

**UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA**  
**FACULTAD DE CIENCIA Y FILOSOFÍA**  
**“ALBERTO CAZORLA TALLERI”**



**“EFECTO DEL TRATAMIENTO CON TRES DIFERENTES DOSIS  
DE MACA NEGRA Y METFORMINA EN RATAS MACHOS CON  
DIABETES INDUCIDA CON NICOTINAMIDA-  
ESTREPTOZOTOCINA”**

**CARMEN OLGA ISABEL MALDONADO MATOS**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE  
LICENCIADA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN BIOLOGÍA**

**Lima- Perú**  
**2015**

**ASESOR:**

**DR. GUSTAVO F. GONZÁLES RENGIFO**

**JURADO CALIFICADOR:**

**Presidente : DR. JOSÉ ALIAGA ARAUCO**

**Secretario : DRA. CARLA GONZALES ARIMBORGO**

**Vocal : M. SC. LUIS ROSSI MAYO**

## DEDICATORIA

*Este trabajo es dedicado a mis padres Roberto y Carmen, que me enseñaron lo que significa esforzarse para alcanzar toda meta trazada y a mi abuelita Isabel por enseñarme que todo es posible alcanzar cuando uno se lo propone.*

## **AGRADECIMIENTO**

*Mi agradecimiento especial al Dr. Gustavo Gonzales y al personal del laboratorio de Endocrinología y Reproducción de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por su colaboración y apoyo en la elaboración de esta tesis.*

## RESUMEN

La maca es una planta de los Andes Central del Perú; cuyo consumo genera efectos positivos en el organismo con un posible efecto en el metabolismo lipídico. La diabetes es una enfermedad metabólica con resistencia a la insulina que conlleva a alteraciones en el metabolismo de la glucosa y de los lípidos. La investigación propuso estudiar el efecto de tres diferentes dosis de maca negra (10mg, 50mg, 250mg por kilo) en ratas machos de 3 meses de edad (Wistar) y se esperó tener efectos benéficos sobre la hiperglicemia e hiperlipidemia generada por la diabetes. Se dividieron en grupo diabético y en grupo control; se conformaron 5 subgrupos en cada grupo, los cuales fueron maca1 (10mg), maca2 (50mg), maca3 (250mg), vehículo (agua) y metformina (300mg/kg de peso). Se les indujo diabetes con una dosis de nicotinamida (120mg/kg) y estreptozotocina (50mg/0,1M de buffer citrato) y se inició los diferentes tratamientos una semana después de confirmada la diabetes en el grupo diabético (glucemia  $\geq 250$ mg/dl). Los resultados, muestran que la maca negra (50mg/kg) tiene un efecto similar a la metformina, disminuyendo la glucosa en el grupo diabético. La maca negra (250mg/kg) disminuyó los niveles de LDL, y se encontró que los niveles de HDL fueron similares a ambos grupos.

## ABSTRACT

Maca is a plant of the Central Andes of Peru; whose consumption has positive effects on the body with a possible effect on lipid metabolism. Diabetes is a metabolic disease with insulin resistance that leads to alterations in the metabolism of glucose and lipids. The research aimed to study the effect of three different doses of black maca (10mg, 50mg, 250mg per kilo) in male rats of 3 months old (Wistar) and is expected to have beneficial effects on hyperglycemia and hyperlipidemia generated by diabetes. They were divided into diabetic group and control group; 5 subgroups were formed within each group, which were maca1 (10mg), maca2 (50mg), maca3 (250mg), vehicle (water) and metformin (300mg / kg). Diabetes was induced with a dose of nicotinamide (120mg / kg) and streptozotocin (50mg / 0.1M citrate buffer) and different treatments began one week after the diabetes was confirmed in the diabetic group (glucose  $\geq$ 250mg / dl). The results show that black maca (50mg / kg) has a similar effect to metformin, lowering glucose in the diabetic group. Black maca (250mg / kg) decreased the levels of LDL and found that HDL levels were similar to both groups.

## INDICE

		Pag.
	RESUMEN.....	iv
	ABSTRACT.....	v
	INDICE.....	vi
I	INTRODUCCIÓN.....	1
II	HIPOTESIS.....	5
	2.1. Objetivos.....	5
	2.1.1. Objetivo General.....	5
	2.1.2. Objetivos Especificos.....	5
III	MARCO TEORICO.....	7
	3.1. <i>Lepidium meyenii</i> (Maca).....	7
	3.2. Diabetes Mellitus.....	8
	3.3. Modelos Animales en investigación de Diabetes Mellitus.....	15
IV	MATERIALES Y METODOS.....	20
	4.1. Tipo de Investigación.....	20
	4.2. Diseño de Investigación.....	20
	4.3. Población del Estudio.....	21
	4.4. Tratamientos.....	22
	4.4.1. Preparación de los Tratamientos.....	23
	4.4.1.1. Tratamiento con Maca Negra.....	23
	4.4.1.2. Tratamiento con Metformina.....	25
	4.5. Inducción De La Diabetes.....	26
	4.5.1. Preparación de dosificación para la inducción de diabetes.....	27
	4.6. Mediciones Realizadas.....	28
	4.6.1. Medición de la glucosa.....	28

4.6.2.	Mediciones Lipídicas.....	28
4.6.3.	Medición del peso del animal.....	28
4.6.4.	Medición de Peso de órganos.....	29
4.7.	Recolección de la Muestra.....	29
4.8.	Procesamiento de Datos.....	29
V.	RESULTADOS.....	31
5.1.	Niveles de Glucosa en el Grupo Diabético Inducido con Nicotinamida/Estreptozotocina y Grupo Control.....	31
5.2.	Niveles de Colesterol en el Grupo Control y Grupo diabético Inducido con Nicotinamida/Estreptozotocina.....	35
5.3.	Niveles de Triglicéridos en el Grupo Control y Grupo Diabético Inducido con Nicotinamida/Estreptozotocina.....	36
5.4.	Niveles de HDL en el Grupo Control y Grupo Diabético Inducido con Nicotinamida/Estreptozotocina.....	38
5.5.	Niveles de LDL en el Grupo Control y Grupo Diabético Inducido con Nicotinamida/Estreptozotocina.....	40
5.6.	Niveles de VLDL en el Grupo Diabético Inducido con Nicotinamida/Estreptozotocina y el Grupo Control.....	43
5.7.	Peso en el Grupo Control y Grupo Diabético inducido con Nicotinamida/Estreptozotocina.....	44
5.8.	Peso del Hígado en el Grupo Control y Grupo Diabético Inducido con Nicotinamida/Estreptozotocina.....	47
5.9.	Peso de Riñones en el Grupo Control y Grupo Diabético Inducido con Nicotinamida/Estreptozotocina.....	49
5.10.	Cambios Morfológicos en Ratas Machos con Diabetes Inducida con Nicotinamida/Estreptozotocina.....	51
VI.	DISCUSION.....	54
VII.	CONCLUSIONES.....	62
VIII.	RECOMENDACIONES.....	64
IX.	BIBLIOGRAFÍA.....	66



## LISTA DE TABLAS

**Tabla 01:** Diseño de Investigación

**Tabla 02:** Tabla de Tratamientos

**Tabla 03:** Glucosa (mg/dl) en ratas adultas machos sanas-Grupo Control

**Tabla 04:** Glucosa (mg/dl) en ratas adultas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina. Grupo Diabético

**Tabla 05:** Colesterol (mg/dl) en ratas adultas machos sanos y ratas adultas con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina.

**Tabla 06:** Triglicéridos (mg/dl) en ratas adultas machos sanos y ratas adultas con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

**Tabla 07:** HDL (mg/dl) en ratas adultas machos sanos y ratas adultas con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

**Tabla 08:** LDL (mg/dl) en ratas adultas machos sanos y ratas adultas con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

**Tabla 09:** VLDL (mg/dl) en ratas adultas machos sanos y ratas adultas con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

**Tabla 10:** Peso (g) en ratas adultas machos sanos. Grupo Control

**Tabla 11:** Peso (g) en ratas adultas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina Grupo diabético

**Tabla 12:** Peso del Hígado (g) en ratas adultas machos sanos y ratas adultas con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

**Tabla 13:** Peso de Riñones (g) en ratas adultas machos sanos y ratas adultas con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

## LISTA DE GRAFICOS

**Gráfico 01:** Glucosa (mg/dl) en ratas adultas machos sanas. Grupo Control

**Gráfico 02:** Glucosa (mg/dl) en ratas adultas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina. Grupo Diabético

**Gráfico 03:** Colesterol (mg/dl) en ratas adultas machos sanos y ratas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

**Gráfico 04:** Triglicéridos (mg/dl) en ratas adultas machos sanos y ratas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

**Gráfico 05:** HDL (mg/dl) en ratas adultas machos sanos y ratas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

**Gráfico 06:** LDL (mg/dl) en ratas adultas machos sanos y ratas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

**Gráfico 07:** VLDL (mg/dl) en ratas adultas machos sanos y ratas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

**Gráfico 08:** Peso (g) en ratas adultas machos sanos. Grupo control

**Gráfico 09:** Peso (g) en ratas adultas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

**Gráfico 10:** Peso del Hígado (g) en ratas adultas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

**Gráfico 11:** Peso de Riñones (g) en ratas adultas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina.

**Gráfico 12:** Rata macho del grupo diabético (subgrupo vehículo)

**Gráfico 13:** Rata macho del grupo diabético (grupo maca negra 1 (10mg))

**Gráfico 14:** Rata macho del grupo diabético (grupo sub-vehículo)

## ABREVIATURAS

<b>STZ</b>	: Estreptozotocina
<b>HCL</b>	: Ácido Clorhídrico
<b>COLTOTAL</b>	: Colesterol Total
<b>HDL</b>	: High Density Lipoprotein
<b>LDL</b>	: Low Density Lipoprotein
<b>VLDL</b>	: Very-Low-Density Lipoprotein
<b>GLU</b>	: Glucosa
<b>MN1</b>	: Maca Negra 1 (10mg)
<b>MN2</b>	: Maca Negra 2 (50mg)
<b>MN3</b>	: Maca Negra 3 (250mg)

## I. INTRODUCCION

El interés por la medicina natural se ha incrementado a lo largo de los años; ya que muchas plantas han demostrado tener un efecto beneficioso para el hombre; una de ellas es la planta *Lepidium meyenii* comúnmente conocida como MACA.

La maca es una planta alto andina peruana, que crece sobre los 4000 msnm (Gonzales G., 2012). A lo largo de muchos años la maca se ha investigado con el propósito de confirmar sus efectos positivos sobre la salud humana; ya que es una planta que se consume desde épocas milenarias para el incremento de la fertilidad en humanos y animales (Gonzales G., 2012), además de ser consumida por sus propiedades nutricionales.

Las investigaciones realizadas con esta planta demostraron un efecto benéfico para la salud al potenciar la fertilidad en los humanos, así como el conteo de espermatozoides y su motilidad (Gonzales G. y col., 2006), actuando sobre las disfunciones sexuales; genera un efecto benéfico en la osteoporosis (Gonzales y col., 2010), hiperplasia prostática benigna (Gonzales G. y col., 2011), en el aprendizaje y memoria; así como en la protección contra la radiación ultravioleta

(Gonzales G., Castañeda C. y col., 2008). Otros estudios sugieren que tiene un efecto en la reducción de los niveles de triglicéridos, VLDL, LDL en ratas con una dieta rica en sucrosa, así como en la reducción de los niveles de glucosa en sangre (Vecera R. y col., 2007) (Ranilla L. y col., 2010). Debido a este hallazgo, se cree que la maca podría tener un efecto sobre la patología de la diabetes generando un correcto funcionamiento del metabolismo lipídico y de la glucosa, los cuales se ven afectados por esta patología.

La diabetes es una enfermedad con etiologías multifactoriales caracterizado por la hiperglucemia, alteraciones en el metabolismo de lípidos (bajo HDL y alto triglicérido) (Praveen E.P. y col., 2011), proteínas e incremento de la formación de radicales libres (Ozsoy-Sacan O. y col., 2004), además presenta complicaciones a largo plazo en la retina, riñones y en el sistema nervioso (De D. y col., 2011).

A nivel mundial la diabetes es una enfermedad con una alta incidencia en la población; la Organización Mundial de Salud (OMS) estima que en el mundo existe 346 millones de personas afectadas por la diabetes; es por ello que se siguen evaluando nuevos tratamientos y estrategias para su debido control. (García-Bailo B. y col., 2011) (Louisa M. y col., 2011)

La diabetes se genera por defectos primarios en la secreción de insulina, junto con el desarrollo de la insulino-resistencia; la disminución de la secreción de insulina resulta de un defecto funcional, así como por la pérdida de las células pancreáticas llevando a la hiperglucemia y a una menor sensibilidad de la insulina (Tahara A. y col., 2009). Los tratamientos van desde agentes hipoglicémicos como las sulfonilureas y biguanidas, que son fáciles de

conseguir junto con la insulina; todos estos agentes tienen efectos adversos (De D. y col., 2011) como vómitos, mareos, anemia aplásica, entre otros. La metformina; una biguanida; es el medicamento más usado para la diabetes, (Labuzek K. y col., 2010) el cual tiene un control sobre los niveles de glucosa (Ito H. y col., 2010)

Sin embargo, los tratamientos para diabetes tienen un tiempo de eficacia y tolerabilidad dejando a la patología seguir su desarrollo natural, por ello se trata de tener nuevas estrategias para el control y tratamiento de la diabetes mellitus (Tahara A. y col., 2009).

El uso de extractos de plantas podría ser una opción alternativa a los tratamientos convencionales; en este caso la Maca tiene gran aceptación, ya que se observó que genera una reducción en los niveles lipídicos y glucémicos; debido a ello se genera la pregunta ¿la maca podría tener un efecto benéfico sobre la hiperglicemia e hiperlipidemia dada en la patología de la diabetes? Para ello, se estudió el efecto de esta planta en ratas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina. Se tuvieron dos grupos; uno de ellos el grupo control y el otro el grupo diabético. Se midió la glucosa, perfil lipídico, peso corporal y peso de órganos durante 14 días de tratamiento, donde se esperó una disminución de los niveles elevados de glucosa y balance de los niveles lipídicos. Se observó, además, cambios físicos en todos los animales.

El desarrollo de la patología de diabetes en los animales experimentales no fue de manera homogénea, debido a que la evolución de la enfermedad depende de cada uno de los animales y su reacción al fármaco.



Se tuvieron pérdidas en algunos animales de los grupos analizados debido a la patología, además debido al presupuesto no se pudo realizar cortes del páncreas y analizar la concentración de células Beta presentes, así como la realización de un estudio histopatológico de los riñones e hígado.

## **II. HIPÓTESIS**

La maca negra (10mg, 50mg y 250mg por kilo) tiene un efecto beneficioso sobre la hiperglicemia e hiperlipidemia en ratas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina.

### **2.1. OBJETIVOS**

#### **2.1.1. Objetivo General**

Determinar los efectos de las 3 dosis de maca negra (10mg, 50mg y 250mg por kilo de peso) en ratas machos sobre la diabetes inducida con nicotinamida (120 mg/kg)-estreptozotocina (50mg/ disuelto en 0,1 M de buffer citrato).

#### **2.1.2. Objetivos Específicos**

- Determinar los promedios de glucosa en el 1<sup>er</sup>, 7<sup>mo</sup> y 14<sup>avo</sup> día de tratamiento de los subgrupos del grupo control y grupo diabético y compararlos entre los grupos.

- Determinar los niveles de Colesterol, Triglicéridos, HDL, LDL Y VLDL de todos los subgrupos del grupo control y grupo diabético al término de los tratamientos y compararlos entre los grupos.
- Medir el peso de los animales en el 1<sup>er</sup>, 7<sup>mo</sup> y 14<sup>avo</sup> día de tratamiento de los subgrupos del grupo control y grupo diabético y compararlos entre los grupos.
- Medir el peso del hígado y riñones de todos los subgrupos del grupo control y diabético al finalizar el tratamiento y sacrificio de los animales de experimentación y compararlos entre los grupos.
- Evaluar los cambios físicos de los animales diabéticos a lo largo del estudio.

### **III. MARCO TEORICO**

#### **3.1. LEPIDIUM MEYENII (MACA)**

Es una planta peruana que crece a 4000 msnm; (Gonzales G., 2012) adaptable a condiciones áridas y al frío; se encuentra típicamente en las ciudades de Junín y Cerro de Pasco. (Hasan N. y col., 2010)

La maca es tradicionalmente usada por sus propiedades nutricionales y medicinales; debido a esto, durante los últimos 20 años el interés por esta planta se ha incrementado en muchas partes del mundo, y gracias a ello, desde el año 2005 la maca es considerada uno de los 7 productos bandera del Perú. (Gonzales G. y col., 2009). Por ello, la Maca es exportada en polvo, capsulas, píldoras, harina, líquidos y extractos. Existen diferentes tipos de maca de acuerdo con el color que presentan por los nutrientes que contienen; los cuales van desde el blanco al negro. (Gonzales G. y col., 2009).

