reactivos) que son capaces de dar lugar a múltiples reacciones

con otros compuestos presentes en el organismo y producir daño celular.¹³¹

El balance oxidativo del organismo humano es esencial para la regulación metabólica, la producción de energía, la activación o inactivación de biomoléculas, la transducción de señales, el recambio celular, y el control del tono vascular entre otros.

Si el balance entre los sistemas oxidantes y antioxidantes se desequilibra por la producción excesiva de radicales del oxígeno (ROS) y del nitrógeno (RNS) junto con el debilitamiento de los sistemas antioxidantes se induce una situación conocida como estrés oxidativo que pueden producir una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos, y provocar daño celular, peroxidación lipídica, daño de la membrana celular, degradación proteica y rotura de ADN.¹³²

II.2.3.2 Estrés oxidativo – reductivo

El estrés oxidativo no sólo es el desbalance de prooxidantes y antioxidantes, también involucra ruptura entre el control y señal redox. El estrés oxidativo se relaciona con varios fenómenos biológicos: envejecimiento, carcinogénesis, aterosclerosis, neurodegeneración etc. También puede dañar a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando las funciones de estas moléculas.

Es difícil detectar directamente los radicales libres, pero se puede conocer mediante los productos de las reacciones oxidativas (peroxidación lipídica, oxidación del DNA, oxidación de proteínas), o mediante el conocimiento de la disminución de sustancias antioxidantes.¹³²

II.2.3.3 Radicales libres

Un radical libre es una molécula o fragmento de una molécula que tiene por lo menos un electrón desapareado en la capa de valencia, (orbital externo) con existencia independiente y alta reactividad e inestabilidad. Para alcanzar estabilidad donan o aceptan un electrón.

Debido a la alta inestabilidad atómica de los radicales libres, estos colisionan con una biomolécula y le sustraen un electrón, lo que la oxida y hace perder su función en la célula. Son reactivos y de corta vida, con gran capacidad para combinarse con moléculas integrantes de la estructura celular: carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados de cada uno de ellos.¹³¹

Los radicales libres pueden producirse a través de diversos procesos químicos, tanto dentro como fuera del organismo. Atendiendo al origen de su producción, podemos clasificar las fuentes en exógenas y endógena.¹³²

Las principales especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno

son:

- Radical superóxido	$O_2^{\cdot-}$
- Radical hidropéroxido	HO_2^{\cdot}
- Peróxido de hidrógeno	H_2O_2
- Radical hidroxilo	HO^{\cdot}
- Radical alcóxilo	RO^{\cdot}
- Radical peróxilo	ROO^{\cdot}
- Radical óxido nítrico	NO^{\cdot}
- Dióxido de nitrógeno	NO_2

Estas especies reactivas son de origen endógeno y surgen como reacciones secundarias no deseadas entre las biomoléculas. Otras, se generan con un fin determinado, como en el caso de los fagocitos activados, que producen $O_2^{\cdot-}$ y H_2O_2 ¹³³

El organismo también está expuesto a radicales libres procedentes de fuentes externas (exógenas). La dieta supone la ingesta de muchos compuestos de naturaleza prooxidante, y otros ambientales como el humo del tabaco, la contaminación ambiental, el ozono y otros. ¹³⁴

II.2.3.4 Oxidantes o Sustancias reactivas de oxígeno (ROS)

Los ROS, entre ellas el superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el peróxido de hidrógeno (ROO^{\cdot}), y el radical hidroxilo (HO^{\cdot}), se producen en las mitocondrias con los electrones que escapan de la cadena de transporte de electrones y reaccionan con el oxígeno para formar superóxido. Se estima que 1 a 3 %

de oxígeno en las células puede formar superóxido de esta manera. La reducción incompleta del O_2 durante la respiración produce anión superóxido ($O_2^{\cdot -}$), que es convertido enzimáticamente por superóxido dismutasa (SOD) en peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

Los radicales hidroxilo $HO\cdot$, son formados típicamente vía la reacción de Fenton. El radical hidroxilo es el más dañino, con una vida media corta 10^{-10} a 10^{-11} s. Estas tres especies reactivas son controladas vía sistema de enzimas como superóxido dismutasa (SOD), catalasa, glutatión peroxidasa.

Peroxidación lipídica: La peroxidación lipídica en membranas biológicas ha sido considerada como uno de los mayores mecanismos de injuria celular en organismos aerobios sujetos a estrés oxidativo.

Es el proceso de oxidación de los ácidos grasos, especialmente los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) que son vulnerables por los dobles enlaces donde una molécula activa como $HO\cdot$ sustrae un átomo de hidrógeno, produciendo una reacción en cadena con un inicio, propagación y terminación cuando dos hidroperóxidos reaccionan entre sí dando un tetróxido o son neutralizados por los antioxidantes. Los tetróxidos son inestables y al romperse generan malondialdehído, indicador de la lipoperoxidación.

Especies reactivas de nitrógeno: (NOS): radical Óxido Nítrico NO^\cdot
y Peroxinitrito ONOO^- .

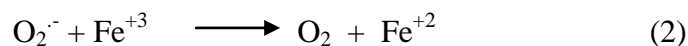
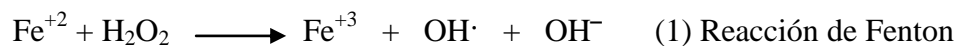
Los metales de transición:

Estos elementos se caracterizan porque pueden ser estables por sí mismos sin necesidad de una reacción con otro elemento. Cuando a su última capa de valencia le faltan electrones para estar completa, los extrae de capas internas. Con eso es estable, pero le faltarían electrones en la capa de donde los extrajo, así que los completa con otros electrones propios de otra capa, y así sucesivamente, ocurre lo que se conoce como transición electrónica.

La transición electrónica permite que estos elementos sean tan estables y difíciles de hacer reaccionar con otros. Muchas propiedades interesantes de los elementos de transición como grupo son el resultado de su subcapa *d* parcialmente completa. Poseen una gran versatilidad de estados de oxidación, pudiendo alcanzar una carga positiva tan alta como la de su grupo.

Los iones en elevados estados de oxidación tienden a ser buenos agentes oxidantes, mientras que elementos en bajos estados de oxidación tienden a ser buenos agentes reductores. Iones 2^+ a través del periodo comienzan como fuertes reductores y se vuelven más estables. Iones 3^+ comienzan estables y se vuelven más oxidantes a través del periodo.

Rol de los metales de transición:



II.2.3.5 Potencial redox

Es el balance entre pro-oxidantes y antioxidantes. El organismo debe ser capaz de regular finamente este balance para mantener las actividades bioquímicas y la vida de la célula. Este balance es específico para cada organelo y sitio biológico.

Las especies reactivas de oxígeno participan en la fagocitosis, y en algunas reacciones enzimáticas constituyendo un elemento importante en la defensa antimicrobiana y antitumoral.¹³⁵

II.2.4 Antioxidantes.

Para mantener el equilibrio entre los procesos oxidativos y reductores (redox), las células utilizan mecanismos de defensa que las neutralicen y se realizan a través de los antioxidantes.

Un antioxidante es una sustancia que, a bajas concentraciones, comparado con el sustrato oxidable, disminuye significativamente o inhibe la oxidación de este sustrato.¹³³

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que al estar presentes en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este.

Los antioxidantes se producen en el organismo y también pueden ser obtenidos de los alimentos a través de la dieta.

El antioxidante al colisionar con el radical libre le cede un electrón, se oxida y se transforma en un radical libre débil y no tóxico; debido a que interactúan más rápido con los radicales libres que con el resto de las moléculas presentes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno. En algunos casos puede regenerarse a su forma reducida por acción de otros antioxidantes.

Para prevenir la interacción entre los radicales y los blancos biológicos, el antioxidante deberá estar presente en el lugar donde los radicales son producidos a fin de competir con el radical frente al sustrato biológico porque su acción la ejercen en un determinado microambiente que puede ser, la membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular.¹³⁴

Los antioxidantes exógenos actúan como moléculas suicidas, ya que se oxidan al neutralizar al radical libre, por lo que la reposición de ellos debe ser continua, mediante la ingestión de los nutrientes que los contienen.¹³⁶

II.2.4.1 Clasificación de los mecanismos de defensa antioxidantes:

Los antioxidantes pueden clasificarse en función de múltiples criterios como por ejemplo teniendo en cuenta su función preventiva, reparadora o secuestradora,¹³⁵ según su localización, su origen endógeno o exógeno y en función de diferentes niveles:¹³⁶

Primer nivel: Consiste en la reducción del oxígeno sin liberar los intermediarios parcialmente reducidos. Esto lo realiza eficientemente el sistema citocromo-oxidasa de la cadena respiratoria mitocondrial responsable en más del 90 % de la reducción del oxígeno en el organismo humano.

Segundo nivel: Lo constituyen enzimas especializadas en captar el radical anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$). Esta es la superóxido dismutasa (SOD).¹³⁷

Tercer nivel: Dado por un grupo de enzimas especializadas en neutralizar el peróxido de hidrógeno. Entre ellas, catalasa y glutatión peroxidasa, que se encuentran en los peroxisomas.

Cuarto nivel: Aquí el radical hidroxilo producido en el ciclo de Haber-Weiss puede ser neutralizado por la vitamina E o alfa-tocoferol, que es un antioxidante efectivo y que por su hidrofobicidad se encuentra en las membranas biológicas donde su protección es particularmente

importante. También la vitamina C o ácido ascórbico es un agente reductor o donador de electrones y reacciona rápidamente con el radical OH⁻ y el anión superóxido.

Quinto nivel: Una vez producido el daño molecular, existe un quinto nivel de defensa que consiste en la reparación. Los radicales libres son capaces de provocar rupturas de la cadena de DNA y aun de inducir mutagénesis, pero existen mecanismos enzimáticos de reparación que permiten restablecer la información genética.

También las defensas antioxidantes se dividen en: Los enzimáticos y no enzimáticos.

II.2.4.2. Antioxidantes enzimáticos:

Son enzimas que catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que reaccionan con los radicales libres.

II.2.4.2.1. E.C.1.15.1.1 Superóxido dismutasa (SOD)

La SOD es una enzima que se encarga del barrido del radical superóxido en diferentes lugares de la célula y los tejidos.

La SOD existe en tres isoformas:

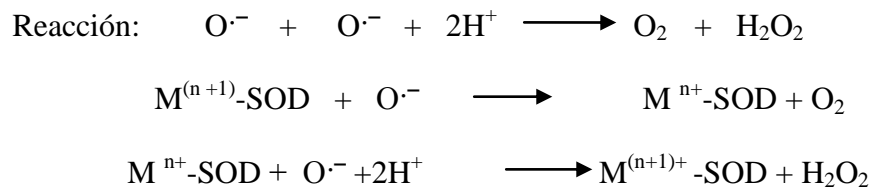
-CuZnSOD (SOD-1, cSOD) es homodimérica cuyo centro activo de oxidación-reducción está constituido de Zn y Cu. Está presente en

el citosol y en el espacio intermembrana de la mitocondria donde los aniones superóxido se liberan desde el Complejo III.

-MnSOD (SOD-2, mSOD) es homotetramérica presente en la matriz mitocondrial que requiere Mn.

-ECSOD (SOD-3, ecSOD) es homotetramérica, es una CuZnSOD glicosilada. Se encuentra predominantemente en la matriz extracelular de los tejidos para prevenir el daño a las células y tejidos iniciado por ROS producidos extracelularmente.¹³⁷

Su función es la dismutación de radicales superóxido.



M= Cu(n=1); Mn(n=2); Fe(n=2) Estado de oxidación del catión metálico oscila entre n y n+1.

El anión superóxido se convierte en O₂ y peróxido de hidrógeno por la enzima superóxido dismutasa. En el eritrocito la ecSOD neutraliza a los radicales libres (superóxido), evitando así la formación de metHb. SOD neutraliza O^{·-} e inhibe la formación de peroxinitrito.¹³⁸

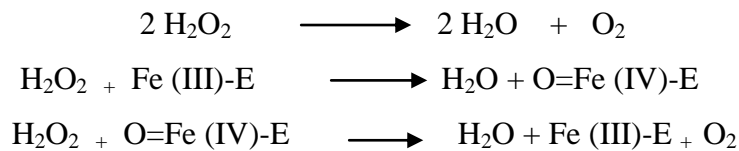
Con el ácido acetil salicílico y antiinflamatorios no esteroideos se observa disminución de la actividad de SOD, enzima que neutraliza el

radical superóxido e inhibe la formación de peroxinitrito, suprimiendo así el daño y regula la biodisponibilidad de NO.¹³⁹

II.2.4.2.2 E.C.1.11.1.6 Catalasa (CAT)

La catalasa es una peroxidasa en donde el donante de electrones es una segunda molécula de H₂O₂. La catalasa necesita Fe, y se encuentra en citoplasma y mitocondria¹⁴⁰. Su función es eliminar al peróxido de hidrógeno.

Reacción de la Catalasa sobre peróxido de Hidrógeno:

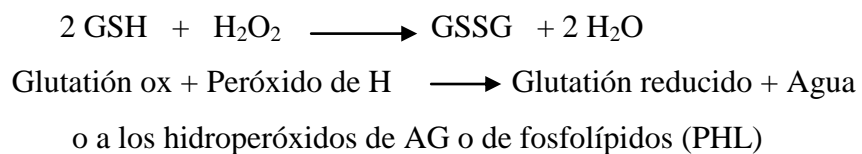


En el sistema CAT/SOD, una molécula de H₂O₂ se reduce a agua y la otra se oxida a oxígeno. Entonces CAT y SOD reaccionan de forma sinérgica para protegerse unos a otros.

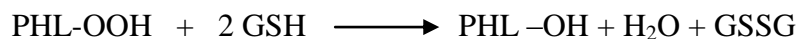
II.2.4.2.3 E.C. 1.11.1.9 Glutación peróxidasa (GPx)

Su función es eliminar el peróxido de hidrógeno,

Reacción:



Reacción:



Glutación peroxidasa (GPx) requiere selenio y se encuentra al menos en tres formas:

1. Una forma intracelular o celular (GPx-C)
2. Una extracelular o plasmática (GPx-P)
3. Una asociada a membrana (GPx-PH) específica para fosfolípido.

Catalasa y glutación peroxidasa en los eritrocitos son igualmente activas en reducir los peróxidos de hidrógeno formando agua, aunque la actividad de glutación dependiente de glutación peroxidasa se ha considerado como la principal defensa contra el peróxido de hidrógeno en los eritrocitos.¹⁴⁰

Los bajos niveles de peróxido de hidrógeno ($M 10^{-9}$) se eliminan por medio del glutación reducido (GSH) formando glutación oxidado (GSSG) y agua, reacción catalizada por glutación peroxidasa.¹⁴¹

Glutación peroxidasa es importante para hacer frente al peróxido de hidrógeno endógeno producido por autooxidación de la hemoglobina, en cambio catalasa juega un rol importante cuando el eritrocito está expuesto a un aumento del flujo de peróxido de hidrógeno.

La generación de superóxido probablemente tiene un rol fisiológico en el hematíe reduciendo la hemoglobina para regenerar oxihemoglobina.¹⁴¹

El glutatión oxidado es reducido por glutatión reductasa (GRd) que utiliza como donador de electrones NADPH (Vía de la pentosa fosfato del eritrocito) manteniendo así la proporción GSH / GSSG. Glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión reductasa (Grd) se encuentran formando parte de un sistema antioxidante (GPx/GRd) y la catalasa de otro (SOD/CAT). Ambos sistemas se complementan, porque la CAT actúa en presencia de altas concentraciones de H₂O₂ y la GPx lo hace a concentraciones bajas, demostrando una correlación inversa en la actividad de ambas enzimas.¹³⁶

II.2.4.3. Antioxidantes no enzimáticos

Los antioxidantes no enzimáticos se clasifican en:

II.2.4.3.1. Antioxidantes liposolubles:

El tocoferol o Vitamina E

Es el antioxidante más ampliamente distribuido en la naturaleza, que capta los radicales libres en membrana evitando la lipoperoxidación. Es el principal antioxidante en relación con las LDL. Es capaz de captar radicales del oxígeno y cortar la cadena de reacciones de los radicales libres. Luego de su interacción con el radical libre, el radical tocoferoxil puede ser regenerado por el ubiquinol, glutatión reducido y el ácido ascórbico.

Carotenoides

Los β carotenoides, precursores de la vitamina A, tienen efecto antioxidante sobre los lípidos, y neutraliza al oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), que rompe las cadenas debido a que poseen un alto sistema de dobles enlaces conjugados. Es importante en regiones con baja tensión de oxígeno.

Son pigmentos que se encuentran en plantas y microorganismos, pero no son sintetizados por animales. Los principales carotenoides hallados en el plasma humano son: luteína, criptoxantina, caroteno, y carotenos. Las mayores fuentes de carotenoides de la dieta son las frutas y vegetales como zanahoria, brócoli, melón, tomates, naranjas, entre otros.¹⁴⁵

II.2.4.3.2. Antioxidantes hidrosolubles:

Glutación (GSH)

Puede encontrarse según su estado de óxido-reducción en dos formas: GSH o glutación reducido, o GSSG o glutación oxidado.

El GSH desempeña numerosas e importantes funciones metabólicas. Una de ellas es la de proteger a la célula contra los radicales libres, los peróxidos y otros compuestos tóxicos, así como proteger frente al efecto de las radiaciones.

El GSH puede reaccionar directamente con los radicales libres, sin necesidad de intervención enzimática, o bien por medio de glutatión peroxidasa, enzima clave del ciclo redox del glutatión.

El glutatión en su forma reducida (GSH), es un tripéptido que tiene varias funciones antioxidantes. Su capacidad antioxidante se debe a la capacidad del grupo tiólico del residuo de cisteína; hay evidencia que indica que en etapas tempranas de enfermedades neurodegenerativas ocurren alteraciones en el metabolismo del glutatión. La forma oxidada GSSG forma un puente disulfuro entre dos moléculas. La enzima glutatión reductasa (GRd) la regenera a su forma reducida en presencia de NADPH⁺ ¹⁴⁶

Tanto glutatión peroxidasa como glutatión reductasa se hallan predominantemente en el citosol, existiendo también cierta actividad en la mitocondria. ¹⁴⁷

El glutatión reducido es el mayor antioxidante endógeno producido por las células, participando directamente en la neutralización de radicales libres y especies reactivas de oxígeno; también en mantener las formas reducidas de las vitaminas C y E.

II.2.4.3.3 Óxido Nítrico (NO)

El óxido nítrico (NO) se forma a partir del amino ácido arginina por acción de la enzima NO-sintasa (NOS). NO se produce por NOS constitutivos durante los procesos de vasodilatación (eNOS) o durante la transmisión de impulsos nerviosos (nNOS).

El óxido nítrico puede estimular o inhibir la oxidación de lípidos y de lipoproteínas inducida por $O_2^{\cdot-}$.¹⁴²

El resultado prooxidante versus antioxidante de estas reacciones son extremadamente dependientes de las concentraciones relativas de las especies reactivas individuales,¹⁴³ donde $\cdot NO$ solamente estimula la oxidación lipídica-dependiente de $O_2^{\cdot-}$ cuando la tasa de producción de $\cdot NO$ es menos que equivalente a la tasa de producción de $O_2^{\cdot-}$.¹⁴⁴ Así, hay una competencia dinámica entre $O_2^{\cdot-}$ y los radicales lipídicos libres por $\cdot NO$.

Es interesante notar que se ha reportado que, bajo condiciones fisiológicas en la pared del vaso, la concentración de estado estable de $\cdot NO$ excede al de $O_2^{\cdot-}$, resultando en una alta razón $\cdot NO/O_2^{\cdot-}$ donde $\cdot NO$ ejercería como antioxidante.¹⁴³

El óxido nítrico se encuentra en los diferentes órganos y tejidos del organismo y actúa normalmente como una molécula antioxidante y en la fisiología, en el tono vascular y presión sanguínea, en la circulación

arterial y en la microcirculación el NO tiene un rol importante en regular el tono vascular de las arteriolas y vénulas.¹⁴³

Acido Ascórbico o Vitamina C

La Vitamina C o ácido ascórbico, proporciona defensa contra el daño oxidativo; actúa en la fase acuosa neutralizando el oxígeno singlete, y captura radical hidroxilo y aniones superóxidos. En la fase hídrica regenera la vitamina E.¹⁴⁸

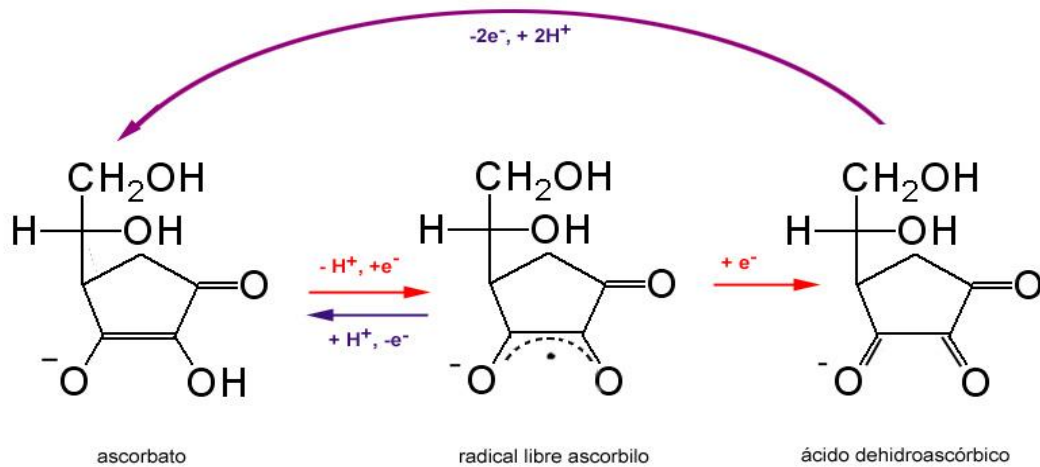


Figura 01. Oxidación y reducción del ácido ascórbico.

La vitamina C y E trabajan juntos para inhibir las reacciones de peroxidación lipídica de lipoproteínas y membranas en el plasma. Se ha demostrado su efecto protector frente a la peroxidación de lípidos de membrana de los eritrocitos.

La vitamina C o ácido ascórbico es considerado uno de los más poderosos y quizá el menos tóxico de los antioxidantes naturales.¹⁴⁸

El ácido ascórbico participa en los procesos biológicos de hidroxilación hepática del colesterol a nivel microsomal, y además por sus propiedades reductoras mejoran la estabilidad y utilización del ácido fólico y la vitamina E.

Se ha demostrado que el ácido ascórbico capta radicales superóxido e hidroxilo y actúa como antioxidante interrumpiendo la cadena de la peroxidación lipídica. Actúa también, indirectamente, protegiendo las membranas lipídicas, a través de la regeneración de la forma activa de vitamina E que se une a las membranas. El ácido ascórbico parecería ser importante en la protección antioxidante del plasma, fluidos extracelulares, membranas e intracelularmente.¹⁴⁹

Otros compuestos antioxidantes exógenos

Bioflavonoides:

Son un gran grupo de antioxidantes polifenólicos que se hallan en muchas frutas, vegetales y bebidas como el té, el vino y la cerveza principalmente como O-glicósidos. Son eficientes antioxidantes capaces de reaccionar con radicales peroxilos, hidroxilo, superóxido (O_2^-) formando el radical fenoxilo.¹⁵⁰

Son quelantes de iones metálicos (Fe^{++} , Cu^{++}) y aumentan el efecto antioxidante total. Inhiben la oxidación de las LDL. Capturan radicales libres y algunos metabolitos de bajo peso molecular como la

Coenzima Q. Los flavonoides son absorbidos y sus metabolitos pueden mostrar actividad antioxidante *in vivo* lo que se demuestra por el aumento en el plasma del estado antioxidante.¹⁵¹

II.2.4.4 Pruebas para medir actividad antioxidante: *In vitro*

II.2.4.4.1 Método para el ensayo de captura de radicales DPPH

El método se basa en la reducción del radical DPPH (1, 1-difenil-2-picril hidrazil hidrato) en presencia de un antioxidante donador de hidrógeno, y se considera uno de los métodos más representativos empleando el modelo de radicales en la evaluación de la actividad de captura de radicales.¹⁵²

La capacidad antioxidante se calcula como μmol de equivalentes de Trolox (TE) por gramo de peso fresco (FW) de una curva estándar Trolox y se expresa en $\mu\text{mol TE/g}$.¹⁵²

II.2.4.4.2 Método de ensayo de captura de ABTS.

El ensayo ABTS se basa en la transferencia de electrones, por lo cual los diferentes compuestos antioxidantes presentes en los extractos, donan uno o dos electrones para reducir el radical catión, dando una medida precisa de la capacidad antioxidante total en el punto final de reacción. La formación del radical catión $\text{ABTS}^{\cdot+}$ se induce mediante la adición del persulfato de potasio. Los resultados se

expresan como milimoles de trolox por 100 mL (TEAC) de una infusión acuosa.¹⁵³

II.2.4.4.3 Ensayo FRAP.

Evalúa la capacidad antioxidante de una muestra de acuerdo con su capacidad para reducir el hierro férrico (Fe^{+3}) y TP (2, 4, 6, Tripiridil-s-triazina) presente en el complejo hasta ferroso (Fe^{+2}). Los resultados se expresan como milimoles de Fe^{3+} reducido / 100 mL de infusión de la planta o muestra.¹⁵⁴

II.2.4.4.4 La capacidad antioxidante total (TOSC).

Los radicales peroxilo se generan por la homólisis térmica de 2, 2'-Azobis (2-methylpropionamidine) dicloruro, impulsados por la reacción de Fenton, del hierro más ascorbato. El peroxinitrito se produce por la descomposición de 3-morfolinosidnonimina-N-etil-carbamida. Debido a la presencia de los ROS, las moléculas KMBA (ácido 2- ceto - 4-mercaptobutírico) se descomponen por liberación de gas etileno. La presencia de antioxidantes en las muestras disminuye la formación de etileno.

El valor de TOSC 0% caracteriza una muestra sin ninguna propiedad antioxidante. Una solución que elimina completamente la formación de etileno obtiene un valor de TOSC de 100%.^{54, 155}

II.2.4.4.5 Ensayo de Capacidad de absorber radicales oxígeno

(ORAC)

El ensayo ORAC (Capacidad de absorción de radical oxígeno) en el cual se emplea Trolox como estándar y condiciones controladas: temperatura a 37°C y pH 7,4. Se expresa en micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra ($\mu\text{mol Tx/g muestra}$).¹⁵⁶

II.2.4.5 Pruebas para medir actividad antioxidante: *In vivo*.

La sangre humana es una fuente excelente de marcadores *in vivo* de estrés oxidativo, en ella son transportados y redistribuidos los antioxidantes modificados por acción de ROS y RNS. El análisis del balance redox puede realizarse en suero, plasma, y eritrocitos. (Tabla 04).

El sistema antioxidante sanguíneo es clasificado en enzimático y no enzimático. El enzimático representado principalmente por las enzimas antioxidantes: SOD, CAT y GPx que utiliza el glutatión.

El sistema antioxidante no enzimático está formado por muchas sustancias, destacando el glutatión como el principal compuesto antioxidante intracelular, el tocoferol, ascorbato, ácido úrico y β caroteno, además de las proteínas de transporte de los metales de transición como la transferrina (transporta hierro), la

ceruloplasmina (transporta cobre y oxida el hierro para ser captado por la transferrina).¹³³

El sistema antioxidante enzimático y el glutatión están principalmente en el medio intracelular, por lo cual se utiliza al eritrocito para su análisis, y el sistema antioxidante no enzimático se localiza principalmente en el medio extracelular, por lo que se analiza en el plasma y suero.

En la sangre circulan importantes antioxidantes como por ejemplo las vitaminas C, E, β Caroteno; también los del daño causado por los ROS o RNS y otros, como malonaldehído (MDA), isoprostanos, lipoperóxidos y otros.

Las sustancias involucradas en el binomio antioxidante prooxidante caracterizan el ambiente biológico redox, y pueden ser cuantificadas asociando las técnicas bioquímicas tradicionales, de muestreo y determinación espectrofotométrica, técnicas cromatográficas, electroanalíticas, de resonancia magnética y espectrometría de masas.¹³³

Es así que se puede evaluar el balance redox en individuos que están sometidos a diferentes condiciones ambientales (por ejem: polución urbana) demográficos, étnicos, culturales, clínicos, y

nutricionales, contando así con una herramienta para el estudio de fenómenos biológicos relacionados al estrés oxidativo.

Tabla 04. Biomarcadores de actividad antioxidante y métodos de análisis.

Biomarcadores	Sub-grupos	Principales sustancias y métodos de análisis
Antioxidantes	Capacidad antioxidante total Enzimas antioxidantes Antioxidantes no enzimáticos	TRAP, ORAC, FRAP, TEAC (espectrofotom.) SOD, GPx, CAT (espectrofotometría) Vitamina E, C, βCaroteno (HPLC) Glutación (espectrofotometría) Ceruloplasmina y transferrina (turbidimetría) Ácido Úrico (enzimático)
Marcadores de daño oxidativo	Proteínas oxidadas Lípidos oxidados Proteínas nitradas Proteínas nitradas Oxidación de bases de ADN Rotura de ADN	Detección de grupos carbonilo (espectrometría) Detección de malondialdeído (HPLC y UV) 3-Nitrotirosina (3-NO ₂ -Tyr) (HPLC) 8-oxo-2'-desoxiguanosina(8-oxodG) en linfocitos Test Cometa en leucocitos.

(Lima et al 2007)¹⁵⁷

II.2.5 Rendimiento físico

Uno de los principales indicadores de la capacidad aeróbica que tiene cada individuo es el consumo máximo de oxígeno (VO_{2máx}) que está directamente relacionado con el nivel de rendimiento físico.¹⁵⁸

La determinación en valores absolutos depende de la capacidad física del individuo,¹⁵⁹ también está en relación con el nivel físico y el uso adecuado de energía, priorizando el metabolismo aeróbico.¹⁶⁰

Astrand, define el $VO_{2m\acute{a}x}$ como la mayor tasa de metabolismo aeróbico que se alcanza durante el ejercicio físico y está relacionado con la energía aeróbica.¹⁶⁰

La aptitud aeróbica está relacionada al estado de salud, principalmente con el funcionamiento cardio-respiratorio. Alcanzar la potencia aeróbica máxima en términos prácticos coincide con una meseta en el nivel de consumo de oxígeno (VO_2), en la etapa del incremento de la intensidad del ejercicio.

