



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

RESPUESTA METABOLÓMICA EN LA
VÍA DE LOS PÉPTIDOS AL CONSUMO
DE MACA (*Lepidium meyenii*) EN
VARONES Y MUJERES ADULTOS DE
LIMA Y PUNO

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAESTRO
EN FISIOLÓGÍA

JIMMY RENZO PORTELLA RUÍZ

LIMA - PERÚ

2018

MIEMBROS DEL JURADO

Dr. Segundo Seclén Santisteban	Presidente
Mg. José Macarlupú Bernuy	Vocal
Mg. Ana Colarossi Salinas	Secretaria

ASESORA

Dra. Carla Gonzales Arimborgo

CO-ASESOR

Dr. Gustavo Gonzales Rengifo

Dedicatoria

Fabiana

Giulliana

Jaime

Kateren

Luz

Rita

Agradecimiento

Agradezco, en primer lugar, al Dr. Gustavo Gonzales por abrirme las puertas del laboratorio de Endocrinología y Reproducción cuando era un estudiante de pregrado. Aprendiendo siempre de él y de mis profesores/compañeros Carla Gonzales, Manuel Gasco, Julio Rubio, Vilma Tapia y demás amigos. Gracias al Dr. Gonzales y al Laboratorio de Endocrinología y Reproducción por la oportunidad de desarrollar la tesis de Maestría.

Gracias a mis padres y hermanas por el apoyo.

Gracias a mi flaquita Rita por la paciencia en el tiempo que le dediqué a la maestría y a la tesis.

Agradezco al Dr. Luis Noriega por el ímpetu y apoyo en realizar la maestría.

Gracias a mis compañeros de trabajo en PRANOR, especialmente a Luis Guzmán, por el apoyo y facilidades en el tiempo que dediqué a la Maestría y tesis.

Gracias al Círculo de investigación en plantas con efecto en salud (subvención 010-2014) y al CONCYTEC/CIENCIACTIVA por el financiamiento de esta tesis.

Finalmente, agradecer a la Dra. Carla Gonzales por la asesoría y guía en la culminación de la tesis.

Fuente de financiamiento

Círculo de investigación en plantas con efecto en salud, subvención 010-2014

CONCYTEC / CIENCIACTIVA.

RESUMEN

La metabolómica es una nueva herramienta que nos permite conocer los procesos biológicos de un organismo. Los metabolitos que pertenecen a la vía de los péptidos están involucrados en procesos cardiovasculares, inflamatorios, inmunitarios y antioxidantes. Estos eventos también se encuentran alterados en el hombre que vive en las alturas debido a las condiciones medioambientales adversas. La maca (*Lepidium meyenii*), una planta que crece en los Andes centrales peruanos, en sus variedades roja y negra han demostrado efectos sobre la hiperplasia prostática benigna, osteoporosis, concentración espermática, memoria, energizante, entre otros. El objetivo del estudio fue comparar la metabolómica de la vía de los péptidos al consumo de maca negra, maca roja o un placebo en nativos adultos de Lima (150 msnm) y Puno (3820 msnm). El estudio fue realizado en base a un análisis secundario de datos que provienen del proyecto “Metabolómica, aceptabilidad y seguridad alimentaria al consumo de maca (*Lepidium meyenii*) en varones y mujeres adultas de Cerro de Pasco (4340 msnm) y de Lima (150 msnm)”. Se evaluaron los metabolitos de la vía peptídica en plasma (34 metabolitos) en 30 individuos de Lima y 70 de Puno antes (basal) y después del consumo diario por tres meses de un extracto atomizado de maca negra, maca roja o placebo. El perfil metabolómico en la vía de los péptidos basal presentó diferencias significativas en 25 metabolitos entre las dos ciudades ($P < 0.05$); 3 metabolitos tenían una mayor concentración en personas de Lima y 22 metabolitos en Puno. Después de los tres meses de tratamiento con placebo, maca roja o maca negra, el número de metabolitos peptídicos con niveles diferentes al basal ($P < 0.05$) fueron 8, 13 y 9 en Lima y 20, 23 y 25 en Puno, respectivamente. Luego del consumo de maca negra los niveles

de los siguientes dipéptidos aumentaron en Lima y disminuyeron en Puno: valilleucina [18.75% (-2.14% - 35.79%) vs -59.64% (-71.03% - -14.37%); p=0.016], prolilglicina [29.56% (0.8% - 53.67%) vs -82.31% (-87.95% - -48.05%); p=0.0005] y leucilglicina [1.02% (0.03% - 478.31%) vs -86.83% (-95.31% - 0%); p=0.0005]. El análisis multivariado demostró que la N-acetilcarnosina está directamente relacionado con el consumo de maca roja. En conclusión, el consumo de maca roja o maca negra disminuyó los niveles de un mayor número de metabolitos de la vía de los péptidos en la población de Puno.

Palabras Clave: *Lepidium meyenii*, MACA, METABOLÓMICA, PÉPTIDOS.

ABSTRACT

Metabolomics is a new tool that allows us to understand the biological processes of an organism. Metabolites that belong to the peptide pathway are involved in cardiovascular, inflammatory, immune, and antioxidant processes. These events are also altered in the man living in the high altitude due to adverse environmental conditions. Maca (*Lepidium meyenii*), a plant that grows in the Peruvian Central Andes, in their black and red varieties have shown effects on benign prostatic hyperplasia, osteoporosis, sperm concentration, memory, energizing, among others. The aim of this research was to compare the peptide metabolomics pathway after the oral administration of red or black maca extracts (*Lepidium meyenii*) and compared to placebo in adult human subjects living in Lima (150 m.a.s.l.) and Puno (3820 m.a.s.l.). The study was based on secondary data analysis from “Metabolomics, acceptability, safety of oral administration of maca (*Lepidium meyenii*) in women and men adults from Cerro de Pasco (4340 m.a.s.l.) and Lima (150 m.a.s.l.)” project. In total, 34 peptidic metabolites from 30 and 70 subjects from Lima and Puno were analyzed before (basal) and after three months of daily consumption of a spray-dried extracts. Basal peptide metabolomic profile were significantly different in 25 metabolites between the two cities ($P < 0.05$); 3 metabolites had a high levels in Lima and 22 metabolites in Puno. The number of metabolites that changed their level respect to basal after consumption of a placebo or spray-dried extracts of red maca or black maca, ($P < 0.05$) were 8, 13 and 9 in Lima, and 20, 23 and 25 in Puno, respectively. The levels of 3 dipeptides increased in Lima and decreased in Puno after the consumption of extract of black maca: valylleucine [18.75% (-2.14% - 35.79%) vs -59.64% (-71.03% - -14.37%); $p = 0.016$], prolylglicine [29.56% (0.8% -

53.67%) vs -82.31% (-87.95% - -48.05%); $p=0.0005$] y leucylglycine [1.02% (0.03% - 478.31%) vs -86.83% (-95.31% - 0%); $p=0.0005$]. Multivariate analysis showed that N-acetylcarnosine was directly related with the consumption of red maca. In conclusion, more metabolites of the peptide pathway decrease their levels after the consumption of red or black maca in subjects in Puno.

Palabras Clave: *Lepidium meyenii*, MACA, METABOLOMICS, PEPTIDES.

TABLA DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	1
2. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	5
2.1 Planteamiento del problema	5
2.2 Marco teórico	7
2.2.1 Maca (<i>Lepidium meyenii</i>)	7
2.2.1.1 Composición química de la maca	11
2.2.1.1.1 Metabolitos primarios	11
2.2.1.1.2 Metabolitos secundarios	12
2.2.1.2 Efecto biológico	14
2.2.1.2.1 Estudios experimentales con maca en animales	14
2.2.1.2.1.1 Maca y fertilidad masculina	14
2.2.1.2.1.2 Maca y función sexual	16
2.2.1.2.1.3 Maca y hormonas sexuales	16
2.2.1.2.1.4 Maca y fertilidad femenina, calidad e implantación embrionaria	17
2.2.1.2.1.5 Maca e hiperplasia prostática benigna	18
2.2.1.2.1.6 Maca y osteoporosis	19
2.2.1.2.1.7 Maca en memoria, depresión y neuroprotección	20
2.2.1.2.1.8 Maca como energizante y anti-fatiga	21
2.2.1.2.1.9 Maca en metabolismo y diabetes	22
2.2.1.2.2 Estudios en humanos con maca	22
2.2.2 Metabolómica	25
2.2.2.1 Muestra biológica para metabolómica	26

4.2.3 Diagrama de flujo del diseño experimental	49
4.3 Operacionalización de variables	51
4.3.1 Variables dependientes	51
4.3.2 Variables independientes	51
4.3.3 Operacionalización de variables	51
4.4 Metabolómica	52
4.5 Análisis estadístico	54
4.6 Aspectos éticos	55
5. RESULTADOS	56
5.1 Características clínicas de los pacientes	56
5.2 Metabolómica Basal en la vía de los péptidos	56
5.3 Respuesta metabolómica en la vía de los péptidos al tratamiento en Lima y Puno	61
5.4 Niveles de metabolitos peptídicos en respuesta al tipo tratamiento en Lima y Puno	64
5.5 Comparación del porcentaje de cambio de los metabolitos peptídicos en respuesta al tipo tratamiento entre ciudades	67
5.6 Resumen de la metabolómica basal y en la respuesta al consumo de maca.	74
5.7 Análisis de regresión lineal múltiple.	75
6. DISCUSIÓN	76
7. CONCLUSIONES	84
8. RECOMENDACIONES	85
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86