Los extractos de la maca tienen una concentración alta de nutrientes y componentes bioactivos únicos como los glucosinolatos, isotiocianatos, macaenos y macamidas, (Gonzales G. y col., 2008) que son conocidos por su actividad antioxidante y actividades de regulación hormonal.

La maca presenta diferentes efectos de acuerdo con el color del hipocótilo; podemos observar la mejora de la espermatogénesis, así como el incremento en el conteo de espermatozoides usando la maca negra (Gonzales G. y col., 2004) (Gonzales G. y col., 2001) además se ha observado en ratones hembras el incremento del tamaño de las crías, así como el número de estas (Ruiz-Luna AC. y col., 2005)

La maca negra tiene un efecto sobre el aprendizaje y memoria, además, junto con la maca amarilla y roja presentan un efecto antidepresivo en ratones hembras ovariectomizadas (Rubio J. y col., 2006). La maca roja tiene un importante rol en la reducción del tamaño de la próstata en la patología de hiperplasia prostática en ratas (Gonzales G. y col., 2005). Una propiedad interesante de la maca negra es su efecto antioxidante y actividad inhibitoria de la acetilcolinesterasa en el cerebro (Rubio J y col., 2011). En algunos trabajos de investigación como en el de Ranilla en el 2010, se pudo observar los resultados dados por diferentes plantas contra la hiperglicemia e hipertensión; las cuales son signos de la diabetes. En este estudio se pudo observar que la maca tiene un efecto positivo disminuyendo la hipertensión (Ranilla L. y col., 2007) y en el estudio realizado por Vecera se pudo observar que la administración de maca reduce los niveles de VLDL y LDL, así como los niveles del colesterol total (Vecera R. y col., 2007)

### **3.2. DIABETES MELLITUS**

Es una enfermedad caracterizada por la hiperglicemia y un desequilibrio en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas debido a los defectos de la secreción de la insulina o la acción de esta hormona. (Kaleem M.

y col., 2008). Se calcula que anualmente hay 3,2 millones de muertes alrededor del mundo por diferentes complicaciones que conlleva el desarrollar diabetes; algunas de ellas son las retinopatías, nefropatías, neuropatías, microangiopatías, cetoacidosis diabética, ceguera entre otras. (Viswanathaswamy A. y col., 2011) (Murphy C., 2012).

La diabetes mellitus está reflejada por cambios severos en el metabolismo de las proteínas y por un balance negativo del nitrógeno, así como la pérdida de este compuesto en múltiples órganos; el incremento de la producción del nitrógeno en urea puede deberse al incremento del catabolismo de las proteínas del hígado y plasma. (Kaleem M. y col., 2008)

Existen diferentes tipos de diabetes; dividiéndose en diabetes Tipo 1 o insulina dependiente y diabetes Tipo 2 no insulina dependiente. La diabetes Tipo 1 es una enfermedad crónica autoinmune que resulta de la destrucción selectiva de las células beta en los islotes de Langerhans resultando en una disfunción metabólica (Jamiolkowski R. y col., 2012); mientras que la diabetes Tipo 2 es la no dependiente de insulina, ésta presenta una elevación de la glucosa en sangre, la cual incrementa el riesgo de generar enfermedades macrovasculares y complicaciones microvasculares (American Diabetes Association, 2006).

En la actualidad la diabetes tiene una alta incidencia debido al estilo de vida de las personas; ya que sus factores de riesgo son el sedentarismo y la ingesta de alimentos ricos en grasas; (Burr J. y col., 2012), estos factores de riesgo generan que el desarrollo de la mala función del metabolismo se incremente. Se sabe que el 9% de las muertes alrededor del mundo son causadas por las alteraciones que conlleva la diabetes Tipo 2 (Andrade-Cetto A y col., 2008).

Como ya se mencionó, la diabetes mellitus es asociada a diferentes enfermedades como las enfermedades microvasculares y macrovasculares; (Burr J. y col., 2012), muchas personas con diabetes desarrollan trombosis, llevando a la formación de coágulos e inclusive en algunos casos al daño cerebral (Saito I., 2012)

Esta asociación se debe a que muchos órganos como el cerebro, corazón, páncreas, hígado, riñón, musculo esquelético y tejido adiposo son considerados altamente sensibles a la insulina; de los cuales el páncreas, hígado y tejido adiposo son los más importantes para la regulación de la glucosa periférica y son capaces de responder de manera directa e indirecta a la acción de la insulina (Boyda H., 2012).

En la regulación normal del organismo; podemos ver que existe un control de la glucosa en plasma, llevado a cabo por las hormonas pancreáticas, las cuales son la insulina y el glucagón; (Meloni A. y col., 2013) además de los receptores de glucosa en el páncreas del tipo GLUT1. (Boyda H., 2012).

En la diabetes Tipo 2, podemos observar una falla en las células Beta, lo cual lleva a una reducción de la producción y secreción de la insulina. Estos defectos primarios en la secreción de la insulina, desarrollo de la resistencia a la insulina, liberación de glucosa mediada por el glucagón en el hígado; llevan a la inhabilidad de mantener la homeostasis de la glucosa, generando la hiperglicemia (Meloni A. y col., 2013). Además, se ven anomalías en otras hormonas como la reducción de la secreción de GLP-1 y disminución de los niveles de HDL. (Di Dalmazi G. y col., 2012)

Debido a que la diabetes es una enfermedad que conlleva al desencadenamiento de otras; la ASOCIACIÓN AMERICANA DE DIABETES (ADA) recomienda que una persona diabética debe tener controlado los valores de LDL (100mg/Dl) y presión arterial (130/80mmHG) (Brunetti L. y col., 2012). Una manera de mantener controlada la enfermedad es con dieta y ejercicios, sin embargo, también existen fármacos que pueden ayudar al control de la diabetes.

Para este control químico; las investigaciones recientes han introducido nuevos medicamentos como los análogos del péptido similar al glucagón, inhibidores dipeptidil-peptidasa 5, inhibidores de co-transporte II de sodio-potasio, la deshidrogenasa Beta-hidroxiesteroidea, activadores de glucoquinas liberadoras de insulina, agonistas de los receptores de los ácidos grasos acoplados a proteínas G pancreática, antagonistas del receptor de glucagón, inhibidores metabólicos de la glucosa hepática entre otros (Olokoba A., 2012).

Sin embargo, dentro de los tratamientos más comunes y más usados para la diabetes podemos encontrar los tratamientos con alfa-glucosidasa; el cual genera un retraso en la absorción de los carbohidratos ingeridos, reduciendo así la glucosa postprandial y los picos de insulina; (Andrade-Cetto A y col., 2008) se tiene además el grupo de las meglitinidas, donde se encuentra la Mitiglinida; la cual es de tercera generación en este grupo. Funciona disminuyendo los niveles de hiperglicemia postprandial, así como el estrés oxidativo y marcadores inflamatorios asociados a la hiperglicemia. Su actividad hipoglicémica se da cerrando los canales sensibles a potasio de ATP en las células B del páncreas, este medicamento puede generar hipoglicemia.



(Phillippe H., 2010). Un efecto beneficio de este grupo de compuestos es que generaría la reconstrucción postprandial de los patrones de secreción de grelina en pacientes con diabetes; esto sería una ayuda en la mejora del control de comportamiento alimentario de pacientes con diabetes (Rudovich N., 2010).

El miglitol que pertenece también al grupo de las meglitidinas, tiene un efecto favorable sobre el índice de masa corporal (IMC). En un estudio donde se estudió este compuesto, se evaluó la homeostasis de la resistencia a la insulina por medio de la adiponectina; la cual junto a otros componentes son marcadores relacionados a la resistencia a la insulina, así como a la aterosclerosis. (Yokoyama H., 2007).

Existen también químicos similares a compuestos secretados por el mismo cuerpo, como la exenatida; la cual es un péptido mimético a las incretinas del cuerpo, específicamente al péptido 1 similar al glucagón (GLP-1); este compuesto es un antihyperglucémico, (Murphy C., 2012) generando la liberación de insulina y reduciendo la velocidad de absorción de la glucosa de los alimentos; se ha observado también que reduce el peso en personas con diabetes. Se está estudiando el efecto de la combinación de exenatida con el medicamento más común para la diabetes Tipo 2, la metformina (Iltiz J., 2006).

Dentro de las sulfonilureas, encontramos a la gliptina que ha demostrado tener un efecto sobre el control glicémico; la glargina y las glitazonas tienen un efecto similar a la gliptina pero pueden causar daño en el corazón además de fracturas. De menor manera, se ve un incremento de riesgo de eventos cardiovasculares usando rosiglitazona; la cual pertenece al grupo de las tiazolidinedionas (Waugh N., 2010). Un efecto adverso de las sulfonilureas es que potencian y estimulan

persistentemente la secreción de la insulina sin tomar en cuenta los niveles de glucosa en sangre, generando una hipoglicemia (Tahara A. y col., 2009).

Las tiazolidinedionas incrementan la sensibilidad a la insulina a través de la activación del receptor activador de la proliferación de los peroxisomas gamma (PPAR). La rosiglitazona y pioglitazona pertenecen a este grupo, usando este último en etapas finales de diabetes mellitus Tipo 2; mientras que el rosiglitazona por incrementar los eventos cardiovasculares en muchos países ya no es usado; este grupo de compuestos es conocido por generar un incremento en el riesgo de fracturas (Bazelier M., 2012).

El medicamento más usado para esta patología desde hace 50 años sigue siendo la metformina (1,1-dimethylbiguanide), la cual pertenece al grupo de las biguanidas; este grupo de medicamentos no afecta la liberación de insulina; por lo cual es administrada para diabetes Tipo 1 y Tipo 2. No se sabe mucho sobre su mecanismo de acción, pero diversos estudios han demostrado que disminuye la resistencia a la insulina hepática; interviene en el metabolismo de los ácidos grasos liberando incretina y disminuyendo los depósitos amiloides; la proteína AMP quinasa podría jugar un rol importante en este efecto (Andújar-Plata P., 2012). La metformina es conocida por disminuir los niveles de glucosa en sangre sin causar una hipoglicemia. Esta mejora en la sensibilidad a la insulina puede dar un efecto sobre la expresión de los receptores de insulina, así como en la actividad de la tirosin quinasa. Además como se ha comentado anteriormente que modula el eje de los múltiples componentes de la incretina; se ha visto un incremento en los niveles plasmáticos del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1) (Mulherin A., 2011) e induce a la expresión de los

receptores de incretina en los islotes por un mecanismo que dependería del receptor proliferador y activador del peroxisoma (PPAR); sin embargo estos son los efectos secundarios beneficiosos generados por la metformina, ya que su efecto primario es la reducción de la glucosa hepática principalmente inhibiendo la gluconeogénesis. Esta inhibición se da por la acción de este compuesto en los hepatocitos por medio de la expresión de transportador de cationes orgánicos 1 (OCT1), el cual facilitaría la entrada de la metformina de forma celular; (Viollet B. y col., 2012) disminuyendo la absorción de glucosa a nivel intestinal, incrementando el ingreso de glucosa a la célula (Grzybowska M., 2011).

La metformina además activaría a la proteína quinasa activadora de AMP (AMPK); por medio de un cambio conformacional que activa a la enzima e inhibe la defosforilación de Thr 172. (Zhou S. y col., 2011) Activando a la AMPK cambia a las células de un estado anabólico a un estado catabólico, desactivando la vía de consume de ATP y restaurando el balance energético. En esta regulación intervienen la fosforilación mediante la AMPK de enzimas metabólicas y expresión de genes de factores/coactivadores de transcripción; como resultado la síntesis de glucosa, lípidos y proteínas, así como el crecimiento celular son inhibidos mientras que la oxidación de ácidos grasos y asimilación de glucosa son estimulados. (Viollet B. y col., 2012) Esta inhibición de crecimiento celular como efecto secundario de la metformina podría usarse como anticancerígeno; ya que hay estudios en los que se ha observado que este efecto alterno reduce el riesgo de cáncer. (Bost F., 2012) (Andújar-Plata P., 2012); otros estudios han

señalado que podría intervenir como anti-arteroesclerosis y tener un impacto en la función de la vena endotelial (Grzybowska M., 2011).

La prescripción de este medicamento a los pacientes con diabetes va acompañada de una modificación en el cambio de vida de la persona (dieta, control del peso y actividad física).

Se debe tener en cuenta que la administración de las biguanidas como la metformina, más otros medicamentos como las sulfonilureas puede ser perjudicial para la persona diabética (Pires C., 2011).

### **3.3. MODELOS ANIMALES EN INVESTIGACIÓN DE DIABETES MELLITUS**

Existen diferentes modelos experimentales para poder analizar y estudiar la patología de la diabetes; desde la pancreatectomía parcial, ligación de ducto, expresión anormal por destrucción de genes como TGFalfa, entre otros (Jie Y., y col. 2009).

Para la inducción de diabetes en ratas y ratones, frecuentemente se utilizan químicos, los cuales destruyen de manera selectiva las células B del páncreas. Las sustancias más usadas para la inducción de esta patología son el Alloxan y la Estreptozotocina (Szkudelski T., 2011). Cada uno de estos dos compuestos va a ser usado de acuerdo con el protocolo con el que se esté trabajando.

El Alloxan es un derivado del ácido úrico; es una sustancia inestable de naturaleza hidrofílica con una vida media de 1,5 min y poca estabilidad; su mecanismo de acción comienza generando un incremento repentino de la insulina en presencia o ausencia de glucosa; esto dura un corto tiempo para dar

paso a una supresión de la respuesta de los receptores de los islotes a la glucosa; generando una deficiencia de insulina y una toxicidad debido a que se da la producción de especies reactivas (Szkudelski T., 2001) (Patel D., 2012). Este compuesto genera superóxidos y radicales libres; los cuales inducen a muerte celular luego de 48 horas de administrado el medicamento (Leiter E., 2013).

Se ha observado el funcionamiento del alloxan en los islotes del páncreas, pero también en el hígado; donde se ve que las células son más resistentes a las especies reactivas, lo cual hace que se protejan de la toxicidad dada por el alloxan y no se genere una destrucción masiva.

El alloxan reacciona con dos grupos -SH en el sitio de unión del azúcar de la glucoquinasa resultando en la formación de la unión disulfuro y la inactivación de la enzima. Debido a que se forma ácido dialúrico como resultado de la disminución del alloxan; se da una estabilización del ciclo redox por la generación de radicales superóxidos. También el alloxan genera una estimulación en los canales de calcio mitocondriales con una inhibición de la toma de  $\text{Ca}^{+2}$  por la mitocondria. La formación de especies reactivas de oxígeno causa daño en las células beta (Szkudelski T., 2001).

El monohidrato de alloxan en ratas es usado al 5% y por inyección intraperitoneal. (5g/100ml solución salina) a una dosis de 120mg/kg. Pasadas las 72 horas luego de su administración los animales deben presentar niveles de glucosa elevados a 200mg/dl (Ojezele M., 2011). También se usa el monohidrato de alloxan al 2% disuelto en 0.9% de solución salina; a una dosis de 150mg/Kg de peso de animal (Sachdev D. y col., 2012)

La estreptozotocina es el otro compuesto usado para generar diabetes en ratas adultas; este compuesto es sintetizado de streptomycetes achromogenes y es usado para generar ambos tipos de diabetes. Se requiere dosis como 50-100 mg/kg de peso del animal para generar la diabetes tipo 1 (Szkudelski T., 2001) (Leiter E., 2013); ya que la estreptozotocina es un químico que es toxico para las células beta en mamíferos (Lee M., 2012).

La estreptozotocina es tomada por las células beta del páncreas a través del transportador GLUT2. Este compuesto al ser administrado genera la producción de radicales libres, los cuales cortan las cadenas de ADN en las células beta dando como resultado un desorden en su funcionamiento llevando a la destrucción de estas células por necrosis. (Lee M., 2012) Esta muerte celular se da por la alcalinización del ADN fraccionado.

Como el alloxan, la estreptozotocina causa hiperglicemia severa por su acción citotóxica; su fracción nitrosourea es la responsable de esta toxicidad mientras que la fracción deoxiglucosa facilita el transporte a través de la membrana celular. También genera radicales libres, resultando en la alteración endógena de los residuos de estas especies reactivas. (Lee M., 2012)

Como se trata de un compuesto muy tóxico para las células beta, al ser administrado de manera individual genera diabetes tipo 1, ya que conlleva a la apoptosis de las células Beta, por lo cual se ha buscado otros compuestos que en conjunto con este químico no generen una destrucción masiva de las células Beta (Ku C., 2012). La nicotinamida, al ser inyectado antes que la estreptozotocina, genera una semi-protección de las células beta contra los efectos de la estreptozotocina.