No siempre es posible alcanzar este consumo de $VO_{2m\acute{a}x}$ en un test o prueba funcional,¹⁶¹ por lo tanto el valor más alto de VO_2 es el denominado pico de VO_2 ; este valor es debido a la posibilidad de que el $VO_{2m\acute{a}x}$ no haya sido alcanzado durante la medición. Sin embargo, es importante resaltar que los valores pico de VO_2 por lo general siempre están muy cerca o son iguales a los valores de $VO_{2m\acute{a}x}$.¹⁶²

Valores elevados de $VO_{2m\acute{a}x}$ reflejan un buen funcionamiento del sistema cardio-respiratorio, porque el incremento del $VO_{2m\acute{a}x}$ se produce como consecuencia de una mayor eficiencia del sistema respiratorio, aumentando el ritmo respiratorio, y del sistema cardiovascular, incrementando el volumen sistólico total, lo que permite recolectar, transportar y entregar oxígeno a las células del tejido muscular, lo que hace posible realizar con menor cansancio muscular esfuerzos físicos sub máximos.¹⁶³

Por lo general el $VO_{2\text{máx}}$ es utilizado para expresar la aptitud aeróbica y se mide en L/min o en mL/min/kg.¹⁶⁴

Los sujetos entrenados y no entrenados, sedentarios, hombres y mujeres, jóvenes o con edad avanzada, todos tienen una similar eficiencia en el trabajo.

Estas similitudes son el reflejo de reacciones bioquímicas básicas que ocurren en el músculo y son necesarias para los eventos de la contracción muscular. Sin embargo, es importante recalcar que el VO_2 en ergómetro sin carga puede variar considerablemente de sujeto en sujeto por las diferencias en el tamaño corporal.¹⁶⁰

La valoración energética y el rendimiento físico de un individuo se realizan mediante los test de ejercicios físicos que incluyen el análisis de variables fisiológicas cardio-respiratorias.

II.2.5.1 Esfuerzo físico submáximo

Las pruebas de esfuerzo (PE) submáximas pueden ser de gran utilidad para determinar la condición física en sujetos aparentemente sanos en los que no se precise una valoración diagnóstica, y en ellas se pretende llevar al sujeto a un punto predeterminado que bien puede ser una frecuencia

cardíaca (FC) diana, un porcentaje de la FC máxima teórica (85%), una intensidad de ejercicio o un nivel de esfuerzo en la escala de Borg.

Es posible que una PE diagnóstica submáxima no desencadene cambios valorables en el electro cardiograma (ECG) o en la presión arterial (PA), pero puede servir para valorar la evolución en la condición física de un sujeto.¹⁶²

Las pruebas de intensidad constante y larga duración, tipo «contrarreloj» (o tiempo invertido en una cantidad determinada de trabajo), o bien ejercicio realizado en un tiempo determinado, como es la prueba de los 6 min, se emplean para valorar el rendimiento a intensidades submáximas.

II.2.5.2 Elección de un protocolo de prueba de esfuerzo (PE)

Para elegir o diseñar un protocolo, el principal factor a tener en cuenta es el objetivo o información que se pretenden obtener junto a la condición física, edad, sexo, peso y posibles déficits físicos y/o psíquicos, y requerimientos necesarios.

El tipo de ejercicio realizado en la PE conviene que sea aquél en el cual el sujeto esté más familiarizado, ya sea andar, pedalear, remar o cualquier otro, si se dispone del ergómetro adecuado.¹⁶²

II.2.5.3 Pruebas para medir esfuerzo físico.

Varios de los distintos protocolos tradicionalmente utilizados (Bruce, Balke, Naughton, Ellestad, etc.) disponen de fórmulas para estimar el $VO_{2\text{máx}}$. El error de estas fórmulas parece ser mayor en protocolos de estados no estables.¹⁶²

Las pruebas de esfuerzo submáximas indican consumo de oxígeno, mediante el registro del ritmo cardíaco durante el ejercicio. Durante una prueba de esfuerzo submáxima gradual, el ritmo cardíaco aumenta a medida que la intensidad del ejercicio aumenta.^{161, 163}

Durante una prueba típica de ejercicio gradual se registran el peso, talla, presión arterial y frecuencia cardíaca y se calcula la frecuencia cardíaca máxima. Se puede calcular la frecuencia cardíaca máxima aproximada usando la siguiente fórmula: $220 - \text{edad en años}$.¹⁶¹

Para las pruebas de esfuerzo físico sub máximo, donde la velocidad permanece constante, y se registra la FC, encontraremos que esta se incrementa en función de la intensidad y tiempo del trabajo realizado. La prueba submáxima se detendrá al alcanzar una FC previamente establecida en un porcentaje respecto a la FCMT equivalente a un rango entre 50-85%, o cuando sienta que no puede continuar.

II.2.5.4 Ventajas para el uso de pruebas ergométricas submáximas para estimar la capacidad aeróbica.

- Se puede evaluar un mayor grupo de sujetos en un tiempo relativamente menor.
- Se evitan posibles complicaciones médicas en pruebas con sujetos con posibles limitaciones físicas.¹⁶³
- No requiere el uso de equipo metabólico o de espirometría, lo cual implica un ahorro en el costo económico de la prueba.

Recomendaciones para pruebas ergométricas submáximas.

Morehouse¹⁶⁴ establece las siguientes circunstancias para recomendar el uso de pruebas ergométricas submáximas:

- En individuos sedentarios que no están dispuestos a llevar a cabo una prueba de ejercicio a niveles máximos.
- Cuando no hay disponible supervisión médica.
- Cuando no se posee suficiente información respecto a la condición física del sujeto a ser evaluado.
- Como una base para calcular los porcentajes de la potencia aeróbica previo a una prueba ergométrica máxima.
- Como una base para prescribir ejercicio para el desarrollo/entrenamiento de la tolerancia cardiorrespiratoria.

II.2.5.5 Prueba de Åstrand & Rhymin^g ¹⁶⁰

Los resultados de la prueba de Åstrand & Rhymin^g sirven para clasificar a los evaluados por su capacidad aeróbica: pobre (bajo), algo pobre (algo bajo), promedio, alto (excelente) y superior. Esto es útil para cuantificar la intensidad de un programa de entrenamiento (o prescripción de ejercicio).

El hacer medidas repetidas de esta prueba a lo largo de un período de entrenamiento sirve para evaluar la efectividad para mejorar la capacidad cardiorespiratoria de un programa de entrenamiento dirigido a desarrollar la tolerancia cardiorespiratoria (capacidad aeróbica).

Las pruebas submáximas utilizadas para estimar la capacidad aeróbica ($VO_{2máx}$) se basan en la premisa de la existencia de una relación lineal entre el aumento en la FC y el consumo de oxígeno (VO_2) a niveles submáximos de ejercicio. Durante esta etapa, el Volúmen de expulsión sistólica (VES) alcanza un estado estable (meseta), durante el cual el aumento en el gasto cardíaco (GC) resulta del incremento en la FC.

Un individuo que posea una capacidad funcional aeróbica buena evidencia una menor FC para cualquier carga de trabajo o potencia ergométrica dada, de manera que su pendiente es más baja.

Para estimar el $\text{VO}_2\text{máx}$, la FC submáx obtenida durante el estado estable se proyecta hasta la FCmáx estimada ajustada a la edad, desde donde el cual se traza una línea recta vertical (hacia abajo) hasta llegar perpendicularmente al eje-de-x (horizontal), donde se estimará el $\text{VO}_2\text{máx}$. (Ver gráfica en Anexo 6)

Para poder obtener la mejor predicción en el $\text{VO}_2\text{máx}$, la FCsubmáx debe de hallarse entre 115 y 150 latidos por minuto (lat/min) puesto que a estas FCsubmáx se ha encontrado que se mantiene la linealidad entre la FC y el VO_2 (potencia ergométrica).¹⁶⁰

Por debajo de 100 a 120 latidos por minuto, los factores psicológicos (ejemplo: nerviosismo) pueden afectar la FC. Más allá de 150 latidos por minuto se pierde la linealidad debido a la estabilización del VES.¹⁶⁰

En resumen, la estimación de la capacidad aeróbica mediante estas pruebas de ejercicio submáximas asumen las siguientes premisas:^{163, 164}

-Una relación lineal entre la FC, el VO_2 , y la intensidad o potencia ergométrica. Esto es válido solamente para intensidades que fluctúen entre liviano a moderado, a intensidades más altas, la relación entre el VO_2 y las cargas ergométricas de trabajo/potencia es principalmente una hipérbola.

La literatura científica muestra que la FC_{máx} puede variar tanto como ± 10 lat/min para individuos de la misma edad.^{162, 165}

II.2.6 Memoria Auditiva

La memoria se caracteriza por la capacidad de retener información y puede medirse de diversas formas: sensorial, motora, viso espacial, temporal, entre otros. En el tipo sensorial, pueden ser memoria visual, olfatoria, gustativa, táctil y auditiva.¹⁶⁶

Para el caso de la memoria de corto plazo, se define como el recuerdo de información de manera inmediata que podemos obtener después de la exposición sensorial frente a un hecho o estímulo. Del mismo modo se cree que esta capacidad es limitada.¹⁶⁷ La definición temporal referida a la memoria de corto o largo plazo puede ocasionar confusión, motivo por lo que se recomienda precisar esta variable con frases descriptivas de las tareas, como “recuerdo inmediato”, “recuerdo a los dos minutos” o “recuerdo a los 30 minutos”¹⁶⁸.

II.2.6.1 Evaluación de la Memoria Auditiva.

Se realiza a través de diferentes tipos de pruebas o test mentales que permiten evaluar la capacidad de recordar palabras, una de esas pruebas es test de Memoria del Rey Auditory Verbal Learning Test-Spanish RAVLT-S.¹⁶⁹

La prueba de Rey sobre aprendizaje auditivo verbal (RAVLT) se usa para la evaluación de la memoria en los diferentes aspectos del aprendizaje verbal.

Dos principales procesos cognitivos son evaluados por el RAVLT, uno relacionado con codificación y almacenamiento de la información (que comprende los cuatro primeros ensayos de aprendizaje) y el otro relacionado con la búsqueda y recuperación de información (que comprende los recuerdos libres y reconocimiento), con el componente A5 como un proceso intermedio.¹⁷⁰

El test de memoria auditiva verbal de Rey (RAVLTS) es uno de los test neuropsicológicos de memoria verbal más ampliamente usado. Poreh y col aplicaron el test para probar que el aprendizaje de listas de palabras forma un modelo algorítmico a través de todas las culturas.¹⁷¹

II.3 Justificación del estudio

El Perú posee un importante potencial en su biodiversidad y una rica tradición en plantas medicinales y alimenticias que requieren ser evaluadas desde el punto de vista científico para ponerlas, con valor agregado, a disposición de la humanidad.

Entre los alimentos funcionales peruanos destacan por su interés internacional la maca y el camu camu, dos plantas que se producen una en los andes centrales y la otra en la amazonía.

La medicina tradicional peruana se caracteriza por ser monoherbal, a diferencia de la medicina tradicional asiática que más bien es polih herbal.¹⁶⁵ La aplicación de una medicina polih herbal le daría importantes réditos a nuestra diversa gama de alimentos funcionales o nutraceuticos.

Los estudios experimentales en ratas están demostrando la eficacia del uso combinado de maca negra y camu camu en relación al uso individual de cada uno de ellos; así, se obtienen mejores resultados en la espermatogénesis cuando se usa la combinación maca negra y camu camu respecto a los obtenidos con la administración individual de maca negra o camu camu.²⁹ Esto es posible debido a que cada uno de ellos contribuye con principios activos que están presentes en uno y escasos en otro.

Por ello, es necesario investigar el impacto en la salud de la mezcla de plantas que aportan complementariamente metabolitos activos. Es así, que se propone un estudio en humanos a nivel de ensayo clínico tipo I sobre el efecto combinado del camu camu y la maca negra comparado con placebo.

Esta es la primera investigación en utilizar extracto atomizado de camu camu y maca negra como nutraceuticos combinados en el consumo humano, y

para evaluar como resultado del consumo, a marcadores de actividad metabólica, de actividad antioxidante, rendimiento físico y de memoria auditiva.

La mezcla se justifica en el hecho que la maca si bien muestra varias propiedades favorables para la salud, tiene baja capacidad antioxidante¹⁰⁰ que es justamente la principal característica del camu camu por su alto contenido de ácido ascórbico.¹²

Es por medio de la investigación clínica que se podrá contar con sustento científico respecto a las propiedades biológicas e inocuidad de estos productos, y diferenciarlo del efecto placebo y con ello proporcionar un modelo de estudio para evaluar otras combinaciones de plantas peruanas.

Este estudio contribuye a incrementar el acervo científico y proporciona un esquema que sirve para evaluar productos alimenticios en un diseño tipo ensayo clínico aportando a la conservación de la salud y la prevención de enfermedades.

Por otra parte este estudio constituye un aporte para contar con el respaldo científico que permita agregar valor a los productos que a partir de estos recursos naturales se puedan elaborar y posicionar a los que ya existen; con respaldo científico al consumo sin efectos adversos agregando valor a los mismos en el biocomercio y sirviendo de estudios clínicos referenciales para

apoyar la obtención de los registros sanitarios y contribuir a la certificación GRAS (“Generalmente reconocido como inofensivo”) y así lograr mayor acogida y consumo, permitiendo el desarrollo de la economía de las familias y empresas productoras de nuestro país. www.siicex.gob.pe.

II.4 Objetivos

II.4.1 Objetivo general:

- Determinar el efecto en el status metabólico de la ingesta de los extractos atomizados de camu camu y maca negra, solos o combinados por 42 días.
- Determinar el efecto en la actividad antioxidante de la ingesta de los extractos atomizados de camu camu y maca negra, solos o combinados por 42 días.

II.4.2 Objetivos específicos

Evaluar en los jóvenes, antes y después del consumo de los extractos atomizados del camu camu, maca negra solos o combinados:

1. El estado de salud:
 1. a. La percepción del estado de salud y la aceptabilidad de los productos.
 1. b. Efectos adversos.
2. Los niveles séricos de los marcadores bioquímicos: hepático (TGP), renal (creatinina), lipídico (colesterol, TG), nutricional (proteína total, Hb, Hcto).

Los niveles séricos de los marcadores hormonales:

Testosterona, estradiol, triyodotironina (T3), cortisol.

3. El rendimiento físico:

Mediante prueba de esfuerzo físico sub máximo.

5. Actividad antioxidante de:

- Superóxido dismutasa (SOD) intraeritrocitaria.
- Catalasa intraeritrocitaria.
- Óxido nítrico sérico.

6. La memoria auditiva con la prueba de aprendizaje verbal

auditiva de Rey. RAVLT-S.

II.4.3 Hipótesis

1. El consumo combinado de extractos atomizados de camu camu y maca negra mejoran el desempeño metabólico, la respuesta antioxidante, que ingeridos por separado, en jóvenes de 18 a 25 años de la amazonía peruana.
2. Los extractos atomizados de camu camu y maca negra combinados mejoran el estado de salud, los marcadores bioquímicos y hormonales del metabolismo y el rendimiento físico que ingeridos por separado.
3. Los extractos atomizados de camu camu y maca negra combinados mejoran la actividad de SOD, catalasa, niveles de óxido nítrico y los puntajes de la prueba de memoria auditiva que ingeridos por separado.

III. METODOLOGÍA

III.1 Diseño del estudio

Es un estudio prospectivo, ensayo clínico tipo I, ciego simple para la evaluación metabólica y antioxidante del consumo por 42 días de extractos atomizados de camu camu y maca negra solo y combinados comparado con placebo en jóvenes de la amazonía peruana.

III.2 Población

La población de estudio fueron todos los estudiantes comensales del Comedor Universitario de la UNAP de la ciudad de Iquitos, ubicado en la Provincia de Maynas de la Región Loreto. La población de comensales son un total de 250.

III.3 Muestra

El tamaño de la muestra se realizó de acuerdo a las recomendaciones de la FDA¹⁷² para ensayos clínicos Fase I.

-Reclutamiento: Se realizó por invitación escrita a un taller, a todos los comensales y por cartel en vitrina del comedor.

- Individuos que asistieron al taller: 150
- Individuos voluntarios para la selección médica: 110
- Cumplieron criterios de inclusión y exclusión. 85
- Aleatoriamente se seleccionó a 80

III.3.1 Selección y aleatorización de la muestra

El estudio se realizó en una muestra de 80 individuos seleccionados utilizando criterios de inclusión y exclusión, procediéndose luego a distribuirlos en cuatro grupos de 20 jóvenes cada uno. Los grupos fueron conformados de manera aleatoria.

-Aleatorización: Para realizar la asignación de grupos se usó la aleatorización por bloques balanceados, que permite asegurar un balance en el número de sujetos asignados a cada tratamiento. El procedimiento fue:

- 1) Se distribuyeron los 80 sujetos del estudio en 4 bloques de 20 sujetos cada uno.
- 2) Cada bloque incluyó 5 celdas con diferentes permutaciones de 4 letras correspondientes a cada grupo de tratamiento. (ABCD, BCDA, etc).
- 3) Para establecer el orden de los bloques se utilizó la tabla de números aleatorios.

Los grupos de tratamiento fueron:

Grupo A: Maca negra + Camu camu

Grupo B: Camu camu

Grupo C: Maca negra

Grupo D: Maltodextrina (Placebo)

III.3.2 Criterios de inclusión:

- Edad: 18 a 25 años
- Estado de salud: Sanos (por evaluación clínica realizada por un médico).
- Condición: Estudiantes de la UNAP, del Comedor Universitario.
- Forma de selección: Voluntarios con Consentimiento Informado (Anexo3).

III.3.3 Criterios de exclusión:

- Impedimento físico para realizar actividad física (caminata rápida o trote)
- Embarazo.
- Mujeres amenorreicas
- Fumadores.

FLUJOGRAMA

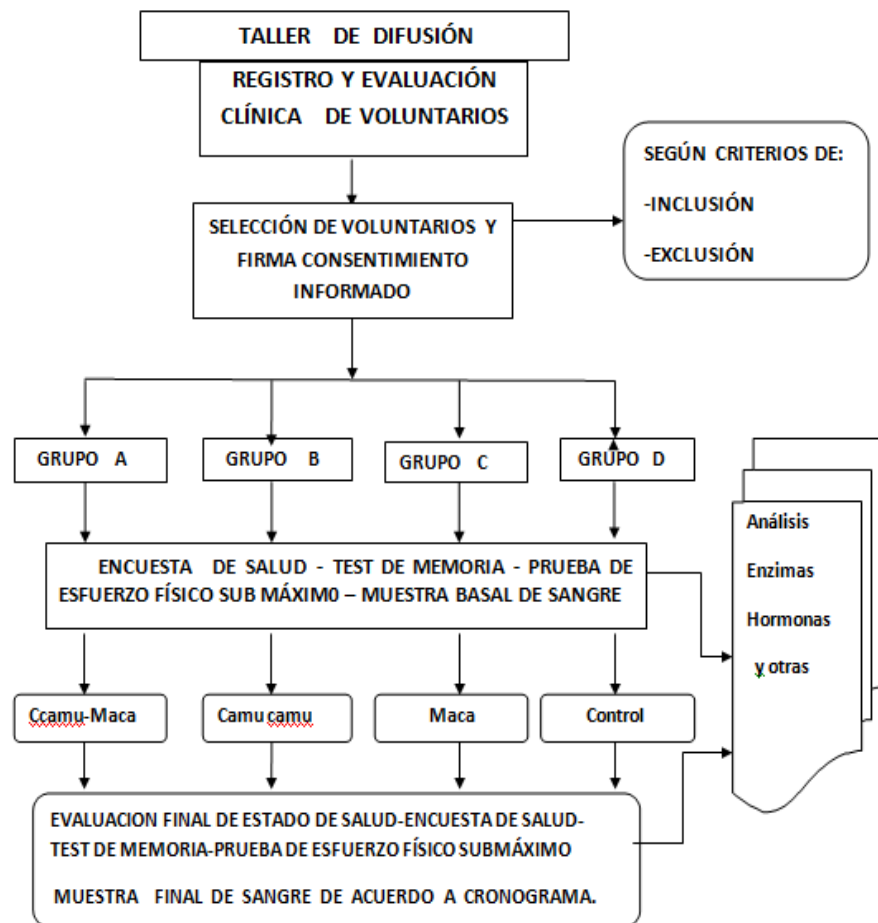


Figura 02 : Esquema de la secuencia de la investigación realizada.

III.4 Operacionalización de variables:

III.4.1 Variables independientes

1. Tratamiento maca negra, camu camu, maca negra-camu camu, o placebo.

III.4.2 Variables dependientes

1. Estado de salud
2. Moléculas marcadoras de actividad hepática (GPT), renal (creatinina), Lipídica (colesterol, triglicéridos), nutricional (proteínas totales, Hb, Hcto) Hormonal (Testosterona, Estradiol, T3, Cortisol).
3. Esfuerzo físico sub máximo
4. Marcadores de actividad antioxidante: SOD, Catalasa, Óxido Nítrico.
5. Memoria auditiva. Ver Tabla 05.

Tabla 05. Operacionalización de variables.

Variable	Dimensión	Indicador	Tipo	Escala
Tratamiento	Nutracéuticos	1: Camu camu-maca 2: Camu camu 3: Maca 4: Placebo	Cualitativa	Nominal
	Efectos adversos	1. Presenta 2. No presenta	Cualitativa	Nominal
	Aceptabilidad	1. agrado 2. desagrado 3. rechazo	Cualitativa	Nominal
Estado de Salud	Cuestionario de salud Parámetros fisiológicos	Puntaje	Continua	Intervalo
		1.Peso, talla 2.PresiónSistólica y Diastólica 3.Frec.Cardíaca	Continua	De razón
Evaluación metabólica	Marcadores bioquímicos: Hepático Lipídico Renal Nutricional	TGP Colesterol/Trigliér. Creatinina Proteínas Hb, Hcto	Continua	De razón
	Marcadores hormonales	Testosterona Estradiol Cortisol T3	Continua	De razón
Rendimiento Físico	Prueba de Esfuerzo Físico sub máximo	Consumo máximo de Oxígeno $VO_{2máx}$	Continua	De razón
Respuesta antioxidante	Antioxidantes endógenos	SOD Catalasa NO	Continua	De razón
Memoria	Memoria auditiva	Prueba de RAVLT	Continua	Intervalo

III.4.2.1 Determinación del estado de salud

Se realizó una evaluación clínica a cada uno de los individuos después de aceptar participar en el estudio. A fin de determinar el estado de salud, se aplicó una encuesta antes y después del estudio.

- Evaluación clínica realizada por médico, para seleccionar jóvenes sanos, sin enfermedades crónicas y registro de efectos adversos.
- Cuestionario de salud SF-20.^{30,45} Anexo 1.
- Test de Likert. Aceptabilidad de productos ingeridos.¹⁷³ Anexo2

-Registro de variables fisiológicas: Peso, Talla, IMC, Presión arterial sistólica, diastólica y frecuencia cardiaca.

La evaluación de la salud, la aplicación del cuestionario y tests se realizaron en los consultorios del Centro Médico de la Oficina de Bienestar de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

III.4.2.2 Determinación de moléculas marcadoras de actividad hepática, renal, lipídica, nutricional y hormonal.

Para la evaluación de los marcadores metabólicos, hormonales y antioxidantes, se obtuvo dos muestras de sangre durante el estudio:

- Muestra Basal: Día 1
(Antes del consumo de los extractos)
- Muestra Final: Día 43
(Al terminar la administración de los extractos)

La toma de muestras de sangre, análisis de hemoglobina y hematocrito fueron realizados en el Laboratorio de Análisis Clínico de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNAP - Iquitos

Los análisis de transaminasa TGP, creatinina, colesterol total, triglicéridos, proteína total se determinaron en Laboratorio de Clínica Selva Amazónica utilizando Equipo COBAS C 311 Modelo 724-0030 Serie 1201-01 Marca Cobos-HITACHI – Japón.

TGP: Test Fotométrico Cinético (ALT y LDH-NADH) Valor Normal (V.N):
Hasta 41 U/L

Colesterol: Método enzimático colorimétrico (CE, CHOD y POD)

Colorante de quinona-imina. V.N: < 200 mg/dL

Triglicéridos: Test enzimático colorimétrico (Lipasa, GK, GPO) Peroxidasa

Colorante 4-(p-benzoquinonamonoimino)-fenazona. V.N: < 200 mg/dL

Creatinina: Método cinético GT Lab V.N: 0.8 – 1.4 mg/dL

Proteínas Totales: Test Colorimétrico de Biuret V.N: 6.6 – 8.7 g/dL

Hemoglobina V.N:12-17 g/dL

Con Analizador Hematológico Abacus S/N 180465 Diatron GmbH, Austria

Hematocrito V.N: 36-52%

Con Centrífuga de Microhematocrito IEC MicroMB. Serie 34123002 USA.

Hormonas

Los análisis hormonales se realizaron utilizando kits de radioinmunoensayo para:

Testosterona V.N: H: 2.8-8.0; M: 0.06-0.82 ng/mL

Estradiol V.N: H: 0.0-45; M: 10-450 pg/mL

Triyodotironina T3 V.N: (0.82-2.13 ng/mL)

Cortisol V.N: (6-23 ug/dL)

Análisis realizados en el Laboratorio de Servicio Universitario de Apoyo de Endocrinología de la Facultad de Medicina de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH) y fueron confirmados por el Método de Electroquimioluminiscencia utilizando Equipo: marca: Roche modelo: Cobas 6000 módulo: e - n° serie: 2396-08 en el Laboratorio Clínico de la Clínica Anglo Americana-Lima.

III.4.2.3 Determinación del rendimiento físico

Se realizó mediante la prueba de esfuerzo físico submáximo^{160,163} utilizando una cinta o faja ergométrica marca Life Fitness modelo PY9, al inicio y al final de la ingesta de la maca y camu camu. Anexo 3

III.4.2.4 Determinación de la respuesta antioxidante

Los análisis para determinar la actividad de SOD, se realizaron en hematíes, a través de kit comercial de RANDOX Laboratories Limited, United Kingdom. (www.randox.com) en Laboratorio de Micronutrientes – LID – UPCH.

RANSOD (Superóxido Dismutasa-SOD),

Rango Normal: 1102-1601 U/g Hb

Utilizando un analizador Semi automático Marca Randox

Modelo RX MONZA Serie: 328-11-0461.

CATALASA Técnica Rx. Peroxidasa¹⁷⁴

R. Normal: 313±96 K/g Hb.

Utilizando Espectrofotómetro U.V. Marca Thermo, Electron

Corporation. Modelo Genesys 6 Serie: 2M7J068002.

ÓXIDO NÍTRICO. Medición de nitrato y nitrito por reducción de vanadio y R. Greiss.¹⁷⁵

Rango: óxido nítrico: 33 -53 uM

con Lector de Elisa VERSA MAX Molecular Devices BNR06217. USA.

III.4.2.5 Determinación de la memoria auditiva

Se realizó aplicando el test de Memoria del Rey Auditory Verbal Learning Test-Spanish RAVLT-S.¹⁶⁹ al inicio y al final de la ingesta de la maca y camu camu solos o combinados. Anexo 4.

III.5 PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS

III.5.1 Aspectos controlados

Los estudiantes comensales del Comedor Universitario durante el período del estudio consumieron la misma dieta en el desayuno, almuerzo y cena, controlada en sus niveles de ingesta calórica proteica de 2600 calorías y 60 gr de proteína diarias en promedio.

La ingesta de la maca y camu camu se realizó previo control y registro del código del estudiante para la entrega de la bebida correspondiente, que eran similares en color, según el grupo asignado, sin conocer qué producto estaban ingiriendo, tanto los estudiantes como el personal encargado.

III.5.2 Preparación de soluciones de nutraceuticos

La preparación de los extractos se realizó diariamente por personal encargado del proyecto, durante 42 días. Cada día se diluyó la dosis individual correspondiente en 200 mL de agua, para distribuirse en el almuerzo, según grupo asignado:

- Grupo A: 3 g de extracto de maca negra + 3 g de camu camu atomizados
- Grupo B: 3 g de extracto atomizado de pulpa de camu camu
- Grupo C: 3 g de extracto atomizado de maca negra
- Grupo D: 3 g de maltodextrina en polvo.

La dosis administrada de maca negra corresponde a 3 gramos y ha sido calculada en función a los datos obtenidos en los diferentes estudios de investigación con ratas o ratones. La FDA de Estados Unidos ha recomendado que es posible extrapolar la dosis animal a una dosis humana a través de una normalización usando el área de superficie corporal. Esto ha sido formulado por Reagan-Shaw y col.¹⁷⁶

Para ello se utiliza la siguiente fórmula:

Dosis en humanos (mg/kg) = dosis en animales (mg/kg) x (Factor de corrección del animal/Factor de corrección del humano):

Factor de corrección en humanos (Km) = 37;

Factor de corrección en ratas (Km) = 6;

Factor de corrección en ratones (Km) = 3.

Usando información de experimentos de maca realizados en ratas:²⁹

Dosis en ratas ¹²¹	Factor (rata/humano)	Dosis equiv. en humano (mg/kg)	Humano de 70 kilos
266.6mg/Kg	0.16	42.66	2.99 gr

Para la administración de camu camu, de acuerdo a la concentración de la pulpa atomizada (6,663 mg /100g) los 3 gramos corresponden a 199.89 mg de ácido ascórbico.

III.5.3 Administración de los nutraceuticos

La administración de los extractos se realizó en forma personal, individual y diariamente durante 42 días, en un sobre del producto asignado según el grupo correspondiente, disuelto en agua, junto con sus alimentos, a la hora del almuerzo, previo registro y firma de ficha de control.

Se supervisó el consumo de los nutraceuticos, de manera individual con personal especializado, en forma diaria y directa de todos los grupos identificados y registrados adecuadamente, sin que conocieran el producto que estaban distribuyendo y tampoco lo sabían los voluntarios que los consumían.

Para identificar los productos utilizados en el estudio, se realizaron los análisis de su composición nutricional que se muestra en la Tabla 06.

Tabla 06. Composición de nutraceuticos utilizados en el ensayo.

mg/100g	Camu Camu	Maca negra	Maltodextrina
Carbohidrato	92.45	78.12	95.27
Proteína	3.15	15.49	1.75
Grasa	0.19	1.29	0.16
Ceniza	1.35	1.06	0.12
Humedad	2.86	4.04	2.70

FIA-UNAP 2012

III.5.4 Aceptabilidad de los nutraceuticos

Se realiza a través de un test de Likert (Anexo 2) y se aplicó a los voluntarios al final de la ingesta de los nutraceuticos, con el propósito de determinar el grado de aceptación correspondiente a las siguientes proposiciones:

Con agrado: Extremadamente agradable, Agradable, Ni agradable ni desagradable.