10. ANEXO I

11. ANEXO II

LISTA DE ABREVIATURAS

ACE: enzima convertidora de angiotensina

ADN: ácido desoxirribonucleico

ARNm: ácido ribonucleico mensajero

B1: receptores bradiquinina 1

DD: dipéptido derivado

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

-ESI: Ionización por electro-spray negativo

+ESI: Ionización por electro-spray positivo

FAAH: enzima amida hidrolasa de ácidos grasos

GABA: ácido gamma-aminobutírico

GC: cromatografía de gases

GG: gamma-glutamil

GGAA: gamma-glutamil aminoácido

GGT: gamma-glutamil transpeptidasa

HILIC: cromatografía de interacción hidrofílica

HMDN: base de datos del metaboloma humano

HPLC: cromatografía líquida de alta eficiencia

IL-6: interleucina 6

LC: cromatografía líquida

mmHg: milímetros de mercurio

MN: Maca negra

MR: maca roja

MS/MS: espectrometría de masas en tándem

MS: espectrometría de masas

MTCA: (1R,3S)-1-metil-1,2,3,4-tetrahidro-b-carbolina-3-ácido carboxílico

O₂: oxígeno

OH: hidroxilo

OMS: Organización Mundial de la Salud

PDF: péptido derivado del fibrinógeno

RMN: resonancia magnética nuclear

RP: fase reversa

SERMS: moduladores selectivos de los receptores de estrógenos

UHPLC: cromatografía líquida de ultra alta eficiencia

UV: ultravioleta

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de tres variedades de maca (roja, amarilla y negra).

Tabla 2. Composición del extracto atomizado de maca negra y maca roja analizadas por resonancia magnética nuclear.

Tabla 3. Metabolitos en la vía de los péptidos según la sub-vía peptídica a la que pertenecen.

Tabla 4. Patología o condición en la que están implicados los metabolitos peptídicos de la sub-vía gamma-glutamil aminoácido.

Tabla 5. Patología o condición en la que están implicados los metabolitos peptídicos de la sub-vía dipéptido derivado.

Tabla 6. Patología o condición en la que están implicados los metabolitos peptídicos de la sub-vía dipéptido.

Tabla 7. Patología o condición en la que están implicados los metabolitos peptídicos de la sub-vía polipéptido.

Tabla 8. Patología o condición en la que están implicados los metabolitos peptídicos de la sub-vía péptido de clivaje del fibrinógeno.

Tabla 9. Descripción de los metabolitos según su sub-vía peptídica, plataforma utilizada para su análisis y código en las diferentes bases de datos.

Tabla 10. Metabolómica basal en la vía de los péptidos en individuos de Lima y Puno.

Tabla 11. Metabolómica basal en la vía de los péptidos en los grupos de tratamiento de Lima.

Tabla 12. Metabolómica basal en la vía de los péptidos en los grupos de tratamiento de Puno.

Tabla 13. Comparación de la metabolómica en la vía de los péptidos al consumo del placebo, extracto de maca roja y extracto de maca negra en la población de Lima.

Tabla 14. Comparación de la metabolómica en la vía de los péptidos al consumo del placebo, extracto de maca roja y extracto de maca negra en la población de Puno.

Tabla 15. Deltas de los metabolitos peptídicos en personas que consumieron el placebo, extracto de maca roja y extracto de maca negra en la población de Lima.

Tabla 16. Deltas de los metabolitos peptídicos en personas que consumieron el placebo, extracto de maca roja y extracto de maca negra en la población de Puno.

Tabla 17. Resumen estadístico en la metabolómica basal (T0) y respuesta al tratamiento (T3) en Lima y Puno.

Tabla 18. Análisis de regresión multivariado del metabolito N-acetilcarnosina en la población general.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Información biológica del flujo del genoma al metaboloma. Correlación entre las principales estrategias “ómicas” en investigación de sistemas biológicos.

Figura 2. Ciclo gamma-glutamil. Figura de elaboración propia.

Figura 3. Diagrama de la vía en la que participan los péptidos.

Figura 4. Diagrama de flujo del estudio de metabolómica en Lima y Puno.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamilglutamato en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 2. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamilmethionina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 3. Porcentaje de cambio del metabolito leucilglutamina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 4. Porcentaje de cambio del metabolito leucilglicina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 5. Porcentaje de cambio del metabolito prolilglicina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 6. Porcentaje de cambio del metabolito valilleucina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 7. Porcentaje de cambio del metabolito bradiquinina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 8. Porcentaje de cambio del metabolito des-arg(9)-bradiquinina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 9. Porcentaje de cambio del metabolito hidroxipro(3)-bradiquinina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 10. Porcentaje de cambio del metabolito DSGEGDFXAEGGGVR en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 11. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamyl-2-aminobutirato en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 12. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamyl-epsilon-lisina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 13. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylalanina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 14. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylglutamina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 15. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylglicina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 16. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylhistidina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 17. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylisoleucina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 18. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylleucina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 19. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylfenilalanina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 20. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamiltreonina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 21. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamiltriptófano en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 22. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamiltirosina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 23. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamilvalina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 24. Porcentaje de cambio del metabolito histidilalanina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 25. Porcentaje de cambio del metabolito HWESASLLR en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 26. Porcentaje de cambio del metabolito HWESASXX en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 27. Porcentaje de cambio del metabolito leucilalanina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 28. Porcentaje de cambio del metabolito N-acetilcarnosina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 29. Porcentaje de cambio del metabolito fenilalanilalanina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 30. Porcentaje de cambio del metabolito valilglutamina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 31. Porcentaje de cambio del metabolito valilglicina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gráfico 32. Porcentaje de cambio del metabolito XHWESASXXR en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

1. INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la estrecha relación entre el hombre y el medio ambiente ha sido propicio para aprender a manejar y valorar los recursos de la naturaleza y comprender su utilidad para mantener el bienestar humano. Uno de los grandes legados que continúa hasta hoy es el de las plantas con utilidad tanto nutricional como medicinal. Estos conocimientos han sido transmitidos por generaciones en diversas poblaciones en el mundo y representa en cada lugar su medicina tradicional. Por ello no es raro que la Organización Mundial de la Salud (OMS), informe que entre el 70% y 95% de la población en países en desarrollo usen las plantas medicinales como atención primaria de salud (1).

El mercado global de medicina tradicional fue estimado en 83 mil millones de dólares en el 2008, con una tasa de crecimiento que ha sido exponencial (2). El aporte peruano de la medicina tradicional al mundo se ejemplifica claramente en el caso de la maca (*Lepidium meyenii*). Esta planta ha generado un interés inusitado tanto en el mercado nacional como internacional. Es así que las exportaciones han incrementado de US\$ 1'579,035.05 en el 2001 a US\$ 27'018,041.04 en el 2015 según análisis de PROMPERU usando como fuente datos de la Superintendencia Nacional de Administración Tributaria (SUNAT). Los principales mercados de la maca en el 2016 fueron Estados Unidos (27,6%), Hong Kong (18,65%), Reino Unido (6,4%) y China (5,83%). La investigación en las propiedades biológicas de la maca ha contribuido con este rápido crecimiento.

La maca es una planta peruana que pertenece a la familia Brassicaceae (Crucíferas) que crece principalmente por encima de los 4000 metros sobre el nivel

del mar. La zona de cultivo está localizada principalmente en los Andes centrales peruanos, en la meseta del Bombón, en las localidades de Carhuamayo, Junín, Ondores, Huayre, Ninacaca, en los Departamento de Junín y Pasco. La maca ha sido descrita desde épocas muy antiguas como un gran alimento y con propiedades para mejorar la fertilidad (3).

Se han descrito hasta 13 variedades de maca que van desde el blanco al negro y todas son encontradas en el mismo suelo de cultivo (4). Las más estudiadas han sido la roja y negra con propiedades biológicas muy diferenciadas entre ellas (5, 6). La mayoría de las investigaciones de la maca se han realizado en modelos animales. El primer estudio fue publicado en el 2000, se evaluó el efecto del extracto lipídico de maca sobre el comportamiento sexual en ratones y ratas (7). A este estudio le siguieron un número cada vez más creciente de publicaciones.

En el Laboratorio de Endocrinología y Reproducción de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, se han realizado numerosas investigaciones en roedores encontrando un efecto diferencial según el fenotipo. Para la maca negra se ha descrito que aumenta el número de espermatozoides (8, 9), mejora la memoria y aprendizaje (10, 11), actúa como energizante (12) y disminuye la glicemia en animales inducidos a diabetes (9). Los efectos de maca roja fueron revertir la hiperplasia benigna de próstata (5, 13), la osteoporosis (14) y aumentar la inmunidad celular a través de un incremento de interferón gamma (15).

A la fecha existen diversas publicaciones del efecto de maca en humanos que consisten en estudios observacionales, encuestas y ensayos clínicos. En estos estudios se trató de determinar el efecto positivo en salud como la seguridad alimentaria (16-20).