Como se ha mencionado; la estreptozotocina induce la ruptura de las cadenas de ADN de las células Beta, generando la formación de radicales libres. Esto genera la activación de la poly (ADN-ribosa) polimerasa, la cual usa como sustrato a NAD<sup>+</sup>. Como resultado los niveles intracelulares de NAD<sup>+</sup> caen dramáticamente; esto inhibe las funciones celulares incluyendo la síntesis y secreción de insulina, que lleva a la muerte de las células Beta. Es por ello, que manteniendo los niveles de NAD<sup>+</sup> se mantiene la síntesis y secreción de insulina previniendo el daño de las células Beta; (Okamoto H., 2003) esto lo conseguimos con la nicotinamida.

Para generar un modelo de diabetes, se debe crear un efecto protector para las células Beta que van a ser destruidas masivamente por los compuestos mencionados anteriormente; la nicotinamida modula la destrucción generada por la estreptozotocina reduciéndola severamente; (Lee M., 2012) en estudios anteriores se ha observado que la nicotinamida estaría funcionando como un inhibidor específico de la estreptozotocina previniendo la reducción de NAD; lo cual se daría para mantener los niveles de piridinas (Anderson T., 1974) Es un componente antioxidante inhibiendo la apoptosis y muerte celular en tejidos isquémicos; además como es el precursor de la coenzima Beta nicotinamida adenina dinucleótido (NAD<sup>+</sup>) es considerado necesario para la función celular y metabólica. (Anderson T., 1974)

Se debe tener en cuenta la concentración de nicotinamida que se va a administrar, ya que algunos estudios han demostrado que la sobre carga de nicotinamida y la baja detoxificación de este componente; podría estar

induciendo estrés oxidativo asociado a la resistencia a la insulina. (Zhou S., 2010)

En los modelos donde se induce diabetes a ratas usando estreptozotocina y nicotinamida; se observa una hiperglucemia moderada. Para lograr este tipo de hiperglucemia, guiándonos de estudios como el de Barik R., y col., 2008; Wu M., y col., 2008; Nakamura T., y col., 2006; Prabhu K., y col., 2008; se observa que una concentración óptima de nicotinamida es de 120-250 mg/Kg y de estreptozotocina de 50-65 mg/kg para generar una hiperglucemia moderada llevando al desarrollo de la patología; mientras que bajas concentraciones de nicotinamida no tienen un efecto protector tan marcado contra la estreptozotocina y se generaría una hiperglucemia con valores muy elevados de hasta 300 mg/dl.

La estreptozotocina junto con la nicotinamida son inyectados en los animales de estudio luego de una noche en ayuno; la inyección es de manera intraperitoneal; siendo primero administrada la solución de nicotinamida seguida de la solución de estreptozotocina, luego de 30 minutos de inyectada la primera solución. Las mediciones de la glucosa se deben realizar un día después de la administración de ambos componentes hasta esperar que se dé una hiperglucemia moderada ( $\geq 250$ mg/dl de glucosa).



## **IV. MATERIALES Y METODOS**

### **4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

La investigación realizada en la presente tesis fue el tipo de investigación experimental donde las variables en estudio fueron controladas.

Se utilizó los métodos estandarizados para el buen manejo del medio ambiente, alojamiento y cuidado de los animales de laboratorio aprobados por el Comité de Ética e Investigación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

### **4.2. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN**

Los animales fueron separados aleatoriamente en dos grupos; un grupo control (conformados por animales sanos) y un grupo diabético (conformados por animales con patología). Los cuales fueron subdivididos en 5 subgrupos (AGUA, MN1, MN2, MN3, METFORMINA); en total se tuvieron 10 subgrupos.

Tabla 01: Diseño de Investigación

SEMANA	GRUPO CONTROL	GRUPO DIABETICO
1	Pesado y separación de animales por grupo (5 subgrupos en cada grupo)	
2-3-4		<b>Inducción de Diabetes</b> Nicotinamida/estreptozotocina
5	Medición de glucosa	Medición de glucosa y confirmación de patología (glu $\geq$ 250mg/dl)
5	<b>Semana 1:</b> Pesado de animales e inicio de tratamiento.	
6	<b>Semana 2:</b> Medición de glucosa y pesado de animales en el 7 <sup>mo</sup> día de tratamiento	
7	<b>Semana 3:</b> último día de tratamiento, se realizó la medición de glucosa, pesado de animales, observación de aspecto físico de animal.	
8	<b>Día 15:</b> Sacrificio de animales para recolección de sangre (medición del perfil lipídico) recolección de órganos (hígado y riñones)	

Fuente: elaboración propia.

#### 4.3. POBLACIÓN DEL ESTUDIO

En la investigación se emplearon 60 ratas machos adultos de la cepa Swiss con 300 gramos de peso aproximadamente, las cuales fueron distribuidas de manera aleatoria en dos grupos de 30 animales: el grupo control y el grupo diabético.

En cada uno de los grupos, se separó a los animales en cinco subgrupos de seis animales cada uno. Se mantuvieron en un ambiente a temperatura constante con ciclos alternados de 12 horas luz/oscuridad, los animales contaron con alimento balanceado (purina) y agua *ad libitum*.

El contenido balanceado de purina es de 23,9% de proteínas, grasas 10%, fibra 5,1%, kcal/g 40,7, minerales 7%, extracto de nitrógeno libre 48,7% entre otros componentes. (rodent diet- purina). En el caso del agua, se puso dos veces al

día un envase de vidrio de 290ml aproximadamente lleno de *ad libitum* en cada jaula.

Se les indujo diabetes a los cinco subgrupos del grupo diabético y al confirmarse la patología una semana después de la inducción, se administró los tratamientos por vía oral mediante una sonda orogástrica durante 14 días.

#### 4.4 TRATAMIENTOS

Una vez separados los animales en cada subgrupo; se comenzó la administración de los tratamientos por medio de la sonda orogástrica. Se inocularon a los animales con 1ml de concentrado de extracto diariamente por 14 días. Los tratamientos fueron clasificados como se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 02: Grupos de Tratamientos**

GRUPO	TRATAMIENTO	N (MUESTRAL)
<b>GRUPO CONTROL</b>	SUBGRUPO + MACA NEGRA 1 (10mg)	6
	SUBGRUPO + MACA NEGRA 2 (50mg)	6
	SUBGRUPO + MACA NEGRA 3 (250mg)	6
	SUBGRUPO + METFORMINA (300mg)	6
	SUBGRUPO + VEHICULO (AGUA)	6
<b>GRUPO DIABETICO</b>	SUBGRUPO + MACA NEGRA 1 (10mg)	6
	SUBGRUPO + MACA NEGRA 2 (50mg)	6
	SUBGRUPO + MACA NEGRA 3 (250mg)	6
	SUBGRUPO + METFORMINA (300mg)	6
	SUBGRUPO + VEHICULO (AGUA)	6

Fuente: elaboración propia.

#### **4.4.1. Preparación de los Tratamientos**

##### **4.4.1.1. Tratamiento con Maca Negra**

Los hipocótilos de maca negra utilizados para las preparaciones se obtuvieron en la ciudad de Carhuamayo que pertenece a la Región Junín. Para la preparación del extracto se siguió el proceso tradicional (Gonzales G. y col., 2007; Gonzales G. y col., 2008; Rubio y col., 2011). Los hipocótilos fueron secados y molidos; cada 50g de maca negra seca y molida fueron hervidos en 500ml de EtOH al 70% durante 30 minutos, después de lo cual se filtraron; este proceso fue repetido con el remanente sólido de la primera extracción; pasado este tiempo se filtró nuevamente y se obtuvo un volumen final de 1000ml de extracto etanólico, que se congeló para luego ser liofilizado (congelador liofilizador). Un gramo de hipocótilos de maca negra produce 0,46g de maca negra liofilizada.

Se utilizó tres concentraciones diferentes para obtener tres extractos; se utilizó la medida estándar usada por el Laboratorio de Endocrinología y Reproducción (50mg de maca negra), que en diferentes estudios ha demostrado tener un efecto benéfico para la salud en diferentes patologías; con 50mg por 0,3kg de peso de animal; (Gonzales G. y col., 2007; Gonzales G. y col., 2008; Rubio J. y col., 2011); a partir de esta concentración se tomó una concentración menor (se dividió entre 5) y una mayor (se multiplicó por 5).

Para la obtención de los tres tratamientos con maca negra (10mg, 50mg y 250mg) se tomó 50mg de maca negra por 0,3kg de peso de animal. En cada tratamiento para cada subgrupo asignado se usaron los promedios de los pesos

de animal, en cada uno de los tratamientos los animales fueron inoculados por 14 días con una concentración de 1ml/día.

### **Maca Negra 1 (10mg/ml de maca negra)**

#### **Grupo Control:**

10mg/ml      300g

$X$               268g (promedio de peso de los animales)

$X = 8,9\text{mg/ml}$  por día de tratamiento por animal

#### **Grupo Diabético:**

10mg/ml      300g

$X$               316g (promedio de peso de los animales)

$X = 10,53\text{mg/ml}$  por día de tratamiento por animal

### **MACA NEGRA 2 (50mg/ml de maca negra)**

#### **Grupo Control:**

50mg/ml      300g

$X$               268g (promedio de peso de los animales)

$X = 44,6\text{mg/ml}$  por día de tratamiento por animal

#### **Grupo Diabético:**

50mg/ml      300g

$X$               333,5g (promedio de peso de los animales)

$X = 55,58\text{mg/ml}$  por día de tratamiento por animal

### MACA NEGRA 3 (250mg/ml de maca negra)

#### Grupo Control:

250mg/ml      300g

$X$               268g (*promedio de peso de los animales*)

$X = 223,33\text{mg/ml}$  *por dia de tratamiento por animal*

#### Grupo Diabético:

250mg/ml      300g

$X$               402,5g (*promedio de peso de los animales*)

$X = 335,42\text{mg/ml}$  *por dia de tratamiento por animal*

#### 4.4.1.2. Tratamiento con Metformina

Se utilizó clorhidrato de metformina, la dosis administrada tuvo una concentración de 300mg/kg de peso de animal, de acuerdo a diferentes publicaciones donde usan la metformina como control positivo en estudios de diabetes. Este es el medicamento más usado para el control de esta patología. (Jenkins N. y col., 2012; Lu J. y col., 2013; Tahara A., y col., 2009); se utilizó una marca comercial.

<b>METFORMINA</b>	
<b><u>Grupo Control:</u></b>	
300mg/ml	1000g
X	268g ( <i>promedio de peso de los animales</i> )
X = 80,4mg/ml <i>por dia de tratamiento por animal</i>	
<b><u>Grupo Diabético:</u></b>	
300mg/ml	1000g
X	297,5g ( <i>promedio de peso de los animales</i> )
X = 89,25mg/ml <i>por dia de tratamiento por animal</i>	

#### 4.5. INDUCCIÓN DE LA DIABETES

Para la inducción de la diabetes se utilizó el modelo indicado en diferentes artículos para ratas machos adultas; existen diferentes concentraciones de nicotinamida que van entre el rango de 40mg/kg-220 mg/kg y para la estreptozotocina se tiene el rango entre 40mg/kg a más de 120mg/kg para la inducción de esta patología, se debe tener en cuenta las concentraciones a usar. En este trabajo se usó las concentraciones intermedias para generar la diabetes. (Kumar E. y col., 2011; Soufi F. y col., 2012; Annadurait T. y col., 2013; Wu M. y col., 2008; Tahara A. y col., 2009)

El grupo diabético, con previo ayuno de 12 horas, recibió una inyección vía intraperitoneal de nicotinamida con una dosis de 120 mg/kg y pasada la media hora se inyectó el compuesto estreptozotocina con una dosis de 50mg/kg.

La confirmación de la diabetes se verificó al medir la glucosa en los animales una semana después de recibir las inyecciones dosificadas y obtener una glucemia  $\geq 250$  mg/Dl.

#### **4.5.1. Preparación de la dosificación de sustancias para la inducción de diabetes**

Para alcanzar un estado de diabetes inducido se ha considerado dos tipos de sustancias y se preparan de la siguiente manera:

**A. *Inyección de Nicotinamida:*** Para la preparación de la dosis se debe tener 1 ml de solución salina la cual se mezcla con la nicotinamida, en una proporción de 120mg por kilogramo de peso de animal.

**B. *Inyección de Estreptozotocina:*** Para la preparación de la dosis se debe mezclar 1,47g de citrato en 50ml de agua destilada; preparación a la que se debe agregar gotas de ácido clorhídrico hasta alcanzar 4,5 de Ph. Con este Ph ácido se obtiene el buffer citrato requerido para la preparación de la dosis.

La dosis se compone de 1ml de buffer citrato mezclado con la estreptozotocina (50mg por kilogramo de peso de animal), este compuesto químico debe ser mantenido a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Para la inyección en cada animal, se mantiene el medicamento a temperatura ambiente por 20 minutos antes de la inoculación.



## **4.6. MEDICIONES REALIZADAS**

### **4.6.1. Medición de Glucosa**

La glucosa se midió en las mañanas a los dos grupos de animales con la ayuda de un glucómetro, previo a 12 horas de ayuno.

Para la medición de Glucosa se realizó una pequeña punción en la punta de la cola del animal para poder sacar una gota de sangre y ponerla en la tira reactiva que fue insertada en el glucómetro. Se realizaron dos mediciones por animal para poder obtener un promedio.

### **4.6.2. Mediciones Lipídicas**

Al finalizar los tratamientos, para las mediciones lipídicas se utilizó el suero como medio para el análisis los siguientes compuestos.

- Colesterol total
- Triglicéridos
- LDL
- HDL
- VLDL

Las mediciones se realizaron al término del tratamiento, para observar las variaciones de estos compuestos entre los dos grupos y contrastar cómo se vieron afectados por los tratamientos aplicados.

### **4.6.3. Medición del Peso del animal**

El peso de los animales se obtuvo desde el inicio del experimento para la comparación del mismo parámetro y observar las diferencias entre los

animales del grupo control y el grupo diabético. Se requirió una balanza donde se colocaron los animales para el pesado; antes de comenzar las mediciones se taro la balanza.

#### **4.6.4. Medición de Peso de órganos**

Se observó el color y se midió el peso del hígado y riñones para ver si existía alguna anomalía por la administración de los extractos entre los dos grupos.

#### **4.7. RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS**

Al término del periodo experimental, los animales previo ayuno de 12 horas, se les pesó y se les extrajo una pequeña muestra de sangre para medir la glucosa, para luego ser anestesiados por inhalación de cloroformo en una campana de vidrio y posteriormente realizar la técnica de punción cardiaca para la recolección de la sangre.

Se recolectó la sangre y posteriormente se extrajo el hígado y los riñones para su pesaje. La sangre se centrifugó a 1 500rpm durante 20 minutos y luego se separó el suero para realizar las diferentes determinaciones bioquímicas.

#### **4.8. PROCESAMIENTO DE DATOS**

Los datos obtenidos de las mediciones efectuadas a las unidades experimentales fueron registrados y procesados con el software estadístico SPSS V.22.0, en donde se emplearon los procesos para la exploración y análisis descriptivo de las variables, la verificación del supuesto de normalidad a través de la prueba de Shapiro Wilks ( $n < 30$ ).

Para analizar el efecto de los tres extractos de maca negra sobre las diferentes mediciones (peso, glucosa, colesterol, triglicéridos, LDL, HDL, VLDL) se hizo un ANOVA de dos vías y la prueba T-Student para muestras relacionadas e independientes.

Los datos fueron expresados en medias y desviación estándar. Para cualquiera de los casos, un valor de  $p < 0.05$  fue considerado como estadísticamente significativo.

## **V. RESULTADOS**

### **5.1. NIVELES DE GLUCOSA EN EL GRUPO DIABÉTICO INDUCIDO CON NICOTONAMIDA/ESTREPTOZOTOCINA Y GRUPO CONTROL**

Se tuvieron cinco subgrupos dentro del grupo control; cada uno de los subgrupos fueron tratados con cada uno de los cinco extractos. Se realizaron tres mediciones a lo largo del estudio; al primer día de tratamiento, al séptimo día y al décimo cuarto día.

En los resultados, se observó que los subgrupos tratados con el vehículo ( $p=0,002$ ), Maca Negra 1 (10mg) ( $p=0,001$ ) y metformina ( $p=0,002$ ) tienen un incremento de la glucosa durante todo el tiempo de tratamiento.

Cuando se observa a los subgrupos tratados con Maca Negra 2 (50mg) y Maca Negra 3 (250mg) la glicemia se mantiene constante tanto al séptimo día como al décimo cuarto día.

Tabla 03. Glucosa en ratas adultas machos sanas - Grupo Control

GLUCOSA EN GRUPO CONTROL				
TRATAMIENTO	INICIO (Me $\pm$ DS)	7 DIAS (Me $\pm$ DS)	14 DIAS (Me $\pm$ DS)	p*
Vehículo	76,83 $\pm$ 4,5	87,83 $\pm$ 8,81 ↑ 14,3%	95,4 $\pm$ 5,62 ↑ 24,2%	0,002
Maca Negra1 (10mg)	75,5 $\pm$ 1,8	92,83 $\pm$ 12,09 ↑ 23%	96,9 $\pm$ 8,5 ↑ 28,3%	0,001
Maca Negra2 (50mg)	86,08 $\pm$ 5	87,5 $\pm$ 4,13 ↑ 1,6%	85,2 $\pm$ 4,22 ↓ 1%	0,811
Maca Negra3 (250mg)	89 $\pm$ 4,2	86,6 $\pm$ 3,58 ↓ 2,7%	84,58 $\pm$ 6,06 ↓ 5%	0,356
Metformina (300mg)	74,58 $\pm$ 5,3	84,8 $\pm$ 6,94 ↑ 13,7%	94,16 $\pm$ 2,08 ↑ 26,3%	0,002
p**	0,843	0,068	0,044	

(\*) Prueba T-Student para muestras relacionadas.