Desagrado: Desagradable y Rechazo: Extremadamente desagradable o que se negaran a seguir consumiendo el nutraceutico.¹⁷³

III.5.5 Cuestionario de percepción de salud SF-20

El cuestionario de percepción de salud ha sido diseñado por el Medical Outcomes Study (MOS) de USA¹⁷⁷ para que en base a preguntas que valoren los estados positivos y negativos de la salud, evaluar con scores la

calidad de vida o estado de salud. La prueba original escrita en inglés consta de 36 preguntas. Esta prueba fue luego validada en España por Alonso y col.¹⁷⁸ quienes luego desarrollaron una versión corta de 12 preguntas.

Este cuestionario mide las siguientes dimensiones: Funcionamiento físico, rol físico, dolor corporal, vitalidad, emocional, salud mental, salud general.³⁰ El Cuestionario SF20 está dirigido a la percepción del estado de salud en general en la vida diaria. En el Perú se ha utilizado el cuestionario de percepción de salud utilizando 20 preguntas que mantenían una concordancia (valor Kappa) con el puntaje general. Este cuestionario ha sido validado tanto en poblaciones de nivel del mar como de la altura.^{42, 45}

Para aplicar el cuestionario se entrenó a profesionales en salud, para aplicarlo antes y después de la ingesta de los nutracéuticos

III.5.6. Procedimiento de esfuerzo físico sub máximo (EFSM).

En el presente estudio se evaluó el esfuerzo físico en condiciones sub máximas. Se tuvo en cuenta la consideración teórica de la condición de Esfuerzo físico sub máximo (EFSM), en función a los valores de frecuencia cardíaca (FC) registrada durante el ejercicio. Se asumió un valor de frecuencia cardíaca máxima teórica (FCMT) como la diferencia de 220 - edad en años del evaluado.

En función a este cálculo se determinó el EFSM, como aquella condición en la cual se alcanzó un valor de FC equivalente al 50% de la FCMT.¹⁵⁷

Realizado el cálculo de la FC para condiciones sub máximas de ejercicio, los participantes estuvieron listos a la evaluación física que se realizó de la siguiente manera:

Las evaluaciones de ejercicio se realizaron en las instalaciones de un gimnasio de la ciudad de Iquitos, a una temperatura promedio de 28 ± 5 °C.

Se explicó a los participantes del estudio en que constaba el test de ejercicio, mostrando el equipo de cinta o faja rodante (treadmill), el equipo de monitoreo de presión arterial, equipo de monitoreo de FC y saturación arterial de oxígeno (SpO₂) (Pulso oxímetroportátil Modelo: Datex Ohmeda Tuff Sat, marca: General Electric. Código: 6050-0006-095 Finlandia).

Se realizaron las lecturas iniciales en condiciones de reposo sin actividad física luego de un tiempo de 5-10 minutos de reposo.

El ejercicio físico se realizó en una cinta marca Life Fitness modelo PY9, a una velocidad de 3 km/h. Las lecturas de la FC y SpO₂ se realizaron cada 30 segundos y de la presión arterial (sistólica y diastólica) al inicio y final del ejercicio. El ejercicio físico se realizó hasta alcanzar una lectura de la FC igual a la FC previamente calculada para el EFSM, llevándose a cabo un registro total del tiempo de ejercicio. Terminado el ejercicio físico se realizó la lectura de la presión arterial, registrándose todos los datos en una Ficha de Registro (Anexo 3).

III.5.7 Determinación de la memoria auditiva

Para evaluar la memoria auditiva, se aplicó el test de Memoria del Rey Auditory Verbal Learning Test-Spanish RAVLT-S, ¹⁶⁹ al inicio y al final de la ingesta de los nutraceuticos.

El test consiste en una lista de 15 palabras que se leen en el mismo tono sin dar énfasis en ninguna de ellas. Luego de la lectura el evaluado tiene la oportunidad de repetir las palabras que recuerda en cualquier orden; el evaluador toma nota de las palabras y el orden en que lo hace. Esto se repite durante cinco veces; luego se lee una historia que tiene en el texto las 15 palabras que se usan en la prueba.

En seguida se vuelve a repetir todo lo indicado anterior acerca de las 15 palabras por 5 veces más, haciendo un total de 10 ensayos. Se puede concluir la prueba, cuando el evaluado recuerda las 15 palabras en 2 ó 3 ocasiones sucesivas, aún antes de los 10 ensayos. Anexo 4.

Los resultados se expresan en el N° máximo de palabras que recuerda y el N° de ensayos que fue necesario para alcanzarlo.

III.6 Consideraciones Éticas

Todos los métodos, técnicas y procedimientos aplicados en la investigación están dentro de las normas nacionales e internacionales para proyectos de investigación en humanos. De acuerdo a la Declaración de Helsinky.Tokio 2008.

En el Anexo 5, se adjunta el modelo del Consentimiento Informado (Aprobado por Comité de Ética UPCH) registrado con **SIDISI 58649**, (Aprobado por Comité de Ética UPCH) (18/11/2011) y renovado (18/09/2012).

El consentimiento informado se utilizó para que los estudiantes de manera voluntaria, previa información de todos los datos del proyecto a través de taller de difusión, se comprometieran a participar en el estudio, asegurándoles la confidencialidad de los datos obtenidos, así como la seguridad de tener acceso a los responsables y personal médico en caso de alguna molestia o evento adverso se presente.

III.7 Plan de Análisis

Los datos fueron ingresados en una base de datos en programa excel y luego transferidos al programa STATA versión 10. (Stata Corporation USA).¹⁷⁹

Los parámetros biológicos que son variables continuas fueron expresados en medias \pm error estándar. La prueba Shapiro Wilk se utilizó para evaluar la normalidad. Los parámetros biológicos de las mediciones basales y finales entre los grupos de estudio fueron analizados con la prueba ANOVA. Para determinar las diferencias entre pares de promedio cuando un ANOVA tuvo una $p < 0.05$ se utilizó la prueba post hoc Bonferroni.¹⁸⁰ Para determinar diferencias estadísticas entre las pruebas iniciales vs finales por cada grupo de tratamiento se aplicó la prueba *T Student* para datos pareados (no independientes). La correlación de *Pearson* fue usada para evaluar interdependencia entre variables continuas, los datos categóricos fueron expresados en porcentaje y analizados con técnica no paramétricas como la prueba exacta de *Fisher*.

Para determinar el efecto del consumo de los nutraceuticos (Camu camu, Maca negra y la combinación de ambos) sobre algunos procesos evaluados, independiente de los antioxidantes, se realizó un análisis multivariado. La técnica realizada fue la regresión múltiple que permitió cuantificar el aporte de cada producto sobre: la percepción de salud, presión arterial sistólica, $VO_{2m\acute{a}x}$, Memoria auditiva, y controlando por parámetros biológicos asociados a cada evento. Con la finalidad de reducir el error alfa por efecto de variables múltiples se utilizó la prueba de corrección de Holm-Bonferroni.¹⁸⁰

Se utilizó un valor de $p < 0.05$ para determinar la significancia estadística de cada prueba estadística.¹⁸¹

IV. RESULTADOS

IV.1 Composición química de los nutraceuticos

En la Tabla 07 se presenta la composición mineral de los productos administrados. Allí se aprecia que los 3 productos son diferentes uno de otros. El contenido de potasio es más alto en la maca negra que en camu camu y la maltodextrina. El magnesio, fierro, aluminio, zinc, manganeso y cobre existen en mayor concentración en camu camu que en la maca negra y maltodextrina.

Tabla 07. Composición química de nutraceuticos.

Elem.Quím. mg/100g	Camu camu	Maca	Malto dextrina	Requerimientos diarios *
K	383.38	558.43	1.3	<i>1500 mg/día</i>
Mg	61.60	18.29	2.47	<i>300 mg/día</i>
Na	47.13	61.58	6.24	<i>1500 mg/día</i>
Ca	29.05	28.39	25.57	<i>1000 mg/día</i>
Fe	11.87	0.64	0.51	<i>15 mg/día</i>
Al	11.24	2.41	0.35	<i>15 mg/día</i>
Zn	2.98	0.65	0.12	<i>15mg/día</i>
Mn	2.43	0.1	<0.01	<i>3mg/día</i>
Cu	0.77	0.3	0.24	<i>0.9 mg/día</i>
I	1.44	1.18	0.89	<i>0.15 mg/día</i>
Cromo	0.04	0.02	0.02	<i>0.02 mg/día</i>
Mo	<0.05	<0.05	<0.05	<i>0.045 mg/día</i>

*Requerimientos RDA según Food and Nutrition Board-2001 (www.nap.edu)
(Instituto de Corrosión y Protección ICP-Pontificia Universidad Católica del Perú PUCP)

En base a las mediciones de polifenoles, bencil glucosinolato y ácido ascórbico se puede confirmar que los productos administrados son diferentes unos de otros (Tabla 08). En efecto, la maca negra presenta bencilglucosinolatos, y no así el camu camu ni la maltodextrina. El camu camu destaca por su alto contenido de ácido ascórbico que en cambio es mínimo en la maca; y los polifenoles en mayor proporción se encuentran en el camu camu que en la maca o en la maltodextrina (placebo).

Tabla 08. Composición metabolitos en nutraceuticos.

	Maca Negra mg/100g	Camu camu mg/100g	Maltodextrina mg/100g
Polifenoles* (Ac. Gálico)	110	450	14.6
Polifenoles ** (Pirogalol)	117	284	21
Bencilglucosinolato*	110	N.D.	N.D.
Ac. Ascórbico +	36	6663	21.04

N.D. No detectable

**LRE-UPCH; *UCC-UPCH; + FIA-UNAP

IV.2 Evaluación basal de Cuestionario de salud y variables fisiológicas

A nivel basal, los puntajes de estado de salud, el IMC, edad, sexo, presión arterial sistólica y diastólica y la frecuencia cardíaca no fueron estadísticamente diferentes entre los grupos de estudio (Tabla 09). Así mismo se realizaron la comparación de estos valores tomando en cuenta la variable sexo (datos no mostrados), no observándose diferencia alguna en cada variable entre sexo

masculino y femenino por lo que se decide analizar los datos por grupos de estudio: camu camu-maca, camu camu, maca y placebo.

Tabla 09. Parámetros basales de Cuestionario de salud y variables fisiológicas

Parámetros	Ccamu-Maca	Camu camu	Maca	Control	*p
Puntaje estado salud	75.9±2.5	75.8±2.7	75.8±2.9	76.5±2.8	0.86
IMC(kg/m²)	22.0±0.7	21.2±0.7	21.7±0.7	22.7±0.4	0.43
Edad (años)	21.4	21.5	21.5	21.4	0.96
Sexo (H/M)	11/9	12/8	13/7	17/3	0.21+
P. sistólica (mmHg)	104±2.3	102±1.7	102±1.9	102±2.5	0.88
P. diastólica (mmHg)	62.5±0.98	64±1.1	62.5±0.98	62.5±0.98	0.66
F. cardíaca (lpm)	79.4±0.6	78±1.0	80.5±0.7	77.4±1.2	0.07

Valor Promedio ± Error estándar *ANOVA + P. exacta de Fisher
 IMC: Índice de masa corporal P: Presión F: Frecuencia.

Con respecto a marcadores metabólicos como TGP, colesterol, triglicéridos, creatinina, proteínas, Hb y Hto, tampoco se observaron diferencias en los valores basales entre grupos de tratamiento (Tabla 10).

Tabla 10. Parámetros basales de marcadores metabólicos.

Parámetros	Ccamu-Maca	Camu camu	Maca	Control	*p
TGP (U/L)	18.1±1.8	18.1±1.8	20.6±1.6	16±1.3	0.29
Colesterol (mg/dL)	168.6±6.2	161.8±6.4	162.8±7.0	158.5±5.5	0.72
Triglicéridos (mg/dL)	116.3±14.5	103.4±9.2	98.7±10.1	108.6±12.9	0.74
Creatinina (mg/dL)	0.93±0.04	0.90±0.05	0.96±0.04	1.02±0.04	0.25
Proteínas T. (g/dl)	6.72±0.15	6.98±0.09	6.86±0.11	6.81±0.11	0.47
Hb (g/dL)	13.9±0.3	14.2±0.4	14.2±0.3	14.6±0.3	0.39
Hcto. (%)	43.4±0.9	45.9±1.1	46.3±0.8	47.9±0.7	0.24

Valor Promedio ± Error estándar

*ANOVA

TGP: Transaminasa Glutámico Pirúvico Hb. Hemoglobina Hcto: Hematocrito

IV.3 Aceptabilidad del consumo de maca y camu camu como nutracéuticos

El nivel de aceptabilidad de la maca, camu camu, la mezcla maca-camu camu y el placebo oscila entre 83 a 100%, sin diferencia entre los grupos de estudio ($p>0.05$) (Tabla 11). Esto implica que el porcentaje de sujetos que aceptan los productos, es similar en el grupo placebo como en los grupos con maca negra y camu camu, solos o combinados.

Tabla 11. Resultado de aceptabilidad.

	Ccamu-Maca	Camu camu	Maca	Control	*p
% Aceptabilidad	88	87	83	100	0.5

*P. exacta de Fisher

IV.4 Percepción del estado de salud

Para conocer la percepción del estado de salud de los participantes del ensayo, se aplicó una Encuesta de Salud al inicio y final de la ingesta de los nutraceuticos o el placebo (control).

Los valores basales en los grupos de estudio fueron similares indicando la homogeneidad de los grupos (Tabla 09)

Cuando se expresan los resultados como porcentaje de cambio con respecto al valor inicial, el grupo que consumió extracto atomizado de Maca negra y Camu camu-Maca negra, tuvieron mejor percepción de salud, con diferencia significativa. ($p < 0.05$) luego del tratamiento, lo que no se observa en el grupo placebo. Igualmente, cuando se comparan las respuestas al tratamiento con respecto al placebo (ANOVA, $P < 0.05$) se observa que el grupo tratado con maca y el tratado con maca y camu camu muestran mayor respuesta de puntaje de estado de salud (Tabla 12).

Tabla 12. Porcentaje de cambio cuestionario de salud.

	Ccamu-Maca	Camu camu	Maca	Control
% E. Salud *	108.9 ± 2.7 a	100.3 ± 2.7	110.3 ± 3.6a	100.5 ± 2.1
<i>p</i>	0.038	0.86	0.011	0.87

Valor Promedio ± Error estándar

p: T Student Comparado entre pares de cada grupo (Valor final con inicial)

* ANOVA **a** Bonferroni: $P < 0.05$ comparado con grupo control

IV.5 Registro de efectos adversos

Los efectos adversos registrados en la primera semana fluctuaron entre 5 y 10% en los grupos sin ser significativos ($p > 0.05$); en la 4ª semana al final del estudio, todos los pequeños malestares reportados por uno o dos de los voluntarios por grupo, desaparecieron, con 0% de efectos adversos ($p > 0.05$)

Tabla 13

Tabla 13. Efectos adversos 1ª y 4ª semana de ingesta (en %)

Síntomas	Ccamu-Maca		Camu camu		Maca		Control	* <i>p</i>
	1ª	4ª	1ª	4ª	1ª	4ª	1ª y 4ª	
Diarrea	10	0	0	0	5	0	0	0.4
Estreñimiento	10	0	0	0	5	0	0	0.4
Gases	5	0	5	0	0	0	0	0.57
Dolor abdominal	0	0	0	0	10	0	0	0.18
Sensación de llenura estomacal	0	0	0	0	5	0	0	0.47
Insomnio	0	0	0	0	5	0	0	0.47
Más Sueño	0	0	10	0	0	0	0	0.10
Taquicardia	0	0	5	0	0	0	0	0.46
Prurito	0	0	0	0	5	0	0	0.47
n	20		20		20		20	

**P. exacta de Fisher (1ª Semana)*

IV.6 Cambios en parámetros fisiológicos asociados a la ingesta de maca negra y camu camu

En el grupo camu camu se observa un pequeño pero significativo descenso entre el peso inicial y final ($p=0.04$), pero no en los demás grupos. En el Índice de Masa Corporal (IMC), no se encuentran diferencias entre los valores iniciales y finales de los grupos (Tabla 14).

Tabla 14. Resultados iniciales y finales de parámetros fisiológicos por grupos.

Parámetros Fisiológicos	Ccamu-Maca n 20	Camu camu n 20	Maca n 20	Control n 20
IMC Inicial	21.98±0.7	21.16±0.69	21.73±0.73	22.66±0.40
Final	21.82±0.69	20.96±0.69	21.52±0.71	22.70±0.41
Delta <i>p</i>	-0.15 0.35	-0.20 0.16	-0.21 0.18	0.03 0.89
P. sistólica Inicial	104±2.3	102±1.7	102±1.9	102±2.5
Final	100±2.7	98±1.7	100±1.6	103.5±1.1
Delta <i>p</i>	-4.0 0.012	-4.0 0.04	-2.0 0.296	0.15 0.526
P. diastólica Inicial	62.5±0.98	64±1.1	62.5±0.98	62.5±0.98
Final	64±1.3	62±0.9	62±1.2	61.5±0.8
Delta <i>p</i>	1.5 0.186	-2.9 0.042	-0.5 0.667	1.0 0.329
F. cardiaca Inicial	79.4±0.6	78±1.0	80.5±0.7	77.4±1.2
Final	77.3±1.1	78.9±1.2	79.1±1.1	77.3±1.0
Delta <i>p</i>	-2.1 0.021	0.9 0.483	-1.4 0.217	-0.1 0.946

Valor promedio ± Error estándar Delta: Diferencia entre valor final e inicial
p: *T Student (datos pareados)*.

Con respecto a la presión arterial sistólica se encontró en la evaluación final, que el grupo que recibió camu camu y camu camu-maca disminuyen con significancia estadística, ($p < 0.05$) conforme se observa en la Figura 03 y en la Tabla 14.

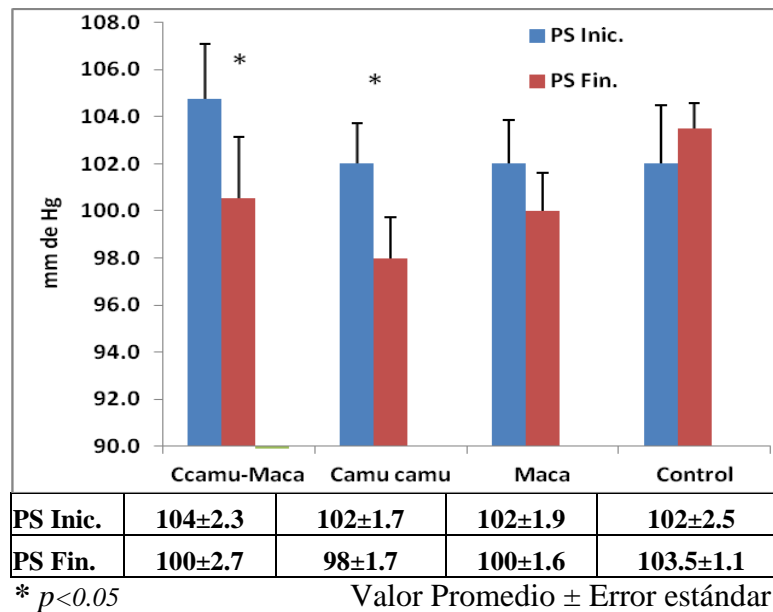


Figura 03. Presión arterial sistólica inicial y final por grupo.

El porcentaje de cambio de la presión arterial sistólica con respecto al basal, muestra que el grupo que consumió camu camu-maca tiene mayor disminución de la presión arterial sistólica, ($p < 0.05$), que el grupo que consumió solo camu camu, pero ambos significativos (Tabla 15).

Tabla 15. Porcentaje de cambio de presión arterial sistólica con respecto al basal por grupos.

	Ccamu-maca	Camu camu	Maca	Control
% PS *	94.8±2.3 a	96.3±1.7a	98.4±1.8	102.5±2.3
<i>p</i>	0.012	0.04	0.296	0.526

Valor Promedio \pm Error estándar

*ANOVA a Bonferroni $p < 0.05$ comparado con grupo control

Con respecto a la presión arterial diastólica, se observa pequeña disminución significativa estadísticamente en el grupo Camu camu ($p < 0.05$) (Figura 04).

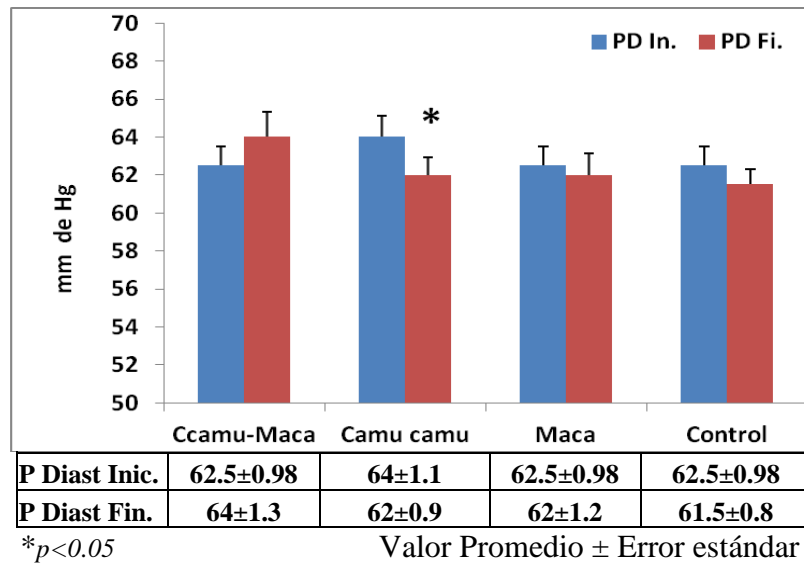


Figura 04. Presión arterial diastólica inicial y final por grupo.

El valor de % de cambio de la presión arterial diastólica, comparado al valor basal muestra que el grupo que recibe camu camu disminuye significativamente ($p < 0.05$) en relación al valor inicial, pero no es diferente cuando se compara al grupo control (Tabla 16)

Tabla 16. Porcentaje de cambio de presión diastólica con respecto al basal.

	Ccamu-maca	Camu camu	Maca	Control
% P. Diast*	102.5±1.8	97.1±1.3	99.4±1.8	98.7±1.5
<i>p</i>	0.186	0.042	0.667	0.329

Valor Promedio ± Error estándar

*ANOVA $p > 0.05$ comparado con grupo control

IV.7 Cambios en los marcadores metabólicos por efecto de la ingesta de maca negra y camu camu.

El marcador hepático evaluado en el presente estudio, la transaminasa glutámico pirúvica (TGP), se mantuvo al inicio y al final dentro del valor normal, (Valor Normal: < 41 U/L) sin diferencias entre los grupos tratados (Tabla 17).

Tabla 17. Porcentaje de cambio con respecto al basal de marcadores metabólicos.

Variables Metabólicas	Ccamu-Maca	Camu camu	Maca	Control
% Colesterol	94.8 ± 1.5	91.4 ± 2.6	91.8 ± 4.8	100.8 ± 3.1
<i>p</i>	0.007	0.002	0.17	0.13
% Creatinina	96.5 ± 1.5	91.4 ± 2.6	91.8 ± 4.8	100.8 ± 3.1
<i>p</i>	0.22	0.61	0.013	0.02
% Proteína total (*)	118.2 ± 3.5 a	107.5 ± 1.9	112.2 ± 2.4	105.7 ± 2.5
<i>P</i>	0.0001	0.001	0.0002	0.06

Valor promedio ± Error estándar

p: *T Student* Comparado entre pares de cada grupo (Valor final con inicial)

(*) ANOVA a Bonferroni: $p < 0.05$ comparado con grupo control

En los marcadores del metabolismo lipídico, se observa en el grupo tratado con camu camu y camu camu-maca que el colesterol disminuyó ($p < 0.05$) (Valor Normal: < 200 mg/dl); esto mismo se observa cuando se evalúan los deltas de colesterol (final-basal) (Figura 05).

En cambio, los triglicéridos no variaron en ninguno de los grupos de tratamiento ni en el control (placebo) ($p > 0.05$). (Valor Normal: < 200 mg/dl).

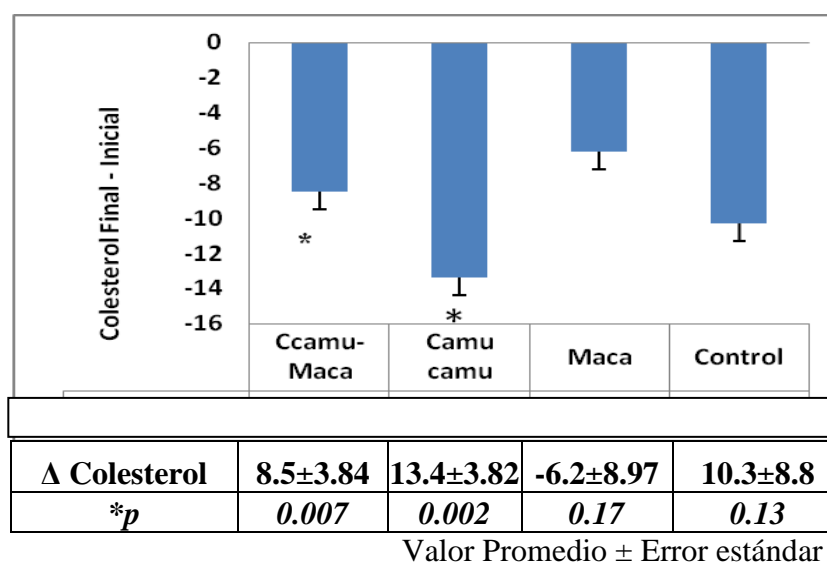


Figura 05. Delta de colesterol (final – inicial)

La función renal fue evaluada a través de la creatinina sérica al inicio y al final del ensayo. Los valores estuvieron dentro del rango de normalidad y los niveles de creatinina sérica fueron un poco menores, pero sin diferencias significativas. (V. Normal: 0.8 – 1.4 mg/dL).

El marcador nutricional evaluado es el nivel de proteínas totales séricas, que se elevaron de manera significativa en los grupos que recibieron los nutracéuticos (maca, camu camu o la mezcla maca-camu camu) ($p < 0.05$), lo que no se observa en el grupo que recibió placebo ($p < 0.05$) (Valor Normal: 6.6 – 8.7 g/dL). Los valores de delta muestran que el grupo camu camu-maca presenta el mayor aumento en proteínas totales en suero ($p = 0.0001$) (Tabla 17 y Figura 06).

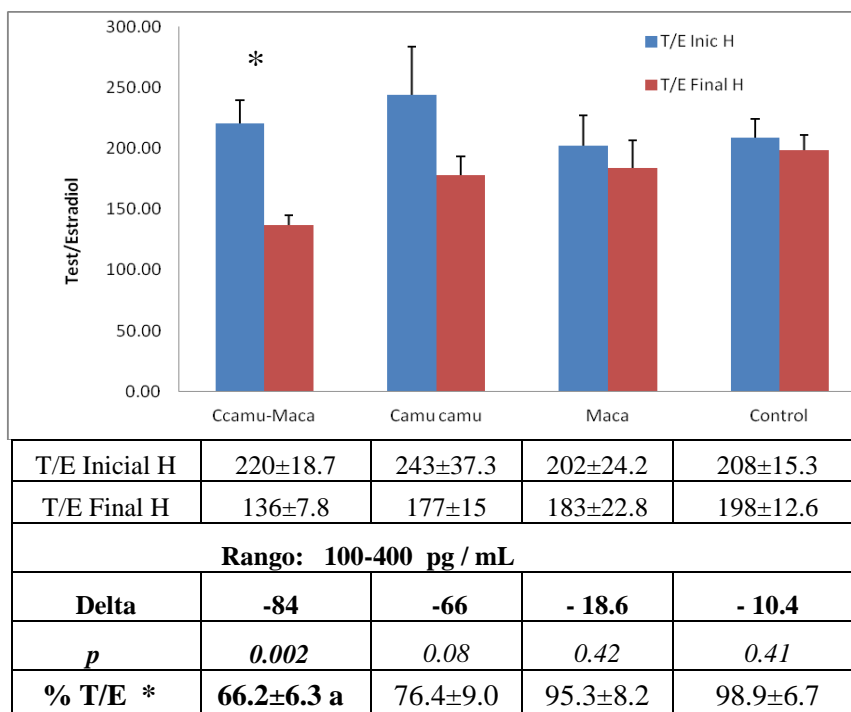
Tabla 18. Basal de hormonas Test/Estradiol por grupos.

Parámetros	CcamuMaca		Camu camu		Maca		Control		* <i>p</i>
	X	± EE	X	± EE	X	± EE	X	± EE	
Testos/Estra Hombres	220.7	18.7	243.8	37.3	202.3	24.2	208.8	15.3	0.66
Testos/Estra Mujeres	4.9	4.9	4.1	5.7	3.3	2.8	5.2	0.0	0.93

* *Anova Test*

Valor promedio ± Error estándar

Cuando se analiza al final de la ingesta, se observa que solo el grupo de maca-camu camu presenta disminución significativa de la relación testosterona / estradiol en hombres, al final del ensayo, ($p=0.002$), siempre dentro del rango normal. Esto parece deberse a un efecto del camu camu ($p=0.08$). El grupo tratado solo con maca negra no mostró ninguna variación en los niveles de testosterona/estradiol en suero. Lo mismo se observa con el grupo tratado con placebo. (Figura 07)



p: *T Student*

Valor Promedio ± Error estándar

* *ANOVA: p<0.05 a Bonferroni* con respecto al control

Figura 07. Testosterona/Estradiol Inicial y final en hombres por grupo

En la Tabla 19 se presenta los valores basales del cortisol y de la triiodotironina (T3), que son similares en todos los grupos sin diferencias significativas.

Tabla 19. Basal de hormonas Cortisol y T3 por grupos.

Parámetros	CcamuMaca X ± EE	Camu camu X ± EE	Maca X ± EE	Control X ± EE	*p
Cortisol	21.7 2.0	20.8 1.8	22.2 1.9	21.2 1.3	0.746
T 3	1.37 0.04	1.47 0.06	1.42 0.04	1.42 0.06	0.53

*Anova Test

Valor Promedio ± Error estándar

El análisis de cortisol en suero al terminar el estudio muestra una disminución de los valores en todos los grupos incluyendo al placebo ($p < 0.05$), dentro del rango de valor normal. Los valores delta disminuyen significativamente en todos los grupos, y en el grupo camu camu con significancia marginal, pero no son diferentes al compararlas con el grupo control (Tabla 20).

Tabla 20. Cortisol inicial – final por grupos.