A pesar de estos resultados beneficiosos de la maca, la Agencia Francesa de Seguridad de los Alimentos (Afssa-N°2008-SA-0011) y el Instituto Federal Alemán de Evaluación de Riesgos (BfR N° 024/2007) critican la falta de información respecto a ensayos de intervención nutricional sobre la seguridad de este alimento en poblaciones de nivel del mar, frente a las poblaciones altoandinas tradicionalmente consumidoras de maca. Estos sucesos repercuten negativamente en la comercialización de maca en algunos países, afectando a los agricultores y productores de maca.

Un estudio que nos permita conocer el efecto del consumo de maca en el organismo es importante para responder a las interrogantes sobre seguridad alimentaria. Por ello se requiere conocer si a determinada dosis los metabolitos de la maca o compuestos químicos que se modifican por acción de la maca son similares en la población que consumen maca tanto a nivel del mar como en la altura. La herramienta ideal para realizar esto es la metabolómica.

La metabolómica estudia los intermediarios metabólicos, metabolitos, hormonas y otras moléculas señal, y los metabolitos secundarios, que se pueden

encontrar en un sistema biológico, en este caso en el suero o plasma de los humanos luego de la ingesta de la maca.

La metabolómica ha mostrado ser útil en diferentes aplicaciones en la agricultura, alimentos basados en plantas y en el uso de nutraceuticos (21). Además, entre otros beneficios, nos puede permitir saber que alimentos y medicamentos podrían ser los más apropiados para el genotipo y fenotipo específico de cada ser humano, y con ello tener la clave para mejorar el estado de salud y bienestar de las personas.

Los metabolitos de la vía de los péptidos están involucrados en procesos cardiovasculares, inflamatorios, inmunitarios y antioxidantes. Por ello, este estudio nos va a permitir saber si la metabolómica en la vía de los péptidos en el nativo de Puno antes del consumo de maca difiere del observado en el nativo de nivel del mar y como se modifica luego de 3 meses de consumo de extractos de maca. El uso de esta herramienta podría ayudarnos a establecer el efecto biológico de la maca, lo cual sería un gran aporte a nivel científico, social y económico.

2. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Planteamiento del problema

En el siglo pasado, la maca despertó el interés en un pequeño grupo de científicos nacionales e internacionales motivados por sus propiedades tradicionales descritas en las crónicas de la conquista del Perú. A la fecha existen numerosas investigaciones que han sido publicadas y que han sido realizadas tanto en animales como en humanos. Es así que se ha logrado demostrar el efecto positivo en la fertilidad y su beneficio nutricional. Estos efectos son descritos tradicionalmente y son los primeros en ser demostrados por los antiguos peruanos de los Andes centrales. Además, la ciencia ha logrado descubrir nuevas propiedades no descritas tradicionalmente como su efecto en la hiperplasia prostática benigna, osteoporosis, diabetes, memoria, fatiga, entre otros.

A pesar de estos resultados beneficiosos de la maca, dos entidades europeas, la Agencia Francesa de Seguridad de los Alimentos y el Instituto Federal Alemán de Evaluación de Riesgos, critican la falta de información respecto a ensayos de intervención nutricional sobre la seguridad de este alimento en poblaciones no consumidoras de maca.

Frente a estas observaciones, la producción e exportación de esta planta puede verse afectado. De aquí resulta interesante plantearse un estudio que nos permita responder a las interrogantes sobre seguridad alimentaria del consumo de

maca en el organismo. Por ello se requiere conocer si a determinada dosis los metabolitos de la maca o compuestos químicos que se modifican por acción de la maca son similares en varones y mujeres de la población general que consumen maca tanto a nivel del mar como en la altura. La herramienta ideal para realizar esto es la metabolómica.

La metabolómica tiene diferentes aplicaciones en la agricultura, nutracéuticos y en el diagnóstico de enfermedades. Podemos aprovechar la tecnología metabolómica para establecer una nueva línea de investigación en diversidad poblacional en cuanto al perfil metabolómico. No se conoce si poblaciones de altura como los de Puno (3820 msnm), en los Andes Sur del Perú, difieren en su perfil metabolómico a poblaciones de nivel del mar como Lima (150 msnm).

Las condiciones ambientales a las que ambas poblaciones (Puno y Lima) están expuestas son muy distintas. A diferencia del nivel del mar, en la altura tenemos una baja presión parcial de oxígeno atmosférico, temperaturas extremas, menor humedad y mayor radiación ultravioleta. Ante esta situación de estrés ambiental el organismo desarrolla cambios para adaptarse y que se reflejan en su constitución genética y fisiológica. Además, diversos estudios han determinado que el organismo en la altura presenta elevación de diversas moléculas relacionadas con procesos inflamatorios y oxidativos.

Este estudio nos va a permitir saber si la metabolómica en la vía de los péptidos en el nativo de Puno antes del consumo de maca difiere del nativo de nivel del mar y como se modifica luego de 3 meses de consumo de extractos de maca. El uso de esta herramienta podría ayudarnos a conocer el efecto biológico de la maca en la vía de los péptidos, lo cual será valioso desde el punto de vista científico, social y económico.

2.2 Marco teórico

2.2.1 Maca (*Lepidum meyenii*)

La maca es una planta altoandina que pertenece a la familia Brassicaceae (Crucíferas) que crece principalmente por encima de los 4000 metros sobre el nivel del mar. Esta planta es cultivada desde hace más de 2000 años en los Andes centrales del Perú, particularmente en San Blas (hoy Óndores), y fue utilizada por los pobladores de la zona como alimento y por sus propiedades sobre la fertilidad (3). Al igual que lo observado por los Cronistas del Perú, actualmente, las zonas de cultivo están localizadas predominantemente en la meseta del Bombón, en las localidades de Carhuamayo, Junín, Ondores, Huayre, Ninacaca, en los Departamento de Junín y Pasco.

La maca posee 64 cromosomas como resultado de una poliploidía ($2n = 8x = 64$) (22). La poliploidía es un evento que proviene de una entera duplicación genómica como producto de cambios ambientales o estrés (23). Esta puede ser la

explicación de una adaptación evolutiva de la maca al ambiente complejo de la altura y el frío como los Andes Centrales del Perú. Además, el estudio del genoma de la maca ha demostrado la presencia de genes que le confieren este poder adaptativo (22), como lo son genes homólogos que forman proteínas anticoagulantes (Quitinasa) (24) o genes claves en el proceso de aclimatación al frío (activador de transcripción de unión a calmodulina (*calmodulin binding transcription activator*)) (25).

La parte comestible de la planta es el hipocótilo que se encuentra al interior de la tierra junto con la raíz (26). Se han descrito en Carhuamayo hasta 13 fenotipos de maca diferenciados por el color del hipocótilo que van desde el blanco al negro (4). De estas variedades la más comercializada es la de color amarillo (4). Sin embargo, la composición química difiere entre distintos fenotipos como se muestra en la **Tabla 1** (27).

No solo la composición química de las variedades del color amarillo, rojo y negro de la maca son diferentes, también el efecto biológico (28). Clement y colaboradores (29) adjudican estas diferencias biológicas a las concentraciones de metabolitos secundarios observadas en los hipocótilos. Los macaenos, macamidas y glucosinolatos estaban en altas concentraciones, mientras que las concentraciones de beta-sitosterol y fenoles fueron muy bajas. Aunque, estos metabolitos también fueron reportados en las hojas, las concentraciones eran contrarias a las encontradas en los hipocótilos (29). Con respecto a glucosinolatos, la maca roja contiene niveles más elevados y la maca amarilla los niveles más bajos (30).

Tabla 1. Composición química de tres variedades de maca (roja, amarilla y negra).

Análisis	Maca roja	Maca amarilla	Maca negra
Fibra (g%)	5.45	5.30	4.95
Carbohidratos (g%)	62.60	62.69	63.82
Proteína Pura* (g%)	9.97	8.25	7.7
Almidón (g%)	37.52	37.86	38.18
Azúcares solubles** (g%)	6.03	6.17	7.02
Riboflavina (mg%)	0.50	0.61	0.76
Potasio (mg%)	1160	1130	1000
Hierro (ppm)	62	80	86

*Calculado del nitrógeno proteico multiplicado por 6.25. **Reducción indirecta. ppm: partes por millón. Tomado de Yllescas, 1994 (27).

Zhao y colaboradores (31) analizaron 16 metabolitos de la maca por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) al ser cultivadas en distintos suelos. Ellos encontraron que las concentraciones de metabolitos no dependen de la variedad de maca (amarillo, plomo, violeta y rosado), sino del tipo de suelo donde se realiza el cultivo. Las variedades de maca negra y roja no fueron analizadas en este estudio, las cuales han sido las más estudiadas en cuanto a su efecto biológico (28). Recientemente, Gonzales y colaboradores (20) reportaron diferencias en metabolitos de maca roja y negra analizadas por RMN (**Tabla 2**). Los ácidos grasos y macamidas fueron mayores en maca negra que en maca roja, mientras que GABA predominó en maca roja en comparación a maca negra (20).