(\*\*) Prueba ANOVA One-Way.

Al comparar los subgrupos en el día 14, se observa una significancia de 0,044, donde la Maca Negra 2 (50mg) y Maca Negra 3 (250mg) tienen niveles menores de glucosa. La elevación de la glucosa se mantiene dentro de los parámetros normales.

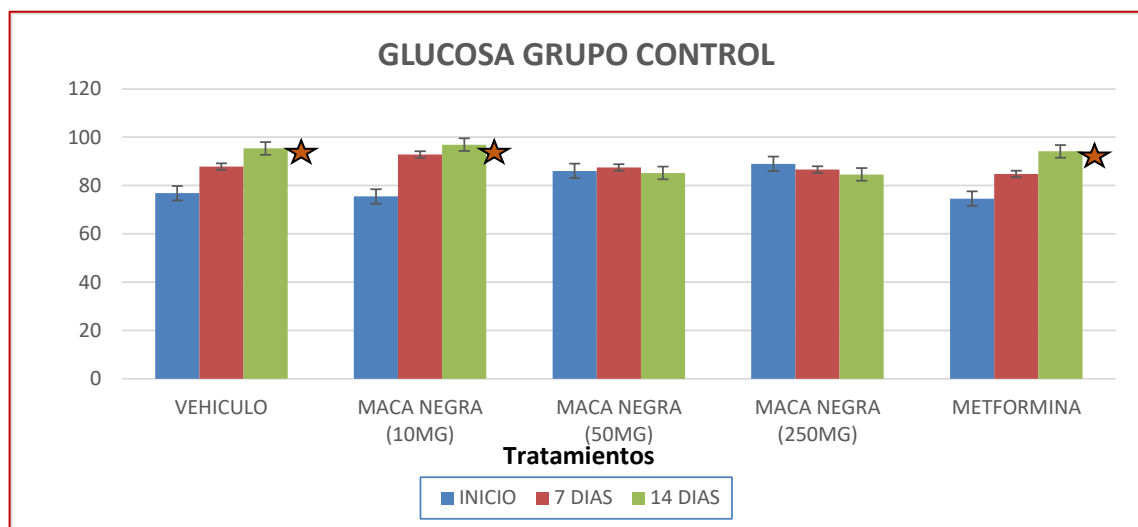


Gráfico 01: Glucosa en ratas adultas machos sanas-Grupo Control

★ p<0,05

En el Gráfico 01, podremos observar los niveles de cada uno de los subgrupos y ver el aumento de glucosa dado en los subgrupos tratados con vehículo, Maca Negra 1 (10mg) y metformina.

**Tabla 04: Glucosa en ratas adultas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estrepzotocina-Grupo Diabético**

<b>GLUCOSA EN GRUPO DIABÉTICO</b>				
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>INICIO (Me ± DS)</b>	<b>7 DIAS (Me ± DS)</b>	<b>14 DIAS (Me ± DS)</b>	<b>p*</b>
<b>Vehículo</b>	280 ± 61	288 ± 58 ↑ 2,9%	278 ± 56 ↓ 0,7%	0,96
<b>Maca Negra 1 (10mg)</b>	378 ± 100	348 ± 63 ↓ 8%	306 ± 64 ↓ 19%	0,36
<b>Maca Negra 2 (50mg)</b>	380 ± 114	266 ± 49 ↓ 30%	191 ± 58 ↓ 49,7%	0,006
<b>Maca Negra 3 (250mg)</b>	283 ± 92	269 ± 60 ↓ 5%	231 ± 85 ↓ 18,4%	0,63
<b>Metformina (300mg)</b>	483 ± 138	246 ± 49 ↓ 49,1%	148 ± 57 ↓ 69,4%	0,002
<b>p**</b>	<b>0,0577</b>	<b>0,099</b>	<b>0,015</b>	

(\*) Prueba T-Student para muestras relacionadas.

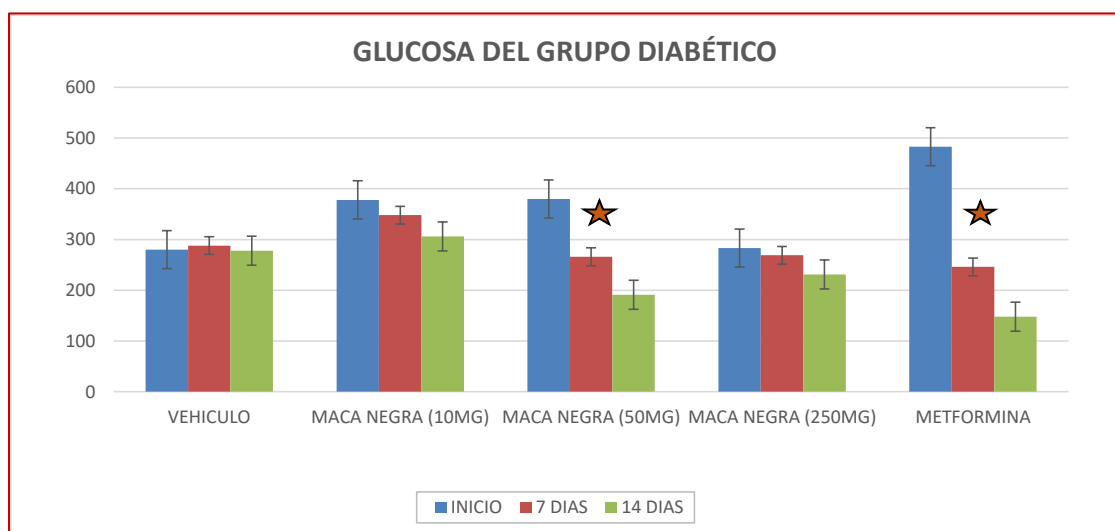
(\*\*) Prueba ANOVA One-Way.

Dentro del grupo diabético se tuvieron cinco subgrupos; cada uno de los subgrupos fueron tratados con cada uno de los cinco extractos. Se realizaron tres mediciones a lo largo del estudio; al primer día de tratamiento, al séptimo día y al décimo cuarto día. Al inducir la diabetes en todos los subgrupos; se generó un incremento de la glucosa mayor a 250mg/dl, confirmando la presencia de la patología.

A lo largo del tiempo, se puede observar que los subgrupos de la Maca Negra 2 (50mg) ( $p=0,006$ ) y metformina ( $P=0,002$ ) tienen una disminución de la

glucosa de manera significativa. Los subgrupos Maca Negra 1 (10mg) y Maca Negra 3 (250mg) tienen una reducción de la glucosa en el día 14, no es estadísticamente significativo, pero tienen una disminución mayor en comparación del subgrupo vehículo.

Al ver los niveles de glucosa en el día 14, los subgrupos Maca Negra 2 (50mg) y metformina tienen niveles menores a los demás subgrupos. ( $p=0,015$ ).



**Gráfico 02:** Glucosa en ratas adultas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina-Grupo Diabético

★  $p < 0,05$

En el Gráfico 02, observamos el nivel elevado de glucosa en cada uno de los subgrupos al comienzo del estudio; a los siete días se observa una disminución de estos valores en todos los subgrupos con excepción del sub grupo con tratamiento vehículo; al décimo cuarto día observamos la disminución de la glucosa en los sub grupos maca negra 50mg ( $p=0,006$ ) y metformina ( $P=0,002$ ).

## 5.2. NIVELES DE COLESTEROL EN EL GRUPO CONTROL Y GRUPO DIABÉTICO INDUCIDO CON NICOTINAMIDA/ESTREPTOZOTOCINA

La nicotinamida con estreptozotocina genera un ligero incremento en los niveles de colesterol, al comparar entre el grupo control versus el grupo diabético, se observa que todos los subgrupos tienen niveles similares.

**Tabla 05: Colesterol en ratas adultas machos sanos y ratas adultas con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina**

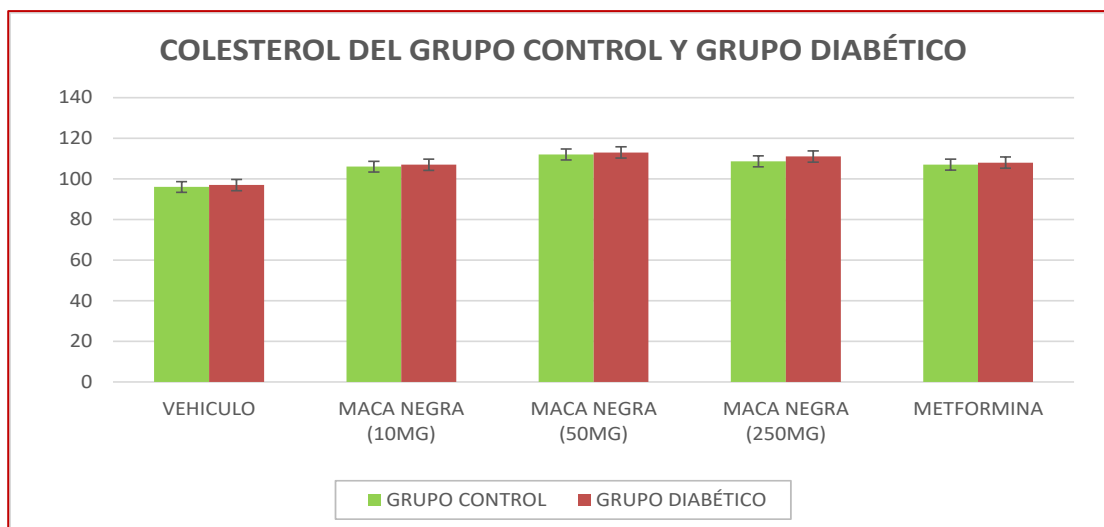
NIVELES DE COLESTEROL			
TRATAMIENTO	GRUPO CONTROL	GRUPO DIABÉTICO	p*
Vehículo	96 ± 4.4	97 ± 2.9 ↑ 1%	0.863
Maca Negra 1 (10mg)	106 ± 7.1	107 ± 9 ↑ 1%	0.860
Maca Negra 2 (50mg)	112 ± 7.1	113 ± 6 ↑ 1%	0.910
Maca Negra 3 (250mg)	108.6 ± 6	111 ± 6.4 ↑ 2.2%	0.390
Metformina (300mg)	107 ± 4	108 ± 8.7 ↑ 1%	0.950
<b>p**</b>	<b>0.002</b>	<b>0.040</b>	

(\*) Prueba T-Student para muestras independientes.

(\*\*) Prueba ANOVA One-Way.

Al comparar dentro del grupo diabéticos los diferentes tratamientos de los subgrupos se puede observar que existe diferencia entre los subgrupos de Maca Negra 2 (50mg) y Maca Negra 3 (250mg) donde se observa un aumento del colesterol al compararlos con el subgrupo con tratamiento vehículo.





**Gráfica 03:** Colesterol en ratas adultas machos sanos y ratas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

★  $p < 0,05$

En el Gráfico 03, se observa que todos los subgrupos de los dos grupos (grupo control y grupo diabético) tienen niveles similares entre ellos. Este parámetro bioquímico no se vio alterado por la patología.

### 5.3. NIVELES DE TRIGLICÉRIDOS EN EL GRUPO CONTROL Y GRUPO DIABÉTICO INDUCIDO CON NICOTINAMIDA/ESTREPTOZOTOCINA

La nicotinamida y estreptozotocina generan un incremento de los niveles de triglicéridos en los animales del grupo diabético; se puede apreciar que los subgrupos tratados con vehículo, Maca Negra 1 (10mg) ( $P=0,049$ ) y Maca Negra 3 (250mg) ( $P=0,018$ ) tienen niveles elevados al compararlos con los animales del grupo control.

El subgrupo de Maca Negra 2 (50mg) tiene una leve disminución en los niveles de triglicéridos en el grupo diabético comparado con el grupo control.

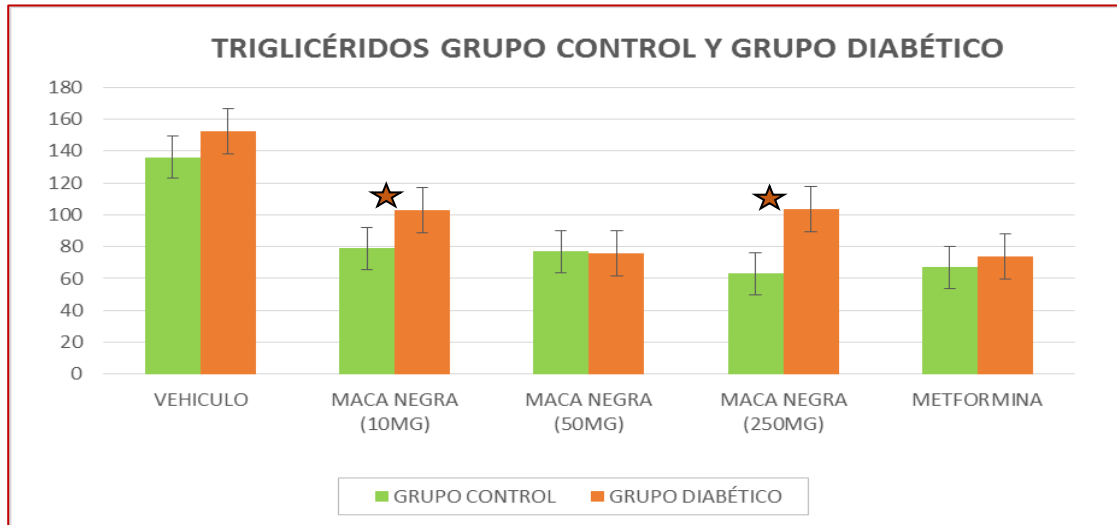
**Tabla 06. Triglicéridos en ratas adultas machos sanos y ratas adultos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina**

<b>NIVELES DE TRIGLICERIDOS</b>			
<b>Tratamiento</b>	<b>GRUPO CONTROL</b>	<b>GRUPO DIABÉTICO</b>	<b>p*</b>
<b>Vehículo</b>	136 ± 25	152,21 ± 8,9 ↑ 12%	0,067
<b>Maca Negra 1 (10mg)</b>	79,1 ± 14	102,9 ± 16 ↑ 30,1%	0,049
<b>Maca Negra 2 (50mg)</b>	77 ± 14	75,6 ± 9,9 ↓ 2%	0,745
<b>Maca Negra 3 (250mg)</b>	63 ± 11	103,5 ± 40 ↑ 64,3%	0,018
<b>Metformina (300mg)</b>	67 ± 8	73,8 ± 15,5 ↑ 17,1%	0,089
<b>p**</b>	<b>0,000</b>	<b>0,0003</b>	

(\*) Prueba T-Student para muestras independientes.

(\*\*) Prueba ANOVA One-Way.

Al comparar los subgrupos dentro del grupo diabético se puede observar que los subgrupos tratados con Maca Negra 2 (50mg) y metformina tienen los niveles más bajos de triglicéridos y es estadísticamente significativo ( $p=0,0003$ ), lo mismo ocurre en el grupo control donde los niveles menores de triglicéridos son de los subgrupos tratados con maca negra 250mg y metformina.



**Gráfico 04:** Triglicéridos en ratas adultas machos sanos y ratas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

★  $p < 0,05$

En el Gráfico 04, podemos comparar los subgrupos del grupo control y del grupo diabético y observar que, en el grupo diabético, los subgrupos tratados con Maca Negra 1 (10mg) y Maca Negra 3 (250mg) tienen niveles mayores de triglicéridos; el subgrupo tratado con Maca Negra 2 (50mg) tiene niveles similares en ambos grupos.

#### 5.4. NIVELES DE HDL EN EL GRUPO CONTROL Y GRUPO DIABÉTICO INDUCIDO CON NICOTINAMIDA/ESTREPTOZOTOCINA

Los animales con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina tienden a tener niveles bajos de HDL; lipoproteína que transporta el colesterol de los tejidos al hígado.