	Ccamu-maca	Camu camu	Maca	Control
Cort. Inic	21.7±2.0	20.8±1.8	22.2±1.9	21.2±1.3
Cort.Final	14.9±2.0	16.5±1.1	15.4±1.2	15.8±0.8
Valor Normal: 6 a 23 ug / 100 ml				
Delta	-6.8	-4.3	- 6.8	-5.4
% Cort *	81.6 ± 11.8	92.6 ± 11.4	83.8 ± 15.1	82 ± 8.5
p	0.002	0.053	0.007	0.001

p: T Student *Anova $p > 0.05$ Valor Promedio ± Error estándar
Delta (Valor final – inicial)

La tabla 21 muestra que el grupo tratado con maca ($p 0.008$) y el tratado con camu camu ($p 0.04$) presentan una modesta disminución de los niveles séricos de T3 al final del ensayo. En el grupo tratado con maca-camu camu no se observa ninguna variación en los niveles de T3 ($p>0.05$), tampoco en el placebo ($p 0.06$). Cuando se comparan con el placebo, el ANOVA no muestra diferencias entre grupos ($P>0.05$).

Tabla 21. T3 inicial – final por grupos

	Ccamu-maca	Camu camu	Maca	Control
T3 Inicial	1.37±0.04	1.47±0.06	1.42±0.04	1.42±0.06
T3 Final	1.37±0.04	1.32±0.06	1.25±0.03	1.32±0.04
Valor Normal: 0.82 a 2.13 ng / ml				
Delta	0.0025	- 0.15	-0.17	-0.10
% T3 *	100.8 ± 3.2	91.4 ± 5.1	89.7 ± 4.1	94.4 ± 3.6
P	0.95	0.04	0.008	0.06

Delta: (Valor final – inicial) Valor Promedio ± Error estándar
p T student: Comparado entre pares de cada grupo * ANOVA $p>0.05$

En resumen, al análisis pareado, comparando valores finales con los iniciales en cada hormona, y comparando con el grupo control o placebo, se muestra que la mezcla maca-camu camu disminuye los niveles de Test/Estradiol ($p=0.002$), aunque lo hace dentro de los rangos normales, y las variaciones de cortisol y T3 no son diferentes del grupo control, y también están dentro del rango normal.

IV.9 Prueba de esfuerzo físico submáximo

Para evaluar el efecto de los nutraceuticos en el esfuerzo físico de los voluntarios participantes se determinaron los valores basales del esfuerzo físico

submáximo en todos los cuatro grupos de estudio. En la Tabla 22 se puede apreciar los resultados obtenidos al inicio del ensayo sin diferencias significativas entre los grupos.

Tabla 22. Basal de esfuerzo físico submáximo por grupos.

Parámetro	Ccamu-Maca X ± EE	Camu camu X ± EE	Maca X ± EE	Control X ± EE	*p
VO₂max	5.20 0.32	4.90 0.34	5.21 1.29	6.04 0.29	<i>0.079</i>

*ANOVA

Valor promedio± Error estándar

El resultado de la Prueba de esfuerzo físico submáximo expresado en (VO₂max) muestra que, en el grupo tratado con maca y el tratado con camu camu-maca existe incremento significativo del promedio de VO₂max calculado ($p < 0.05$) luego de 42 días de ingesta, lo cual no se evidencia para el grupo tratado con camu camu o en el grupo que recibió el placebo (control) ($p > 0.05$) (Figura 08).

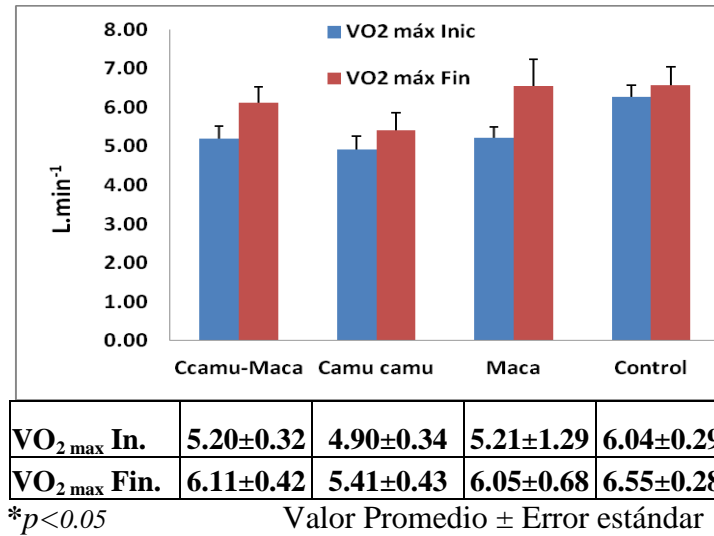


Figura 08. Consumo máximo de oxígeno (VO₂ máx) en la prueba de esfuerzo físico submáximo.

En la Figura 09, mediante la evaluación del delta (VO₂máx final menos inicial), el grupo tratado con maca mostró mayor incremento del VO₂máx luego de 42 días de ingesta y también, aunque un poco menor en el grupo tratado con camu camu-maca. (*p*= 0.039 y 0.004 respectivamente).

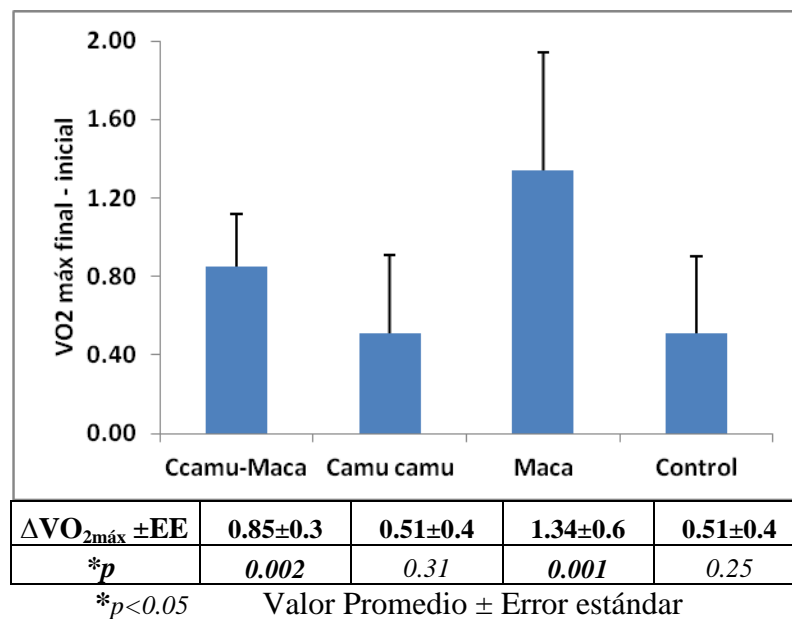


Figura 09. Delta del Consumo máximo de oxígeno (L.min⁻¹)

Al expresar estos resultados en porcentaje de cambio producido en el consumo de oxígeno final comparando con el inicial, se confirma estos resultados con mayor evidencia, al compararlo con el grupo control (Tabla 23).

Tabla 23. Porcentaje de cambio del VO_{2máx} en prueba de esfuerzo físico submáximo con respecto al basal.

Parámetros	Ccamu-Maca	Camu camu	Maca	Control
% VO _{2máx} *	122.6± 4.1 a	107.5±3.9	133.5±12.6 a	102.3±3.7
<i>p</i>	0.002	0.31	0.001	0.25

Valor promedio ± Error estándar

T student: Comparado entre pares de cada grupo (Valor final con inicial)

*ANOVA **a** Bonferroni: con respecto al control.

Si se expresan los resultados como VO_{2máx} relativo (mL.kg⁻¹. min⁻¹), se obtienen resultados similares que con VO_{2max} (L.min⁻¹) absoluto, donde el grupo tratado con maca o el grupo tratado con maca-camu camu muestran un incremento significativo de la capacidad aeróbica.

En resumen, al aplicar la prueba *T Student* para datos pareados se comparó los valores finales con los iniciales de la prueba de esfuerzo físico, por cada grupo de tratamiento. En la Tabla 23 se presentan los valores de *p* obtenidos, destacándose los significativos con valores ($p < 0.05$), y que son diferentes al comparar con el grupo control usando la prueba ANOVA y Bonferroni. En estas pruebas se muestran que la maca y la mezcla de maca-camu camu incrementan significativamente el VO_{2máx} de la prueba de esfuerzo físico submáximo, y en el Anexo 6 se muestran las gráficas de la frecuencia cardiaca

submáxima y el $VO_{2\text{máx}}$ calculado por grupos, comparado con la gráfica estándar calculada en el Nomograma de Astrand.

IV.10 Antioxidantes evaluados en el ensayo

Para conocer el efecto de los nutraceuticos consumidos en el ensayo sobre los antioxidantes presentes en los hematíes, se utilizaron como marcadores las enzimas: Superóxido dismutasa (SOD), Catalasa (Cat), y la molécula antioxidante en suero: Óxido nítrico (NO).

En la Tabla 24, el valor basal obtenido antes del consumo de los nutraceuticos muestra diferencia de SOD entre el grupo Camu camu y el control, que fue controlado luego en el análisis de regresión lineal. Las variaciones se encuentran dentro del rango normal en cada uno de ellos. En el caso del basal de la catalasa ($p=0.097$) y el óxido nítrico ($p=0.15$) no hay diferencias significativas.

Tabla 24. Basales de antioxidantes evaluados.

Parámetros	CcamuMaca X ± EE	Camu camu X ± EE	Maca X ± EE	Control X ± EE	*p
SOD (U/g Hb)	1267.3 65.6	1438.2 36.3**	1158.8 42.4	1149.7+ 63.5	0.0007
Catalasa (K/g Hb)	293.2 19.0	312.3 17.8	253.1 15.4	303.1 15.1	0.097
Óxido Nítrico(uM)	46.2 2.2	47.5 2.4	53.9 2.9	46.2 3.1	0.15

*ANOVA Test

**Bonferroni $p 0.002$ comparado con grupo control

Cuando se compara el porcentaje de cambio final con el valor inicial, de los marcadores de actividad antioxidante con relación al grupo Control, SOD se incrementa significativamente en el grupo Camu camu-Maca y en el grupo Maca.

La catalasa se incrementa en los tres grupos que consumieron los nutraceuticos, sin diferencia estadística con el grupo Control. El % de NO se incrementa en los grupos con camu camu y camu camu-maca significativamente (Tabla 25).

Tabla 25. Enzimas antioxidantes en porcentaje de cambio respecto al basal.

Parámetros	Ccamu-Maca	Camu Camu	Maca	Control
% SOD ± EE *	148.3 ± 8.5 a	97.7 ± 7.4	114.5 ± 6.2	103.6 ± 6.8
<i>p</i>	0.0001	0.31	0.02	0.7
% Catalasa ± EE	123.6 ± 15.9	116.1 ± 15.5	125.7 ± 14.6	106.7 ± 17.4
<i>P</i>	0.006	0.042	0.002	0.63
% NO ± EE *	127.14 ± 8.37a	128.4 ± 10.2a	111.06 ± 2.7	97.9 ± 5.0
<i>p</i>	0.04	0.01	0.41	0.43

p T Student: Comparado entre pares de cada grupo (Valor final con inicial)

*ANOVA: **a** Bonferroni: con respecto al control.

Los resultados de los valores iniciales y finales de SOD muestran variación significativa en los grupos que consumieron camu camu-maca y maca (Figura 10).

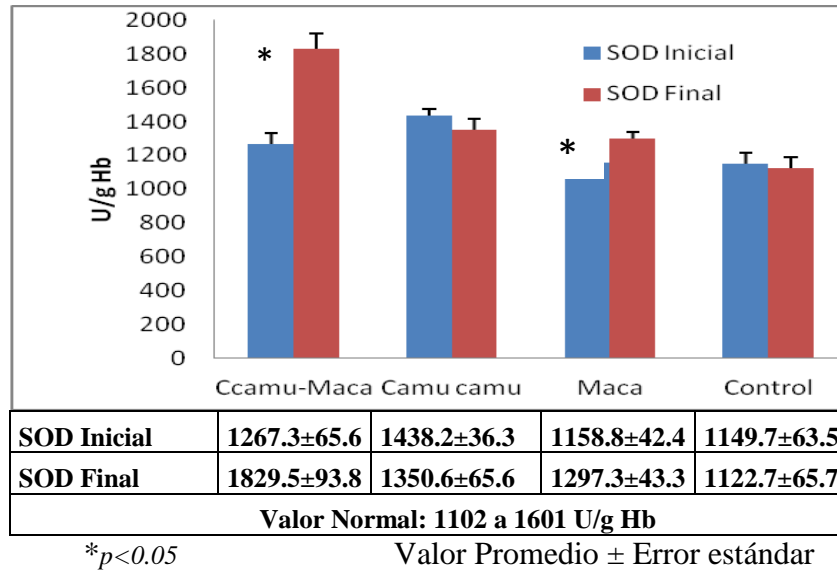


Figura 10. Superóxido dismutasa eritrocitaria (SOD) inicial y final por grupo de tratamiento.

De manera similar, los resultados como deltas de SOD (valor final menos basal) muestran que el grupo tratado con camu camu-maca tuvo mayor incremento que el grupo con maca, aunque ambos son significativos, ($p < 0.05$). El grupo tratado con camu camu no mostró dicho incremento (Figura 11).

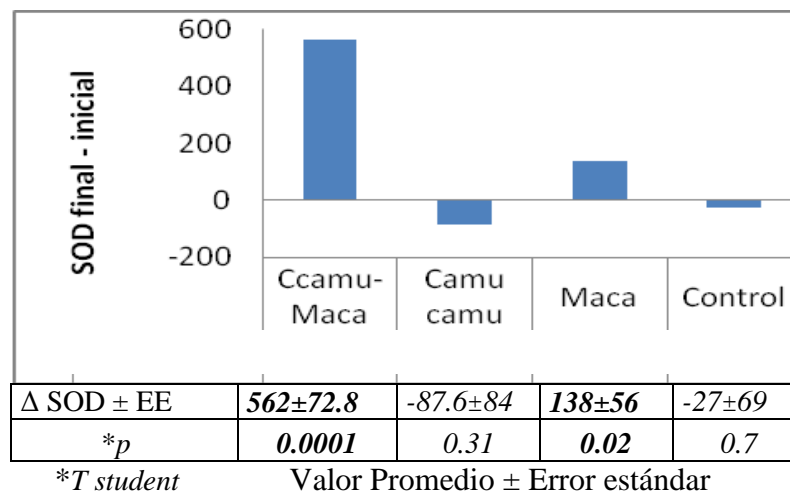


Figura 11. Delta de SOD (final – inicial)

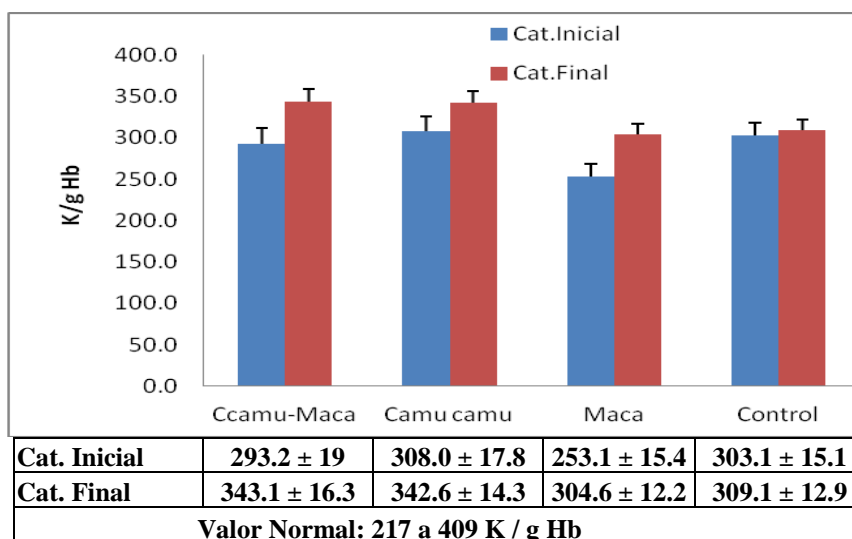
Tabla 26. Delta de SOD controlado por valor basal.

	Coefficiente	SE	<i>p</i>	I C 95%	
Control	Ref				
Ccamu-Maca	653.67	94.19	0.000	466.03	841.31
Camu camu	97.50	101.21	0.338	-104.12	299.12
Maca	170.44	92.73	0.070	-14.31	355.18
SOD Inicial	.45192	0.14053	0.000	.17196	.73189
Constante (Control)	603.14	174.36	0.001	255.78	950.49

Modelo de Regresión Lineal

El análisis multivariado confirma lo anterior donde muestra que el delta de SOD aumenta significativamente en el grupo tratado con camu camu-maca ($p=0.000$) y tangencialmente con la maca ($p=0.07$) (Tabla 26).

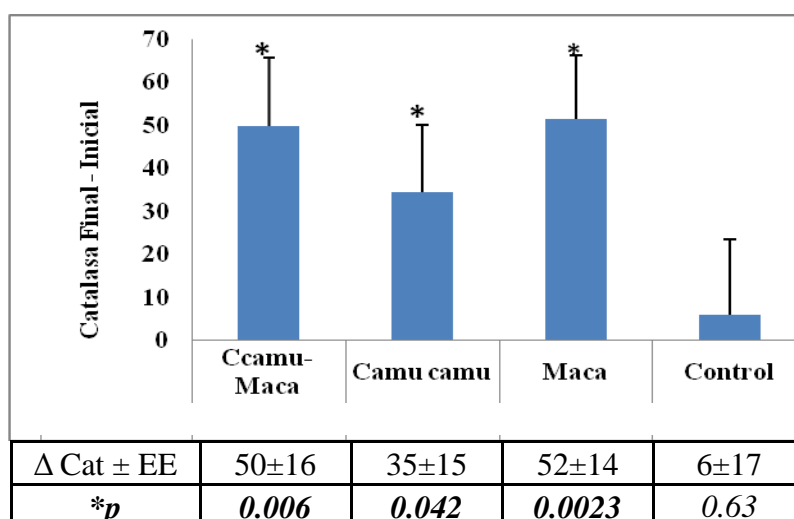
Los resultados de catalasa al final del tratamiento muestran incremento en los tres grupos que consumieron los nutraceuticos solos o combinados. Los valores de las medias se encuentran dentro del rango normal y el grupo control no modificó el nivel de catalasa luego de 42 días de ingesta de placebo (Figura 12).



* $p < 0.05$ Valor Promedio ± Error estándar

Figura 12. Catalasa inicial y final por grupo

La Figura 13 muestra el delta de catalasa (final menos basal) observándose que el grupo tratado con maca y el tratado con camu camu-maca muestran un incremento significativo. El incremento en el grupo camu camu es un poco menor y los tres con significancia estadística al compararse cada grupo. El ANOVA muestra diferencia de los tres grupos, con respecto al grupo control ($p < 0.05$).



* $p < 0.05$

Figura 13. Delta de catalasa (final – inicial)

La evaluación inicial y final de óxido nítrico en los grupos tratados con camu camu-maca y con camu camu presentan incremento significativo; en cambio los grupos maca y control no se observan cambios al final del ensayo.

Figura 14.

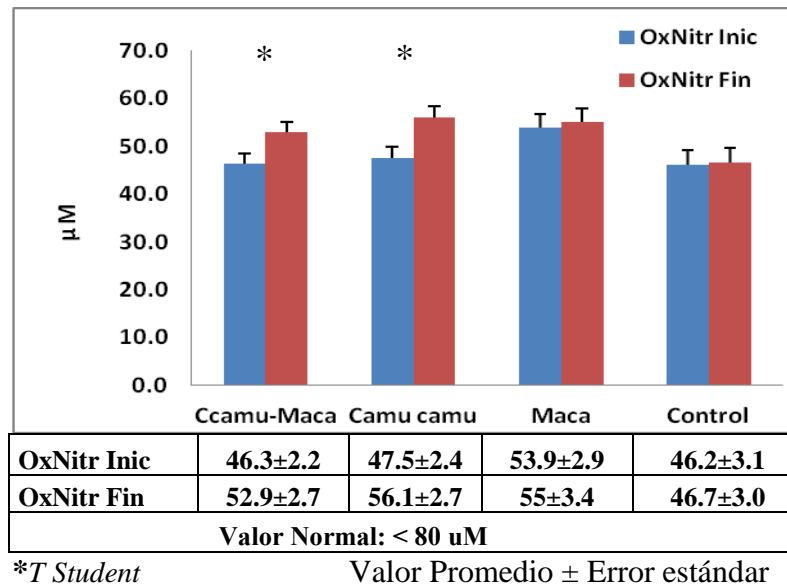
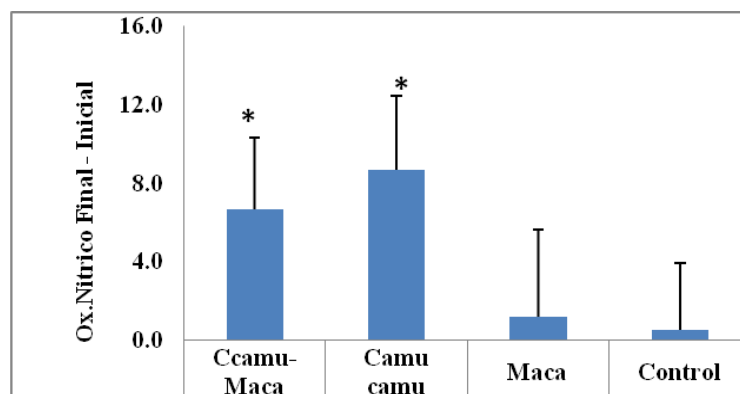


Figura 14. Óxido nítrico inicial y final por grupo

Esto se confirma en la Figura 15 donde se muestra los deltas de NO (final menos basal) donde el grupo camu camu tiene mayor incremento seguido del grupo camu camu-Maca con significancia estadística. El ANOVA también muestra diferencia significativa cuando se compara con el grupo control. ($p < 0.05$).



$\Delta \text{NO} \pm \text{EE}$	6.64±3.7	8.7±3.8	1.2±4.4	0.5±3.4
<i>p</i>	0.04	0.01	0.41	0.43

* $p < 0.05$

Valor Promedio \pm Error estándar

Figura 15. Delta de Óxido Nítrico final – inicial.

IV.11 Prueba de memoria auditiva.

La prueba inicial del Test de memoria auditiva del Rey (Auditory verbal learning test-spanish RAVLT-S), muestra en todos los grupos valores similares mostrando que los grupos son homogéneos en la prueba (Tabla 27).

Tabla 27. Basales de prueba de memoria por grupo.

Parámetros	Ccamu-Maca		Camu camu		Maca		Control		* <i>p</i>
	X	± EE	X	± EE	X	± EE	X	± EE	
P.M. N° Palabras	13.3	0.3	13.4	0.5	12.4	0.5	13.1	0.4	0.36
P.M. N° Ensayos	9.6	0.2	9.6	0.2	9.8	0.2	9.6	0.2	0.87
N° Pal. / N° Ens.	1.42	0.1	1.4	0.1	1.29	0.1	1.39	0.1	0.62

* *AnovaTest*

Valor promedio \pm Error estándar.

Cuando se calcula el porcentaje de cambio de cada aspecto de la prueba, N° de palabras y N° de ensayos, comparando con el grupo control, se observa que el grupo tratado con maca tiene mejor desempeño en el % de N° de palabras que los demás grupos, y es significativo estadísticamente.

Con respecto al N° de ensayos, el grupo tratado con camu camu presenta mejor desempeño al requerir menor N° de ensayos para recordar las 15 palabras de la prueba, y cuando se calcula la relación entre N° de palabras vs N° de ensayos, se encuentra que el grupo que consumió camu camu-maca, presenta mayor relación (Tabla 28).

Tabla 28. Memoria auditiva en jóvenes luego de ingesta por 42 días de nutraceuticos y placebo.

Parámetro	Ccamu-maca	Camu camu	Maca	Control
% N° palabras recordadas *	108.8±1.51	109.1±3.3	112.6±3.2 a	105±1.71
% N° de ensayos *	86.3±5	85.72±4.1a	90.2±3.7	95.99±2.3
% N° palabras/ n° ensayos *	147.3±16.6 a	139.3±9.5 a	132.7±9.5 a	115.3±4.4

Valor promedio ± Error estándar.

* ANOVA **a Bonferroni**: con respecto al grupo control que consumió placebo.

IV.11.1 Prueba de memoria auditiva: N° de palabras

El resultado de la prueba se expresa en dos parámetros, el N° total de palabras que recordaban al final de la prueba y el N° de ensayos. Esto se determinó individualmente.

En la Figura 16 se observa que todos los grupos incrementan al final de los 42 días de la ingesta, el N° de palabras que recuerdan, pero con mayor significancia ($p < 0.001$) en los grupos que recibieron maca y en los que recibieron la mezcla camu camu-maca.

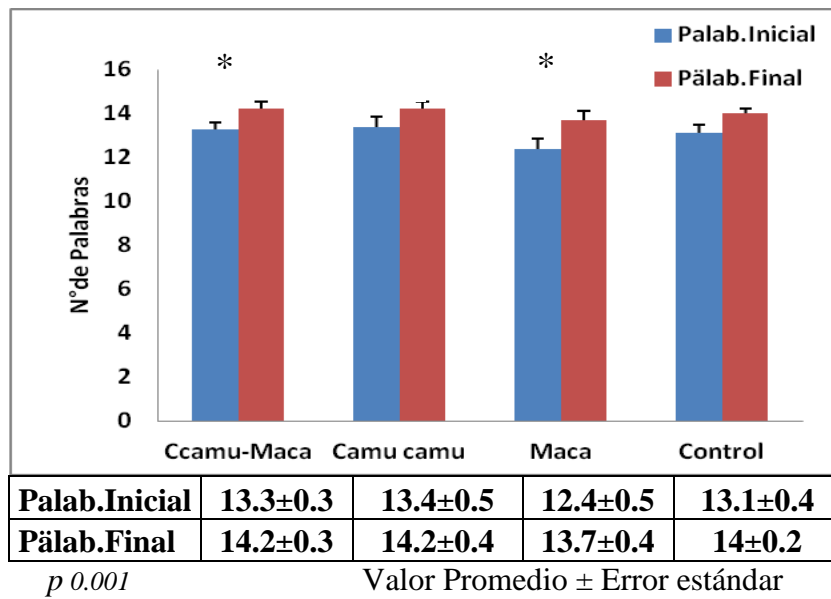


Figura 16. Número de palabras al inicio y final de la prueba de memoria auditiva en jóvenes que recibieron 42 días camu camu-maca, camu camu, maca y placebo.

IV.11.1.1 Delta de N° de palabras (final-inicial)

Cuando se grafica el delta de N° de palabras (final menos basal) se puede observar que el grupo tratado con maca y el de camu camu-maca tuvieron un incremento significativo (Figura 17).

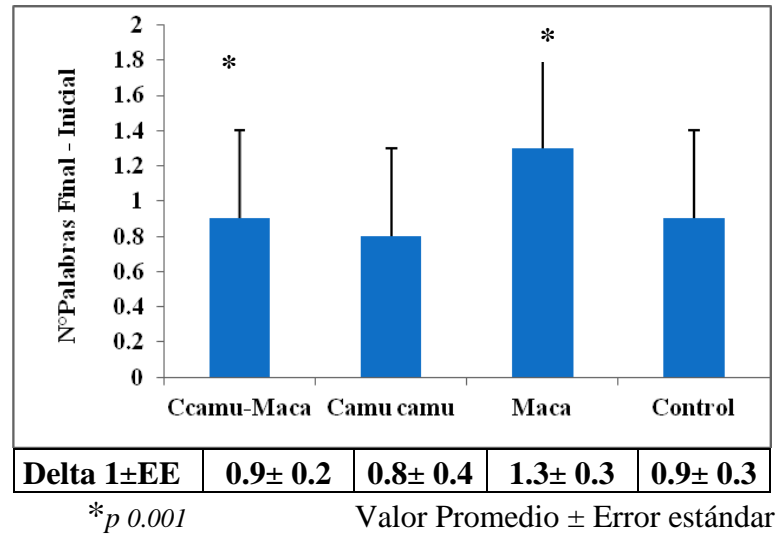


Figura 17. Delta de N° palabras (Final - Inicial) en prueba de memoria auditiva en jóvenes que recibieron 42 días, camu camu-maca, camu camu, maca y placebo.

IV.11.2 Prueba de memoria auditiva: N° de ensayos

El otro parámetro de la prueba está constituido por el N° de ensayos que se requería para recordar las palabras. El valor máximo era de 10 ensayos; los resultados finales muestran la disminución del N° de ensayos en los 4 grupos, y en los que tomaron los nutraceuticos la diferencia fue significativa (Fig. 18).

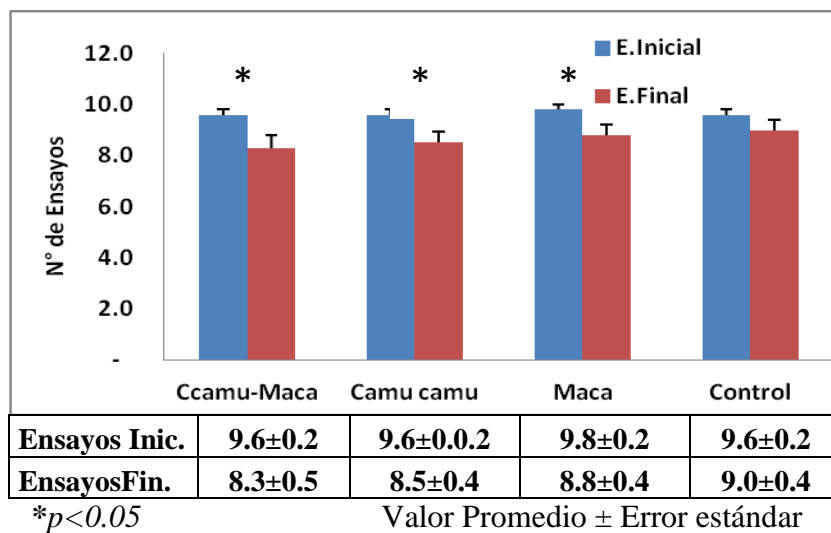
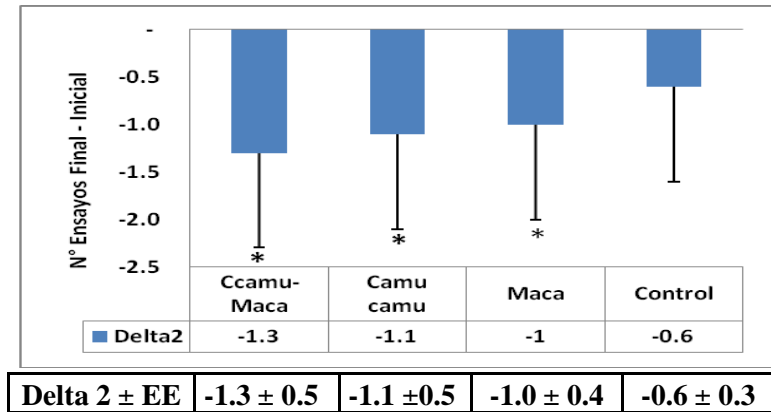


Figura 18. Número de ensayos al inicio y al final de la prueba de memoria auditiva en jóvenes que recibieron 42 días camu camu-maca, camu camu, maca y placebo

IV.11.2.1 Delta de N° de ensayos final – inicial

Cuando se grafica el delta del N° de ensayos (final menos basal) se observa que el grupo tratado con camu camu-maca utiliza menor número de ensayos al término de la prueba, luego el grupo camu camu y maca (Figura 19).