Es importante mencionar que la forma tradicional del cultivo de maca no discrimina el color y, por lo tanto, todos los fenotipos crecen bajo el mismo suelo a

la vez. Este hecho no fue considerado en el estudio de Zhao y colaboradores (31) que los cultivaron de modo independiente.

Tabla 2. Composición del extracto atomizado de maca negra y maca roja analizadas por resonancia magnética nuclear.

Compuesto	Maca negra	Maca roja
Ácido fórmico	4.10	6.94
Adenina	6.23	5.06
Ácido fumárico	13.79	15.43
Uridina	10.82	40.71
Sucrosa	1632.36	1368.35
Glucotropaeolina	77.50	72.08
Macamidas	55.21	39.86
Colina	327.44	366.99
GABA	40.09	76.59
Ácido málico	83.88	92.81
Glutamina	132.01	118.27
Prolina	875.25	832.98
Ácidos grasos	504.55	378.36
Alanina	156.22	152.41
Valina	111.48	107.61
Fitoesteroles	24.23	21.10

Tomado de Gonzales y colaboradores, 2016 (20).

Al parecer la maca se ha adaptado al suelo de los Andes centrales dando como resultado un hipocótilo robusto. Esta planta ha sido cultivada en diversos países de Europa y Asia (32-34). Sin embargo, el fenotipo y composición química difiere del obtenido en los Andes Centrales (32-34), incluso en Alemania a bajas altitudes, la maca no forma hipocótilo (32). Además, llama la atención las concentraciones de algunos minerales en la maca China comparada con la maca peruana (34).

2.2.1.1 Composición química de la maca

La importancia de la maca para las poblaciones andinas como un alimento económico y de alto valor nutricional para combatir la malnutrición incentivó a estudiar la composición química de esta planta (26). Los componentes químicos de la maca pueden ser descritos de acuerdo a sus metabolitos primarios (componente nutricional) y secundarios (35).

2.2.1.1.1 Metabolitos primarios

La parte comestible de la maca, el hipocótilo, tras la cosecha y secada naturalmente al aire contiene 10% de humedad, 59% carbohidratos, 2.2% lípidos, 10.2% proteína y 8.5% fibra (26). Estos valores le dan una mayor ventaja nutricional comparada con la papa (26).

El contenido de minerales también es alto en la maca. El de mayor concentración es el potasio con valores entre 1620 mg/100g y 2050 mg/100g (26, 36). Entre los otros minerales tenemos calcio 150mg/100g (26), sodio 18.7 mg/100g (26) y 26 mg/100g (36), hierro 166 mg/kg (26) y 72.3 mg/kg (36), zinc 38 mg/kg (26) y 58.4 mg/kg (36), manganeso 8 mg/kg (26), cobre 59 mg/kg (26) y 5.14 mg/kg (36), níquel 0.49 mg/kg (36).

La presencia de ácidos grasos es diversa en la maca, los ácidos grasos insaturados representan el 52.7% y los ácidos grasos saturados el 40.1%.

Predominan como ácidos grasos insaturados los ácidos linoléico (omega 6), palmítico y oleico (26); también se ha encontrado el ácido linolénico (omega 3) (7). Además, la maca contiene 18 aminoácidos (mg/g proteína), entre ellos ácido glutámico (156.5 mg), ácido aspártico (91.7 mg), arginina (99.4 mg), serina (50.4 mg), histidina (21.9 mg), glicina (68.3 mg), treonina (33.1 mg), alanina (63.1 mg), tirosina (30.6 mg), fenilalanina (55.3 mg), valina (79.3 mg), metionina (28 mg), isoleucina (47.4 mg), leucina (91 mg), lisina (54.5 mg), hidroxiprolina (26 mg), prolina (0.5 mg) y sarcosina (0.7 mg) (26). Muchos de estos aminoácidos son esenciales, agregando un mejor perfil nutricional a la maca.

2.2.1.1.2 Metabolitos secundarios

La maca contiene múltiples metabolitos secundarios, el primer reporte data de 1961 (35). Los glucosinolatos son los principales metabolitos secundarios en la maca (35). Por lo general, la familia Brassicaceae se caracteriza por la presencia de glucosinolatos y sus derivados (37). Entre los derivados nos referimos a la hidrólisis del glucosinolato por la mirosinasa que produce una molécula de glucosa y una aglicona inestable, que tras su reorganización espontánea resulta en la liberación de un ión sulfato y la formación del metabolito (38). La mirosinasa hidroliza los glucosinolatos ante la presencia de algún daño en la planta (cosecha, por ejemplo) y también está presente en la microflora del tracto gastrointestinal (38).

Los glucosinolatos más abundantes presentes en la maca fueron bencilglucosinolatos, glucosinolatos aromáticos, p-metoxibencilglucosinolato, m-

metoxibencilglucosinolato, indol glucosinolatos (26, 29, 39-41). Algunos de los derivados de los glucosinolatos en la maca son los isotiocianatos (7), siendo uno de los principales el bencilisotiocianato (42). Estos isocianatos en el organismo pueden dividirse en moléculas más pequeñas como los sulforafanes y los carbinoles que son metabólicamente más activos que los isotiocianatos. Se menciona que los isotiocianatos y sus metabolitos son activos contra varios tipos de cáncer (35, 43).

La maca se caracteriza por los ácidos grasos poliinsaturados y sus amidas derivadas, denominados macaenos y macamidas (alcamidas benciladas) (7). El contenido total varía de 0.15% a 0.84% (44).

Los esteroides también están presentes en la maca, entre ellos el sitosterol como el principal componente, le siguen el campesterol, ergosterol, brasicasterol y 7,22 ergostadienol (26, 29).

La maca también contiene alcaloides. La (1R,3S)-1-metil-1,2,3,4-tetrahidro-b-carbolina-3-ácido carboxílico (MTCA) despertó la atención por pertenecer a una familia de compuestos asociados a precursores mutagénicos (40). Al igual que en la Maca, este compuesto también está presente naturalmente en frutas como naranjas, toronjas y jugos de frutas (45). Al respecto, Gonzales y Gonzales-Castañeda sugieren que la maca al ser consumida como un todo (multi-componente) sin evidencia de toxicidad, el MTCA pierde su efecto mutagénico (46). Por otro lado, también se han descrito dos alcaloides del tipo imidazólico han

sido identificados, denominados lepididina A y lepididina B (47). Además, se ha encontrado uridina (40), ácido málico (40) y polifenoles (12).

2.2.1.2 Efecto biológico

El uso de la maca ha sido tradicionalmente destacado por sus propiedades nutricionales y como potenciador de la fertilidad (3). A pesar de varias descripciones de su composición química (26, 27, 39), no había sido evaluado científicamente en modelos animales experimentales o en humanos. A continuación se describirán los efectos biológicos de la maca de acuerdo a estudios experimentales en animales y estudios en humanos.

2.2.1.2.1 Estudios experimentales con maca en animales

2.2.1.2.1.1 Maca y fertilidad masculina

La maca ha demostrado un efecto positivo sobre la espermatogénesis. La longitud de los estadios IX-XIV del ciclo espermatogénico de los túbulos seminíferos, evento donde ocurre la mitosis, fue incrementada en ratas macho adultas luego de recibir por vía oral, dos veces por día, el extracto acuoso de maca por 14 días (48). Un efecto similar fue observado con el extracto hidroalcohólico (49). Adicionalmente, la maca contrarrestó a los 7 y 14 días la alteración

espermatogénica ocasionada por la altura (4340 msnm), favoreciendo el estadio VIII (espermiación) y el estadio IX-XI del ciclo espermatogénico de la rata (50).

Luego de estos trabajos iniciales se evaluó el efecto de tres fenotipos de maca (amarilla, roja y negra) sobre la función reproductiva masculina en ratas. A los 42 días de tratamiento, la maca negra fue el único que aumentó el conteo espermático, a través del parámetro de producción diaria de espermatozoides, y mejoró la motilidad espermática epididimaria (51). Cuando la maca negra fue evaluada en un ciclo espermatogénico (12 días) se observó que mejoraba el conteo espermático en epidídimo desde el día 1 (6). Sin embargo, en el día 12 el conteo fue similar al grupo control, los autores proponen que la maca negra parece ejercer un mecanismo regulatorio de la distribución de los espermatozoides producidos en el testículo más que una real producción mayor de espermatozoides (6).

Cuando la espermatogénesis se altera por agentes tóxicos como plomo en ratas o malatión en ratones (insecticida organofosforado), la maca es capaz de revertir este daño (52, 53). Similarmente, el daño espermatogénico en ratones por efecto de condiciones de hipoxia hipobárica continua (8.3, 6.6 y 24.9 días), que simula una altura de 4200 msnm, fue mejorado por el consumo de maca alcanzando valores próximos a los de los animales controles normóxicos (500 msnm) (54). Además, en ratones diabéticos inducidos por estreptozotocina se observó una reducción en el conteo espermático y mejoró con el tratamiento de maca negra, incluso mejor que en aquellos animales que no fueron inducidos a diabetes tratados solo con vehículo (9).

Otro parámetro que evalúa la fertilidad masculina es la fragmentación del ADN del espermatozoide (55). La suplementación alimenticia con maca a toros mejoró la calidad espermática medida por el índice de fragmentación de ADN (56). En ratones inducidos física y químicamente a subfertilidad la fragmentación de ADN se redujo en el grupo tratado con maca (57).