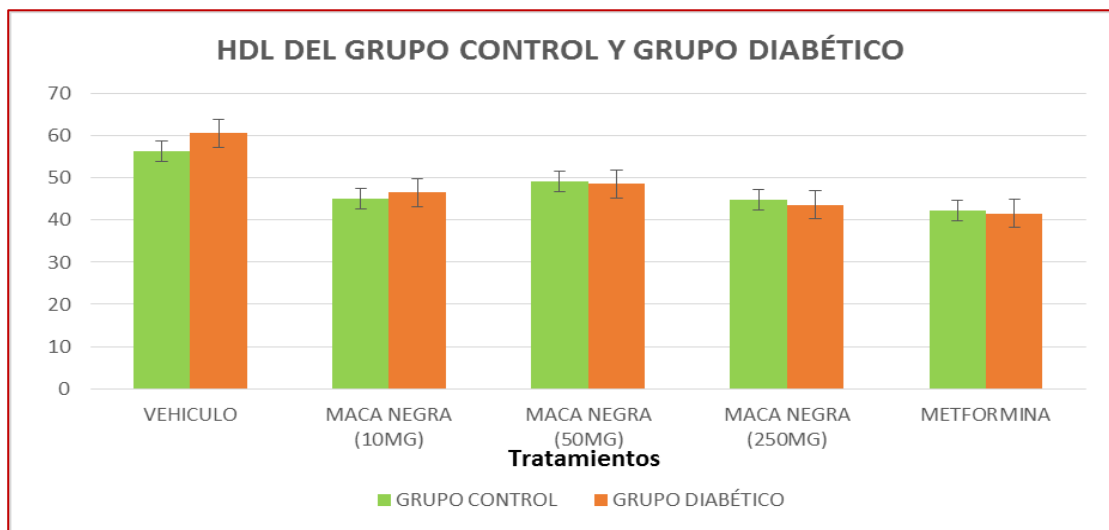
**Tabla 07: HDL en ratas adultas machos sanos y ratas adultas con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina**

<b>NIVELES DE HDL</b>			
<b>Tratamiento</b>	<b>GRUPO CONTROL</b>	<b>GRUPO DIABÉTICO</b>	<b>p*</b>
<b>Vehículo</b>	56,3 ± 9	60,6 ± 4 ↑ 7,6%	0,240
<b>Maca Negra (10mg)</b>	45,1 ± 4,9	46,6 ± 11 ↑ 3,3%	0,840
<b>Maca Negra (50mg)</b>	49,1 ± 10,6	48,6 ± 2,5 ↓ 1%	0,910
<b>Maca Negra (250mg)</b>	44,9 ± 5,2	43,6 ± 2,5 ↓ 2,9%	0,870
<b>Metformina (300mg)</b>	42,2 ± 7,2	41,6 ± 6,9 ↓ 1,4%	0,900
<b>p**</b>	<b>0,040</b>	<b>0,007</b>	

(\*) Prueba T-Student para muestras independientes.

(\*\*) Prueba ANOVA One-Way.

En este estudio se puede ver que los niveles de esta molécula son similares en ambos grupos sin ninguna diferencia significativa. Al comparar los diferentes tratamientos dentro del grupo control, se puede ver que el subgrupo de metformina tiene los niveles más bajos; y en el grupo diabético al comparar los valores entre todos los subgrupos; el subgrupo tratado con metformina presenta los valores más bajos.



**Gráfico 05:** HDL (mg/dl) en ratas adultas machos sanos y ratas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

★  $p < 0,05$

En el Gráfico 05, observamos que todos los subgrupos son similares entre ambos grupos. No se observa diferencias significativas.

### 5.5. NIVELES DE LDL EN EL GRUPO CONTROL Y GRUPO DIABÉTICO INDUCIDO CON NICOTINAMIDA/ESTREPTOZOTOCINA

La lipoproteína LDL se ve incrementada en la patología de la diabetes; en este estudio se puede ver que ambos grupos tienen concentraciones similares entre el grupo control y el grupo diabético; sin ninguna diferencia significativa.

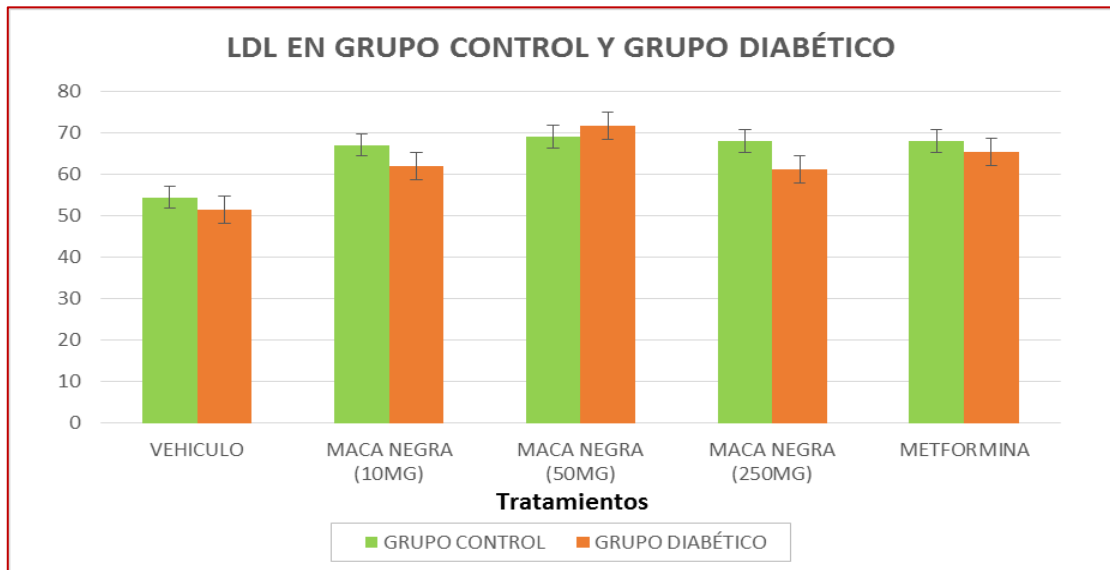
**Tabla 08: LDL en ratas adultas machos sanos y ratas adultas con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina**

<b>NIVELES DE LDL</b>			
<b>Tratamiento</b>	<b>GRUPO CONTROL</b>	<b>GRUPO DIABÉTICO</b>	<b>p*</b>
<b>Vehículo</b>	57,4 ± 8	51,4 ± 6,19 ↓ 10,5%	0,24
<b>Maca Negra (10mg)</b>	67 ± 9	61,9 ± 8,5 ↓ 7,6%	0,36
<b>Maca Negra (50mg)</b>	69 ± 7	71,6 ± 7,5 ↑ 3,8%	0,56
<b>Maca Negra (250mg)</b>	68 ± 5	61,2 ± 5,2 ↓ 10%	0,07
<b>Metformina (300mg)</b>	67,9 ± 5	65,4 ± 4,95 ↓ 3,7%	0,45
<b>p**</b>	<b>0,0475</b>	<b>0,007</b>	

(\*) Prueba T-Student para muestras independientes.

(\*\*) Prueba ANOVA One-Way.

Dentro del grupo control, se observa que el subgrupo con tratamiento vehículo tiene los niveles más bajos. Dentro del grupo diabético el subgrupo control también es el que tiene los niveles menores de LDL. Al comparar ambos grupos, los niveles de LDL en el subgrupo de Maca Negra 3 (250mg) (10%) se muestra una disminución de la lipoproteína considerable.



**Gráfico 06:** LDL (mg/dl) en ratas adultas machos sanos y ratas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

★  $p < 0,05$

En el Gráfico 06: los niveles de los subgrupos del grupo diabético son menores a los subgrupos pertenecientes al grupo control, sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas.

## 5.6. NIVELES DE VLDL EN EL GRUPO DIABÉTICO INDUCIDO CON NICOTINAMIDA/ESTREPTOZOTOCINA Y EL GRUPO CONTROL

Al comparar ambos grupos, se puede ver que el subgrupo con tratamiento de Maca Negra 3 (250mg) ( $P=0,030$ ) tiene un incremento de esta lipoproteína en el grupo diabético; todos los demás subgrupos son similares al comparar al grupo control versus el grupo diabético.

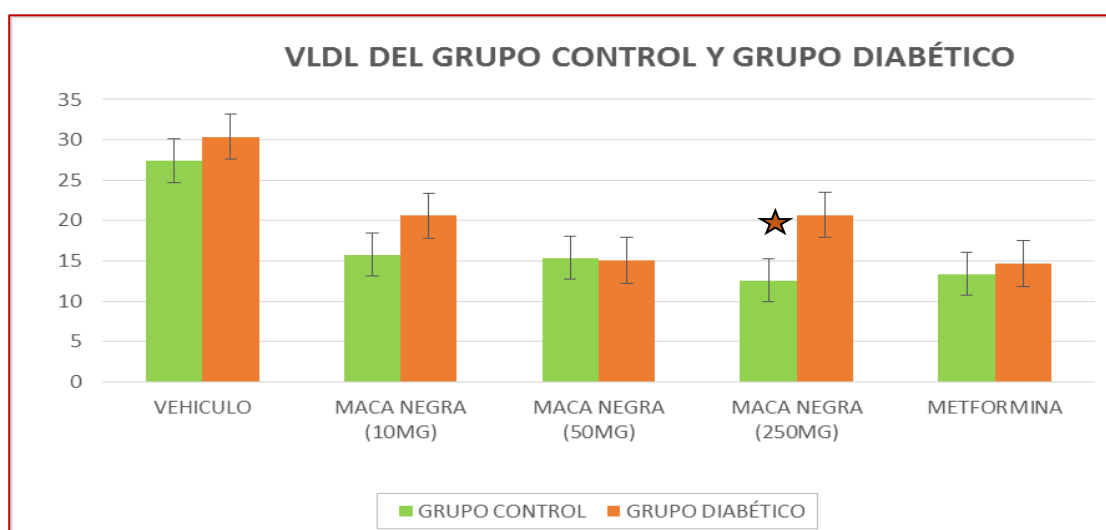
**Tabla 09: VLDL en ratas adultas machos sanos y ratas adultas con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina**

NIVELES DE VLDL			
Tratamiento	GRUPO CONTROL	GRUPO DIABÉTICO	p*
Vehículo	27,4 ± 5,0	30,4 ± 1,7 ↑ 10,9%	0,560
Maca negra (10mg)	15,8 ± 2,9	20,6 ± 3,2 ↑ 30,4%	0,100
Maca negra (50mg)	15,4 ± 2,9	15,1 ± 1,9 ↓ 2%	0,970
Maca negra (250mg)	12,6 ± 2,3	20,7 ± 8,0 ↑ 64,3%	0,030
Metformina (300mg)	13,4 ± 1,6	14,7 ± 3,1 ↑ 9,7%	0,960
p**	0,000	0,0003	

(\*) Prueba T-Student para muestras independientes.

(\*\*) Prueba ANOVA One-Way.

En el grupo control, el nivel más elevado es el del subgrupo con tratamiento vehículo; estos niveles son similares en el grupo diabético en los subgrupos con tratamientos con Maca Negra 1(10mg) y Maca Negra 3 (250mg).



**Gráfico 07: VLDL en ratas adultas machos sanos y ratas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina. ★<0,05**



En la Gráfica 07, los niveles de VLDL en todos los subgrupos del grupo diabético son mayores al compararlos con los subgrupos del grupo control con excepción de la Maca Negra 2 (50mg), que es similar en ambos grupos. El subgrupo de Maca Negra 3 (250mg) ( $p=0.030$ ) es mayor en el grupo diabético, siendo estadísticamente significativo.

### 5.7. PESO EN EL GRUPO CONTROL Y GRUPO DIABÉTICO INDUCIDO CON NICOTINAMIDA/ESTREPTOZOTOCINA

Se observa que no hay diferencias significativas entre los tratamientos en el inicio, séptimo día y décimo cuarto día.

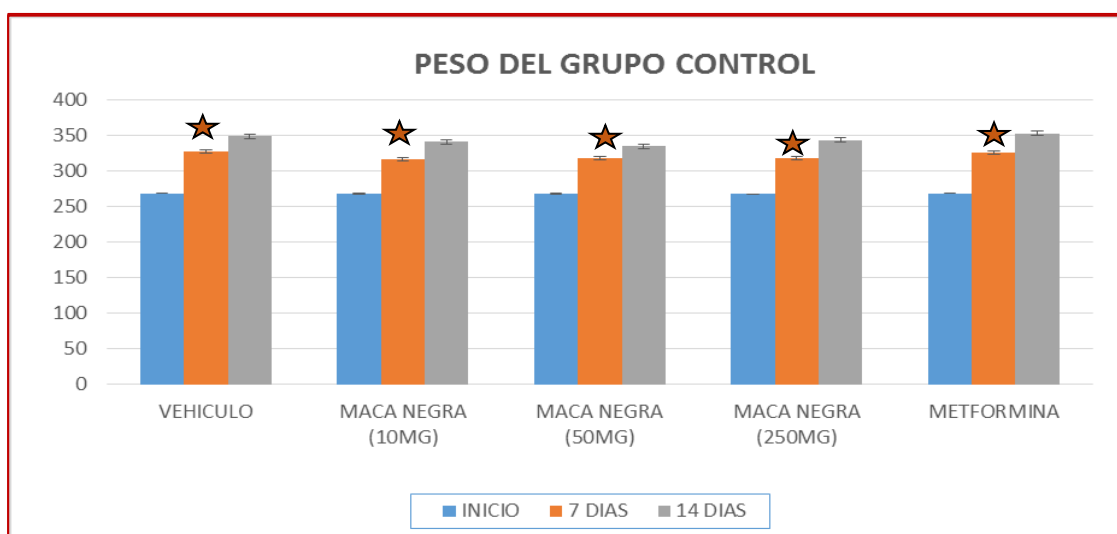
**Tabla 10: Peso en ratas adultas machos sanos-Grupo Control**

<b>PESO GRUPO CONTROL</b>				
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>INICIO</b> (Me $\pm$ DS)	<b>7 DIAS</b> (Me $\pm$ DS)	<b>14 DIAS</b> (Me $\pm$ DS)	<b>p*</b>
<b>Vehículo</b>	268,67 $\pm$ 16,33	327,33 $\pm$ 16,87 ↑ 21,8%	348,67 $\pm$ 19,72 ↑ 29,8%	0,001
<b>Maca Negra (10mg)</b>	268 $\pm$ 22,88	316,5 $\pm$ 20,17 ↑ 18.1%	341 $\pm$ 24,11 ↑ 27.2%	0,0002
<b>Maca Negra (50mg)</b>	267,83 $\pm$ 17,74	318,17 $\pm$ 19,51 ↑ 18,8%	334,67 $\pm$ 19,53 ↑ 25%	0,0001
<b>Maca Negra (250mg)</b>	267,17 $\pm$ 9,28	318,17 $\pm$ 14,41 ↑ 19,1%	342,83 $\pm$ 17, 97 ↑ 28,3%	0,001
<b>Metformina (300mg)</b>	268,33 $\pm$ 17,12	326,33 $\pm$ 16,62 ↑ 20,6%	352,83 $\pm$ 10,78 ↑ 31,5%	0,001
<b>p**</b>	<b>0,990</b>	<b>0,700</b>	<b>0,520</b>	

(\*) Prueba T-Student para muestras relacionadas.

(\*\*) Prueba ANOVA One-Way.

En relación al peso en el grupo control (animales sanos), se observa que los pesos de los subgrupos tratados con vehículo ( $P=0,001$ ), maca negra 1 (10mg) ( $P=0,0002$ ), maca negra 2 (50mg) ( $P=0,0001$ ), maca negra 3 (250mg) ( $P=0,001$ ) y metformina ( $P=0,001$ ) presentan una subida de peso significativa y esperada a lo largo del tiempo de acuerdo al crecimiento normal de los animales.



**Gràfica 08:** Peso en ratas adultas machos sanos-Grupo control

★  $p < 0.05$

En el Gráfico 08, se comparan los pesos de los diferentes subgrupos del grupo control; se puede ver el crecimiento normal y esperado de los animales a lo largo del estudio.