* $p < 0.05$ Valor Promedio ± Error estándar
Figura 19. Delta de N° de ensayos (Final menos Inicial)

4.11.3 Prueba de memoria auditiva: N° palabras / N° ensayos

Para relacionar ambos aspectos del Test de memoria auditiva, se obtuvo una razón entre N° de palabras y N° de ensayos, encontrando en el resultado que todos los grupos incrementaron significativamente (Figura 20).

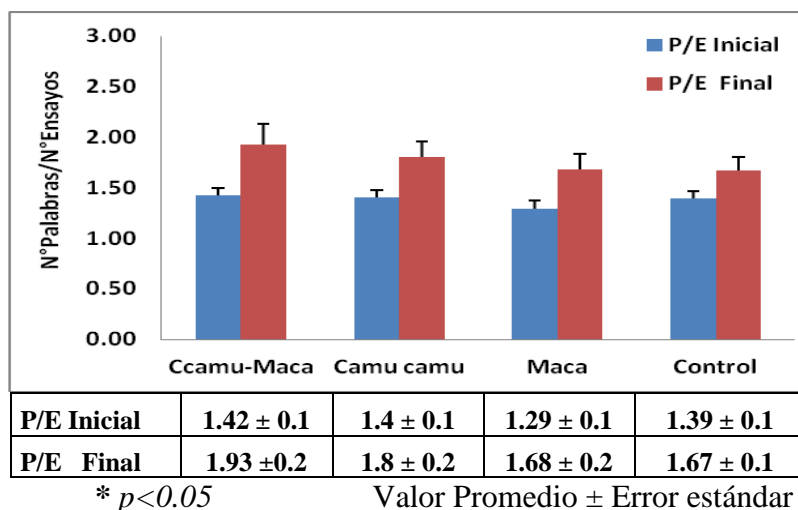


Figura 20. Relación entre N° de palabras / N° ensayos por grupo.

4.11.3.1. Delta de la relación N° de Palabras / N° de Ensayos

Cuando se obtiene el delta (final menos basal) de la relación: N° de palabras / N° de ensayos, se observa que el grupo camu camu- maca presenta el mayor incremento, y que los grupos camu camu y maca, tienen valores similares y un poco menores (Figura 21).

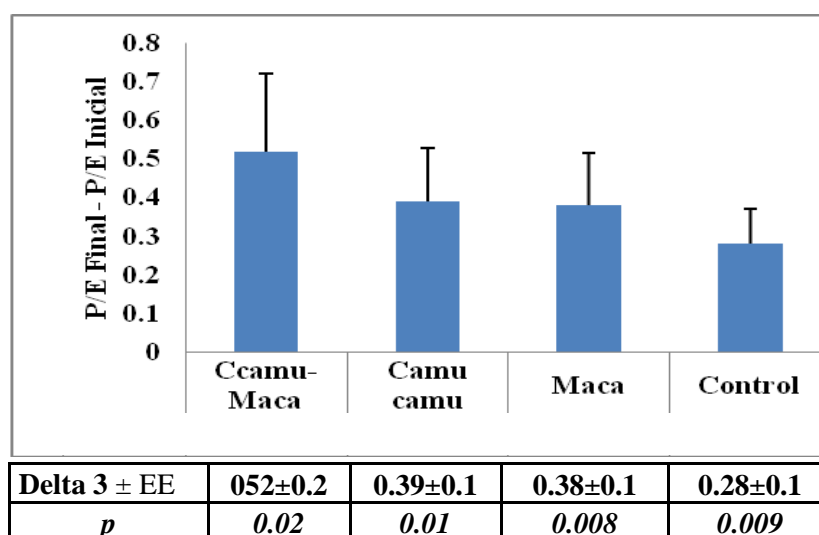


Figura 21. Delta de la relación: N° de palabras / N° de ensayos final menos inicial por grupos de tratamiento

IV.12 Efecto del tratamiento con maca y camu camu solos o combinado frente al placebo luego de controlar la actividad antioxidante

Para determinar si el efecto del tratamiento en la percepción del estado de salud, presión sistólica, rendimiento físico y memoria es independiente del efecto sobre la actividad antioxidante se ha desarrollado un análisis de regresión múltiple.

De acuerdo a los resultados del análisis realizado previa corrección de Holm Bonferroni, se muestra que la ingesta de maca actúa sobre la percepción del estado de salud ($p 0.025$).

La ingesta del camu camu está relacionada con la disminución de la presión sistólica ($p 0.01$) y esta reducción también es observada con el combinado maca-camu camu (Tabla 29).

Los antioxidantes superóxido dismutasa, catalasa, y óxido nítrico no se observó relación sobre estas variables, luego del tratamiento con maca o camu camu solos o combinados.

TABLA 29. Regresión múltiple entre variables percepción del estado de salud y presión sistólica con antioxidantes y por grupos de tratamiento.

Variable dependiente	Variable independiente	Coeficiente de Regresión $\beta \pm EE$		P	I.C. 95%	
% Cuest. de Salud	% SOD	-0.02	.060	0.976	-1.19	0.123
	Ccamu-maca	7.00	5.15	0.179	-3.19	17.30
	Camu camu	-2.00	4.06	0.624	-10.1	6.11
	Maca	8.38	4.15	0.048	.087	16.67
	Constante	101.6	6.71	0.000	88.25	115.09
% Cuest. de Salud	% catalasa	-.052	.052	0.322	-.157	.0523
	Ccamu – maca	9.77	4.37	0.029	1.051	18.50
	Camu camu	.60	4.05	0.882	-7.49	8.70
	Maca	10.8	4.17	0.012*	2.48	19.1
	Constante	105.8	6.04	0.000	93.7	117.9
% Cuest. de Salud	% Óxido Nitríco	0.030	0.037	0.419	-.044	.104
	Ccamu-maca	7.93	4.69	0.096	-1.46	17.3
	Camu camu	-.413	4.40	0.925	-9.22	8.39
	Maca	9.50	4.37	0.034	.759	18.2
	Constante	97.80	4.77	0.00	88.2	107.3
% Presión Sistólica	% SOD	-.023	.038	0.543	-.099	1.98
	Ccamu-maca	-4.51	3.26	0.171	-11.0	1.98
	Camu camu	-6.62	2.82	0.022*	-12.2	-.98
	Maca	-3.41	2.81	0.229	-9.02	2.19
	Constante	104.4	4.40	0.000	95.7	113.2
% Presión Sistólica	% catalasa	.004	.033	0.885	-.061	.071
	Ccamu - maca	-6.08	2.84	0.036	-11.7	-.40
	Camu camu	-6.21	2.81	0.030	-11.8	-.61
	Maca	-4.20	2.86	0.146	-9.91	1.49
	Constante	102.0	4.06	0.000	93.92	110.1
% Presión Sistólica	% Óxido Nitríco	0.049	0.023	0.041	0.001	.097
	Ccamu-maca	-9.23	2.90	0.002*	-15.03	-3.44
	Camu camu	-7.70	2.87	0.009*	-13.44	-1.96
	Maca	-5.22	2.83	0.070	-10.88	.435
	Constante	98.45	3.07	0.000	92.31	113.5

*Corrección Holm – Bonferroni: I.C. Intervalo de Confianza

En relación a los nutraceuticos, se observa que el tratamiento con maca tuvo un efecto de mejorar el rendimiento físico (p 0.015) lo cual no fue observado con placebo, camu camu y maca - camu camu.

En relación a la prueba de memoria auditiva evaluada por el porcentaje de cambio en la relación N° de palabras / N° de ensayos; el grupo que consume

camu camu-maca presenta una relación positiva ($p < 0.01$). Todos actuarían aparentemente de manera independiente a un efecto antioxidante. Tabla 30

TABLA 30. Regresión múltiple entre variables de rendimiento físico ($VO_{2máx}$), memoria auditiva con antioxidantes y por grupo de tratamiento

Variable dependiente	Variable independiente	Coeficiente de Regresión $\beta \pm EE$		p	I.C. 95%	
% $VO_{2máx}$	% SOD	.059	.132	0.655	-.204	.323
	Ccamu-maca	17.2	11.9	0.154	-6.63	41.1
	Camu camu	5.24	9.88	0.598	-14.5	25.0
	Maca	30.4	10.3	0.005*	9.80	1.1
	Constante	96.3	15.0	0.000	66.2	126.5
% $VO_{2máx}$	% catalasa	.129	.116	0.272	-.103	.361
	Ccamu-maca	17.4	10.0	0.087	-2.59	37.5
	Camu camu	3.91	9.64	0.687	-15.3	23.2
	Maca	28.5	10.3	0.008*	7.89	49.1
	Constante	88.67	14.1	0.000	60.3	7.0
% $VO_{2máx}$	% Óxido Nítrico	.020	.083	0.810	-.146	.186
	Ccamu-maca	18.6	10.8	0.091	-3.07	40.3
	Camu camu	3.25	10.6	0.760	-18.0	24.5
	Maca	31.8	10.8	0.005*	10.0	53.6
	Constante	102.4	11.2	0.000	79.8	124.9
% Pal/ Ens	% SOD	-.460	.213	0.035	-.885	-.034
	Ccamu-maca	51.8	18.7	0.007*	14.4	89.3
	Camu camu	23.9	16.6	0.155	-9.28	57.2
	Maca	22.9	16.1	0.160	-9.29	55.2
	Constante	163.49	24.6	0.000	114.2	212.6
% Pal/ Ens	% catalasa	.179	.188	0.343	-.195	.555
	Ccamu-maca	28.8	16.4	0.085	-4.04	61.8
	Camu camu	22.6	16.4	0.175	-10.3	55.5
	Maca	13.6	16.3	0.407	-49.0	46.4
	Constante	96.12	2.9	0.000	50.3	141.9
% Pal/ Ens	% Óxido Nítrico	-.199	.132	0.137	-.465	.065
	Ccamu-maca	42.4	16.5	0.013*	9.42	75.4
	Camu camu	31.5	16.5	0.061	-1.48	64.5
	Maca	13.3	16.1	0.414	-19.0	45.5
	Constante	133.5	17.0	0.000	99.4	167.6

*Corrección Holm – Bonferroni:

I. C. Intervalo de confianza.

V. DISCUSION

El presente es un ensayo clínico realizado en individuos aparentemente saludables, en el cual se evalúa la aceptabilidad y los efectos de consumir pulpa de camu camu y extracto hidroalcohólico de maca negra atomizados, solos o combinados durante 42 días, controlados por placebo. También se evaluó la salud de los jóvenes que consumieron los productos, registrándose parámetros fisiológicos generales; asimismo, se determinaron marcadores metabólicos de función hepática, renal, nutricional, hormonal, así como, el efecto de la ingesta en el esfuerzo físico sub máximo, la actividad antioxidante y la memoria auditiva.

V.1 Aceptabilidad

La maca negra y el camu camu solos o combinados tuvieron una alta aceptabilidad y no hubo deserción durante la toma en los diferentes grupos, lo cual es adecuado si consideramos que la muestra de jóvenes voluntarios procede de una población de la amazonia que no tiene acceso, ni el hábito de consumo de maca, una planta alto andina y camu camu se consume en estado natural y fresco, no atomizado, forma en que se administraron los nutraceuticos.

La maca que se caracteriza por su olor y sabor especial (*sui generis*) que parece deberse a los glucosinolatos y los productos de su hidrólisis, los isotiocianatos presentes en todas las brassicaceas,¹⁸² hace importante la evaluación de su aceptabilidad en particular dado que los isotiocianatos y los

metabolitos más pequeños de estos estarían asociados con los beneficios en la salud.¹⁸³

En la actualidad debido a sus propiedades en la salud es cada vez más frecuente el uso de brasicaceas para enriquecer nutricionalmente otros alimentos;¹⁸⁴ igualmente, en nuestro país, la maca otra brasicacea, se constituye en una fuente nutricional importante y valorada por su impacto en la salud.

El tener estas presentaciones de maca y camu camu un alto grado de aceptabilidad, las hace promisorias para su mayor difusión y consumo, tanto por poblaciones habituadas a su uso como las alto andinas para el caso de la maca y las amazónicas para el camu camu, así como para poblaciones no habituadas a ellas, y pueden ser una buena opción para desarrollar nuevos productos como suplementos, que fácilmente entrarían en el mercado internacional no acostumbrados al sabor de la maca y del camu camu.

V.2 Encuesta de Salud

El consumo de los productos de extractos de maca y camu camu durante 42 días mejoraron significativamente el puntaje de percepción de salud. Es importante destacar que a pesar de que tanto el camu camu como la maca han mostrado mejorar la actividad de las enzimas antioxidantes, pero solo la maca mejora el puntaje de estado de salud de su valor basal. Ello sugiere, que el efecto de la maca negra en la mejora en la percepción del estado de salud se debería a otros componentes de la maca y que no están presentes en el camu camu por ejemplo, macamidas, glucosinolatos y otros. Igualmente, nuestros

resultados demostrarían que el efecto de la maca en la percepción de estado de salud no se debe a los antioxidantes, tal como ha sido demostrado en el análisis multivariado.

La encuesta de percepción de salud utilizada, SF-20 ha sido validada en el Perú en un estudio realizado en el 2010⁴⁵. En dicho estudio usando la misma prueba que en el presente ensayo se muestra que la población en Carhuamayo, Junin que usa maca y que vive a 4100 m sobre el nivel del mar tiene mayor puntaje de estado de salud, que aquellos que no consumen maca.

En nuestro ensayo, los valores de puntaje de salud son relativamente mayores que los referidos en el anterior estudio debido a que los participantes eran jóvenes de 18 a 25 años, en tanto que en el estudio en Carhuamayo fue orientado a personas entre 35 y 75 años de edad. Se sabe que la percepción de estado de salud disminuye con la edad⁴²

El cuestionario SF20 se basa de una prueba de 36 preguntas (SF-36), que es una versión española. En un estudio realizado para obtener valores de referencia española los valores medio son de 86.12 para puntaje de percepción de salud en jóvenes de 18 a 24 años, valor ligeramente superior a los encontrados en este ensayo.¹⁷⁸ Es posible que la población española tenga un mejor nivel socioeconómico, con condiciones sanitarias más favorables que la población de la amazonía.

El hallazgo de un efecto favorable en la percepción de salud (calidad de vida relacionada con la salud) con extractos atomizados de maca negra es importante, porque no todos los suplementos alimenticios logran este efecto. Así, en un estudio doble ciego, al azar, controlado por placebo para investigar el efecto de una dosis nutricional de vitaminas, antioxidantes y minerales en la calidad de vida relacionada con la salud a través de los cuestionarios HRQoL (SF36 y GHQ12), no mostraron efecto favorable comparado con placebo.¹⁸⁵

En nuestro ensayo se evaluó la percepción de salud de los jóvenes obteniéndose mayores puntajes al final del tratamiento comparados con los valores basales, en los grupos que consumieron maca y camu camu-maca. Igualmente fueron significativamente diferentes comparados con el grupo control. El grupo tratado con camu camu muestra valores similares al grupo control, por lo cual se descarta un efecto del camu camu en esta variable estudiada.

V.3 Efectos adversos

El estudio muestra que el consumo de la maca negra y el camu camu en las formas administradas no resultan ser tóxicas ni muestran efectos adversos. Ello nos permite considerar que el consumo de 3 gramos diarios de extracto de maca negra y pulpa de camu camu atomizados solos o combinados por 42 días no presenta ningún riesgo para la salud, conforme era esperado.

Estos resultados en humanos concuerdan con lo observado en estudios experimentales en animales de laboratorio.¹²⁷⁻¹²⁹

En la presente investigación se utilizó una dosis de 3 gramos de extracto hidroalcohólico de maca negra atomizado y 3 gramos de pulpa de camu camu atomizado solos y combinados, lo que corresponde a dosis por debajo de los valores de LD₅₀ ensayados con ratas y ratones.^{128,129} Un estudio previo en hombres adultos aparentemente sanos en quienes se administró maca gelatinizada en dosis de 3 gramos diarios por 4 meses no reportó efectos adversos.³⁹ En el presente ensayo se ha usado un extracto hidroalcohólico que es una forma más concentrada que la maca gelatinizada demostrándose igualmente la carencia de efectos adversos.

Esta dosis de tres gramos de extracto hidroalcohólico de maca se ha considerado adecuada de acuerdo a los experimentos realizados previamente en animales de experimentación¹²² y se ha extrapolado de acuerdo a la fórmula de Reagan & Shaw¹⁷⁶ a la dosis para humanos, que considera el área de superficie corporal que es un valor que correlaciona más con la tasa metabólica, que simplemente el peso corporal.

Con respecto al camu camu, si bien es cierto que la dosis representa el doble de la cantidad recomendada por DRIs (Dietary Reference Intakes)⁷² para el consumo diario de las personas, se ha probado una mayor dosis para confirmar la seguridad de su consumo y el efecto de la misma en los marcadores

metabólicos. En este caso se trata de un producto que contiene alta concentración de ácido ascórbico pero de una fuente natural junto con otros componentes también bioactivos que son asimilados por el organismo, y que le otorgan un mayor valor agregado al camu camu frente al uso de ácido ascórbico sintético que se comercializa en las farmacias.

Entre estos componentes del camu camu destacan quercetina, derivados de kaempferol, entre las antocianinas están la cianidina-3-glucósido, delphinidina-3-glucósido y derivados del ácido elágico, carotenoides, metil malato, entre otros.^{16,18,19,184-186}

V.4. Parámetros fisiológicos

Es necesario destacar, la disminución significativa de la presión arterial sistólica en el grupo tratado con camu camu y el tratado con camu camu-maca, con respecto al placebo. Es de destacar que esta disminución ocurre manteniéndose la presión arterial dentro del rango fisiológico. El efecto del camu camu de disminuir significativamente la presión arterial sistólica es benéfico, porque el incremento de la presión sanguínea es un factor de riesgo para la salud que se relaciona con graves procesos de morbilidad y mortalidad.¹⁸⁷ El mantener valores normales bajos de la PAS tiene un efecto benéfico con el transcurso de los años.¹⁸⁸

El hallazgo es importante pues no existen evidencias previas de un reporte que manifieste el efecto del camu camu sobre la presión arterial.⁵³

En consumidores tradicionales de maca de Junín⁴⁵ se ha observado un menor valor de la presión arterial sistólica en las personas que consumen maca que en aquellas que no consumen. Esta población es de mayor edad (35-75 años) que la de nuestro estudio en jóvenes de la Amazonía. Igual efecto se ha observado en mujeres post-menopáusicas.⁴⁴ Se podría sugerir que la maca tiene mejor efecto sobre la presión arterial a mayor edad.

En otro estudio, en varones adultos sanos de 21 a 56 años tratados por 3 meses con maca gelatinizada en dosis de 1.5-3.0 gramos/día¹²³ se observó una disminución de la presión arterial tanto sistólica como diastólica. Esta disminución en la presión arterial podría tener relación con el alto contenido de potasio en los hipocótilos de maca, suplementando de manera constante el requerimiento diario de la persona.

Valentová⁷⁸ por el contrario encontró que la presión arterial diastólica se incrementó levemente en un grupo particular de mujeres con síndrome metabólico tratadas con 0.6 g/día de maca por 3 meses. Nadie ha replicado este resultado hasta la fecha.

También estudios *in vitro* han mostrado que la maca posee actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina I (ACE).⁹⁶ Esta enzima es encargada de convertir angiotensina I a II y con ello aumentar la presión arterial. Estos datos indicarían que la maca podría disminuir la presión arterial

por más de un mecanismo: primero a través del potasio y segundo inhibiendo la formación de angiotensina II.

Este efecto de la maca no se ha podido observar en el caso de jóvenes saludables (18-25 años), pero es interesante notar que el camu camu sin llegar a alterar este parámetro fuera del rango fisiológico, muestra la tendencia a disminuir la presión arterial sistólica, y que cuando el consumo es de ambos productos, maca y camu camu el efecto se puede observar en una mayor disminución de la presión arterial sistólica, mostrando claramente que existe un efecto diferente de ambos productos sobre la presión arterial sistólica.

En nuestro ensayo se ha mostrado una elevación de óxido nítrico (NO) en suero en sujetos que reciben camu camu. El óxido nítrico es el mayor vasodilatador presente en la naturaleza y su función es reducir la presión arterial.¹⁸⁹ Sin embargo, el análisis de regresión múltiple muestra que el efecto del camu camu sobre la presión arterial fue independiente a la elevación del óxido nítrico en suero.

El ácido ascórbico mejora la función del óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) por reciclamiento del cofactor eNOS, tetrahidrobiopterina, el cual es relevante para la elasticidad arterial y la regulación de la presión sanguínea.¹⁹⁰. Una mayor actividad de la eNOS produciría mayor disponibilidad de óxido nítrico.

El ácido ascórbico mejora la vasodilatación del endotelio restaurando al menos parcialmente, la actividad de la vía L-arginina-NO.¹⁹¹ En ese sentido la presencia de ácido ascórbico en el camu camu la hace promisoría en el manejo de cuadros de hipertensión arterial que podrán ser demostrados en ensayos clínicos de fase II y de Fase III.

V.5 Marcadores metabólicos

La función hepática y la renal luego de 42 días de tratamiento con extractos de maca y camu camu solos o combinados se mantienen sin alteración. Estos resultados concuerdan con lo reportado⁴⁵ en una población que crónicamente consume maca, y por los publicados en un grupo de deportistas peruanos en la altura que consumieron maca fresca.³⁴

En resumen, nuestros resultados de función hepática son concordantes con lo observado por Gonzales,¹²³ Ronceros³⁴ y Castañeda,¹⁹² donde se encuentra que la maca no afecta la función hepática y renal en animales y en humanos, después de su consumo por días (15) y hasta meses (3 a más).

Asimismo, Akachi¹⁹ utilizando pulpa de camu camu de la amazonia demuestra actividad hepaprotectora frente a la acción de la D Galactosamina (GalN).

Los valores iniciales y finales de triglicéridos no tienen cambios significativos en ninguno de los grupos. El colesterol tampoco muestra cambios significativos, a pesar que disminuye ligeramente en los grupos tratados con camu camu y camu camu-maca, dentro de los valores normales, sin ser significativos cuando se compara con el grupo control (placebo).

Estudios experimentales muestran un efecto favorable de la maca sobre el perfil lipídico.^{35, 99} Por ello sería adecuado en base a nuestro ensayo en que la maca o camu camu no afectan los valores de lípidos en sujetos normales, estudiar sujetos que presenten dislipidemias para determinar la importancia de la administración del camu camu y maca solos y combinados en estos casos.

En el presente ensayo, se observa un incremento en las proteínas totales lo que confirmaría trabajos realizados en animales en los cuales la maca y el camu camu mejoran la calidad de nutrición de manera complementaria. La maca aportando proteína de calidad y el camu camu algunos minerales y vitaminas.²⁰

Se podría decir que este efecto se habría conseguido gracias a la dieta balanceada y suplementada con los nutraceuticos que los estudiantes tuvieron durante los 42 días en el comedor de la universidad, cuyo tenor de proteína diaria fluctuaba entre 60 a 80g diarios, supliendo el consumo requerido diario de cada uno de ellos. Dado que todos los participantes del estudio incluyendo el grupo placebo tuvo la misma dieta, es evidente el efecto de los nutraceuticos

que complementaron y mejoraron la calidad de su alimentación y que es significativamente diferente al comparar con el grupo control.

Los cambios observados en los grupos que consumieron maca, camu camu y camu camu-maca, finalmente contribuyen positivamente al estado de salud de los jóvenes, y podemos confirmar la hipótesis que estos productos mejoran la salud de los que lo consumen sin afectar negativamente los marcadores hepático, renal, lipídico, ni nutricional.

V.6 Actividad Hormonal.

La evaluación final muestra que la relación testosterona/estradiol en varones del grupo que recibe camu camu-maca tiene una disminución significativa; esto se produce porque en la mayoría de casos se incrementa el estradiol y por ende la razón disminuye; en los grupos de camu camu y maca, la disminución es menor y no significativa, siendo necesario indicar que estos valores se encuentran dentro del rango fisiológico.

En varios estudios clínicos realizados en hombres saludables de 25 a 43 años, con maca gelatinizada durante 12 ó 16 semanas, a dosis de 3000 mg/día, no se afectó ninguna de las hormonas estudiadas, por lo que se concluye que el tratamiento de maca no afectó los niveles de hormonas hipofisarias (LH, FSH, Prolactina); hormonas sexuales (Estradiol, Testosterona, 17OHProgesterona); y de la corteza suprarrenal (Cortisol, DHEA, DHEAS).^{40, 41, 193}

Por ello, el efecto observado en nuestro estudio se debería al camu camu, que muestra una disminución similar pero que al comparar con el control no resulta significativo por la mayor desviación estándar del grupo.

No tenemos antecedentes de este posible efecto del camu camu, por lo que sería recomendable realizar un estudio específico para confirmar lo observado.

Con respecto al cortisol se ha encontrado que en la evaluación final todos los grupos disminuyeron su valor promedio manteniéndose dentro del rango normal. La disminución en todos los grupos incluyendo el grupo control nos permite sugerir que el efecto no estaría necesariamente relacionado con los productos consumidos (maca o camu camu).

En un estudio donde se compara el consumo de sucrosa con el consumo de aspartamo, se observa que el consumo de sucrosa estaba asociado con una disminución del Cortisol inducido por estrés.¹⁹⁴

Los nutracéuticos ingeridos en este estudio contenían maltodextrina al igual que el grupo control, lo que podría estar relacionado con el resultado observado en todos los grupos de estudio.

La hormona Triyodotironina T3 no se modifica significativamente comparado con el grupo control, y las variaciones de los valores están dentro

del rango normal, por lo que la ingesta de los nutracéuticos no produce cambios significativos.

Estas variaciones descritas en el párrafo anterior son factibles cuando se realizan estudios longitudinales. En efecto, en estudios de seguimiento de un mismo individuo por 12 meses se observan variaciones individuales.¹⁹⁵

V.7 Prueba de esfuerzo físico submáximo

En relación al rendimiento físico se demuestra que el grupo tratado con extracto hidroalcohólico de maca negra tiene un incremento significativo con respecto al placebo, lo cual se confirma con los resultados encontrados en futbolistas profesionales.³⁴ En dicho estudio se evaluó el efecto de la maca fresca en el rendimiento físico de 10 deportistas en la altura, donde el consumo máximo de oxígeno basal ($VO_{2m\acute{a}x}$), se incrementó por efecto del tratamiento con maca.

Igualmente, en Inglaterra se observó que 8 ciclistas recorrieron los 40 km de una prueba física más rápido luego de las 2 semanas de suplementación con extracto de maca, y no hubo mejoría significativa en el grupo placebo.⁴⁶

Debemos considerar que los valores calculados son estimaciones indirectas que se realizaron a través de la prueba de esfuerzo físico submáximo, pero que permiten comparar y observar las diferencias entre los valores iniciales y finales después del consumo de los nutraceuticos.

Los reportes de la administración oral del extracto de maca incrementando el rendimiento físico en animales¹¹⁴ y en personas,^{34, 46} así como este estudio confirman que la maca contribuye efectivamente a mejorar el rendimiento físico. De acuerdo al análisis multivariado, este efecto no correlaciona con la actividad de las enzimas antioxidantes.

Existen reportes en la literatura sobre el efecto energizante de otras plantas como el Ginseng, aunque hay resultados contradictorios, incluyendo uno donde no observa ningún efecto energizante de la planta asiática.¹⁹⁶⁻¹⁹⁸

En nuestro estudio realizado con jóvenes activos físicamente, se ha encontrado la mejoría significativa en el desempeño físico de los grupos que consumieron maca y camu camu-maca, con respecto al grupo control (placebo) y donde se considera que es efecto de la maca la que contribuye a este incremento, debido a que en el grupo camu camu solo, no se observa diferencia.

V.8 Antioxidantes.

El camu camu tiene una importante actividad antioxidante, y se considera que es debido a su alta concentración de ácido ascórbico. Sin embargo, en estudios comparando tratamientos con las mismas dosis de ácido ascórbico, se encuentra que el camu camu tiene mejor actividad antioxidante que el ácido ascórbico sintético,^{55,71,183} por lo que *per se* tiene un mayor valor agregado que tomar solo ácido ascórbico.

Asimismo, Inoue y col.² que evaluaron *in vivo* en 20 hombres fumadores con estrés oxidativo acelerado, la actividad antioxidativa del camu camu como fuente natural de ácido ascórbico, encontraron que los marcadores de estrés oxidativo y de inflamación disminuyeron después de tomar diariamente 70 mL de jugo de camu camu equivalente a 1050 mg de vitamina C, cambios que no se observaron en el grupo que ingirió tabletas de vitamina C.

El camu camu contiene otras sustancias antioxidantes además de la vitamina C (ácido ascórbico), tiene antocianinas, polifenoles, carotenoides, como antioxidantes potenciales.^{13,14,16} Además puede haber otros componentes desconocidos actuando como sustancias antioxidantes y/o antiinflamatorias.

El aumento de la actividad de SOD observado en nuestro estudio por efecto del tratamiento con los nutraceuticos evaluados se debe considerar como efecto positivo debido a que el incremento de la actividad de SOD puede responder a requerimientos fisiológicos que producen mayor formación de superóxido producto de la autoxidación de la hemoglobina a metahemoglobina; en respuesta el sistema antioxidante aumenta la actividad de SOD para convertir los superóxidos altamente reactivos en peróxidos de hidrógeno menos potentes.

Este efecto no es exclusivo de maca pues se ha observado que otras plantas al ser administradas aumentan la actividad de SOD. Así, la administración de extracto de hojas de *Punica granatum L.* (Lythraceae) (granada), aumenta la

actividad de glutatión GSH, glutatión S transferasa GST, superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) en ratones.²⁰⁰

También con extractos de hojas y corteza de *M. miristica* en pruebas *in vitro* investigaron sus propiedades antioxidantes y determinaron el efecto protector de estos extractos sobre enzimas del hígado de ratas, y encontraron una correlación positiva entre el ensayo FRAP, Prueba de fosfomolibdeno y la actividad de SOD, catalasa y peroxidasa, demostrando que el incremento del potencial antioxidante está relacionado proporcionalmente al incremento de la actividad de las enzimas antioxidantes y disminución del contenido de los radicales libres en el medio.²⁰¹ En todos los estudios mencionados el aumento de SOD es considerado como un evento positivo o favorable.