2.2.1.2.1.2 Maca y función sexual

El primer reporte de maca a nivel experimental fue evaluando el extracto lipídico en la función sexual en roedores machos adultos (7). En este trabajo se le atribuyó a la maca una actividad afrodisiaca por incrementar el número de intromisiones completas y hembras con presencia de espermatozoides en ratones y la disminución del periodo refractario para erecciones en ratas (7). Efectos similares de los extractos de maca sobre el comportamiento sexual de ratas macho fueron demostrados por otros investigadores (58, 59). En otro estudio sólo se observó una mejoría bajo tratamiento agudo y a corto plazo (7 días) de maca; mientras que, el tratamiento a largo plazo no mostró diferencia comparado al grupo control (60). En toros la maca no cambió la conducta de apareamiento tras 10 semanas de tratamiento (56).

2.2.1.2.1.3 Maca y hormonas sexuales

El primer estudio en animales evaluando los niveles de hormonas sexuales demostró que el consumo de maca en el agua del bebedero por 30 días, incrementó

los niveles de progesterona en ratonas y testosterona en ratones; sin embargo, los niveles de estradiol en ratones no se elevó (61). Similarmente, en ratas hembras tratadas con maca vía oral (500mg/ peso corporal) por 28 días, los niveles de progesterona fueron mayores que en el control; mientras que en ratas ovariectomizadas la administración de maca disminuyó la progesterona frente al grupo ovariectomizado no tratado (62). Con respecto a estradiol, el tratamiento con maca redujo los niveles en ratas con y sin ovariectomía (62).

En otros estudios en ratas macho no se observaron cambios en los niveles de testosterona y estradiol tras el tratamiento con extractos hidroalcohólico o acuoso de maca (5, 63, 64). En uno de los trabajos, se observó que el extracto acuoso de maca a una dosis de 0.1 g/kg peso corporal por 7 días, los niveles de testosterona sérica y la relación testosterona/estradiol fueron menores que en los grupos control y con otras dosis de maca (0.01, 1 y 5 g/kg) (63).

2.2.1.2.1.4 Maca y fertilidad femenina, calidad e implantación embrionaria

La fertilidad femenina en ratas adultas fue evaluada por el número de ovocitos liberados en la ovulación. El tratamiento con extracto acuoso de maca amarilla, negra o roja en un periodo de 28 días no modificó el número de ovocitos recuperados en oviducto en comparación al grupo tratado con vehículo (65). Igualmente, no se observó efecto sobre los niveles de estradiol y peso del útero (65).

La maca roja demostró poseer un efecto embrioprotector similar al ácido ascórbico y superior a la maca amarilla y negra en ratonas preñadas tratadas con acetato de plomo (66). Por el contrario, la maca no demostró efecto en incrementar la implantación embrionaria en ratonas (61, 67), Sin embargo, el grupo de ratonas que recibieron Maca tuvo un mayor número de crías que el grupo control (67). Esto sugiere que la Maca amarilla puede tener un efecto protector en el número de resorciones desde el día 7 de preñez en adelante control (67).

2.2.1.2.1.5 Maca e hiperplasia prostática benigna

Aproximadamente 50% de hombres mayores de 50 años de edad tendrán una evidencia patológica de hiperplasia prostática benigna, aumentando este número a 80% en hombres por arriba de los 80 años de edad (68). La próstata es un órgano dependiente de andrógenos, como consecuencia se puede inducir experimentalmente la hiperplasia prostática benigna con un fármaco como enantato de testosterona (64).

De los tres fenotipos principales de maca (amarilla, roja y negra), la roja demostró reducir el tamaño de la próstata ventral en ratas adultas normales y tratadas con enantato de testosterona (5). El efecto del extracto acuoso de la maca roja en la hiperplasia prostática benigna inducida en ratas fue mejor que el observado con Finasteride (fármaco de tratamiento para la hiperplasia prostática benigna) (64).

2.2.1.2.1.6 Maca y osteoporosis

El cese de función ovárica caracterizada por la caída de estrógenos desencadena la menopausia. La osteoporosis está presente en aproximadamente el 30% de las mujeres posmenopáusicas (69). Experimentalmente, la menopausia puede ser generada con la ovariectomía. La maca, tradicionalmente usada como tratamiento para aliviar los síntomas de la menopausia, ha sido evaluada en osteoporosis posmenopáusica en ratas ovariectomizadas (70). El extracto etanólico de maca administrada oralmente a dosis altas (0.24 g/kg de peso corporal) por 28 semanas fue efectivo en la prevención de la pérdida ósea a causa de la deficiencia de estrógenos (70).

La maca roja y negra demostraron un efecto protector en la arquitectura ósea en ratas ovariectomizadas similar al estradiol, pero sin efecto estrogénico en el peso uterino (14). La maca roja tiene un mecanismo de acción más semejante a la del raloxifeno que al estradiol o al tamoxifeno (71). El raloxifeno y el tamoxifeno son denominados como moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (SERMS). Por lo tanto, la maca roja sería una alternativa positiva para el tratamiento de la osteoporosis posmenopáusica, sin afectar órganos estrógeno dependientes como el útero y la mama. Además, el ensayo *in silico* de metabolitos de maca identificó 8 blancos relacionados con osteoporosis (72).

2.2.1.2.1.7 Maca en memoria, depresión y neuroprotección

Las variedades de maca roja, amarilla y negra en la forma de extracto acuoso (1 g/kg peso corporal) han sido evaluadas en cuanto a la función cognitiva y depresión en ratonas ovariectomizadas (73). En 21 días de tratamiento en comparación al grupo control, la maca negra mostró una mejor respuesta en la prueba de “búsqueda de agua” (evalúa aprendizaje espacial) y las tres variedades fueron efectivas para reducir el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado (evalúa actividad antidepresiva) (73).

Del mismo modo, el extracto de éter de petróleo de maca administrado oralmente por 6 semanas (250 y 500 mg/kg) demostró efectos similares a los antidepresivos en ratones (74). El extracto de maca disminuyó la duración del tiempo de inmovilización en la prueba de la suspensión por la cola y los niveles de corticosterona en suero. A nivel del tejido cerebral, los niveles de noradrenalina y dopamina incrementaron por el extracto de maca y la actividad de especies reactivas de oxígeno fue reducida significativamente (74).

Otro modelo para evaluar la función cognitiva consiste en inducir una condición similar a la enfermedad de Alzheimer mediante el uso de escopolamina (75). El extracto acuoso e hidroalcohólico de maca negra revierten el déficit de la memoria inducida por escopolamina en ratones (11). Además, se observó una inhibición de la actividad acetilcolinesterasa, mientras que la actividad de la monoamino oxidasa se mantuvo (11). El mismo efecto sobre la actividad de ambas

enzimas fue obtenida en ratonas ovariectomizadas tratadas con extracto acuoso de maca negra (76). En otro estudio, el alcohol también induce alteración de la memoria en ratones, pero el efecto fue revertido por el extracto hidroalcohólico de maca negra en una manera dosis dependiente (10).

Los mecanismos por los cuales la maca mejora la función cognitiva puede deberse a un incremento de la actividad mitocondrial (77), sobrerregulación de proteínas relacionadas con la autofagia (77) e inhibición de la enzima amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) mediada por las macamidas (78-80).

2.2.1.2.1.8 Maca como energizante y anti-fatiga

La prueba de nado forzado en roedores es utilizada como modelo para evaluar la fatiga. El extracto hidroalcohólico de maca negra atomizada aumentó la capacidad de nado retardando la fatiga, mientras que el extracto hidroalcohólico de maca roja atomizada no tuvo el mismo efecto (12). Bajo el mismo modelo de nado forzado el extracto acuoso de maca amarilla no presentó actividad energizante en ratas macho recién destetadas tratadas por 30 días (81).

Una macamida, N-benciloleamida, tiene propiedades farmacéuticas contra la fatiga inducida por el ejercicio en ratones; su efecto puede ser explicado por modificación del metabolismo energético y mejora del estado antioxidante en 21 días de tratamiento (82). Otros autores proponen a los polisacáridos de la maca como responsables del efecto antifatiga (83, 84).

2.2.1.2.1.9 Maca en metabolismo y diabetes

En ratas hipertriglicéridémicas la maca fue administrada al 1% como parte de una dieta alta en sucrosa por 2 semanas. La maca mejoró el perfil lipídico, la tolerancia a la glucosa y disminuyó los niveles de glucosa en sangre similar a lo obtenido con rosiglitazona (control positivo). También, la maca incrementó significativamente la actividad de la superóxido dismutasa en hígado, la glutatión peroxidasa en sangre y los niveles de glutatión en hígado (85).

Dos estudios utilizaron la estreptozotocina para inducir diabetes en roedores y determinar el efecto hipoglicémico de la maca. En uno de ellos, la administración de la harina de maca amarilla en la dieta por 46 días mejoró el metabolismo de glucosa, regulando la glicemia y elevando los niveles de insulina en ratas diabéticas (86). En el otro estudio, ratones diabéticos disminuyeron los niveles de glucosa con la administración de maca negra por 7 días (9). Se ha demostrado que el efecto de la maca negra es aumentando la sensibilidad a la insulina (Gonzales, Maldonado y Xu, comunicación personal).