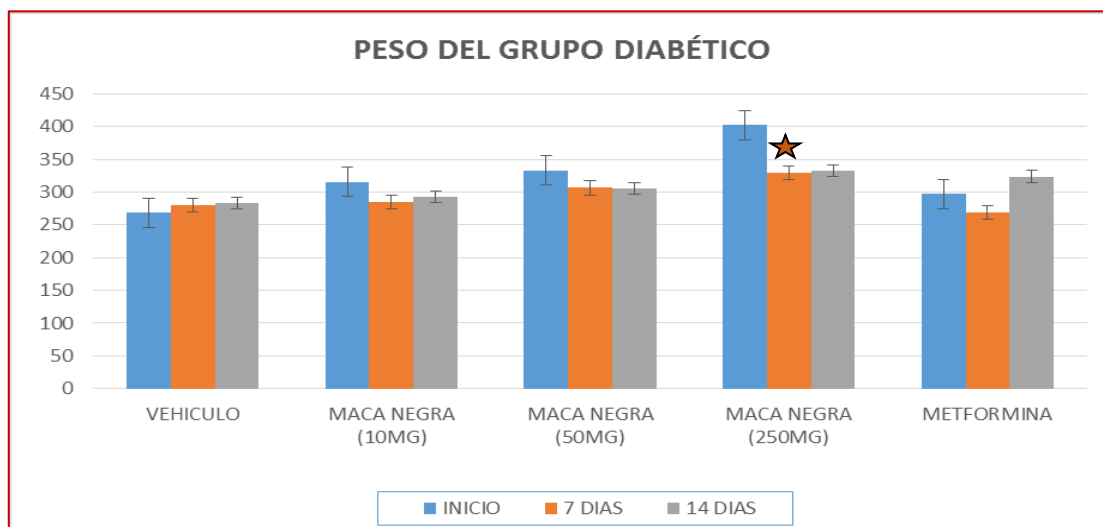
**Tabla 11: Peso en ratas adultas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina-Grupo diabético**

<b>PESO GRUPO DIABÉTICO</b>				
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>INICIO</b> (Me ± DS)	<b>7 DIAS</b> (Me ± DS)	<b>14 DIAS</b> (Me ± DS)	<b>p*</b>
<b>Vehículo</b>	268,25 ± 44,18	280 ± 43,88 ↑ 4,4%	283,5 ± 29,31 ↑ 5,7%	0,850
<b>Maca Negra (10mg)</b>	316 ± 56,35	285,2 ± 21,39 ↓ 9,8%	293,2 ± 31,12 ↓ 7,2%	0,840
<b>Maca Negra (50mg)</b>	333,5 ± 36,86	306,8 ± 31,78 ↓ 8%	305,8 ± 86,33 ↓ 8,3%	0,420
<b>Maca Negra (250mg)</b>	402,5 ± 25,17	329,8 ± 43,1 ↓ 18,1%	332,5 ± 70,38 ↓ 17,4%	0,038
<b>Metformina (300mg)</b>	297,5 ± 64,02	269 ± 28,3 ↓ 9,6%	324 ± 13,54 ↑ 8,9%	0,280
<b>p**</b>	<b>0,0019</b>	<b>0,095</b>	<b>0,360</b>	

(\*) Prueba T-Student para muestras relacionadas.

(\*\*) Prueba ANOVA One-Way.

En la tabla 11, donde se observa el peso de los animales de todos los subgrupos del grupo diabético, se ve en una reducción del peso al día 14 en comparación al peso del día 1 en el subgrupo con tratamiento de maca 3 (250mg) ( $p=0.038$ ). Dentro del día 1, se puede observar que los subgrupos tratados con tratamiento vehículo y metformina tienen un peso menor en comparación con los demás subgrupos.



**Figura 09:** Peso (gr) en ratas adultas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

★  $p < 0,05$

En la Grafica 9, el subgrupo tratado con Maca Negra 3 (250mg) tiene una disminución estadísticamente significativa en el día 14 en comparación con el peso basal (día 1). Los subgrupos de Maca Negra 1(10mg) y metformina, tienen una disminución del peso en el día 7, el cual recuperan en el día 14; en los subgrupos de maca negra de 50mg tienen una reducción del peso al día 7 y se mantiene constante en el día 14.

## 5.8. PESO DEL HÍGADO EN EL GRUPO CONTROL Y GRUPO DIABÉTICO INDUCIDO CON NICOTINAMIDA/ESTREPTOZOTOCINA

En el caso de las ratas tratadas con nicotinamida/estreptozotocina se genera la patología que puede llevar a un mal funcionamiento del hígado variando su peso.

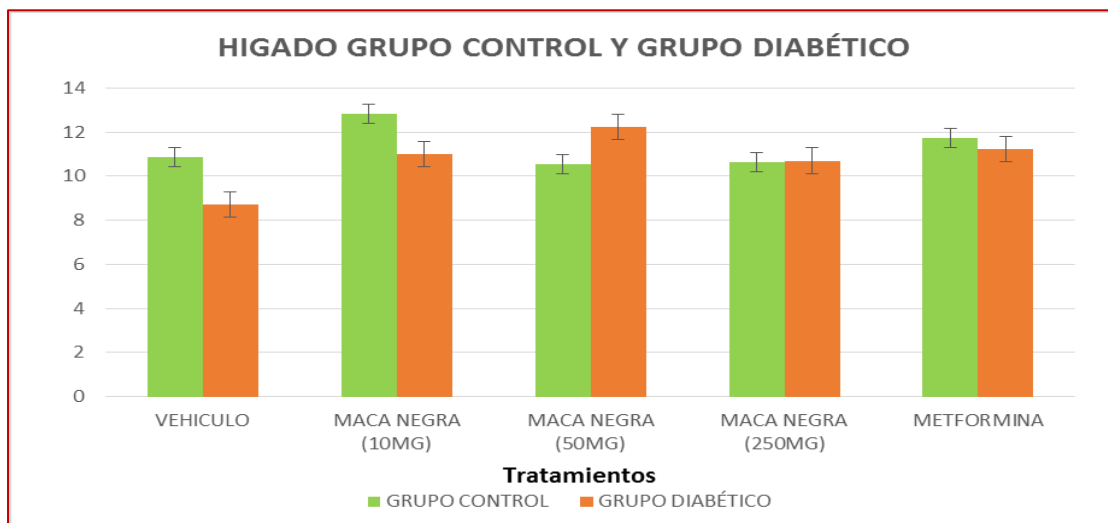
**Tabla 12: Peso del Hígado en ratas adultas machos sanos y ratas adultas con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina**

<b>PESO DEL HIGADO</b>			
<b>Tratamientos</b>	<b>GRUPO CONTROL</b>	<b>GRUPO DIABÉTICO</b>	<b>p*</b>
<b>Vehículo</b>	10.87 ± 0.25	8.7 ± 0.78 ↓ 20%	0.650
<b>Maca Negra 1 (10mg)</b>	12.85 ± 0.49	11 ± 0.97 ↓ 14.4%	0.540
<b>Maca Negra 2 (50mg)</b>	10.55 ± 0.32	12.22 ± 1.18 ↑ 15.8%	0.500
<b>Maca Negra 3 (250mg)</b>	10.63 ± 0.64	10.7 ± 1.51 ↑ 0.7%	0.980
<b>Metformina (300mg)</b>	11.74 ± 0.42	11.24 ± 0.44 ↓ 4.3%	0.840
<b>p**</b>	<b>0.0052</b>	<b>0.25</b>	

(\*) Prueba T-Student para muestras independientes.

(\*\*) Prueba ANOVA One-Way.

Al observar los subgrupos de ambos grupos, podemos apreciar que los subgrupos tratados con vehículo, Maca Negra 1 (10mg), y metformina del grupo diabético, tienen pesos menores comparándolos con los subgrupos del grupo control. Esto varía al ver el subgrupo tratado con Maca Negra 2(50mg) del grupo diabético que presenta un peso mayor a comparación con el grupo control; la Maca Negra 3 (250mg) del grupo diabético tiene un peso similar comparándolo con el mismo subgrupo del grupo control.



**Gráfico 10:** Peso del Hígado en ratas adultas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

★  $p < 0.05$

En el Gráfico 10, observamos la comparación entre los subgrupos del grupo control y grupo diabético. El peso del hígado en los subgrupos tratados con vehículo, Maca Negra 1 (10mg) y metformina son menores en el grupo diabético comparados con el grupo control. El subgrupo tratado con Maca Negra 2 (50mg) tiene niveles mayores en el grupo diabético comparado con el grupo control. La Maca Negra 3 (250mg) tiene un peso similar entre ambos grupos.

### 5.9. PESO DE RIÑONES EN EL GRUPO CONTROL Y GRUPO DIABÉTICO INDUCIDO CON NICOTINAMIDA/ESTREPTOZOTOCINA

El riñón se ve afectado por la diabetes, en los animales con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina se observa variaciones del peso de los riñones en algunos subgrupos

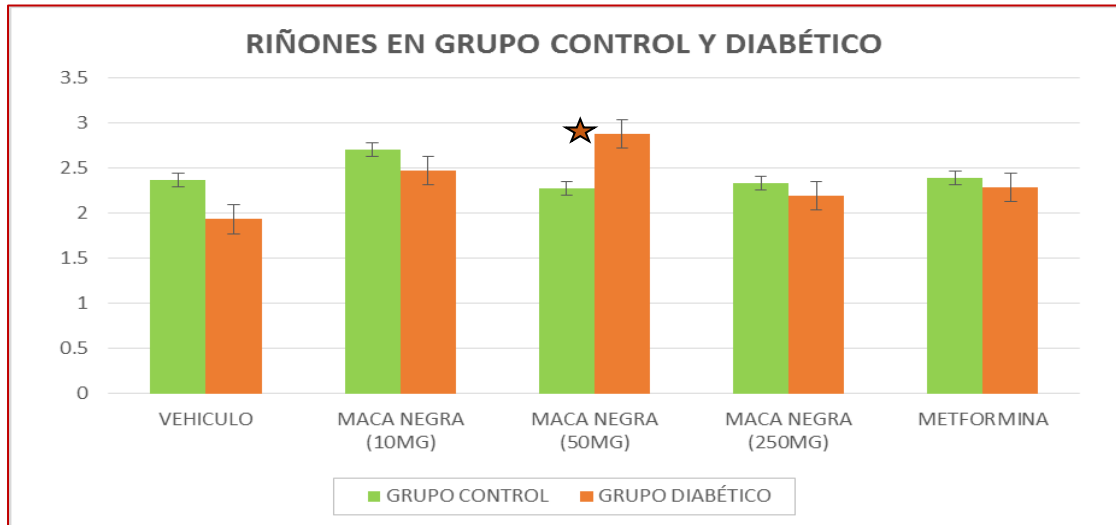
**Tabla 13: Peso de Riñones en ratas adultas machos sanos y ratas adultas con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina**

<b>PESO DE RIÑONES</b>			
<b>Tratamientos</b>	<b>GRUPO CONTROL</b>	<b>GRUPO DIABÉTICO</b>	<b>p*</b>
<b>Vehículo</b>	2,37 ± 0,11	1,93 ± 0,19 ↓ 18,6%	0,051
<b>Maca Negra 1 (10mg)</b>	2,7 ± 0,15	2,47 ± 0,32 ↓ 8,5%	0,740
<b>Maca Negra 2 (50mg)</b>	2,27 ± 0,04	2,88 ± 0,33 ↑ 26,9%	0,007
<b>Maca Negra 3 (250mg)</b>	2,33 ± 0,23	2,19 ± 0,22 ↓ 6%	0,830
<b>Metformina (300mg)</b>	2,39 ± 0,14	2,28 ± 0,12 ↓ 4,6%	0,967
<b>p**</b>	<b>0,29</b>	<b>0,17</b>	

(\*) Prueba T-Student para muestras independientes.

(\*\*) Prueba ANOVA One-Way.

En el subgrupo tratado con Maca Negra 2 (50mg) (P=0,007) del grupo diabético, se ve un incremento del peso comparado con el grupo control. Los subgrupos tratados con vehículos, Maca Negra 1 (10mg), Maca Negra 3 (250mg) y metformina tienen un peso menor en el grupo diabético comparado con el grupo control.



**Gráfica 11:** Peso de Riñones en ratas adultas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina

★  $p < 0,05$

En el Gráfico 11, el subgrupo tratado con Maca Negra 2 (50mg) tiene un peso mayor en el grupo diabético; los demás subgrupos tienen un menor peso en el grupo diabético al compararlos con el grupo control.

#### 5.10. CAMBIOS MORFOLOGICOS EN RATAS MACHOS CON DIABETES INDUCIDA CON NICOTINAMIDA/ESTREPTOZOTOCINA

Presentación de la caída del pelo y resequead de la piel. Los animales del subgrupo vehículo del grupo diabético presentó caída del pelo luego de 10 días de inducida la patología.





**Gráfico 11:** Rata macho del grupo diabético con presencia de caída de pelo y resequedad en la piel (subgrupo vehículo)

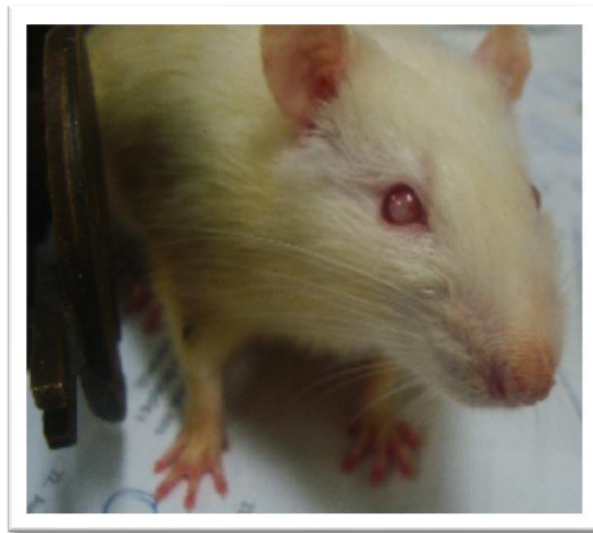
De las seis ratas del subgrupo control del grupo diabético, cuatro de ellas presentaron caída del pelo, de menor manera los subgrupos de Maca Negra 1 (10mg) (n=2), Maca Negra 2 (50mg) (n=1) y Maca Negra 3 (250mg) (n=1) presentaron este cambio.



**Gráfico 12:** Rata macho del grupo diabético del subgrupo Maca Negra 1 (10mg), con caída de pelo

La caída del pelo y resequedad de la piel se presentan en los animales del subgrupo vehículo, Maca Negra 1 (10mg) y Maca Negra 3 (250 mg) presentaron

caída de pelo y resequedad de la piel; el subgrupo vehículo presentó heridas en las zonas afectadas por la caída de pelo y resequedad.



**Gráfico 13:** Rata macho del grupo diabético del subgrupo Vehículo, con presencia de catarata.

Presencia de halos blanquecinos en el ojo denotan la presencia de una catarata moderada, cuatro animales del subgrupo vehículo del grupo diabético presentaron halos blanquecinos en el ojo, un animal del subgrupo de Maca Negra 1 (10mg) y Maca Negra 2 (50mg) presentaron la patología de cataratas.

## VI. DISCUSION

Como algunos artículos refieren, las diferentes plantas nativas colaboran con la regulación de la glucosa, así como en el metabolismo de los lípidos en patologías donde sus niveles se encuentran alterados (Andrade-Cetto y col., 2007; De D. y col. 2011). Estudios previos han demostrado que la maca es una de las plantas con mayores efectos benéficos a la salud del ser humano, ya que juega un rol importante en la regulación del metabolismo lipídico y colabora con la regulación de los niveles de glucosa. (Vecerra R. y col., 2007)

En el estudio se definieron dos grupos; un grupo control y un grupo diabético; cada uno de estos dos grupos se dividieron en cinco subgrupos. Cada subgrupo de cada uno de los dos grupos tuvo un tratamiento diferente; estos tratamientos fueron vehículo (agua), Maca Negra 1 (10mg/ml), Maca Negra 2 (50mg/ml), Maca Negra 3 (250mg/ml) y metformina.

Se estudió el efecto de la maca negra en dosificaciones de 10mg, 50mg y 250mg, comparada con la metformina y vehículo (agua) en ratas machos con diabetes inducida con estreozotocina/nicotinamida.

La inducción de la diabetes en los subgrupos diabéticos se dio usando nicotinamida en combinación con la estreptozotocina. Los animales tuvieron niveles mayores a 250mg/dl de glucosa; en este caso se tuvieron los cambios esperados en los animales diabéticos. Dentro de estos cambios encontramos bajo peso, resequedad de la piel, caída de pelo e hiperglicemia entre otros.

Como se muestra en la Tabla 03, el grupo control tiene niveles de glucosa similares a lo largo de los tratamientos; estos niveles se mantienen dentro de los rangos normales de glucosa. En la Tabla 04 donde se muestra al grupo diabético, se puede observar que los niveles de glucosa de los subgrupos vehículo, Maca Negra 1 (10mg) y Maca Negra 3 (250mg) se mantienen elevados a lo largo del desarrollo de la patología; eso es de esperarse dentro del subgrupo vehículo, ya que al desarrollar la diabetes sin ningún tratamiento se va tener niveles en sangre elevados de glucosa; además no se está usando la insulina producida o no se produce lo suficiente.

En los subgrupos con tratamiento con Maca Negra 2 (50mg) ( $p=0.006$ ) y metformina ( $p=0,002$ ), se ve una disminución estadísticamente significativa; teniendo en el subgrupo de Maca Negra 2 (50mg) una disminución del 49,7% a comparación del nivel inicial y la metformina una disminución de 69,4%. Esto se da ya que la metformina, siendo una biguanida tiene un mecanismo antagónico al glucagón. Se da una inhibición de las vías de señalización del glucagón inhibiendo la salida de glucosa hepática manteniendo la glucosa de manera estable. (Miller L. y col., 2013)

En el caso de la Maca Negra 2 (50mg), esta disminución podría deberse a que hay un bloqueo a la generación de resistencia a la insulina; ya que estos

animales al generar diabetes tienen un alto porcentaje de generar resistencia a la insulina; por lo que los valores de glucosa van a ser elevados; esto se ve contrarrestado en el grupo tratado con Maca Negra 2 (50mg), donde se observa que los valores se mantienen. La maca negra podría estar actuando a nivel hepático contribuyendo a la utilización de la insulina por los receptores hepáticos y/o como la metformina podría estar inhibiendo la formación de glucosa; en estudios anteriores como el de Vecera se puede observar que la maca genera una disminución importante de la glucosa en un modelo de ratas con una dieta rica en sucrosa.(Vecera R. y col., 2007), así también, en un estudio realizado con ratas con diabetes inducida con estreptozotocina, se observa que la glucosa disminuye. (Gonzales G. y col. 2013).