Nuestros resultados muestran que el grupo que consumió camu camu-maca tiene un notorio incremento en la actividad de la enzima SOD y catalasa, lo que confirma que la ingesta de estos productos con actividad antioxidante favorece el mejor estado antioxidante de los hematíes.

Con respecto a los que consumieron solamente camu camu, la presencia del ácido ascórbico y otros polifenoles exógenos podrían controlar la presencia de $O_2^{\cdot -}$ superóxido, en H_2O_2 que sería reducido en agua por acción de glutatión peroxidasa y catalasa. Esto sería debido a que se observa la actividad de catalasa en este grupo, pero no el incremento significativo de SOD.

El ácido ascórbico neutralizaría a los $O_2^{\cdot -}$ directamente de manera que no sería necesario el incremento de la actividad de SOD. GPx y CAT catalizarían la reducción del peróxido de hidrógeno, en el caso del grupo camu camu – maca, donde estaría funcionando con mayor actividad el sistema SOD/CAT y en el caso del grupo camu camu sería el sistema ascorbato/CAT y GPx que participaría manteniendo el estado reducido del ascorbato.

Con respecto al incremento del óxido nítrico, a diferencia de las enzimas, fue evaluado en el suero y se encontró que en el grupo camu camu y camu camu-maca muestran un incremento en los niveles séricos de NO. El análisis multivariado muestra que este incremento no estaría asociado al efecto favorable de la maca y/o camu camu sobre la presión arterial, calidad de vida relacionado a la salud, rendimiento físico y memoria auditiva.

Este incremento de óxido nítrico si bien no tiene mayor rol en condiciones normales, podría tener efectos preventores y de actividad frente a estresores. Por ejemplo, otros compuestos, como el resveratrol (3, 5, 4'-trihydroxistilbeno) que se encuentra en la cáscara de las uvas, en el maní, así como en el vino tinto, posee actividad cardioprotectora a través de la estimulación de la producción de óxido nítrico, también con efectos antioxidante y anti-inflamatorio.²⁰²

Por lo expuesto, es necesario considerar que los sistemas enzimáticos y no-enzimáticos son utilizados por los organismos vivos para combatir contra la

producción de radicales libres durante el estrés oxidativo y por otra parte, la conducta prooxidante o antioxidante de las moléculas antioxidantes dependen de las condiciones moleculares actuales y prevalentes en el tejido. Asimismo, otros factores ambientales como tensión de oxígeno, concentración de los metales de transición junto con su estado redox serán factores decisivos para la iniciación, progreso y reducción de los daños y perjuicios que están gobernados por el balance redox de oxidación y antioxidación.²⁰³

V.9 Evaluación de la Memoria Auditiva

La memoria auditiva se evaluó en base al número de palabras que recuerda cada voluntario de una lista que se le ha leído; y el número de veces (ensayos) que requiere para recordar el mayor número de palabras. Como marcador de la memoria auditiva se ha utilizado la razón Número de palabras recordadas/número de ensayos. La relación N° de palabras/N° de ensayos es mayor en los individuos que consumieron camu camu-maca. En la evaluación del N° de palabras que recuerda el voluntario, es el grupo tratado con extracto de maca negra el que se incrementa más y en el N° de Ensayos el grupo camu camu, es el que responde con menos número de ensayos comparado con el grupo control (placebo).

Es posible considerar que la ingesta de la maca y camu camu que aportan diferentes metabolitos secundarios y que actúan a nivel del sistema del cerebro involucrado en la memoria serían responsables del incremento en la memoria auditiva observada, como ha sido mostrado previamente en animales de

experimentación para el caso del tratamiento con maca negra.²¹ Se sabe que el óxido nítrico,²⁰⁴ y el sistema SOD/catalasa^{204,205} favorecen la memoria y el aprendizaje. Nuestros resultados muestran que la mejora en la memoria auditiva no estuvo relacionada a cambios en la actividad antioxidante sistémica (SOD, catalasa u óxido nítrico). Es cierto también que los valores medidos sistémicamente no necesariamente reflejan lo que ocurre a nivel central.

Estudios por ejemplo usando quercitina, un flavonol, produce una disminución significativa en los niveles de MDA del hipocampo y benefició la actividad de SOD y GPx en animales estresados.²⁰⁶ Se sabe que el camu camu contiene quercetina^{27,28} y la maca también en menor proporción.^{9,96} Quercetina mejora la memoria y la plasticidad sináptica del hipocampo en modelos de deterioro inducido por exposición crónica al plomo y podría tener un rol en la reparación neuronal.²⁰⁷

Es también posible, que los efectos favorables en la memoria auditiva dados por el consumo de camu camu y la combinación con la maca negra estaría relacionado con el paso de ciertos elementos fitoquímicos: ácido glutámico, valina, a través de la barrera hematoencefálica (BHE).²⁰⁸

Se ha demostrado que el ácido ascórbico actúa a nivel del sistema nervioso central como parte de la red antioxidante intracelular, sobre todo a nivel del cerebro donde su concentración es modulada por el intercambio glutamato-ascorbato en los sitios de captación de glutamato; de esta manera el ácido

ascórbico cumpliría así una función neuroprotectora.²⁰⁹ El ácido ascórbico además de actuar como antioxidante también tienen acción como cofactor de enzimas dioxigenasas involucradas en la síntesis de carnitina, colágeno, y de neurotransmisores incluyendo dopamina, norepinefrina y serotonina.²⁰⁹

Estudios de laboratorio que involucran alteraciones de la memoria inducida por el estrés han mostrado mejorías significativas en la retención de memoria para aquellos individuos tratados previamente con ácido ascórbico.²¹⁰ El camu camu por su alto contenido de ácido ascórbico se convierte en un alimento importante para mejorar las funciones cerebrales particularmente en lo referente a la memoria auditiva.

En un estudio previo, usando métodos de recuerdo de memoria verbal se encontró que los mayores valores de memoria fueron asociados con valores más altos de ácido ascórbico en el plasma. La deficiencia de ácido ascórbico se asocia con daño cognitivo.²¹¹

En estudios experimentales realizados en animales, la maca negra mejora la memoria y el aprendizaje, disminuyendo la actividad acetilcolinesterasa.^{25,111-}

116

Por ello podemos concluir que existen dos tipos de respuestas, el recordar el mayor número de palabras y el hacerlo en el menor número de ensayos estarían relacionados con centros cerebrales diferentes, corteza temporal y corteza

prefrontal, respectivamente.²⁰⁸ Esto podría explicar, por qué la mezcla de camu camu y maca funciona mejor.

El extracto de Ginkgo biloba (Gb) incluye compuestos como flavonoles: quercetina y kaempferol y también terpenoides, y lactonas consideradas responsables de una función neuroprotectora.²¹²

El presente trabajo es una contribución al dar a conocer el efecto benéfico de la maca negra y camu camu solos y combinados en la capacidad antioxidante, en el rendimiento físico, y en la memoria auditiva, sin producir efectos adversos, ni alteración en los marcadores metabólicos luego que los jóvenes consumieron durante 42 días en dosis de 3 gramos diarios camu camu y maca negra con gran nivel de aceptabilidad.

V.10 Limitaciones del estudio

Un ensayo clínico es una herramienta valiosa para evaluar la eficacia y seguridad de un nuevo tratamiento, en este caso un nutracéutico o nutracéuticos que pueden usarse para beneficiar y preservar la salud con efectos positivos sobre ella. Por ello, la importancia de su realización. Sin embargo, no deja de tener limitaciones sobre todo cuando se desea mantener la eficacia y la eficiencia.

Si bien se ha controlado la dieta de los voluntarios durante el desayuno, almuerzo y comida es posible que los voluntarios hayan consumido alimentos

extras fuera de estas tres comidas. Esta sería una limitación, pero no se espera que ello haya influenciado en los resultados puesto que los valores basales de proteínas fueron similares en los cuatro grupos de estudio, lo que indicaría que el patrón de consumo de proteínas ha sido similar. Por lo cual, las diferencias en los valores de proteína en los grupos de maca y maca+camu camu al final del tratamiento se deberían a la contribución de las proteínas que aporta la maca de 14 gramos %.

Otra limitación del estudio es que se basa en población normal y por ello no se puede deslindar la importancia de la actividad de los antioxidantes en las variables evaluadas. Si bien nuestro estudio no muestra efecto de los antioxidantes SOD, catalasa y NO sobre las variables presión arterial, rendimiento físico, y memoria auditiva como parte del efecto de la maca y/o camu camu, ello no quiere decir que no tenga participación. Es probable que en poblaciones donde se encuentre incrementado el stress oxidativo pueda observarse el efecto del antioxidante que a su vez se ha incrementado por acción del nutracéutico.²

El ensayo clínico fase I evalúa aceptabilidad, seguridad y algunas respuestas biológicas, por lo que esta limitación no afecta la calidad del estudio.

Los resultados de este ensayo deben ser considerados en referencia a la población estudiada como corresponde a un ensayo clínico fase I, por lo que es recomendable realizar ensayos con muestras de poblaciones más amplias en un

ensayo clínico fase II y luego en poblaciones con patologías en la presión arterial, en la memoria; para mejorar el rendimiento físico, como es el caso de un ensayo clínico Fase III.

Otra limitación es que no se evaluó marcadores de stress oxidativo; sin embargo, al tratarse de una población normal es probable que no se observen mayores cambios en dichos marcadores, lo cuales si serían necesarios medir en un ensayo clínico Fase II.

Para evaluar el rendimiento físico se utiliza un esfuerzo submáximo al 75%; en este estudio se utilizó una prueba de esfuerzo físico submáximo al 50%, que podría ser una limitante si es que no se observan diferencias entre grupos. Los resultados del presente estudio muestran sin embargo que el tratamiento con maca mejora el rendimiento físico frente al protocolo de esfuerzo submáximo al 50% lo cual no ocurre con el placebo lo que da validez al estudio.

V.11 Fortalezas del estudio

El presente ensayo clínico es un estudio prospectivo controlado por placebo, por lo que sus resultados expresan una relación causa-efecto.

Un aspecto importante a considerar en estos estudios es el proceso de aleatorización, en este ensayo la aleatorización se realizó por bloques balanceados el cual permitió distribuir a los participantes de manera homogénea, lo que se observa por los datos de parámetros fisiológicos basales

y finales obtenidos de talla, IMC, Hb, y comprobado que los grupos eran comparables en sus características y en las variables e indicadores evaluados, al encontrar que los valores basales no mostraron diferencias con los valores del grupo control.

Asimismo, no fue necesario descubrir el enmascaramiento dentro del período de consumo de los nutracéuticos, debido a que no se presentaron efectos adversos serios durante el ensayo, tampoco se tuvieron pérdidas o abandonos en ningún grupo de tratamiento.

En el análisis multivariado donde se relacionan las variables que resultaron significativas en el estudio, para mantener los niveles de error tipo I en 0.05, se aplicó la corrección de Holm Bonferroni para hacer los ajustes del nivel α , lo que permite tener mayor certeza de los resultados obtenidos en los análisis estadísticos generales realizados para cada variable individualmente.

VI. CONCLUSIONES

VI.1 Conclusiones generales

- a) Los extractos atomizados de camu camu y maca negra solos y combinados tienen una alta aceptabilidad en jóvenes de la amazonía y no presentan efectos adversos en el aspecto de salud en general ni en las evaluaciones de función hepática, renal, lipídica, nutricional y hormonal.

- b) La ingesta combinada del extracto atomizado de camu camu y maca negra incrementan la proteína total, la actividad de la enzima antioxidante SOD, los niveles de óxido nítrico, y mejoran la memoria auditiva y la ingesta de maca, sola o combinada, el rendimiento físico.

VI.2 Conclusiones específicas

- a) La maca negra al final de la ingesta incrementa el puntaje de salud, proteína total y el rendimiento físico.

- b) El camu camu al final de la ingesta disminuye la presión arterial sistólica e incrementa los niveles séricos de óxido nítrico.

- c) El camu camu-maca al final de la ingesta disminuye la presión arterial sistólica, la relación testosterona/estradiol, e incrementa la proteína total.

- d) El suministro combinado de camu camu con maca negra mejora la memoria auditiva observada, sobre los demás grupos de tratamiento.

e) La combinación de maca y camu camu eleva todos los marcadores antioxidantes (SOD, Catalasa, Óxido Nítrico), sin relación directa con los efectos encontrados.

Tabla 31. Conclusión de resultados significativos comparados con el control.

Parámetro	Ccamu-Maca	Camu camu	Maca	Control
Aceptabilidad	88 % ↑	87 % ↑	83 % ↑	100% ↑
E. de Salud	10 % ↑		11 % ↑	
Presión sistólica	7.7 % ↓	4.1% ↓		
Proteínas	12.5 % ↑	2 % ↑	6.5% ↑	
Test/Estradiol	32 % ↓			
R. físico (VO₂máx)	20.3% ↑		31.2% ↑	
SOD	45 % ↑		11 % ↑	
Óxido Nítrico	29 % ↑	30.5 % ↑		
P Memoria P/E	32 % ↑	24 % ↑	17 % ↑	
N° de Palabras	4% ↑		7.6 % ↑	
N° de Ensayos	9.6 % ↓	10.3 % ↓		

Expresados en promedio de % de cambio al final de la ingesta de los nutraceuticos por grupo con respecto al grupo control.

VII. RECOMENDACIONES

- a) Continuar con investigaciones a nivel de ensayo clínico nivel II para evaluar algunas de estas propiedades en personas que sufran algunos problemas en salud:
- Para evaluar el efecto del camu camu sobre la presión arterial sistólica y diastólica.
 - Evaluar el efecto del camu camu y maca juntos en la memoria.
 - Evaluar el efecto de maca solo o combinado con camu camu en deportistas.
- b) Realizar investigaciones específicas a nivel celular y en animales para estudiar el nivel de acción de la maca y del camu camu en cada una de las funciones mostradas por los nutraceuticos.
- c) Es importante realizar estudios más detallados sobre la actividad de los antioxidantes incluyendo una prueba de estrés oxidativo.
- d) Buscar nuevas tecnologías para el estudio *in vivo* de la actividad de los metabolitos de estos dos productos.

AGRADECIMIENTOS:

- Al Laboratorio de Análisis Clínicos. Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.
- Al Centro de Investigaciones de Recursos Naturales - Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.UNAP
- Al Centro Médico - Comedor Universitario - Oficina General de Bienestar Universitario - UNAP.
- Al Laboratorio de Endocrinología y Reproducción. Laboratorio de Micronutrientes. Facultad de Ciencias y Filosofía. Universidad Peruana Cayetano Heredia.UPCH
- **Al Círculo de Investigación en Plantas con Efectos en salud. UPCH-UNDAC-UNAP-UNA: CONCYTEC/FONDECYT**
- Facultad de Psicología. Universidad Peruana Cayetano Heredia.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gonzales GF, Villaorduña L, Gasco M, Rubio J, Gonzales C. **Maca (*Lepidium meyenii* Walp), una revisión sobre sus propiedades biológicas.** Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2014; 31(1):100-10.
2. Inoue T, Komoda H, Uchida T, Node K. **Tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties.** J Cardiol. 2008 Oct; 52(2):127-32. Epub 2008 Jul 29.
3. Langley P, Pergolizzi J, Taylor R, Ridgway C. **Antioxidant and Associated Capacities of Camu Camu (*Myrciaria dubia*): A Systematic Review.** The journal of alternative and complementary medicine Vol 21, Num 1, 2015, pp. 8–14, doi: 10.1089/acm.2014.0130
4. Gonzales GF, Nieto J, Rubio J. & Gasco M. **Effect of black maca (*Lepidium meyenii*) on one spermatogenic cycle in rats.** Andrologia. (2006) Oct. 38 (5): 166 – 172.
5. Valerio LG. Jr and Gonzales GF. **Toxicological Aspects of the South American Herbs Cat's Claw (*Uncaria tomentosa*) and Maca (*Lepidium meyenii*). A Critical Synopsis.** Toxicol Rev. 2005; 24 (1):11 – 35.
6. Ganzera M, Zhao J, Muhammad J, and Klan IA. **Chemical profiling and standardization of *Lepidium meyenii* (Maca) by Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography.** Chem Pharm Bull. (Tokyo) 2002; 50 (7): 988 – 991.
7. Zheng BL, He K, Kim CH, Rogers L, Shao Y, Huang Z Y, Lu Y, Yan S. J Qien L Ch, and Zheng QY. **Effect of a lipídic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats.** Urology 2000; 55 (4): 598 – 602
8. Zhao J, Muhammad I, Dunbar D C, Mustafa J. Khan I A. **New alkamides from maca (*Lepidium meyenii*).** J. Agric. Food Chem 2005; 9; 53 (3) :690-3
9. Campos D, Chirinos R, Barreto O, Noratto G, Pedreschi R. **Optimized methodology for the simultaneous extraction of glucosinolates, phenolic compounds and antioxidant capacity from maca (*Lepidium meyenii*).** Industrial Crops and Products 2013.
10. Collazos Ch C, White P L, White H S, Viñas T E, Alvistur J E, Urquieta A R, Vásquez J, Díaz T C, Quiroz M A, Roca N A, Hegted D M y R. B. Bradfield. **La composición de los alimentos peruanos.** Anales de la Facultad de Medicina, Tomo XL-Nº 1, Lima, 1957.
11. Bradfield R B, Roca A. **Camu camu - A fruit high in ascorbic acid.** J Am. Diet Assoc 1964. 44 pag 28-30.
12. Yuyama K, Aguiar, J P L, Yuyama LKO. **Camu camu: Um fruto fantástico como fonte de vitamina C.** Acta Amazónica 32 (1): 169-174. 2002.
13. Justi KC, Visentainer JV, Evelázio de Souza N, Matsushita M. **Nutritional composition and vitamin C stability in stored camu-camu (*Myrciaria dubia*) pulp.** Arch Latinoam Nutr. 2000 Dec; 50(4):405-8.
14. Muñoz J A M. **Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios.** Rev. Soc. Quim. Perú 2007, 73: Nº 3 (142-149).

15. Villanueva-Tiburcio J E, Cardozo-Hoyos L A, Asquieri ER. **Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante en la cáscara de camu camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) Mc Vaugh.** Cienc. Tecnol. Aliment. Campinas, 30 (supl. 1): 151-160 maio 2010.
16. Zanatta C F, Mercadante A Z. **Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu camu (*Myrciaria dubia*)** Food Chemistry 101 (2007) 1543-1549.
17. Reynertson K A, Yang H. **Quantitative analysis of antiradical phenol constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits.** Food Chem 2008. August 15; 109 (4):883-890
18. Genovese I M, Da Silva P M, De Souza A E, Schmidt G and Lajolo F M. **Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Exotic Fruits and Commercial Frozen Pulps from Brazil.** Food Science and Technology International 2008 14: 207-214.
19. Akachi T, Shiina Y, Kawaguchi T, Kawagishi H, Morita T, Sugiyama K. **1-methylmalate from camu-camu (*Myrciaria dubia*) suppressed D-galactosamine-induced liver injury in rats.** Biosci. Biotechnol. Biochem. 23; 74 (3):573-8. Epub 2010 Mar 7.
20. Dabrowski K, Jun-Lee K, Richard J, Abiado M G, Alcántara B F, Tello S, Palacios M E. **Studies on reproduction and larval rearing of Amazonian fish.** In: R. Harris, I. Courtney and H. Egua (Editors), Twenty-First Annual Technical Report. Aquaculture CRSP, Oregon. State University, Corvallis, Oregon, 2004: 85-92.
21. Rubio J, Yucra S, Gasco M. Gonzales GF. **Dose-response effect of black maca (*Lepidium meyenii*) in mice with memory impairment induced by ethanol.** Toxicol Mech Methods. 2011 Jul 22.
22. Gonzales C, Rubio J, Gasco M, Nieto J, Yucra S, Gonzales GF. **Effect of short-term and long-term treatments with three ecotypes of *Lepidium meyenii* (MACA) on spermatogenesis in rats.** J Ethnopharmacol. 2006 Feb 20; 103(3):448-54. Epub 2005 Sep 19.
23. Gonzales G. F, Vásquez V, Rodriguez D, Maldonado C, Mormontoy J, Portella J, Pajuelo M, Villegas L, Gasco M. **Effect of two different extracts of red maca in male rats with testosterone – induced prostatic hyperplasia.** Asian J. Androl. 2007; 9 (2): 245 – 251.
24. Gasco M, Aguilar J, Gonzales GF. **Effect of chronic treatment with three varieties of *Lepidium meyenii* (Maca) on reproductive parameters and DNA quantification in adult male rats.** Andrologia. 2007 Aug; 39(4):151-8.
25. Rubio J, Riqueros MI, Gasco M, Yucra S, Miranda S, Gonzales GF. ***Lepidium meyenii* (Maca) reversed the lead acetate induced damage on reproductive function in male rats.** Food Chem Toxicol. 2006 Jul; 44 (7):1114-22. Epub 2006 Feb 28.
26. Gonzales C, Cárdenas-Valencia I, Leiva-Revilla J, Anza-Ramirez C, Rubio J, Gonzales GF. **Effects of different varieties of Maca (*Lepidium meyenii*) on bone structure in ovariectomized rats.** Forsch Komplementmed. 2010; 17(3):137-43. Epub 2010 Jun 16.

27. Chirinos R, Galarza J, Betalleluz-Pallardel I, Pedreschi R, Campos D. **Antioxidant compounds and antioxidant capacity of peruvian camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) fruit at different maturity stages.** Food chemistry 120 (2010) 1019 -1024.
28. Sotero S V, Silva D L, Garcia D, Iman C S. **Evaluación de la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del fruto del camu camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.)).** Rev. Soc.Quím. Perú. 75 (3) 2009: 293-299.
29. Alvis R, Pino J, Gonzales J, Francia J C, Shiga B. **Efecto citoprotector del camu camu *Myrciaria dubia* en tres líneas celulares de ratón expuestos in vivo a bromato de potasio.** Rev Perú biol. 17(3): 389-392 Dic 2010.
30. Vilagut G, Ferrer M, Rajmil L, Rebollo P y col. **El Cuestionario de Salud SF-36 español: una década de experiencia y nuevos desarrollos.** Gac. Sanit. 2005; 19 (2): 135-50.
31. Brack E A, Aranda A C, Bernaldes A M E, Bustamante M R, Campos B L, Capurro V F, Sanchez M C, Delgado Z J, Galarza C E, Gomero O L. **Diagnóstico Ambiental del Perú.** Lima Perú. 2008. 69 p
32. Promperú. **Perú. Productos Naturales**1ªEdición.2010. www.biocomercioperu.org/admi/recursos/publicaciones/Perú-Natural-Product.pdf. 25/08/2011 8.19 am actualizado Octubre 2014.
33. Canales M, Aguilar J, Prada A, Marcelo A, Huaman C and Carbajal L. **Nutritional evaluation of *Lepidium meyenii* (MACA) in albino mice and their descendants.** [in Spanish] Arch. Latinoamer. Nutr. 2000; 50: 126-133.
34. Ronceros G, Ramos W, Yarmendia F, Arroyo, Gutierrez J. **Eficacia de la Maca fresca (*Lepidium meyenii* Walp) en el incremento del rendimiento físico de deportistas en altura.** An. Fac. Med. Lima 2005, 66 (4):269 – 273
35. Večeřa R, Orolin J, Škottová N, et al. **The influence of maca (*Lepidium meyenii*) on antioxidant status, lipid and glucose metabolism in rat.** Plant Foods for Human Nutrition. 2007; 62(2):59–63.
36. Pino-Figueroa A, Nguyen D, Maher TJ. **Neuroprotective effects of *Lepidium meyenii* (Maca).** Ann N Y Acad Sci. 2010 Jun; 1199:77-85.
37. Zha S, Zhao Q, Chen J, Wang L, Zhang G, Zhang H, Zhao B. **Extraction, purification and antioxidant activities of the polysaccharides from maca (*Lepidium meyenii*).** Carbohydrate Polymers, 2014.
38. Esparza E, Hadzich A, Kofer W, Mithöfer A, Cosío G E. **Bioactive maca (*Lepidium meyenii*) alkaloids are a result of traditional Andean post harvest drying practices.** Phytochemistry Vol 116, August 2015:138-148
39. Gonzales GF, Córdova A, Gonzales C, Chung A, Vega K, Villena A. ***Lepidium meyenii* (Maca) improved semen parameters in adult men.** Asian J Androl. 2001 Dec; 3(4):301-3.
40. Gonzales G. F, Córdova A, Vega K, Chung A, Villena A, Gómez G, and Castillo S. **Effect of *Lepidium meyenii* (Maca) on sexual desire and its absent relationship with serum testosterone levels in adult healthy men.** Andrologia 2002; 34 (6): 367–372.
41. Gonzales G. F, Córdova A, Vega K, Chung A, Villena A, and Góñez C. **Effect of *Lepidium meyenii* (Maca), a root with aphrodisiac and fertility-enhancing properties, on serum reproductive hormone levels in adult healthy men.** Journal of Endocrinology 2003; 176(1):163 – 168.

42. Gonzales GF, Gasco M, Lozada-Requena I. **Role of maca (*Lepidium meyenii*) consumption on serum interleukin-6 levels and health status in populations living in the Peruvian Central Andes over 4000 m of altitude.** Plant Foods Hum Nutr. 2013; 68(4): 347-51.
43. Zenico T, Cicero AF, Valmorri L, Mercuriali M, Bercovich E. **Subjective effects of *Lepidium meyenii* (Maca) extract on well-being and sexual performances in patients with mild erectile dysfunction: a randomised, double-blind clinical trial.** Andrologia. 2009 Apr; 41(2):95-9.
44. Stojanovska L, Law C, Lai B, Chung T, Nelson K, Day S, Apostolopoulos V, Haines C. **Maca reduces blood pressure and depression, in a pilot study in postmenopausal women.** Climacteric. 2015 (1):69-78. doi: 10.3109/13697137.2014.929649.
45. Gonzales GF. **MACA: Del alimento perdido de los Incas al milagro de los Andes: Estudio de seguridad alimentaria y nutricional.** Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas. 2010; 16-17(1):16–36.
46. Stone M, Ibarra A, Roller M, Zangara A, Stevenson E. **A pilot investigation into the effect of maca supplementation on physical activity and sexual desire in sportsmen.** J Ethnopharmacol. 2009 Dec 10; 126(3):574-6. Epub 2009 Sep 23.
47. Gonzales GF, Vasquez VB, Gasco M. **The transillumination technique as a method for the assessment of spermatogenesis using medicinal plants: the effect of extracts of black maca (*Lepidium meyenii*) and camu camu (*Myrciaria dubia*) on stages of the spermatogenic cycle in male rats.** Toxicol Mech Methods. 2013; 23(8):559-65
48. Pinedo M, Linares C, Mendoza H, Anguiz R; **Plan de Mejoramiento Genético de Camu Camu.** Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana. IIAP. 2004. Iquitos-Perú. 52 p.
49. Dostert N, Roque J, Brokamp G, Cano A, La Torre M, Weigend M. **Desarrollo de Monografías Botánicas (factsheets) para cinco cultivos peruanos. Hojas Botánicas: Camu Camu–*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh.** Proyecto Perúbiodiverso–PBD: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ), GmbH: Programa Desarrollo Rural Sostenido-PDRS. Secretaria de Estado de Economía Suiza-SECO, Ministerio de Comercio Exterior y Turismo-MINCETUR, 1ra. Ed. Lima-Perú, Setiembre 2009 pp9.
50. Hughes, K. Consultor de EtnoPharm. **Potencial del Camu camu y Sacha Inchi en el mercado estadounidense.** Prompex, Biocomercio 2008.
51. Villachica H. **Frutales y Hortalizas promisorios de la Amazonía.** Tratado de Cooperación Amazónica, TCA. Secretaría Pro Tempore 1996. Lima-Perú. pp 73-83.
52. Imán C S. **Memoria Anual del PNI. Recursos Genéticos Vegetales.** 2010 EEA. San Roque. Iquitos. INIA.
53. Pinedo PM, Riva RR, Rengifo SE, Delgado VC, Villacrés VJ, Gonzales CA. **Sistema de Producción de camu camu en restinga PET-IIAP 2001.**
54. Pinedo P M, Armas M. **El camu camu y sus usos populares como planta medicinal.** LEISA Revista agroecológica. 2007. 23(3); pp22-24.