2.2.1.2.2 Estudios en humanos con maca

La primera publicación de maca sobre sus propiedades alimenticias y fértiles en humanos fue descrita por Bernabé Cobo (3). A la fecha existen diversas publicaciones del efecto de maca en humanos que consisten en estudios observacionales, encuestas y ensayos clínicos. En estos estudios se trató de

determinar el efecto de la maca sobre la salud así como su impacto en la seguridad alimentaria.

Diversos ensayos clínicos han sido realizados comparados con un placebo. El primer estudio consistió en el tratamiento oral por 4 meses con tabletas de maca gelatinizada en hombres adultos normales para evaluar el efecto sobre la calidad seminal y el nivel de hormonas séricas (87). Se demostró una mejora en los parámetros seminales sin modificaciones de los niveles hormonales. Una serie de ensayos clínicos posteriores han permitido elaborar tres revisiones sistemáticas evaluando el efecto de la maca como tratamiento de síntomas menopáusicos (16), mejorar la calidad seminal (17) y mejorar la función sexual (18). Sólo la revisión de la mejora en la calidad seminal en humanos sugiere que la maca tiene un efecto positivo.

Otros estudios en humanos se enfocaron en determinar el estado de salud mediante evaluaciones y encuestas a pobladores residentes de la zona de Junín, donde se cultiva la maca, y que son consumidores o no de maca (19, 88). En ambos estudios los consumidores de maca afirmaron consumirlo principalmente en jugos por las propiedades nutricionales de la planta.

El consumo de maca se asocia a mejores puntajes de estado de salud (19, 88), menores tasas de fracturas (19), menor nivel de interleucina 6 (88), mayor éxito en la prueba de levantarse y sentarse cinco veces de una silla sin utilizar los brazos como soporte (88), y menores puntajes de signos y síntomas de mal de montaña

crónico (19, 88). Igualmente, se encontró un menor índice de masa corporal y menor presión arterial sistólica (19). Mientras que, la función hepática, renal, el perfil lipídico y la glicemia se mantienen en lo normal (19).

La seguridad y aceptabilidad de la maca ha sido investigada recientemente en residentes adultos peruanos de nivel del mar y altura (20). Un ensayo aleatorizado a doble ciego controlado por placebo sobre la administración oral (3g/día/12 semanas) de extractos atomizados de maca roja o negra resultó en una mejora en el estado de ánimo, energía y el estado de salud en comparación al placebo (20). Además, el puntaje del mal de montaña crónico fue reducido en los grupos tratados con maca (20). La maca negra y en menor proporción la maca roja, disminuyeron los niveles de hemoglobina en hombres y mujeres de altura con eritrocitosis excesiva; mientras que, en los del nivel del mar no hubo variación (20). La maca negra redujo también los niveles de glucosa en sangre (20). En conclusión, el extracto de maca frente a placebo fue bien tolerado mejorando la calidad de vida y no presentó efectos adversos serios (20).

Reforzando el aspecto de seguridad alimentaria de la maca, un estudio no encontró cambios histológicos deletéreos en la mucosa gástrica de pacientes con dispepsia funcional tras el consumo de 3g diarios de extracto atomizado de maca por cuatro semanas (89). A nivel *in vitro*, el extracto metanólico y acuoso de maca no mostró hepatotoxicidad, por el contrario, se observó un ligero efecto citoprotector (90). Además, el extracto acuoso de maca roja no alteró la viabilidad celular en una línea celular LNCaP de cáncer de próstata humana (91).

2.2.2 Metabolómica

Entender los sistemas biológicos de un organismo como un todo se ha hecho complejo por la gran cantidad de componentes biológicos (biomoléculas) que interactúan y que afectan la funcionalidad (proceso biológico) de los diferentes sistemas del organismo. Con la publicación del genoma humano completo en el 2003 se generó una nueva era de investigación, el estudio biomédico del “genoma” a través de la “genómica” (92).

El conocer la secuencia génica no lo fue todo, puesto que existen múltiples expresiones de estas moléculas pasando por ARNm, proteínas y metabolitos; las cuales ejercen el efecto biológico. Además, la incorporación de compuestos desde la dieta o el ambiente también tienen efectos en los procesos biológicos de un organismo. Todo ello, desencadenó la era post-genómica con una serie de tecnologías “ómicas” (**Figura 1**), incluyendo transcriptómica, proteómica, metabolómica, lipidómica, entre otras (93).

Si conocemos la secuencia del genoma de un organismo podemos usar esta información para el análisis del ARNm y proteínas. En contraste, los metabolitos, compuestos de bajo peso molecular productos del metabolismo, no son dependientes de una secuencia génica e incluyen una gran variedad como lípidos, aminoácidos, péptidos, ácidos grasos, carbohidratos, vitaminas, xenobióticos. El conjunto completo de metabolitos que se encuentran dentro de una muestra

biológica se denomina el “metaboloma” (94). Por lo tanto, la “metabolómica” se refiere al análisis del metaboloma en el sistema biológico bajo estudio (95).

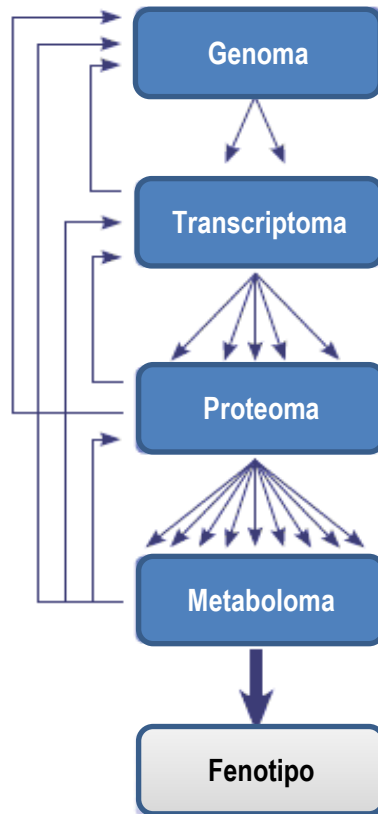


Figura 1. Información biológica del flujo del genoma al metaboloma. Correlación entre las principales estrategias “ómicas” en investigación de sistemas biológicos. Tomado y modificado de Tugizimana y colaboradores, 2013 (96).

2.2.2.1 Muestra biológica para metabolómica

La elección del tipo de muestra biológica para el análisis de metabolómica dependerá de la pregunta de investigación que uno busca responder. Los tipos de muestra incluyen principalmente biofluidos, células y tejidos (97). Entre los biofluidos tenemos sangre, plasma, suero, orina, saliva, fluido amniótico, fluido cerebroespinal, sudor y leche materna. Con respecto a muestras de células se pueden

analizar distintas líneas celulares de mamíferos, para las cuales se debe tener en consideración las condiciones de cultivo. Además, la interpretación del resultado metabolómico de células puede ser sencilla porque no existen variables confusoras como genotipo, edad, género, estilo de vida, dieta (98). El tejido como muestra biológica puede provenir de hígado, corazón, riñón, entre otros (97). Mayormente la colecta del tejido involucra un procedimiento invasivo. Una desventaja, a diferencia del biofluido, es el tamaño y representatividad de la muestra colectada respecto al órgano en general.

La sangre es el fluido biológico mayormente colectado en estudios epidemiológicos y de metabolómica, aunque la constante búsqueda homeostática del organismo puede limitar la concentración de metabolitos en sangre. La muestra de orina es una buena alternativa a la muestra de sangre y tiene una mayor probabilidad de medir compuestos exógenos como la microbiota, fármacos y dieta (99). Otras muestras como saliva están ganando popularidad, su colecta es fácil y accesible. Este biofluido ha demostrado eficacia en la detección metabolómica de enfermedades renales, cardiovasculares y autoinmunes (100).

2.2.2.2 Métodos de análisis

Existen diferentes plataformas tecnológicas de análisis que pueden ser aplicadas en metabolómica. El uso de la resonancia magnética nuclear (RMN) dio pie a la metabolómica como herramienta de análisis bioquímico y fitoquímico (101). Tras una actualización en los protocolos en preparación de muestra,

parámetros espectrofotométricos, control de calidad y resolución, la RMN hoy en día facilita el análisis de múltiples tipos de biofluidos (102).

La espectrometría de masas (MS) es una herramienta esencial establecida en los últimos años en el área de metabolómica. La MS consiste en la separación, identificación y cuantificación de moléculas en función de su relación masa y carga (103). La MS se acopla a otros sistemas como la cromatografía de gases (GC / GC-MS) o cromatografía líquida (LC o HPLC / LC-MS) haciendo más sensible la detección de metabolitos de concentraciones bajas (96).

2.2.2.3 Metabolitos analizados

En el 2007 se publicó el primer borrador de una base de datos del metaboloma humano (HMDB) conteniendo más de 2180 metabolitos endógenos (104). En el 2013, la publicación fue actualizada y denominada HMDB 3.0 (105). Actualmente, posee una página web (www.hmdb.ca) en la versión 3.6 conteniendo 74 461 metabolitos (106).