En el subgrupo con Maca Negra 3 (250mg) se genera una meseta ya que no genera una disminución sino se mantiene constante los niveles de glucosa, esto puede deberse a que la concentración de la maca ya es elevada y no es la concentración óptima para un tipo de control glicémico; en el subgrupo de Maca Negra 1 (10mg) se observa que no se da un control glicémico, esto podría a deberse a que la concentración de maca no es suficiente para generar un efecto positivo contra la alta glucemia o el tiempo de tratamiento es corto. Siendo la concentración de Maca Negra 2 (50mg) el que genera el efecto benéfico, se debe estudiar cuál de los compuestos que tiene la maca (y ya han sido analizados) puede estar generando este efecto glicémico. (Gonzales G. y col., 2012)

En estudios previos se ha observado que la maca tiene un efecto en la regulación de las grasas, donde se ven disminuidos los niveles de colesterol y triglicéridos.

En los análisis bioquímicos; se puede observar que la concentración de colesterol total es similar entre el grupo control y el grupo diabético, esto indica que no se ha dado un incremento al desarrollarse la patología y se ha mantenido estable, la cual podría darse por un efecto a nivel hepático; en la medición de los niveles de triglicéridos al comparar el grupo control versus el grupo diabético, se ve que entre los subgrupos diabéticos tratados con Maca Negra 1 (10mg) ( $p=0,049$ ) y Maca Negra 3 (250mg) ( $p=0,018$ ) hay un incremento de 30,1% y 64,3% respectivamente; dentro del grupo diabético tratados con Maca Negra 2 (50mg) y metformina se observa una disminución en comparación con los otros subgrupos; esta disminución en ambas concentraciones, nos da un indicio de lo ya observado antes; la Maca Negra 2 (50mg) podría estar teniendo un efecto a nivel hepático nivelando este compuesto así como a la glucosa. En los resultados bioquímicos, los triglicéridos se ven afectados a nivel sérico; los niveles de este compuesto se ven disminuidos en los subgrupos que están generando una protección contra la diabetes; se sabe de este efecto por parte de la metformina en muchos de los casos, ayudando a mantener los niveles de este componente controlado y muchas veces disminuido. (Vecerra R. y col. 2007)

El HDL es similar en ambos grupos al comparar cada subgrupo; se mantienen en el rango normal. En los niveles de LDL también se puede observar niveles similares entre todos los subgrupos, siendo el subgrupo de Maca Negra 3

(250mg) del grupo diabético el que presenta una disminución significativa del 10% de este compuesto (0,07); en el grupo diabético se tiene en los grupos Maca Negra 2 (10mg) y metformina una disminución, esta disminución podría darnos un indicio de un posible efecto de estas dos concentraciones sobre esta lipoproteína.

En los niveles de VLDL del grupo diabético, se tienen niveles mayores en el subgrupo de Maca Negra 3 (250mg) ( $p=0,03$ ) y Maca Negra 1 (10mg); siendo los subgrupos diabéticos vehículo, Maca Negra 2 (50mg) y metformina los que presentan niveles menores a comparación de los otros subgrupos. Al observar entre el grupo control y grupo diabético; se puede ver que los subgrupos con niveles similares de VLDL son los de Maca Negra 2 (50mg) y metformina; teniendo los otros 3 subgrupos una subida de esta lipoproteína en el grupo diabético.

Los valores de VLDL se ven afectados en los mismos subgrupos que tienen glucemias elevadas; se debe tener en cuenta que las concentraciones de VLDL en plasma y en hígado no son iguales; además de ello se trata de una lipoproteína que se ve afectada por las concentraciones de insulina; estos subgrupos que presentarían niveles de insulina menores con glucemia elevada tienen niveles superiores de VLDL comparando con los subgrupos que tienen una glucemia disminuida; en estos casos el VLDL se mantiene constante en el subgrupo maca negra 50mg y metformina; esto es de esperarse al encontrar resultados similares en otros estudios; donde se ve una disminución de VLDL en plasma. (Geerling J.J. y col., 2014)

Cuando se analiza el peso del grupo control, se observa un incremento de peso esperado en animales, esto se da de acuerdo con el crecimiento normal que tienen las ratas de esta cepa (Cossio-Bolaños M. y col., 2013), se muestra en la tabla 10 un incremento considerable en el subgrupo tratado con metformina (31,5%). La alimentación de los animales al ser balanceada les da este incremento.

En la tabla 11 se muestra a los animales del grupo diabético se observa al comparar el peso inicial con el peso al séptimo día una disminución de éste en todos los tratamientos con maca y metformina; el subgrupo de Maca Negra 3 (250mg) tiene una disminución de 18,1%; este compuesto no estaría dando un control del peso como si se ve en los subgrupos tratados con Maca Negra 1 (10mg) y Maca Negra 2 (50mg). Al observar los pesos en el día 14 se muestra que el subgrupo tratado con Maca Negra 3 (250mg) mantiene la disminución mayor al compararse con los demás subgrupos. La poca disminución del peso en los subgrupos tratados con Maca Negra 1 (10mg) y Maca Negra 2 (50mg) puede deberse a que la Maca es un alimento usado como alimento nutricional en zonas alto andinas donde lo consumen desde el nacimiento; es un alimento rico en proteínas y aminoácidos esenciales (Gonzales G. y col., 2009; Gonzales G. y col, 2008) En este análisis podemos ver que la diabetes afecta el patrón normal de crecimiento y no se recupera estadísticamente significativo ni con maca ni con metformina.

En la tabla 12, se observan los resultados del peso del hígado. Se ve un peso similar en ambos grupos; esto demuestra que el tratamiento con maca negra



mantiene este órgano sin ninguna alteración morfológica luego de 14 días de tratamiento.

En la tabla 13, se muestra el peso de los riñones en ambos grupos. En esta comparación se observa que la metformina tiene un nivel similar en ambos grupos y en el subgrupo de Maca Negra 2 (50mg) tiene un incremento de 26,9% ( $p=0,007$ ). Se sabe que la glucosa elevada genera estrés oxidativo dentro de las células en las células tubulares del riñón llevando a una apoptosis; esto es contrarrestado por la metformina y se genera una protección (Nasri H. y col., 2014) y como sabemos la maca negra tiene un efecto antioxidante, por lo que podría generando la misma protección y manteniendo un peso más elevado del riñón para evitar daños futuros; esto se determinaría al desarrollar un estudio más largo y teniendo en cuenta por la bibliografía el tiempo en que se va dando un efecto nocivo de la diabetes al riñón y la pérdida de la función del mismo además de realizar un análisis bioquímico e histológico para observar si se está dando una protección por parte de la maca (Gonzales G. y col., 2014)

Al examinar a los animales de manera morfológica se pudo observar en el grupo de los animales diabéticos a la semana de detectada la enfermedad presentan una disminución del peso, así como la caída de pelo quedando huecos donde se notaba la piel deshidratada y reseca de los animales; esto se vio en el subgrupo del vehículo y Maca Negra 1 (10mg) y Maca Negra 3 (250mg) antes y durante la primera semana de tratamiento. Además, se vio que algunos de los animales presentaban opacidades blancas en los ojos, que podría deberse a la formación de la catarata (Patil M. y col., 2014) esto se dio mayormente en el subgrupo vehículo y Maca Negra 1 (10mg) y Maca Negra 2 (50mg) antes y

durante el tratamiento. La formación de cataratas es muy común en el desarrollo de la diabetes; se puede observar que ninguno de los tratamientos con maca negra genera un efecto benéfico contra esta patología, sin embargo, deberán realizarse estudios específicos para su comprobación.

También presentaban algunos animales sangrado ocular que podría deberse a una retinopatía diabética en el subgrupo vehículo; la retinopatía diabética también es una patología derivada de la diabetes y era de esperarse dentro del grupo vehículo; (Chous A. y col., 2015) algunos (n=3) de los animales del grupo diabético fallecieron antes de completar el estudio ya sea por el poco peso que presentaban o por las constantes diarreas y poliuria; no se puede afirmar sin realizar un estudio controlando la ingesta de agua y comida en cada grupo.

Los animales del grupo diabético tratados con Maca Negra 2 (50mg) presentaron menos caída de pelo y menor cantidad de opacidades blancas en los ojos (solo uno de los animales presentaba esta condición en este subgrupo) y como ya se ha mencionado mantuvieron el peso al final del tratamiento.

## VII. CONCLUSIONES

- La Maca negra en una de sus dosificaciones ha reportado un efecto benéfico sobre la hiperglicemia en ratas machos con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina, solo se ha reportado un decremento en los niveles LDL con una dosificación de sus dosificaciones.
- Los compuestos nicotinamida/estreptozotocina generaron la patología en el grupo diabético y se generó una glucemia mayor a 250mg/dl.
- Los tratamientos con Maca Negra de 10mg y Maca Negra de 250 mg no tienen un efecto benéfico significativo sobre los niveles de glucosa elevados en el grupo diabético.
- El tratamiento con Maca Negra de 50mg generó una disminución de la glucosa en las ratas con diabetes inducida con nicotinamida/estreptozotocina.
- El tratamiento con Maca Negra de 250mg en el grupo diabético reportó una disminución de los niveles de LDL.

- El peso del riñón en el subgrupo con tratamiento de Maca Negra 2 (50mg) se observó un incrementado en el grupo diabético.
- La morfología de los animales se vio afectada por la patología, presentando pérdida de peso, caída de pelo y disminución de la visión (cataratas) de los animales.

## VIII. RECOMENDACIONES

- Se debe controlar el peso del alimento destinado a cada subgrupo, así como el volumen de agua que diariamente se les proporcionaba.
- Se debe realizar la medición del perfil lipídico en los días 1<sup>er</sup> y 7<sup>mo</sup> de tratamiento en todos los subgrupos.
- Se deben realizar mediciones de insulina junto con las mediciones de glucosa para poder observar los niveles de insulina a lo largo del tratamiento.
- Se debe realizar cortes histopatológicos del páncreas para observar la concentración de las células Beta en los animales diabéticos inducidos con nicotinamida/ estreptozotocina.
- Se debe realizar estudios a nivel hepático para saber la acción de la maca negra sobre los niveles lipídicos y de glucosa.

- Se debe realizar el estudio del riñón de ratas diabéticos inducidos con nicotinamida/estreptozotocina y si existe una protección por efecto de la administración de maca.
- Se debe realizar un estudio complementario analizando los compuestos de la Maca Negra para determinar los elementos que podrían estar generando un efecto anti hiperglicémico y modulación de los niveles de lípidos.

## IX. BIBLIOGRAFIA

1. **Alenzi FQ.** “*Effect of nicotinamide on experimental induced diabetes*”. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2009 Mar; 8(1):11-8. doi: 08.01/ijaa.1118.
2. **American Diabetes Association.** “*Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*”. Diabetes Care, Vol 29, supplement 1, January 2006
3. **Anderson T, Schein PS, McMenamin MG, Cooney DA.** “*Streptozotocin diabetes. Correlation with extent of depression of pancreatic islet nicotinamide adenine dinucleotide*”. J Clin Invest. 1974 Sep; 54(3):672-7.
4. **Andrade-Cetto A, Becerra-Jiménez J, Cárdenas-Vázquez R.** “*Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes*”. J Ethnopharmacol. 2008 Feb 28;116(1):27-32. Epub 2007 Dec 21.
5. **Andújar-Plata P, Pi-Sunyer X, Laferrère B.** “*Metformin effects revisited*”. Diabetes Res Clin Pract. 2012 Jan; 95(1):1-9. Epub 2011 Oct 14.
6. **Annadurai T1, Thomas PA, Geraldine P.** “*Ameliorative effect of naringenin on hyperglycemia-mediated inflammation in hepatic and pancreatic tissues of Wistar rats with streptozotocin- nicotinamide-induced*

- experimental diabetes mellitus*". Free Radic Res. 2013 Oct;47(10):793-803. doi: 10.3109/10715762.2013.823643. Epub 2013 Aug 8.
7. **Barik R1, Jain S, Qwatra D, Joshi A, Tripathi GS, Goyal R.** "Antidiabetic activity of aqueous root extract of *Ichnocarpus frutescens* in streptozotocin-nicotinamide induced type-II diabetes in rats". Indian J Pharmacol. 2008 Jan;40(1):19-22. doi: 10.4103/0253-7613.40484.
  8. **Bazelier MT, Vestergaard P, Gallagher AM, van Staa TP, Cooper C, Leufkens HG, de Vries F.** "Risk of fracture with thiazolidinediones: disease or drugs?" Calcif Tissue Int. 2012 Jun;90(6):450-7. Epub 2012 Apr 10.
  9. **Bost F, Ben-Sahra I, Tanti JF.** "Prevention of mutagenesis: new potential mechanisms of metformin action in neoplastic cells". Cancer Prev Res (Phila). 2012 Apr;5(4):503-6.
  10. **Brunetti L, Kalabalik J.** "Management of type-2 diabetes mellitus in adults: focus on individualizing non-insulin therapies". P T. 2012 Dec; 37(12):687-96.
  11. **Burr JF, Shephard RJ, Riddell MC.** "Prediabetes and type 2 diabetes mellitus: assessing risks for physical activity clearance and prescription". Can Fam Physician. 2012 Mar; 58(3):280-4.
  12. **Chous AP1, Richer SP2, Gerson JD3, Kowluru RA4.** "The Diabetes Visual Function Supplement Study (DiVFuSS)". Br J Ophthalmol. 2015 Jun 18. pii: bjophthalmol-2014-306534. doi: 10.1136/bjophthalmol-2014-306534. [Epub ahead of print]
  13. **De D, Chatterjee K, Ali K, Kanti Bera T, Ghosh D.** "Antidiabetic Potentiality of the Aqueous-Methanolic Extract of Seed of *Swieteniamahagoni*" (L.) Jacq. in Streptozotocin-Induced Diabetic Male Albino Rat: A Correlative and Evidence-Based Approach with Antioxidative and Antihyperlipidemic Activities. Evid Based Complement Alternat Med. 2011; 2011:892807.



14. **Di Dalmazi G, Pagotto U, Pasquali R, Vicennati V.** “*Glucocorticoids and type 2 diabetes: from physiology to pathology*”. *J Nutr Metab.* 2012; 2012:525093. doi: 10.1155/2012/525093. Epub 2012 Dec 18.
15. **Garcia-Bailo B, El-Sohehy A, Haddad PS, Arora P, Benzaied F, Karmali M, Badawi A.** “*Vitamins D, C, and E in the prevention of type 2 diabetes mellitus: modulation of inflammation and oxidative stress*”. *Biologics.* 2011; 5:7-19.
16. **Geerling JJ1, Boon MR, van der Zon GC, van den Berg SA, van den Hoek AM, Lombès M, Princen HM, Havekes LM, Rensen PC, Guigas B.** “*Metformin lowers plasma triglycerides by promoting VLDL-triglyceride clearance by brown adipose tissue in mice*”. *Diabetes.* 2014 Mar;63(3):880-91. doi: 10.2337/db13-0194. Epub 2013 Nov 22.
17. **Goldberg R1, Temprosa M, Otvos J, Brunzell J, Marcovina S, Mather K, Arakaki R, Watson K, Horton E, Barrett-Connor E.** “*Lifestyle and metformin treatment favorably influence lipoprotein subfraction distribution in the Diabetes*” Prevention Program. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Oct;98(10):3989-98. doi: 10.1210/jc.2013-1452. Epub 2013 Aug 26.
18. **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.
19. **Gonzales C, Leiva-Revilla J, Rubio J, Gasco M, Gonzales GF.** “*Effect of red maca (Lepidium meyenii) on prostate zinc levels in rats with testosterone-induced prostatic hyperplasia*”. *Andrologia.* 2011 Jul 18. doi: 10.1111/j.1439-0272.2011.01190. x.
20. **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.
21. **Gonzales GF, Gasco M, Córdova A, Chung A, Rubio J, Villegas L.** “*Effect of Lepidium meyenii (Maca) on spermatogenesis in male rats*”

- acutely exposed to high altitude (4340 m)*". J Endocrinol. 2004 Jan;180(1):87-95.
- 22. Gonzales GF, Gonzales C, Gonzales-Castañeda C.** "*Lepidium meyenii (Maca): a plant from the highlands of Peru--from tradition to science*". Forsch Komplementmed. 2009 Dec;16(6):373-80. Epub 2009 Dec 16.
- 23. Gonzales GF, Miranda S, Nieto J, Fernández G, Yucra S, Rubio J, Yi P, Gasco M.** "*Red maca (Lepidium meyenii) reduced prostate size in rats*". Reprod Biol Endocrinol. 2005 Jan 20; 3:5.
- 24. Gonzales GF, Ruiz A, Gonzales C, Villegas L, Cordova A.** "*Effect of Lepidium meyenii (maca) roots on spermatogenesis of male rats*". Asian J Androl. 2001 Sep;3(3):231-3.
- 25. Gonzales GF.** "*Ethnobiology and Ethnopharmacology of Lepidium meyenii (Maca), a Plant from the Peruvian Highlands*". Evid Based Complement Alternat Med. 2012; 2012:193496. Epub 2011 Oct 2.
- 26. Gonzales GF1, Villaorduña L2, Gasco M1, Rubio J1, Gonzales C1.** "*Maca (Lepidium meyenii Walp), a review of its biological properties*". Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2014;31(1):100-10.
- 27. 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*". Photodermatol Photoimmunol Photomed. 2008 Feb;24(1):24-31.
- 28. Grzybowska M, Bober J, Olszewska M.** "*Metformin - mechanisms of action and use for the treatment of type 2 diabetes mellitus*". Postepy Hig Med Dosw (Online). 2011 May 6; 65:277-85.
- 29. Hasan NA, Mummenhoff K, Quiros CF, Tay CD, Bailey CD.** "*Polymorphic chloroplast microsatellite markers in the octoploid Lepidium meyenii (Brassicaceae) and cross-species amplification in Lepidium*". Am J Bot. 2010 Oct;97(10): e85-8. Epub 2010 Sep 16.