55. Marx F, Burger-Rodrigues R, Gordon A, Papagiannopoulos M. **Bioactive Substances in Tropical Fruits-An Evaluation with TOSC Assay and “Activity Guided” RP-HPLC-Fractionation.** www.lebensmittelchemic.uni-bonn.de/pdf/marx-CIBIA-VI2007.PDF.04/04/2011
56. Da Silva F, Arruda A, Ledel A, Dauth C, Romão N, Viana R, Ferraz A, Picada J, Pereira P. **Antigenotoxic effect of acute, subacute and chronic treatments with Amazonian camu–camu (*Myrciaria dubia*) juice on mice blood cells.** Food Chem Toxicol. 2012 Jul; 50 (7): 2275-81. doi: 10.1016/j.fct.2012.04.021.
57. Fracassetti D, Costa C, Moulay L, Tomás-Barberán F. **Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (*Myrciaria dubia*).** Food Chemistry 2013. Aug 15; 139 (1-4):578-88. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.01.121.
58. Pacci-Salazar K, Nureña-Noriega L, Vásquez-Cerro J, Araujo E, Galvez-Niño M. **Eficacia tópica de *Myrciaria dubia* en la curación de quemaduras de segundo grado en ratas Holtzman.** CIMEL 2009 vol 14, N° 1. pp15-20.
59. Nascimento OV, Boleti APA, Yuyama LKO and Lima ES. **Effects of diet supplementation with Camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) fruit in a rat model of diet-induced obesity.** Anais da Academia Brasileira de Ciências (2013) 85(1):355-363.
60. Yazawa K, Suga K, Honma A, Shirosaki M y Koyama T. **Anti-Inflammatory effects of seeds of the tropical fruit Camu-Camu (*Myrciaria dubia*)** J Nutr Sci Vitaminol 2011.57:104-107
61. Reyes G M, Gómez-Sánchez P I, Espinoza B C, Bravo R F y Ganoza M L. **Tablas Peruanas de Composición de Alimentos.** Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. 8va. Ed. Ministerio de Salud-INS. Lima. 2009, 64p.
62. Yuyama K O L, Aguiar, J P L, Lopes M T, Fávaro I T O, Berge C P P, Vasconcellos B A M. **Teores de Elementos Minerais en algunas populações de camu camu.** Acta Amazónica 2003. 33 (4): 549-554.
63. Zapata, S. M.; Dufour, J. P. **Camu camu *Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh: Chemical Composition of Fruit.** Journal of the Science of food and agriculture. J Sci Food Agric 1993 61, 349-351.
64. Rojas R, Saavedra R, Cobos M, Iman S A, Adrianzen P M y Castro J. C. **Fluctuación del contenido de vitamina C en frutos de *Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh “camu camu” en diferentes horas del día** 1er Encuentro Centros de Investigación y Desarrollo-UNAMAZ Iquitos-Ago 2010, p 14.
65. Correa-Meléndez F M; Cobos-Ruiz M, Ramirez-Saavedra R, Imán-Correa S A, Castro-Gómez J C. **Fluctuación diurna del contenido de vitamina C en hojas de *Myrciaria dubia* “camu camu”.** Ciencia Amazónica (Iquitos)2013, Vol.3, No.2, 60-66 ISSN 2221-5948
66. Zanatta C F, Cuevas E, Bobbio F O, Winterhalter P and Mercante A Z. **Determination of Anthocyanins from camu camu (*Myrciaria dubia*) by HPLC – PDA, HPLC – MS and NMR.** J. Agric. Food Chem. 2005, 53; 9531-9535.
67. Quijano C C, Pino A J. **Constituyentes volátiles de las hojas de camu camu *Myrciaria dubia* (H. B. K.) Mc Vaugh.** Revista Cubana de Química 52 vol. XIX, N° 1, 2007

68. Franco M R, Shibamoto T. **Volatile composition of some Brazilian fruits: Umbu-caja (*Spondias citherea*) camu camu (*Myrciaria dubia*) Araça-boi (*Eugenia stipitata*) and Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*)** J. Agric. Food. Chem. 2000 Apr; 48(4):1263-5.
69. Akter S, Oh S, Eun J, Ahmed M. **Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit: A review.** Food Research International 2011.
70. Gonçalves A, Lajolo F, Genovese M. **Chemical Composition and Antioxidant/Antidiabetic Potential of Brazilian Native Fruits and Commercial Frozen Pulps** J. Agric. Food Chem. 2010, 58: 4666–4674 doi:10.1021/jf903875u.
71. Klinar Barbuza, S. **Evaluación de la actividad antioxidante de *Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh “camu camu”** FITOICA. Rev. Cient. Año 4. N° 1 enero-abril 2009.
72. Food and Nutrition Board Institute of Medicine National Academies 2001 **Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Dietary Allowances and adequate Intakes.** Elements.
73. Pastor Santiago. **Agrobiodiversidad nativa del Perú y patentes.** SPDA 2008. 1era. Edición, Lima-Perú. pp 1-56.
74. Cobo B. **History of the New World.** Madrid, Spain: Biblioteca de Autores Españoles; 1956. 430 pp
75. Matos M R. **La Maca: una planta peruana en extinción.** En Cielo Abierto, Cerro de Pasco, Centromin Perú.1975: N°5.
76. Ruiz H. **Relación histórica del viaje a los reinos del Perú y Chile, 1777-1778.** Madrid.Acad.de Ciencias Exactas: Fis y Nat.1952:526pp
77. Quiroz C, Aliaga R. **Maca (*Lepidium meyenii* Walp.)** In: Hermann M, Hellers J, editors. Andean Roots and Tubers: Ahipá, Arracacha, Maca and Yacon. Promoting the Conservation and Use of Underutilized Neglected Crops. Vol. 21. Rome, Italy: International Plant Genetic Resources Institute; 1997. pp. 173–197.
78. Valentová K, Ulrichová J. ***Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii* – prospective andean crops for the prevention of chronic diseases.** Biomed Report Papers Med. Fac. Univ. Palacky Opatowitz Czech Republic 2003; 147(2):119 – 130.
79. National Research Council. **Lost crops of the Incas: Little known plants of the Andes with promise for worldwide cultivation.** Washington. DC. The National Academies Press.1989:56-65
80. Aliaga Cárdenas R. **Guía para el Cultivo, Aprovechamiento y Conservación de la Maca. *Lepidium meyenii* Walpers.** Convenio Andrés Bello. SECAB; Serie Ciencia y Tecnología N°82 Jun 1999. 50 p.
81. Chacón de Popovici G. **La importancia de *Lepidium peruvianum* Chacón (“Maca”) en la alimentación y salud del ser humano y animal 2000 años antes y después de Cristo y en el Siglo XXI.** Facultad de C. Biológicas. UNMSM.1997 Lima – Perú.

82. Ayala R. M, y De Stefano-Beltran L. **Determinación del Código de Barras de ADN para la diferenciación taxonómica entre *Lepidium meyenii* y *Lepidium peruvianum*.** Libro de Resúmenes I Congreso Nacional de Medicina Tradicional, Alternativa y Complementaria. 16 –18 nov. 2011 Lima Perú p. 37-38.
83. Aliaga C R C **Biología Floral de la Maca (*Lepidium meyenii* Walp)** Tesis Magister Facultad de Agronomía UNALM. 1995. 84 p.
84. Ponce D. **Estimación de parámetros genéticos para caracteres cuantitativos de producción de semilla de maca (*Lepidium meyenii* Walp)** Agronomía Vol.XLV Mar 1999. La Molina Perú. UNALM. p. 34 – 40.
85. Dini A, Migliuolo G, Rastrelli L, Saturnino P, Schettino O. **Chemical Composition of *Lepidium meyenii*.** Food Chemistry 49 (1994) 347-349.
86. Yllesca M G. **Estudio químico y fitoquímico comparativo de 3 ecotipos de *Lepidium meyenii* Walp “Maca” procedentes de Carhuamayo (Junín).** Tesis Facultad Farmacia y Bioquímica. UNMSM. Perú. 1994. p. 103.
87. Blanco B T, Alvarado – Ortiz U C, Muñoz J A M. **Evaluación de la composición nutricional de la maca y cañihua, procedente de diversos departamentos del Perú.** Rev. Horiz Med. 2003. 3. p 11
88. Clément C. Diaz G D. A, Avula B, Khan I A, Mayer A C, Ponce A D, Manrique I. Kreuzer M. **Influence of colour type and previous cultivation on secondary metabolites in hypocotyls and leaves of maca (*Lepidium meyenii* Walpers).** J. Sci Food Agric 2010.15; 90(5):861- 9.
89. Li G, Ammermann U. and Quirós C F. **Glucosinolate contents in Maca (*Lepidium peruvianum* Chacón) seeds, sprouts, mature plants and several derived commercial products.** Economic Botany 2001; 55 (2): 255-262.
90. Dini I, Tenore GC, Dini A. **Glucosinolates from Maca (*Lepidium meyenii*).** Biochemical Systematics and Ecology 30(2002) 1087-1090.
91. Piacente S, Carbone V, Plaza A, Zampelli A, and Pizza C. **Investigation of the tuber constituents of Maca (*Lepidium meyenii* Walp).** J. Agric. Food Chem 2002, 50(20): 5621 – 5625.
92. Ciska E, Martyniak-Przybyszewska B, Kazłowska H. **Content of glucosinolates in cruciferous vegetables grown at the same site for two years under different conditions.** J. Agric Food Chem.2000;48(7):2862-7
93. Muhammad I, Zhao J, Dunbar D C and Khan I A. **Constituents of *Lepidium meyenii* “maca”** Phytochemistry (2002); 59(1): 105 – 110.
94. Villegas V L, Díaz C, Cáceres F, Medina N, Yucra S, Chávez S, Mamani T. **Valorizando el maíz morado y el camu camu de tres zonas de cultivo: fitoquímica, evaluación farmacológica y toxicológica.** Proyecto Procyt 339-2007. III EISB-Oct 2009.
95. Mc Collom M M, Villinski J R, McPhail K L, Craker L E, and Gafner S. **Analysis of macamides in samples of Maca (*Lepidium meyenii*), by HPLC – UV – MS / MS.** Phytochem Anal. 2005; 16 (6): 463 – 469.
96. Ranilla LG, Kwon YI, Apostolidis E, Shetty K. **Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America.** Bioresource Technology 2010; 101(12):4676–4689.

97. Gonzales G.F, Gonzales – Castañeda C. **The Methytetrahydro – (beta) – carbolines in Maca (*Lepidium meyenii*).** Evid Based Complement Alternat Med 2009. 6(3) 315 – 6.
98. Cui B, Zheng B L, He K, and Zheng Q Y. **Imidazole alkaloids from *Lepidium meyenii*.** J. Nat. Prod. 2003, 66 (8): 1101 – 1103.
99. Oré MR. **Efectos hipolipémicos y antioxidante de *Lepidium meyenii* Walp en ratas** [Tesis para optar el grado académico de Doctor en Ciencias Biológicas]. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2008.p.104
100. Sandoval M, Okuhama N N, Angeles F M, Melchor V V, Condezo L A, Lao J, Miller M J S **Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lepidium meyenii*).** Food Chemistry 2002; 79: 207 – 213.
101. Berłowski A, Zawada K, Wawer I, Paradowska K. **Antioxidant Properties of Medicinal Plants from Peru.** Food and Nutrition Sciences 2013;4(8A):71-77.
102. Cisneros R, Oré R, Arnao I, Suarez S. **Relación de glutatión reducido/oxidado/GSH/GSSG/en ratas diabéticas tratadas con maca (*Lepidium meyenii* Walp).** Anales de Facultad de Medicina UNMSM. 2011 Vol. 72 N° 2 on line ISSN: 1609-9419.
103. Rodrigo M E, Valdivieso R, Suárez S, Oriondo R, Oré R. **Disminución del daño oxidativo y efecto hipoglicemiante de la maca (*Lepidium meyenii* Walp) en ratas con diabetes inducida por estreptozotocina.** An Fac Med 2011; 72(1): 7-11.
104. Almukadi H, Wu H, Böhlke M, Kelley C, Maher T, Pino-Figueroa A. **The Macamide N-3-Methoxybenzyl-Linoleamide Is a Time-Dependent Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH) Inhibitor.** Mol Neurobiol 2013.doi 10.1007/s12035-013-8499-2
105. Valentová K, Buckiová D, Kren V, Peknicová J, Ubrichová J, Simánek V, 2006, **The in vitro biological activity of *Lepidium meyenii* extract.** Cell Biology and Toxicology. 22:91-99.
106. Bogani P., Simonini F., Iriti M., Rossoni M., Faoro F., Poletti A., Visioli F. ***Lepidium meyenii* (Maca) does not exert direct androgenic activities.** J Ethnopharmacol. 2006; 104(3): 415-7
107. Córdor, D. **Efecto de diferentes niveles de maca en raciones de crecimiento para cuyes. [Effect of different maca (*Lepidium meyenii* WALP) levels on growth rations for guinea pigs].** In: Summary Book of research on guinea pigs. INIA. 1994. pp. 146.
108. Gonzales G F. and Valerio L G. Jr. **Plants from Perú: A review of plants as Potencial Agents against Cancer.** Anti–Cancer Agents in Medicinal Chemistry 2006; 6(5) 429 – 44.
109. Lee K J, Dabrowski K, Rinchar J, Gomez C, Guz L &, Vilchez C. **Supplementation of Maca (*Lepidium meyenii*) uber meal in diets improves growth rate and survival of raimbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) alevins and juveniles.** Aquaculture Research 2004; 35: 215 – 223.
110. Palacios M E, Dabrowski K, Abiado M A G and Lee K-J. **Effect of Diets formulated with Native Peruvian Plants on Growth and feeding efficiency of Red Pacu (*Piaractus brachypomus*) juveniles.** Journal of the World Aquaculture Society 2006; Vol. 37 N°3: 246-255.

111. Dávila Tello S del P. **Efecto del extracto acuoso de 3 diferentes variedades de *Lepidium meyenii*. (Maca) en modelos de memoria y depresión, en ratones hembra ovariectomizadas.** Tesis Lic. Biología UPCH. 2006. p. 60.
112. Alcántara Zapata, D. E. **Efecto del extracto atomizado de *Lepidium meyenii* (maca negra) en la memoria de ratones machos.** Tesis Licenciado Biología UPCH. 2009. 51p.
113. Oré R, Suárez S, Rojas L, Valdivieso R, Oriondo R, Tapia F, Trabuco J. **Efecto del extracto acuoso de maca sobre la función cognitiva en ratas recién destetadas.** An. Fac. Med. 2011; 72(1):13-6.
114. Rubio J, Caldas M, Dávila S, Gasco M, Gonzales GF. **Effect of three different cultivars of *Lepidium meyenii* (Maca) on learning and depression in ovariectomized mice.** BMC Complement Altern Med. 2006. Jun 23; 6:23.
115. Rubio J, Dang H, Gong M, Liu X, Chen SL, Gonzales GF. **Aqueous and hydroalcoholic extracts of Black Maca (*Lepidium meyenii*) improve scopolamine-induced memory impairment in mice.** Food Chem Toxicol. 2007 Oct; 45(10):1882-90. Epub 2007 Apr 20.
116. Rubio J, Qiong W, Liu X, Jiang Z, Dang H, Chen S, and Gonzales G.F. **Aqueous extract of black maca (*Lepidium meyenii*) on memory impairment induced by ovariectomy in mice.** Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine 2011a. Article 7D 253958, 7p
117. Tapia A, López C, Marcelo A, Canales M y Aguilar J L. **La Maca (*Lepidium meyenii*) y su efecto anti-estrés en un modelo animal en ratones.** Acta Andina (1999-2000) 8:31-37.
118. Ai Z, Cheng A, Yu Y, Yu L, Jin W. **Antidepressant-Like Behavioral, Anatomical, and Biochemical Effects of Petroleum Ether Extract from Maca (*Lepidium meyenii*) in Mice Exposed to Chronic Unpredictable Mild Stress.** J Med Food 17 (5) 2014, 535–542. doi: 10.1089/jmf. 2013. 2950
119. Gonzales G F. **Ethnobiology and Ethnopharmacology of *Lepidium meyenii* (Maca), a plant from the Peruvian Highlands.** Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine Vol. 2012. Article Id 193496, 10 p
120. Cicero A F G, Piacente S, Plaza A, Sale E, Arletti R and Pizza C. **Hexanic Maca extracts improves rat sexual performance more effectively than methanolic and chloroformic Maca extracts.** Andrologia 2002;34(3):177-79
121. Gonzales G F, Nieto J, Rubio J, Gasco M. **Effect of Black maca (*Lepidium meyenii*) on one spermatogenic cycle in rats.** Andrologia. 2006.38(5):166-172.
122. Chung F, Rubio J, Gonzales C, Gasco M, Gonzales GF. **Dose-response effects of *Lepidium meyenii* (Maca) aqueous extract on testicular function and weight of different organs in adult rats.** J Ethnopharmacol. 2005 Apr 8; 98(1-2):143-7.
123. Gonzales GF: **Biological effects of *Lepidium meyenii*, Maca, a plant from the highlands of Peru.** In. Natural Products. Series: Recent Progress in Medicinal Plants. Ed. V.K. Singh, R. Bhardwaj, JN. Govil, RKr. Sharma. Studium Press LLC: USA. 2006;15: 217-242
124. Gonzales-Castañeda C. **Efecto de dos extractos acuosos de *Lepidium meyenii* Walpers “MACA” como protector de piel contra la radiación ultravioleta (UV-C) en ratas.** Tesis Licenciado Biología. UPCH.2006

125. Gonzales-Castañeda C, Gonzales GF. **Hypocotyls of *Lepidium meyenii* (maca) a plant of the Peruvian highlands, prevent ultraviolet A-, B-, and C-induced skin damage in rats.** Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine. 2008; 24(1):24–31
126. Gonzales-Castañeda C. **Efecto protector de extractos de hojas de 3 variedades de *Lepidium meyenii* contra el daño ocasionado por la radiación UV-B en piel de ratones.** Tesis Magister Fisiología. UPCH. 2009 78p.
127. Gutierrez H, Gutierrez R, Herles E, Hernández M, Horna P, Hoyos P, Herby C, Jimenez M, Jimenez L, Kollmann A, Castañeda B, Ibañez L, Scotto C. **Análisis comparativo de la toxicidad del extracto acuoso en cocimiento de la harina de Maca (*Lepidium meyenii*, Walp) en tres especies de animales modelos: *Artemia franciscana* (Crustacea, Anostraca), pez Guppy (*Poecilia reticulata*) y ratón (*Mus musculus*).** Rev. Horizonte Medico Vol.7, N°2 Dic 2007.p 103 – 108.
128. Meissner H. O, Kedzia B, Mrozikiewicz P.M, Mscisz A. **Short and Long-Term Physiological Responses of Male and Female rats to two dietary levels of Pre – gelatinized Maca (*Lepidium peruvianum* Chacón)** Int.Journal of Biomedical Science. Vol.2 N°1 Feb.2006. 15 – 29.
129. Meissner H O, Mrozikiewicz P, Bobkiewicz – Kozłowska T, Mscisz A, Kedzia B, Lowicka A, Reich – Bilinska H, Kapezynski W, Borchia I. **Hormone – Balancing effect of Pre – Gelatinized Organic Maca (*Lepidium peruvianum* Chacón): (I) Biochemical and Pharmacodynamic Study on Maca using Clinical Laboratory Model on Ovariectomized rats.** Int. Journal of Biomedical Science 2006 Vol.2 N°3 p.260–72
130. Vásquez-Apestequi B V. **Influencia de la difusión de las investigaciones sobre las propiedades de la maca en la demanda del mercado internacional: 1998-2008.** Innovación & Emprendimiento. Revista Latinoamericana de Ciencias Empresariales 2010; 1 (1), 9-24
131. Freeman B.A, Crapo J. D. **Biology of disease: free radicals and tissue injury.** Lab. Invest. 1982 Nov. 47(5): 412-26.
132. Halliwell B, Gutteridge JMC. **Free radicals in Biology and Medicine.** Fourth edition. Oxford University. Press New York. USA. 2007 p. 851.
133. Ames B N, Shigenaga M K, Hagen T M. **Oxidants, antioxidants.** Academic Sci. USA. 1993; 90: 7915 – 7922.
134. Venereo J. R. **Daño Oxidativo, radicales libres y antioxidantes.** Rev. Cubana Med. Milit. 2002; 31(2): 126 – 33.
135. Rodriguez J, Menendez J, Trujillo Y. **Radicales libres en la Biomedicina y Estrés oxidativo.** Rev. Cubana Médica Militar, 2001; 30(1): 15-20.
136. Céspedes T, Sánchez D. **Algunos aspectos sobre el stress oxidativo, el estado antioxidativo y la terapia de suplementación.** Rev. Cubana Cardiol. 2000; 14(1): 55-60.
137. García B, García O, Clapes S, Rodes L, García J. **Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: I-Superóxido dismutasas.** Rev. Cubana de Investigaciones Biomédicas 1997; 15(1); 1-6.
138. Coz R J D, Villavicencio V J N. **Indicadores de estrés oxidativo en eritrocitos de una población de Huaraz.** Tesis Q. Farmacéutico UNMSM. 2013. p56.

139. Durak I, Burak C, MY, Kacmaz M, Goren D, Serdar O H, Bolgen C O. **Aspirin impairs antioxidant system and causes peroxidation in human erythrocytes and guinea pig myocardial tissue.** Hum. Exp. Toxicol 2001; 20: 34-7.
140. Gaetani G.F, Galiano S, Canepa L, Ferraris A. M, Kirkman HN. **Catalasa and glutathione peroxidase are equally active in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes.** Blood. 1989; 73: 334-9.
141. Scott M D, Zuo L, Lubin B H, Chiu D T. **NADPH, not glutathione, status modulates oxidant sensitivity in normal and glucose- 6 –phosphate dehydrogenase-deficient erythrocytes.** Blood 1991; 77: 2059-64.
142. Fernández A A, Abudara V, Morales F R. **El Oxido Nítrico como Neurotransmisor y Neuromodulador.** Actas de Fisiología, 1999; 5: 39-77.
143. Jourdeuil D, Jourdeuil F L, Kutchukian P S, Musah R A, Wink D A, and M B Grisham. **Reaction of Superoxide and Nitric Oxide with Peroxynitrite implications for peroxynitrite-mediated oxidation reactions in vivo.** The Journal of Biological Chemistry. Vol. 276, No. 31
144. Rubbo H, Radi R, Anselmi D, Kirk M, Barnes S, Butler J, Eiserich J P, and Bruce A. Freeman. **Nitric Oxide Reaction with Lipid Peroxyl Radicals Spares a-Tocopherol during Lipid Peroxidation Greater oxidant protection from the pair nitric oxide/a-tocopherol than a-tocopherol/ascorbate.** The Journal of Biological Chemistry. Vol. 275, No. 15, Issue of April 14, pp. 10812–10818, 2000
145. Michaud D.S, Feskanich D, Rimm E.B, Colditz G. A, Speizer F.E, Willet W.C, Giovannucci E. **Intake of specific carotenoids and risk of lung cancer in 2 prospective US cohorts.** Am. J. Clin. Nutr. 2000. Oct, 72(4): 990-7.
146. Pompella A, Visvikis A, Paolicci A, De Tata V, Casini A. F. **The changing faces of glutathione a cellular protagonist.** Biochem. Pharmacol. 2003. Oct 15; 66(8): 1499-503. Review. PMID: 14555227.
147. Gómez L D, Noctor G, Knigh M.R, Foyer CH. **Regulation of calcium signaling and gene expression by glutathione.** J Exp. Bot 2004. Aug; 55(404): 1851-9 Epub 2004. Jul 30.
148. Bendich A, Machlin L J, Scandurra O, Burton G W, Wayner D. M. **The antioxidant role of vitamin C.** Adv. Free Radical Biol. Med 1986. 2: 419-44;
149. Traber M G, Stevens J F. **Vitamin C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective.** Free Radical Biology and Medicine. Vol. 51, issue 5, 1 September 2011, pages 1000-1013.
150. Rice-Evans C A, Miller J. M. and Paganga G. **Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolics acids.** Free Radic Biol. Med. 1996.20: 933-956
151. Teixeira S, Siquet C, Alves C, Boal I, Marquez M P, Borges F, Lima J L, Reis S. **Structure-property studies on the antioxidant activity of flavonoids present in diet.** Free Radic Biol. Med. 2005. Oct. 15; 39(8): 1099-108.
152. Brand-Williams W, Cuvelier M E, Berset C. **Use of free radical method to evaluate antioxidant activity.** Lebensm Wiss Technology 1995; 28: 25-30
153. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yong M, Rice-Evans C. **Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decoloration assay.** Free Radic. Biol. Med. 1999. May; 26(9-10): 1231-7.

154. Benzie, I F F, Strain J J. **“The ferric reducing ability of plasma. (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power” The FRAP Assay”** Analytical Biochemistry 239(1): 706 doi: 10.1006/abio.1996.02.92. PM ID.8660627.
155. Lichtenthaler R, Marx F, Kind O. **Determination of antioxidative capacities using an enhanced total oxidant scavenging capacity (TOSC) assay.** European Food Research and Technology, 2003, Volume 216, Issue 2, pp 166-173. doi 10.1007/s00217-002-0635-6.
156. Dávalos A, Gómez-Cordovés C, Bartolomé B. **Extending applicability of the oxygen radical absorbance (ORAC) assay.** J. Agric. Food Chem. 2004, 52: 48-54.
157. Lima V S M, Fonseca G M O, de Franca M J B y col. **Especies reactivas de oxígeno e de nitrógeno, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano. Principais métodos analíticos para sua determinação.** Quim. Nova, 2007. Vol. 30, No 5, 1323-1328.
158. Armstrong N, Williams J, Balding J & Kirby B. **The peak oxygen uptake of British children with reference to age, sex and sexual maturity.** European Journal of Applied Physiology. 1991; 62: 369-375.
159. Bernard Ch. **Excercise stress testing.** Branwald. E. Heart disease. 5ta ed. 1997. USA: Sanders.
160. Astrand PO, Rodahl K. **Fisiología del trabajo físico. Bases fisiológicas del ejercicio.** 1996 3ª. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina.
161. Wasserman K. **Principle of Exercise Testing and Interpretation.** 1999. 3a Ed. Lippincott Williams & Willkens.
162. Arós F, Boraita A, Alegria E, Alonso A M, Bardaji A. y col. **Guía de práctica clínica de la Sociedad Española de Cardiología en pruebas de esfuerzo.** Rev. Esp. Cardiol. 2000; 53: 1063-94. Vol. 5 N° 8.
163. Mc Ardle W D, Katch F I and Katch V I. **Excercise Physiology: Energy, Nutrition and Human Performance.** 2001 5ta ed. Baltimore; Lippincott Willams & Wilkens.
164. Morehouse L E, Miller A T. **Fisiología del ejercicio.** 1975. Buenos Aires. Edit. Atenea (100-107).
165. Gettman, L. R. **“Fitness testing”.** En: ACSM (editor). Resource Manual for Guidelines for Excercise Testing and Prescription. 2da. Ed. 1993. Philadelphia: Lea & Febiger. Pags. 229-257.
166. Aguilar L A. **Avances en Neurociencias del Sueño.** Universidad Femenina del Sagrado Corazón (UNIFE). Simposio. 2012. (3): 83-104.
167. Jonides J, Lewis R L, Evans N D, Lustig C A, Berman M G, and Sledge M K. **The mind and Brain of short-term Memory.** Annu Rev Psychol. 2008; 59: 193-224. doi: 10.1146/annurev.psych.59.103006.093615.
168. Delis D C. y Kramer J H. **Advances in the neuropsychological assessment of memory disorders.** In F. Boller y J. Grafman (Eds.), Handbook of Neuropsychology. Amsterdam: Elsevier Science Publishers. 2000 2nd ed. Vol. 2, pp. 25-47.
169. Rey A. **L examen clinique en psychologie.** Paris. Presses Universitaires de France; 1958.

170. Jardim J, Marques D, Nicolato R, Nunes E, Camargos M, Fernandes L. **Verbal learning on depressive pseudodementia: accentuate impairment of free recall, moderate on learning processes, and spared short-term and recognition memory.** *Arq Neuropsiquiatr* 2013; 71(9-A): 596-599 doi: 10.1590/0004-282X20130102.
171. Poreh A, Sultan A and Levin J. **The Ray Auditory Verbal Learning Test: Normative data for the Arabic-speaking populations and analysis for the differential influence of demographic variables.** *Psychology & Neuroscience*, 2015; 5, 1: 57 – 61. doi: 10: 3922/j. psns2012.1.08.
172. FDA. IND [Investigational new drug application] **Phases of an investigation.** Title 21, Vol 5, Code of Federal Regulations 312.21. Washington: U.S. Government Printing Office, via GPO Access (cite 21CFR312.21]:2012Apr1. Available: www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=312.21 (accessed 2012 Nov 13). 95 pp.
173. Likert, Rensis. **A Technique for the Measurement of Attitudes.** *Archives of Psychology* (1932)140: 1–55.
174. Aebi H. **Catalase Assay** *Methods of Enzymatic Analysis*. CEIME.1974: 673-78
175. Miranda K M, Espey M G, Wink D A, 2001. **A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite.** *Nitric Oxide* 5 (1), 62–71.
176. Reagan-Shaw S, Nihal M and Ahmad N. **Dose translation from animal to human studies revisited.** *The FASEB Journal* 2007; Vol. 22:659-661.
177. Ware JE Jr, Sherbourne CD. **(SF-36) (I) The MOS 36-item short-form health survey conceptual framework and item selection.** *Med Care*1992; 30:473-83
178. Alonso J, Prieto L, Anto J M. **La versión española del SF 36 Health Survey (Cuestionario de salud SF 36): un instrumento para la medida de los resultados clínicos.** *Med. Clin (Barc)*. 1995; 104: 771-6.
179. STATA version 10 **Paquete estadístico** (Stata Corporation, 4905 Lakeway Drive, College Station, TX 77845, USA).
180. Abdi Hervé. **Holm Sequential Bonferroni Procedure.** In Nail Salkind (Ed.), *Encyclopedia of Research Design*. Thousand Oaks, CA Sage.2010
181. Daniels W. **Bioestadística.** 4ta Edición. Editorial Limusa SA de CV. Mexico, 2004. 755 pags.
182. Ghawi S K, Shen Y, Niranjana K, Methyen L. **Consumer acceptability and sensory profile of cooked broccoli with mustard seeds added to improve chemoprotective properties.** *J Food Sci.* 2014 Sep; 79 (9): S1756-62. doi: 10.1111/1750-3841.12556. Epub 2014 Aug 25.
183. Lund E. **Non-nutritive bioactive constituents of plants: dietary sources and health benefits of glucosinolates.** *Int J Vitam Nutr Res.*2003; 73 (2):135-43
184. Silva E, Gerritsen L, Dekker M, van der Linden E, Scholten E. **High amounts of broccoli in pasta-like products: nutritional evaluation and sensory acceptability.** *Food Funct.* 2013;4 (11): 1700-8. doi: 10.1039 /c3fo 00012e.
185. Briançon S, Boini S, Bertrais S, Guillemin F, Galan P and S. Herberg. **Long term antioxidant supplementation has no effect on health related quality of life: The randomized, double blind, placebo – controlled, primary prevention SU.V.MAX trial.** *International Journal of Epidemiology* 2011; 40: 1605-1616. doi: 10.1093/ije/dyr161

186. Fracassetti D, Costa C, Moulay L, Tomás-Barberán F A. **Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu camu fruit (*Myrciaria dubia*)**. Food Chemistry 139 (213):578-588.
187. Akter S, Sejong O, Jong-Bang E, Maruf A. **Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu camu (*Myrciaria dubia*) fruit: A review**. Food Research International 44 (2011) 1728 – 1732.
188. Reynertson K A, Yang H, Jiang B, Basile M J, & Kenelly E J. **Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits**. Food Chemistry 2008; 109 (4) 883-890.
189. Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration. **Effects of different regimens to lower blood pressure on major cardiovascular events in older and younger adults: meta-analysis of randomised trials**. BMJ 2008; 336:1121 doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.39548.738368.BE> (Published 15 May 2008)
190. Buys E. and Sips P. **New Insights into the Role of Soluble Guanylate Cyclase in Blood Pressure Regulation**. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2014 March; 23(2): 135–142. doi: 10.1097/01.mnh.0000441048.91041.3a
191. Lundberg J O, Weitzberg E, Gladwin M T. **The nitrate – nitrite – nitric oxide pathway in physiology and therapeutics**. Nat. Rev. Drug Discov. 7(2008) 156-167.
192. Castañeda B, Castro de la Mata R, Manrique R, Ibañez. **Efectos metabólicos de *Lepidium meyenii*. Walpers, “MACA” y *Lupinus mutabilis* Sweet, “Chocho” en ratas**. Rev. Horizonte Médico Vol.7. N°1, 2007: 32 – 38.
193. Córdova G, A. V. **Efecto del *Lepidium meyenii* (Maca) sobre los niveles hormonales de varones sanos**. UPOCH.Tesis Magister Fisiología 2003. p.71.
194. Tryon M S, Stanhope K L, Epel E L, Mason A E, Brown R, Medici V, Havel P J, and K D Laugero. **Excessive Sugar Consumption May Be a Difficult Habit to Break: A View from the Brain and Body**. Journal of Quimical Endocrinology & Metabolism. 2014 Vol 100 Issue 6 DOI: <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2014-4353>
195. Andersen S, Pedersen KM, Bruun NH, Laurberg P. **Narrow individual variations in serum T(4) and T(3) in normal subjects: a clue to the understanding of subclinical thyroid disease**. J Clin Endocrinol Metab. 2002 Mar; 87(3):1068-72.
196. Engels H-J, Wirth JC. **No Ergogenic Effects of Ginseng (*Panax Ginseng* C.A. Meyer) during Graded Maximal Aerobic Exercise**. Journal of the American Dietetic Association. 1997. Volume 97, Issue 10, 1110–1115.
197. Kulaputana O, Thanakomsirichot S, Anomasiri W. **Ginseng supplementation does not change lactate threshold and physical performances in physically active Thai men**. J Med Assoc Thai. 2007 Jun; 90(6):1172-9
198. Bucci LR. **Selected herbals and human exercise performance**. Am J Clin Nutr. 2000 Aug;72(2 Suppl):624S-36S
199. Stevenson N R. **Active transport of L – Ascorbic acid in the human ileon**. Gastroenterology 1974, 67: 952-6.