El incremento en la identificación y caracterización química de cada metabolito no es un proceso sencillo; es un resultado de la inclusión de metabolitos detectados (estos con concentraciones medidas o confirmación experimental de su existencia) y metabolitos esperados (estos para la cual la vía bioquímica son conocidas o la ingesta/exposición es frecuente pero el componente no ha sido detectado en el cuerpo) (105).

En el caso de los metabolitos esperados se incluyen más de 450 dipéptidos, > 1500 drogas y sus metabolitos, > 13 000 compuestos derivados de alimentos y más de otros 2000 compuestos (105).

La integración de las moléculas esperadas en el HMDB se debe a la interacción que existe de la bioquímica humana con los patrones de consumo de drogas y alimentos; aunque implique que estos metabolitos no estén presentes o no sean detectados en el metaboloma de cada humano si lo pueden estar en el metaboloma humano colectivo (en poblaciones) (105).

Existen otras bases de datos de metaboloma y metabolitos como el METLIN, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), HumanCyc, LipidMaps, Biochemical Genetic and Genomic (BiGG), PubChem y ChEBI (105).

2.2.2.4 Péptidos en metabolómica

Los péptidos están compuestos de dos hasta cien aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. La terminología general usa prefijos para describir el tipo de péptido. Si el péptido está compuesto de dos aminoácidos se denomina dipéptido, si son tres aminoácidos es un tripéptido, si son cuatro aminoácidos es un tetrapéptido, etc. Pero, más importante que el número de péptidos es el orden de su secuencia.

La razón principal por la cual los péptidos/proteínas pueden ser considerados como biomoléculas de elección lógica para investigarse como biomarcadores, se basa en que ellos participan centralmente en los procesos sintéticos, reguladores y de degradación celular (**Figura 2**) (107). Los péptidos están involucrados en numerosas funciones biológicas, por ejemplo como hormonas (Oxitocina, hormona liberadora de gonadotropinas) o moléculas de señalización.

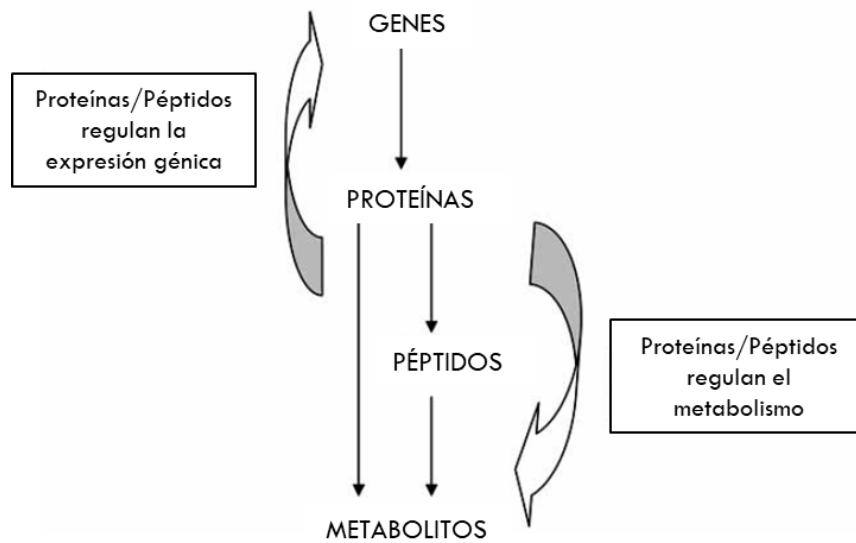


Figura 2. Diagrama de la vía en la que participan los péptidos. Tomado y modificado de Doshi & Day, 2009 (107).

En el presente trabajo se analizarán 34 metabolitos que pertenecen en total a 5 sub-vías peptídicas resumidas en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Metabolitos en la vía de los péptidos según la sub-vía peptídica a la que pertenecen.

Sub-vía peptídica	Metabolito (nombre bioquímico)
Gamma-glutamil aminoácido	gamma-glutamilalanina
	gamma-glutamilglutamato
	gamma-glutamilglutamina
	gamma-glutamilglicina
	gamma-glutamilhistidina
	gamma-glutamilisoleucina*
	gamma-glutamilleucina
	gamma-glutamil-epsilon-lisina
	gamma-glutamilmetionina
	gamma-glutamilfenilalanina
	gamma-glutamiltreonina*
	gamma-glutamitriptófano
	gamma-glutamiltirosina
	gamma-glutamilvalina
gamma-glutamil-2-aminobutirato	
Dipéptido derivado	carosina
	N-acetilcarosina
	anserina
Dipéptido	histidilalanina
	leucilalanina
	leucilglicina
	fenilalanilalanina
	prolilglicina
	valilglutamina
	valilglicina
	valilleucina
leucilglutamina*	
Polipéptido	bradiquinina
	Hidroxi-pro(3)- bradiquinina
	des-arg(9)- bradiquinina
	HWESASXX*
	XHWESASXXR*
	HWESASLLR
Péptido de clivaje del fibrinógeno	DSGEGDFXAEGGGVR*

2.2.2.4.1 Sub-vía peptídica: Gamma-glutamil aminoácido (GGAA)

Los GGAA son formados extracelularmente por la transferencia del grupo gamma-glutamil (GG) a un aminoácido a través de la enzima gamma-glutamilttransferasa (GGT) (108). El GG proviene principalmente del glutatión (GSH), un tripéptido que consiste de gamma-glutamina, cisteína y glicina. El GSH es una molécula con diversos roles en la homeostasis celular como la defensa contra el daño oxidativo, almacén y transporte de cisteína, detoxificación de xenobióticos, regulación del crecimiento y muerte celular (108, 109). La GGT es una proteína de superficie celular que mantiene la homeostasis del glutatión y su actividad incrementa en respuesta a estrés oxidativo (110).

Existen hipótesis que la finalidad del GGAA es el transporte e incorporación de aminoácidos al interior de la célula (111). Dentro de la célula, la gamma-glutamiltciclotransferasa metaboliza el GGAA, liberando el aminoácido y 5-oxoprolina (112). El ciclo gamma-glutamilt se detalla en la **figura 3**.

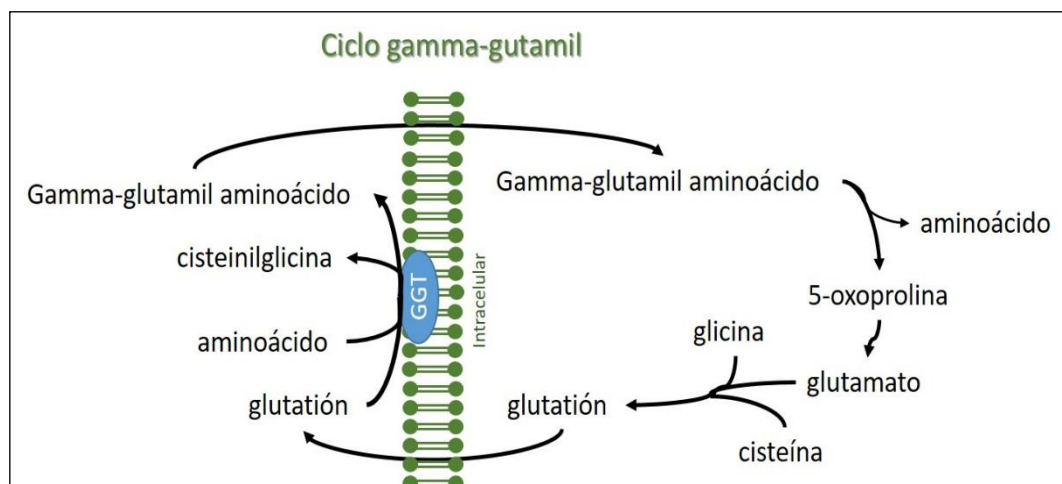


Figura 3. Ciclo gamma-glutamilt. Figura de elaboración propia.

Estudios metabólicos de los péptidos de la sub-vía gamma-glutamil aminoácido han sido relacionados con diversas patologías o conductas alimentarias.

El resumen se puede observar en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Patología o condición en la que están implicados los metabolitos peptídicos de la sub-vía gamma-glutamil aminoácido.

Sub-vía peptídica: Gamma-glutamil aminoácido			
Patología o condición	Metabolitos	Nivel	Ref.
Ingesta alta de sodio	γ -glutamilvalina γ -glutamilisoleucina γ -glutamilleucina γ -glutamilmetionina γ -glutamilglutamato γ -glutamifenilalanina γ -glutamiltirosina	Alto	(113)
Niños menores de 5 años con talla baja	γ -glutamilmetionina γ -glutamilglutamina γ -glutamiltreonina γ -glutamilleucina γ -glutamitriptófano γ -glutamiltirosina	Alto	(114)
Cáncer agresivo de próstata	γ -glutamihistidina	Bajo	(115)
Esclerosis múltiple	γ -glutamilvalina γ -glutamilglutamato γ -glutamilisoleucina	Alto	(116)
IL-6 en adulto mayor	γ -glutamilvalina	Bajo	(117)
Esteatosis hepática	γ -glutamilvalina γ -glutamilisoleucina γ -glutamilleucina	Alto	(118)
Cáncer de próstata	γ -glutamifenilalanina	Bajo	(119)
Obesidad infantil	γ -glutamilglutamato γ -glutamilleucina γ -glutamifenilalanina γ -glutamiltirosina	Alto	(120)
Tuberculosis activa	γ -glutamilglutamina	Bajo	(121)
Cáncer colorrectal	γ -glutamilglutamina	Alto	(122)
	γ -glutamilleucina γ -glutamifenilalanina	Bajo	
Asociado con fibrinógeno y proteína C reactiva	γ -glutamilmetionina γ -glutamiltirosina	Bajo	(123)
Esquizofrenia	γ -glutamilcisteína	Bajo	(124)

2.2.2.4.2 Sub-vía peptídica: Dipéptido derivado

Tres péptidos que pertenecen a esta sub-vía serán evaluados: anserina, carnosina y N-acetilcarnosina. Carnosina es un dipéptido compuesto por β -alanina y L-histidina. Anserina es una variante común de la carnosina en su forma metilada. En cambio, N-acetilcarnosina es la forma acetilada de carnosina.