- 30. Hassan N, Janjua MZ.** “*The optimum dose of nicotinamide for protection of pancreatic beta-cells against the cytotoxic effect of streptozotocin in albino rat*”. J Ayub Med Coll Abbottabad. 2001 Jul-Sep; 13(3):26-30.
- 31. Hu Y, Wang Y, Wang L, Zhang H, Zhang H, Zhao B, Zhang A, Li Y.** “*Effects of nicotinamide on prevention and treatment of streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats*”. Chin Med J (Engl). 1996 Nov;109(11):819-22.
- 32. Ibrahim SS y Rizk Sh.** “*Nicotinamide: A cytoprotectant against streptozotocin-induced diabetic damage in wistar rat brains*”. African Journal of Biochemistry Research, 2007.
- 33. Iltz JL, Baker DE, Setter SM, Keith Campbell R.** “*Exenatide: an incretin mimetic for the treatment of type 2 diabetes mellitus*”. Clin Ther. 2006 May;28(5):652-65.
- 34. Ito H1, Ishida H, Takeuchi Y, Antoku S, Abe M, Mifune M, Togane M.** “*Long-term effect of metformin on blood glucose control in non-obese patients with type 2 diabetes mellitus*”. Nutr Metab (Lond). 2010 Nov 12; 7:83. doi: 10.1186/1743-7075-7-83.
- 35. Jamiolkowski RM, Guo LY, Li YR, Shaffer SM, Naji A.** “*Islet transplantation in type 1 diabetes mellitus*”. Yale J Biol Med. 2012 Mar;85(1):37-43. Epub 2012 Mar 29.
- 36. Jenkins NT, Padilla J, Arce-Esquivel AA, Bayless DS, Martin JS, Leidy HJ, Booth FW, Rector RS, Laughlin MH.** “*Effects of endurance exercise training, metformin, and their combination on adipose tissue leptin and IL-10 secretion in OLETF rats*”. J Appl Physiol (1985). 2012 Dec 15;113(12):1873-83. doi: 10.1152/jappphysiol.00936.2012. Epub 2012 Sep 27.
- 37. Jie Yang, Weigi Zhang, Wei Jiang, Xiaoning Sun, Yuhua Han, Mingxiao Ding, Yan Shi, Hongkui Deng.** P21<sup>cip</sup>- “*overexpression in the mouse  $\beta$  cells leads to the improved recovery from streptozotocin-induced diabetes*”. PLoS One. 2009 Dec 17;4(12): e8344.

- 38. Kaleem M, Medha P, Ahmed QU, Asif M, Bano B.** “Beneficial effects of *Annona squamosa* extract in streptozotocin-induced diabetic rats”. Singapore Med J. 2008 Oct;49(10):800-4.
- 39. Ku CR, Lee HJ, Kim SK, Lee EY, Lee MK, Lee EJ.** “Resveratrol prevents streptozotocin-induced diabetes by inhibiting the apoptosis of pancreatic  $\beta$ -cell and the cleavage of poly (ADP-ribose) polymerase”. Endocr J. 2012;59(2):103-9.
- 40. Kumar EK, Janardhana GR.** “Antidiabetic activity of alcoholic stem extract of *Nervilia plicata* in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats”. J Ethnopharmacol. 2011 Jan 27; 133(2):480-3. doi: 10.1016/j.jep.2010.10.025. Epub 2010 Oct 19.
- 41. Łabuzek K, Liber S, Gabryel B, Okopień B.** “Metformin has adenosine-monophosphate activated protein kinase (AMPK)-independent effects on LPS-stimulated rat primary microglial cultures”. Pharmacol Rep. 2010; 62(5):827-48.
- 42. Lee MS, Song KD, Yang HJ, Solis CD, Kim SH, Lee WK.** “Development of a type II diabetic mellitus animal model using Micropig®”. Lab Anim Res. 2012 Sep;28(3):205-8. doi: 10.5625/lar.2012.28.3.205.
- 43. Leiter EH, Schile A.** “Genetic and Pharmacologic Models for Type 1 Diabetes”. Curr Protoc Mouse Biol. 2013 Mar 1;3(1):9-19.
- 44. Louisa M, Takeuchi M, Takeuchi M, Nafrialdi, Setiabudy R.** “A Meta-analysis on Treatment Effects of Thiazolidinediones for Type 2 Diabetes”
- 45. Lu J1, Ji J, Meng H, Wang D, Jiang B, Liu L, Randell E, Adeli K, Meng QH.** “The protective effect and underlying mechanism of metformin on neointima formation in fructose-induced insulin resistant rats”. Cardiovasc Diabetol. 2013 Apr 5; 12:58. doi: 10.1186/1475-2840-12-58.
- 46. Meloni AR1, DeYoung MB, Lowe C, Parkes DG.** “GLP-1 receptor activated insulin secretion from pancreatic  $\beta$ -cells: mechanism and glucose dependence”. Diabetes Obes Metab. 2013 Jan;15(1):15-27. doi: 10.1111/j.1463-1326.2012.01663. x. Epub 2012 Aug 1.

- 47. Miller RA<sup>1</sup>, Chu Q, Xie J, Foretz M, Viollet B, Birnbaum MJ.** *"Biguanides suppress hepatic glucagon signalling by decreasing production of cyclic AMP"*. Nature. 2013 Feb 14;494(7436):256-60. doi: 10.1038/nature11808. Epub 2013 Jan 6.
- 48. Mulherin AJ, Oh AH, Kim H, Grieco A, Lauffer LM, Brubaker PL.** *"Mechanisms underlying metformin-induced secretion of glucagon-like peptide-1 from the intestinal L cell"*. Endocrinology. 2011 Dec;152(12):4610-9. Epub 2011 Oct 4.
- 49. Murphy CE.** *"Review of the safety and efficacy of exenatide once weekly for the treatment of type 2 diabetes mellitus"*. Ann Pharmacother. 2012 Jun;46(6):812-21. Epub 2012 Jun 5.
- 50. Nakamura T<sup>1</sup>, Terajima T, Ogata T, Ueno K, Hashimoto N, Ono K, Yano S.** *"Establishment and pathophysiological characterization of type 2 diabetic mouse model produced by streptozotocin and nicotinamide"*. Biol Pharm Bull. 2006 Jun;29(6):1167-74.
- 51. Nasri H<sup>1</sup>, Rafieian-Kopaei M<sup>2</sup>.** *"Metformin and diabetic kidney disease: a mini-review on recent findings"*. Iran J Pediatr. 2014 Oct;24(5):565-8. Epub 2014 Sep 12.
- 52. Ojezele MO, Abatan OM.** *"Hypoglycaemic and coronary risk index lowering effects of Bauhinia thoninensis in alloxan induced diabetic rats"*. Afr Health Sci. 2011 Mar;11(1):85-9.
- 53. Okamoto H.** *"Recent advances in physiological and pathological significance of tryptophan-NAD<sup>+</sup> metabolites: lessons from insulin-producing pancreatic beta-cells"*. Adv Exp Med Biol. 2003;527:243-52.
- 54. Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB.** *"Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends"*. Oman Med J. 2012 Jul;27(4):269-73.
- 55. Ozsoy-Sacan O, Karabulut-Bulan O, Bolkent S, Yanardag R, Ozgey Y.** *"Effects of chard (Beta vulgaris L. var cicla) on the liver of the diabetic rats: a morphological and biochemical study"*. Biosci Biotechnol Biochem. 2004; 68(8):1640-8.

- 56. Patel D, Kumar R, Laloo D, Hemalatha S.** *Diabetes mellitus: “An overview on its pharmacological aspects and reported medicinal plants having antidiabetic activity”*. Asian Pac J Trop Biomed. 2012 May;2(5):411-20. doi: 10.1016/S2221-1691(12)60067-7.
- 57. Patil MA1, Suryanarayana P1, Putcha UK2, Srinivas M2, Reddy GB1.** *“Evaluation of neonatal streptozotocin induced diabetic rat model for the development of cataract”*. Oxid Med Cell Longev. 2014; 2014:463264. doi: 10.1155/2014/463264. Epub 2014 Nov 19.
- 58. Phillippe HM, Wargo KA.** *“Mitiglinide: a novel agent for the treatment of type 2 diabetes mellitus”*. Ann Pharmacother. 2010 Oct;44(10):1615-23. Epub 2010 Sep 14.
- 59. Pires C.** *“Clinical and therapeutic analysis of type 2 diabetics in Portuguese community pharmacies”*. Acta Med Port. 2011 Dec;24 Suppl 2:449-56. Epub 2011 Dec 31.
- 60. Prabhu KS1, Lobo R, Shirwaikar A.** *“Antidiabetic properties of the alcoholic extract of Sphaeranthus indicus in streptozotocin-nicotinamide diabetic rats”*. J Pharm Pharmacol. 2008 Jul;60(7):909-16. doi: 10.1211/jpp.60.7.0013
- 61. Praveen EP, Kulshreshtha B, Khurana ML, Sahoo J, Gupta N, Kumar G, Ammini A, Knadgawat R.** *“Low HDL-cholesterol among normal weight, normoglycemic offspring of individuals with type 2 diabetes mellitus”*. Hormones (Athens). 2011; 10(1):57-66.
- 62. 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”*. Bioresour Technol. 2010 Jun;101(12):4676-89. Epub 2010 Feb 25.
- 63. 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.

- 64. Rubio J, Qiong W, Liu X, Jiang Z, Dang H, Chen SL, Gonzales GF.** *"Aqueous Extract of Black Maca (Lepidium meyenii) on Memory Impairment Induced by Ovariectomy in Mice"*. Evid Based Complement Alternat Med. 2011; 2011:253958.
- 65. Rudovich N, Möhlig M, Otto B, Pivovarova O, Spranger J, Weickert MO, Pfeiffer AF.** *"Effect of meglitinides on postprandial ghrelin secretion pattern in type 2 diabetes mellitus"*. Diabetes Technol Ther. 2010 Jan;12(1):57-64.
- 66. Ruiz-Luna AC, Salazar S, Aspajo NJ, Rubio J, Gasco M, Gonzales GF.** *"Lepidium meyenii (Maca) increases litter size in normal adult female mice"*. Reprod Biol Endocrinol. 2005 May 3; 3:16.
- 67. Sachdev DO, Gosavi DD, Salwe KJ.** *"Evaluation of antidiabetic, antioxidant effect and safety profile of gomutra ark in Wistar albino rats"*. Anc Sci Life. 2012 Jan;31(3):84-9. doi: 10.4103/0257-7941.103180.
- 68. Saito I.** *"Epidemiological evidence of type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome, and cardiovascular disease in Japan"*. Circ J. 2012 Apr 25;76(5):1066-73. Epub 2012 Mar 27.
- 69. Shin BC, Lee MS, Yang EJ, Lim HS, Ernst E.** *"Maca (L. meyenii) for improving sexual function: a systematic review"*. BMC Complement Altern Med. 2010 Aug 6; 10:44.
- 70. Soufi FG1, Vardyani M, Sheervalilou R, Mohammadi M, Somi MH.** *"Long-term treatment with resveratrol attenuates oxidative stress pro-inflammatory mediators and apoptosis in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic rats"*. Gen Physiol Biophys. 2012 Dec;31(4):431-8. doi: 10.4149/gpb\_2012\_039.
- 71. Szkudelski T, Zywert A, Szkudelska K.** Metabolic disturbances and defects in insulin secretion in rats with streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes. Physiol Res. 2013 Jul 17.
- 72. Szkudelski T.** The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. Physiol Res. 2001;50(6):537-46.

- 73. Tahara A, Matsuyama-Yokono A, Nakano R, Someya Y, Hayakawa M, Shibasaki M.** *“Antihyperglycemic effects of ASP8497 in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats: comparison with other dipeptidyl peptidase-IV inhibitors”*. Pharmacol Rep. 2009 Sep-Oct;61(5):899-908.
- 74. Tahara A1, Matsuyama-Yokono A, Nakano R, Someya Y, Hayakawa M, Shibasaki M.** *“Effects of the combination of dipeptidyl peptidase-IV inhibitor ASP8497 and antidiabetic drugs in streptozotocin-nicotinamide-induced mildly diabetic mice”*. Eur J Pharmacol. 2009 Mar 1;605(1-3):170-6. doi: 10.1016/j.ejphar.2008.12.040. Epub 2009 Jan 10.
- 75. Vecera R, Orolin J, Skottová N, Kazdová L, Oliyarnik O, Ulrichová J, Simánek V.** *“The influence of maca (Lepidium meyenii) on antioxidant status, lipid and glucose metabolism in rat”*. Plant Foods Hum Nutr. 2007 Jun;62(2):59-63.
- 76. Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N, Leclerc J, Foretz M, Andreelli F.** *“Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview”*. Clin Sci (Lond). 2012 Mar;122(6):253-70.
- 77. Viswanathaswamy AH, Koti BC, Gore A, Thippeswamy AH, Kulkarni RV.** *“Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activity of plectranthus amboinicus on normal and alloxan-induced diabetic rats”*. Indian J Pharm Sci. 2011 Mar;73(2):139-45.
- 78. Waugh N, Cummins E, Royle P, Clar C, Marien M, Richter B, Philip S.** *“Newer agents for blood glucose control in type 2 diabetes: systematic review and economic evaluation”*. Health Technol Assess. 2010 Jul;14(36):1-248.
- 79. Wu MS1, Liang JT, Lin YD, Wu ET, Tseng YZ, Chang KC.** *“Aminoguanidine prevents the impairment of cardiac pumping mechanics in rats with streptozotocin and nicotinamide-induced type 2 diabetes”*. Br J Pharmacol. 2008 Jun;154(4):758-64. doi: 10.1038/bjp.2008.119. Epub 2008 Mar 31.



80. Yokoyama H, Kannno S, Ishimura I, Node K. 1. *“Miglitol increases the adiponectin level and decreases urinary albumin excretion in patients with type 2 diabetes mellitus”*. Metabolism. 2007 Nov;56(11):1458-63.
81. Zhou K, Bellenguez C, Spencer CC, Bennett AJ, Coleman RL, Tavendale R, Hawley SA, Donnelly LA, Schofield C, Groves CJ, Burch L, Carr F, Strange A, Freeman C, Blackwell JM, Bramon E, Brown MA, Casas JP, Corvin A, Craddock N, Deloukas P, Dronov S, Duncanson A, Edkins S, Gray E, Hunt S, Jankowski J, Langford C, Markus HS, Mathew CG, Plomin R, Rautanen A, Sawcer SJ, Samani NJ, Trembath R, Viswanathan AC, Wood NW, Harries LW, Hattersley AT, Doney AS, Colhoun H, Morris AD, Sutherland C, Hardie DG, Peltonen L, McCarthy MI, Holman RR, Palmer CN, Donnelly P, Pearson ER. *“Common variants near ATM are associated with glycemic response to metformin in type 2 diabetes”*. Nat Genet. 2011; 43:117-120
82. Zhou SS, Li D, Sun WP, Guo M, Lun YZ, Zhou YM, Xiao FC, Jing LX, Sun SX, Zhang LB, Luo N, Bian FN, Zou W, Dong LB, Zhao ZG, Li SF, Gong XJ, Yu ZG, Sun CB, Zheng CL, Jiang DJ, Li ZN *“Nicotinamide overload may play a role in the development of type 2 diabetes”* World J Gastroenterol. 2009 Dec 7;15(45):5674-84.
83. Zhou SS, Li D, Zhou YM, Sun WP, Liu XX, Lun YZ. *“Chronic nicotinamide overload and type 2 diabetes”*. Sheng Li Xue Bao. 2010 Feb 25;62(1):86-92.