200. Dassprakash M V, Arun R, Abraham S K, Premkumar K. **In vitro and in vivo evaluation of antioxidant and antigenotoxic potential of Punica granatum leaf extract.** Pharm Biol. 2012 Dec; 50(12):1523-30. doi: 10.3109/13880209.2012.689771. Epub 2012 Sep 11.
201. Moukette B M, Pieme C A, Njimou J R, Biapa C P N, Marco B and J Y Ngogang. **In vitro antioxidant properties, free radicals scavenging activities of extracts and polyphenol composition of a non-timber forest product used as spice: *Monodora myristica*.** Biol Res. 2015; 48(1): 15. Published online 2015 Mar 14. doi: 10.1186/s40659-015-0003-1
202. Nabavi SF, Huige L, Daglia M, Nabavi SM. **Resveratrol and stroke: from chemistry to medicine.** Curr Neurovasc Res. 2014; 11(4):390-7.
203. Quillon A, Fromy B, Debret R. **Endothelium microenvironment sensing leading to nitric oxide mediated vasodilation: A review of nervous and biomechanical signals.** Nitric Oxide. 2015 Feb 15; 45:20-2.
204. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, and Kuldeep Dhama. **Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay.** BioMed Research International Volume 2014, Article ID 761264, 19 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/761264>
205. Lu Miao and Daret K. St. Clair, **Regulation of Superoxide Dismutase Genes: Implications in Diseases.** Free Radic Biol Med 2009; 47(4):344–56
206. Mohammadi H S, Goudarzi I, Lashkarbolouki T, Abrari K, Salmani M E. **Chronic administration of quercetin prevent spatial learning and memory deficits provoked by chronic stress in rats.** Behavioural Brain Research 2014. Vol 270: 196-205
207. Schültke E, Kendall E, Kamencic H, Ghong Z, Griebel R W, and Juurlink B H. **Quercetin promotes functional recovery following a cut espinal cord injury.** J. Neurotrauma 20, 583 591. doi:10. 1089/ 0897 71503 767 168500.
208. Coveñas R, Aguilar LA. **Avances en Neurociencias: Neuropéptidos – Investigación básica y clínica.** Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC). Perú.2010: 206-217.
209. Rice M.E. **Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain.** Trends Neurosci. 2000: 23, 209-216.
210. Kumar RS, Narayanan SN, Nayac S. **Ascorbic acid protectst against restraint stress-induced memory déficits in wistar rats.** CLINICS (Sao Paulo) 2009; 64 (12): 1211 – 7.
211. Goodwin, J.S.; Goodwin, J.M.; Garry, P.J. **Association between nutritional status and cognitive functioning in a healthy elderly population.** JAMA 1983, 249, 2917–2921
212. Rendeiro C, Guerreiro JD, Williams CM and Spencer JP. **Flavonoids as modulators of memory and learning: molecular interactions resulting in behavioural effects.** Proc. Nutr. Soc. 2012. 71, 246-262. doi: 10.1071/S0029665112000146.

ANEXOS

Anexo 1: Cuestionario de Salud

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFIA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

CUESTIONARIO DE SALUD

Código: _____

Marque una sola respuesta:

1. En general usted diría que su salud es:
 - 1). Mala
 - 2). Regular
 - 3) Buena
 - 4) Excelente
2. ¿Hoy en día cómo diría que es su salud, comparada con la de hace un año?
 - 1) Peor, ahora que hace un año
 - 2) Igual, que hace un año
 - 3) Mejor, ahora que hace un año

ACTIVIDADES QUE USTED PODRÍA HACER EN UN DÍA NORMAL

3. Su salud actual ¿Le limita para hacer esfuerzos intensos, como correr, levantar objetos pesados, actividades fuertes o participar en deportes agotadores? **Nota: si responde la opción 3, debe pasar a la pregunta 8**
 - 1) Me limita mucho ()
 - 2) Me limita un poco ()
 - 3) No me limita nada ()
4. Su salud actual. ¿Le limita para hacer esfuerzos moderados, como actividades moderadas, mover una mesa, barrer la casa, o caminar más de una hora o un kilómetro o más?
 - 1) Me limita mucho ()
 - 2) Me limita un poco ()
 - 3) No me limita nada ()

5. Su salud actual. ¿le limita para coger o llevar las bolsas de las compras del mercado o caminar 100 metros (una cuadra)?
- 1) Me limita mucho ()
 - 2) Me limita un poco ()
 - 3) No me limita nada ()
6. Su salud actual. ¿le limita para subir escaleras?
- 1) Me limita mucho ()
 - 2) Me limita un poco ()
 - 3) No me limita nada ()
7. Su salud actual. ¿le limita para agacharse, arrodillarse, bañarse o vestirse?
- 1) Me limita mucho ()
 - 2) Me limita un poco ()
 - 3) No me limita nada ()

PROBLEMAS EN SU TRABAJO O SUS ACTIVIDADES COTIDIANAS

8. Durante las 4 últimas semanas:

¿Tuvo que reducir el tiempo y/o tuvo dificultades para realizar sus actividades diarias a causa de su salud física?.

- 1) No ()
- 1) Si ()

9. Durante las 4 últimas semanas:

¿Tuvo que reducir el tiempo y/o tuvo dificultades para realizar sus actividades diarias debido a causas de problemas emocionales / estar triste, deprimido o nervioso)

- 2) No ()
- 1) Si ()

10. ¿Sintió dolor en alguna parte de su cuerpo durante las 4 últimas semanas?

- 2) No ()
- 1) Si ()

Donde.....

11. Durante las 4 últimas semanas. ¿hasta qué punto el dolor le ha dificultado su trabajo habitual (incluido el trabajo fuera de casa y las tareas domésticas)?

3) No me ha dificultado nada ()

2) Me ha dificultado moderadamente ()

1) Me ha dificultado demasiado ()

LAS PREGUNTAS QUE SIGUEN SE REFIEREN A CÓMO SE HA SENTIDO Y CÓMO LE HAN IDO LAS COSAS DURANTE LAS 4 ÚLTIMAS SEMANAS.

EN CADA PREGUNTA RESPONDA LO QUE SE PAREZCA MÁS A COMO SE HA SENTIDO USTED

12. Durante las 4 últimas semanas ¿cuánto tiempo se sintió lleno de energía?

1) Nunca ()

2) Algunas veces ()

3) Muchas veces ()

4) Siempre ()

13. Durante las 4 últimas semanas. ¿Cuánto tiempo estuvo muy nervioso?

1) Siempre ()

2) Muchas veces ()

3) Algunas veces ()

4) Nunca ()

14. Durante las 4 últimas semanas ¿Con que frecuencia se siente desanimado y triste?

1) Siempre ()

2) Muchas veces ()

3) Algunas veces ()

4) Nunca ()

15. Durante las 4 últimas semanas ¿cuánto tiempo se sintió calmado y tranquilo?

1) Nunca ()

2) Algunas veces ()

3) Muchas veces ()

4) Siempre ()

16. Durante las 4 últimas semanas ¿cuánto tiempo se sintió agotado, cansado?

- 1) Siempre ()
- 2) Muchas veces ()
- 3) Algunas veces ()
- 4) Nunca ()

17. Durante las 4 últimas semanas ¿cuánto tiempo se sintió feliz?

- 1) Nunca ()
- 2) Algunas veces ()
- 3) Muchas veces ()
- 4) Siempre ()

POR FAVOR DIGA SI LE PARECE CIERTA O FALSA CADA UNA DE LAS SIGUIENTES FRASES.

18. Creo que me enfermo muy fácilmente

- 1) Si es cierto. ()
- 2) No es cierto ()

19. Esta usted tan sano como cualquiera

- 1) No es cierto ()
- 2) Si es cierto ()

20. Creo que mi salud va a empeorar

- 1) Si es cierto ()
- 2) No es cierto ()

Anexo 2: Test de likert.



Proyecto: “Evaluación metabólica y efecto antioxidante de Camucamu y Maca como nutraceuticos en estudiantes de 18 a 25 años de la Amazonía Peruana”

Test de Likert

Código que le fué asignado en el estudio:

¿Cuando Ud. ingirió su refresco con el nutraceutico, qué le pareció el sabor?

- a) Extremadamente desagradable []
- b) Desagradable []
- c) Ni agradable, ni desagradable []
- d) Agradable []
- e) Extremadamente agradable []

Muchas gracias.

Blga. Janeth Braga Vela
Responsable del Proyecto
UNAP

Dr. Gustavo F. Gonzales R
Investigador Asesor
UPCH

Anexo 3: Ficha de registro y evaluación de rendimiento físico.

UPCH

UNAP

FICHA PARA REGISTRO Y EVALUACIÓN DE RENDIMIENTO FÍSICO

Nombre:

Edad:

Sexo:

Fecha y Lugar de nacimiento:

Facultad:

Escuela:

Peso:

Estatura:

Pliegue subcutáneo braquial:

Temperatura ambiental:

Temperatura Corporal:

PRUEBA DE ESFUERZO FÍSICO SUBMÁXIMO

Fecha y hora de la prueba:

INICIO.

Tiempo: 0.0

Carga (Watts): 0.0

Presión Arterial PS S/D (mmHg):

Saturación arterial de Oxígeno (%):

Frecuencia Cardiaca (latidos/min):

FINAL.

Tiempo:

Carga (Watts):

Presión Arterial PS S/D (mm Hg):

Saturación de P de Oxígeno (%):

Frecuencia Cardiaca (latidos/min):

Observaciones:.....
.....

PRUEBA DE ESFUERZO FÍSICO SUB MÁXIMO

- Nombre: Fecha 21/12 Hora: 11.am
- Edad: 18años Peso: 54 Kg FCMT: 202 FCMT (50%): **101**

Tiempo	Saturación arterial O2 (%)	Frecuencia Cardíaca (latidos /min)	Presión arterial S/D (mmHg)
Lectura 1	98	91	114/70
Lectura 2	98	91	112/70
0:00:00	98	91	112/70
0:01:00	98	91	112/70
0:02:00	98	92	112/70
0:03:00	98	101	112/70
0:04:00	98	107	112/70
.....			
0:10:00			

FCMT = Frecuencia cardíaca máxima teórica (220-edad).
Velocidad prueba: 3 Km/hora

Anexo 4: Prueba de memoria auditiva.

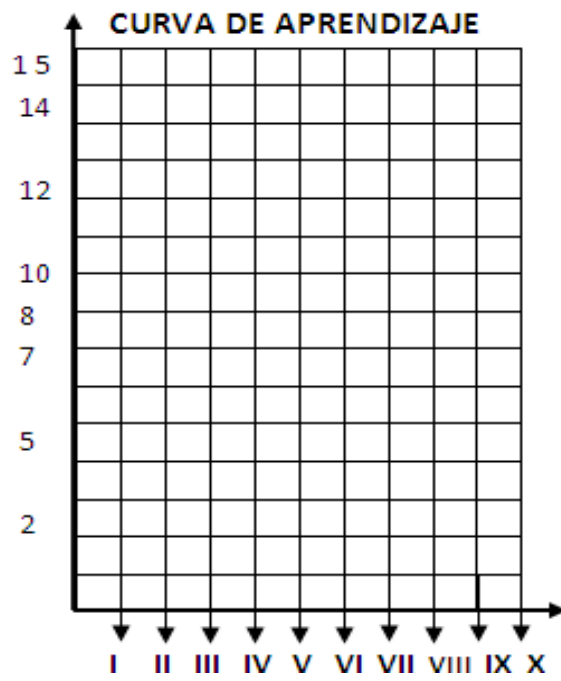
PRUEBA DE MEMORIA AUDITIVA (Palabras de Rey)

Aplicación:

Quince palabras comunes que son leídas diez veces al examinado, siguiéndose una evocación a cada lectura. Al final de la prueba se lee una historia que contiene todas las palabras presentadas en la lista. Estas deben ser reconocidas por el sujeto. Se estudia el número de palabras repetidas en cada evocación y se traza una curva de aprendizaje.

Se valora también el número de lecturas necesarias para aprender la lista completa y del número de palabras evocadas correctamente

Memorización de serie de quince palabras en diez repeticiones										
Palabras \ Ensayos	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1. MESA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1. LECCIÓN		2	2	2	2	2	2	2	2	2
1. VIDA	2		3	3	3	3	4	3	3	3
1. CLASE	4	3	4	4	4	4	3	4	4	4
1. LLAMAS						5	5	5		
1. PASTOR	3	4	5	5	5	6	6	6	5	5
1. GORRIÓN	5	7	7	6	6	7	7	7	6	6
1. TORRE		5		7	7				7	11
1. PUENTE	6		6			8	8	8	8	7
1. BARCO		6	8	8	8	9	9	9	9	8
1. GAFAS								10		
1. PIPA		8	9	9	9	10	10	12	10	9
1. GORRA	7							11	11	10
1. PATIO		9	10	10	10	11	11			
1. PECES									12	12
TOTAL	7	9	10	10	10	11	11	12	12	12



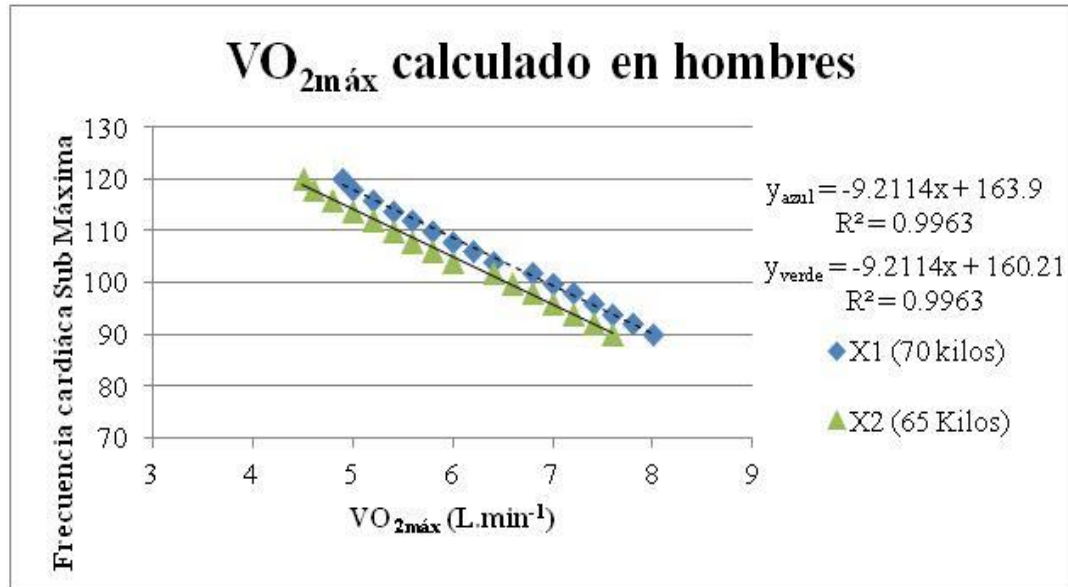
Observaciones:

Alpha de Cronbach: 0.91

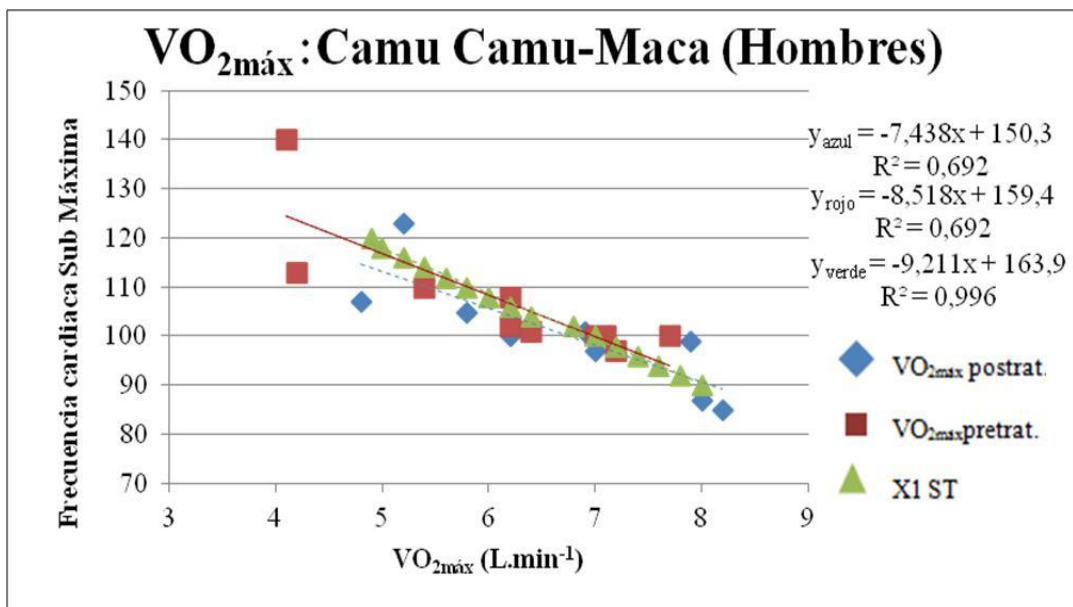
POTENCIA DE LA PRUEBA

Anexo 6: Gráfica de Frecuencia cardíaca submáxima y $VO_{2\text{máx}}$

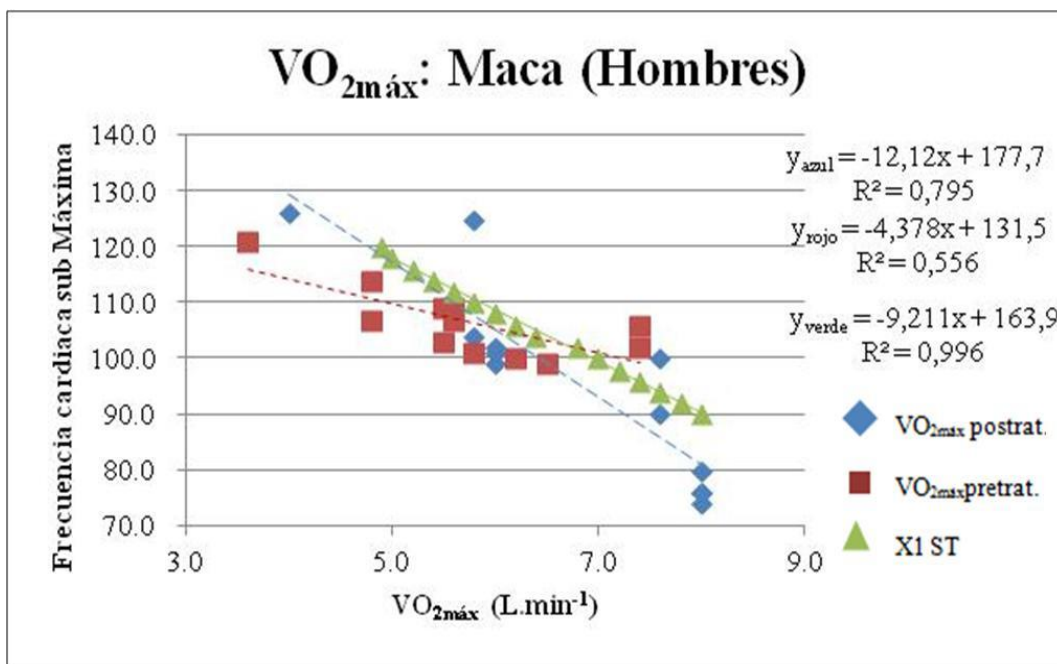
Gráficos de $VO_{2\text{máx}}$ y frecuencia cardíaca sub máxima estándar y comparado con los resultados antes y después del tratamiento por grupos.



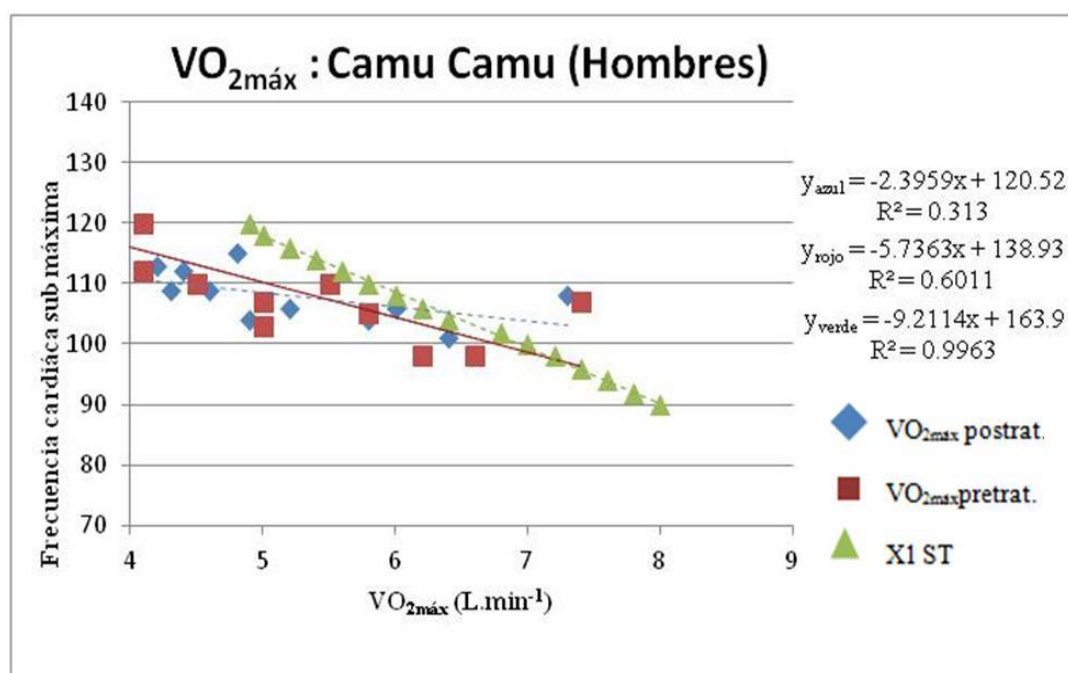
Gráfica 01. Frecuencia Cardíaca Sub máxima vs $VO_{2\text{máx}}$ calculado y ajustado según el Nomograma de Astrand para un sujeto de 70 (azul) y 65 kilos (verde).



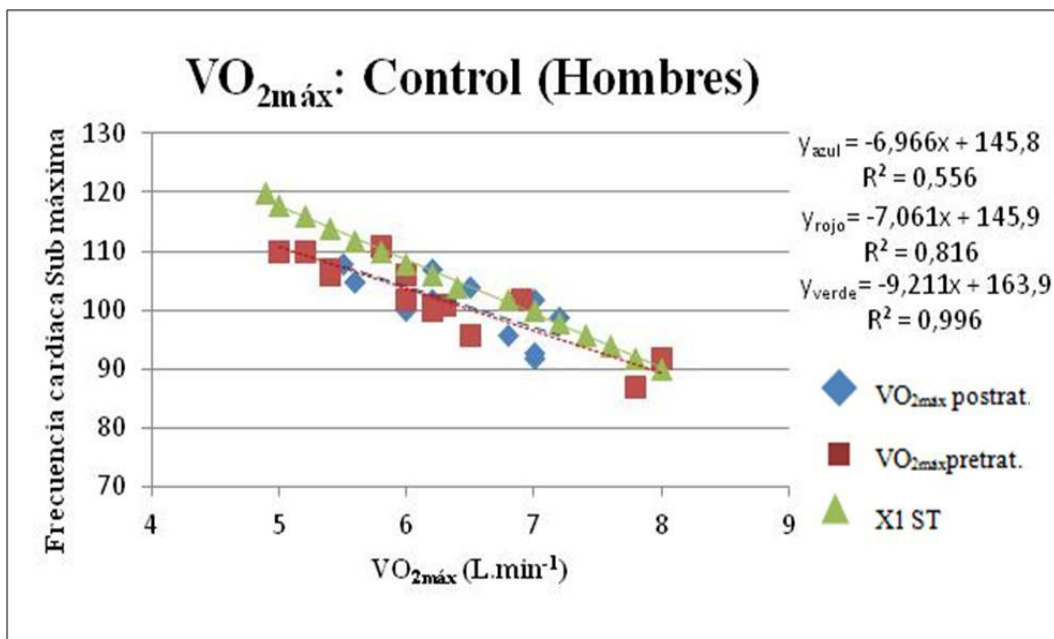
Gráfica 02. Frecuencia Cardíaca sub máxima vs $VO_{2\text{máx}}$ calculado para sujetos en pre (rojo) y post tratamiento (azul) del extracto combinado de camu camu – maca. Comparación con el valor de $VO_{2\text{máx}}$ estándar (ST verde) del nomograma de Astrand.



Gráfica 03. Frecuencia Cardiaca Sub máxima vs VO_{2máx} calculado para sujetos en pre (rojo) y post tratamiento (azul) del extracto de Maca. Comparación con el valor de VO_{2máx} estándar (ST verde) del Nomograma de Astrand.



Gráfica 04. Frecuencia cardiaca sub máxima vs VO_{2máx} calculado para sujetos en pre (rojo) y post tratamiento (azul) del grupo camu camu. Comparación con el valor de VO_{2máx} estándar (ST verde) del nomograma de Astrand.



Gráfica 05. Frecuencia cardiaca sub máxima vs VO_{2máx} calculado para sujetos en pre (rojo) y post tratamiento (azul) del grupo control (placebo). Comparación con el valor de VO_{2máx} estándar (ST verde) del nomograma de Astrand.

Anexo 7: Composición nutricional de camu camu.

	ZAPATA 1993 (Iquitos)			JUSTI 2000 Paraná-Br g/100g pulpa	YUYAMA 2003* Uatumá-B mg/100 g pulpa	REYES 2009 Fruto Perú g/100 g	COLLAZOS 1957 Fruto g/100g Iquitos-Perú
	Fruto verde mg/100g	Fruto pintón mg/100g	Fruto maduro mg/100g				
Energía						24 Kcal	16 Kcal
Agua				94.1 ± 0.1		93.3	93.3
Proteínas				0.4 ± 0.0		0.5	0.5
Grasa total				0.2 ± 0.0		0.1	
Carbohidratos Total				3.5		5.9	
Carbohidratos disp.						5.9	4.0
Fibra cruda				0.1 ± 0.0		0.4	0.5
Cenizas				0.3 ± 0.0		0.2	0.2
Tiamina						0.01mg/ 100g	0.01mg/ 100g
Riboflavina						0.04	0.04
Niacina						0.61	0.61
Alanina	1.7	2.8	3.4				
Fenilalanina	1.7	2.2	4.3				
Treonina	2.0	2.8	3.6				
Serina	29.9	37.1	63.7				
Valina	9.9	16.8	31.6				
Leucina	9.0	13.2	28.9				
Glutamato	8.8	10.0	11.9				
4 Aminobutanoato	7.1	9.3	10.8				
Prolina	4.3	5.3	8.2				
K	53.2	60.0	71.1	83.8 ± 3.6 mg/100g	94.7 ± 49.4		
Ca (mg/100 g)	6.6	6.2	6.5	15.73 ± 4.4	8.3 ± 2.3	28	28
Na	4.9	4.4	2.7	11.13 ± 0.43	0.19 ± 0.13		
Fe (mg/100 g)	0.13	0.18	0.18	0.53 ± 0.04	0.44 ± 0.24	0.5	0.5
Cl	7.7	6.6	11.6				
Zn	0.13	0.12	0.13	0.36 ± 0.01	0.24 ± 0.23		
Se					4.29 ± 8.7 x10 ⁻³		
Br					20.5 ± 6.5 x10 ⁻³		
Co				0.01 ± 0.0	1.36 ± 1.1		
Cr				nd	15.1 ± 4.8 x10 ⁻³		
Mo					3.6 ± 2.6 x 10 ⁻³		
P						15 mg/100g	15 mg/100g
P04	24.5	25.6	29.5				
S04	21.9	16.3	13.2				
Mg	4.7	4.7	5.1	12.38 ± 0.87			
Ce					0.53 ± 0.27 x10 ⁻³		
Mn	0.14	0.14	0.21	2.11 ± 0.11			
Cu	0.05	0.07	0.08	0.2 ± 0.02			
METODO de ANÁLISIS Micronutrientes	HPLC-Espectro. Abs. Atom.			Espectrom. Abs. Atóm.	AANI	AOAC	AOAC

Anexo 08. Composición nutricional de la maca (Carhuamayo-Junín)

Determinación	Amarilla	Roja	Negra
Humedad (g%)	9.71	10.14	10.47
Proteína total	17.92	17.22	16.31
Proteína pura (Np x 6.25)	8.25	9.97	7.7
Nitrógeno Total	2.87	2.76	2.42
Nitrógeno No proteico	1.55	1.16	1.36
Grasa	0.82	0.91	0.82
Carbohidratos(por diferencia)	62.69	62.60	63.82
Almidón	37.86	37.52	38.18
Azúcares solubles Reductores Directos	6.17	6.03	7.02
Azúcares solubles Reductores Indirectos	16.52	17.26	17.10
Fibra	5.30	5.45	4.95
Cenizas	3.49	3.68	3.63
Vitaminas (mg%)			
Niacina	43.03	37.27	39.06
Acido Ascórbico	3.52	3.01	2.05
Riboflavina	0.61	0.50	0.76
Tiamina	0.42	0.52	0.43
Sales Minerales (mg%)			
Potasio	1130	1160	1000
Sodio	20	20	40
Magnesio	70	80	80
Calcio	190	200	240
Fósforo	320	290	280
Oligoelementos (ppm)			
Cobre	6	6	8
Zinc	32	30	30
Manganeso	22	20	22
Fierro	80	62	86
Boro	12	24	26

Yllesca, 1994