La carnosina es un antioxidante poderoso y su síntesis se da mayormente en el músculo esquelético y en menor grado en el cerebro de los vertebrados (125). Anserina se encuentra principalmente en las aves (125). La ingesta de carne es la única fuente de incorporación de estos dipéptidos al organismo humano (126, 127), encontrando bajas concentraciones de carnosina en el músculo sóleo de sujetos vegetarianos en comparación a sujetos omnívoros (128).

Carnosina ha sido utilizada como suplemento para el tratamiento de enfermedades neurológicas y mentales, o en otras condiciones patofisiológicas que se acompañan de activación de radicales libres y formación de estrés oxidativo (129). Además, carnosina tiene el potencial de suprimir cambios bioquímicos en proteínas (130), que junto a otros efectos indican que carnosina contribuye a regular el peso corporal (131, 132).

La forma acetilada de carnosina, la N-acetilcarnosina, es usada actualmente en gotas para el tratamiento de las cataratas porque puede atravesar la córnea, a diferencia de la carnosina que no la traspasa. Luego, la N-acetilcarnosina es

transformada a carnosina para ejercer su efecto antioxidante. Sin embargo, un estudio reciente del Cochrane determinó que la evidencia no es convincente (133). La N-acetilcarnosina es resistente a la hidrólisis de la carnosinasa plasmática, como se evidenció por sus concentraciones plasmáticas constantes antes y después de la ingesta de carne (134).

Los metabolitos de esta sub-vía implicados en diversas patologías o condiciones se muestran en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Patología o condición en la que están implicados los metabolitos peptídicos de la sub-vía dipéptido derivado.

Sub-vía peptídica: Dipéptido derivado			
Patología o condición	Metabolitos	Nivel	Ref.
Niños menores de 5 años con talla baja	N-acetilcarnosina	Alto	(114)
Caquexia cancerosa	carnosina	Alto	(132)
Adulto mayor	carnosina N-acetilcarnosina	Bajo	(135)
Transtorno del espectro autista	carnosina	Bajo	(136)
Marcador de función renal	N-acetilcarnosina	Bajo	(137)

2.2.2.4.3 Sub-vía peptídica: Dipéptido

Los dipéptidos son analizados en el metaboloma por su estabilidad en comparación a los tripéptidos. Algunos dipéptidos tienen efectos fisiológicos o

intervienen como señal celular, aunque la mayoría son intermediarios de corta vida previa a su degradación más específica. Algunos dipéptidos no han sido identificados en tejidos humanos o biofluidos, por lo tanto son clasificados como un metabolito esperado (105).

Los metabolitos dipéptidos implicados en algunas patologías se muestran en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Patología o condición en la que están implicados los metabolitos peptídicos de la sub-vía dipéptido.

Sub-vía peptídica: Dipéptido			
Patología o condición	Metabolitos	Nivel	Ref.
Niños menores de 5 años con talla baja	valilglicina	Alto	(114)
Tuberculosis activa	valilglicina	Alto	(121)
Cáncer de próstata	leucilglutamina	Bajo	(119)

2.2.2.4.4 Sub-vía peptídica: Polipéptido

Los metabolitos polipeptídicos analizados están relacionados con fragmentos del componente 3 (C3) del complemento (HWESASLLR, HWESAXX y XHWESASXXR), con la bradiquinina y sus metabolitos derivados (des-arg(9)-bradiquinina y hidroxipro(3)-bradiquinina).

Los péptidos derivados del C3 del complemento han sido relacionados como posibles biomarcadores en diversas patologías como leucemia aguda, carcinoma hepatocelular, esclerosis lateral amiotrófica, hígado graso, diabetes mellitus tipo 2 (138-142).

La bradiquinina es un poderoso péptido vasodilatador formado por el clivaje proteolítico de su precursor el cininógeno a través de la enzima calicreína. Su principal metabolito es la des-arg(9)-bradiquinina, tras la acción de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) y la aminopeptidasa P (143, 144). La bradiquinina muestra gran afinidad por los receptores bradiquinina 2 (B2), mientras que, la des-arg(9)-bradiquinina lo hace por los receptores bradiquinina 1 (B1) (145). Estos receptores son blancos terapéuticos potenciales en diferentes eventos patofisiológicos involucrados en la respuesta inflamatoria, asma, rinitis, dolor, edema, diabetes y cáncer (145).

Los metabolitos polipéptidos implicados en algunas patologías o condiciones alimentarias se muestran en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Patología o condición en la que están implicados los metabolitos peptídicos de la sub-vía polipéptido.

Sub-vía peptídica: Polipéptido			
Patología o condición	Metabolitos	Nivel	Ref.
Ingesta alta de sodio	HWESASXX HWESASLLR Hidroxi-pro(3)- bradiquinina	Bajo	(113)
Medicamento: inhibidor de ACE	HWESASXX des-arg(9)-bradiquinina	Alto	(146)
Obesidad infantil	HWESASXX, HWESASLLR des-arg(9)-bradiquinina bradiquinina	Alto	(120)
Asociado con fibrinógeno y proteína C reactiva	HWESASXX, Hidroxi-pro(3)- bradiquinina des-arg(9)-bradiquinina bradiquinina	Alto	(123)
Riesgo de diabetes tipo 2	Hidroxi-pro(3)- bradiquinina	Bajo	(147)

2.2.2.4.5 Sub-vía peptídica: Péptido de clivaje del fibrinógeno

El fibrinógeno es convertido a fibrina por acción de la enzima trombina y participa en el proceso de la coagulación. En la sub-vía del péptido de clivaje de fibrinógeno el metabolito analizado es DSGEGDFXAEGGGVR, un fragmento derivado del fibrinógeno. Este metabolito se encontró con niveles elevados en pacientes con cáncer colorrectal (148) y fue asociado positivamente con niveles de IL-6 en adultos mayores (149).

El metabolito de esta sub-vía implicado en algunas patologías se detalla en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Patología o condición en la que están implicados los metabolitos peptídicos de la sub-vía péptido de clivaje del fibrinógeno.

Sub-vía peptídica: Péptido de clivaje del fibrinógeno			
Patología o condición	Metabolitos	Nivel	Ref.
IL-6 en adulto mayor	DSGEGDFXAEGGGVR	Alto	(117)
Cirrosis	DSGEGDFXAEGGGVR	Alto	(150)
Cáncer colorrectal	DSGEGDFXAEGGGVR	Alto	(122)
Esquizofrenia	DSGEGDFXAEGGGVR	Bajo	(151)

2.2.2.5 Aplicación de la metabolómica

La metabolómica tiene diferentes aplicaciones tales como en el diagnóstico de enfermedades, toxicología, patología molecular, agricultura, alimentos basados en plantas y en nutraceuticos (21, 93). Además, entre otros beneficios, nos puede permitir saber que alimentos y medicamentos podrían ser los más apropiados para el genotipo y fenotipo específico de cada ser humano, y con ello tener la clave para mejorar el estado de salud y bienestar de las personas.

La aplicación de esta tecnología no ha sido aplicada en el Perú desde el aspecto clínico o nutraceutico. Además, resultaría interesante el conocer las diferencias no sólo genéticas, como muchas investigaciones ya realizadas (152, 153), sino a nivel metabolómico en poblaciones nativas de los Andes y compararlas con poblaciones nativas a nivel del mar.

2.2.3 El hombre peruano y la altura

Las condiciones medioambientales cambian durante el ascenso a zonas más altas desde el nivel del mar. Primero, la variación de la presión atmosférica es la condición ambiental más crucial, percibida por el hombre a través de la disminución del oxígeno (O_2) (hipoxia). La presión atmosférica disminuye de manera exponencial en función de la altura. A nivel del mar tenemos una presión atmosférica de 760 mmHg, Lima se encuentra a 150 msnm a 750 mmHg y Puno a 3820 msnm a 475 mmHg.

El aire está conformado principalmente de O_2 , nitrógeno y gas carbónico; independiente de la altura la proporción del O_2 es 21%. Se sabe que hasta por lo menos 10,000 metros de altura la concentración de oxígeno (21%) se mantiene en el aire. A partir de esa altitud disminuye el porcentaje de oxígeno en el aire.

La presión de O_2 se calcula multiplicando la presión atmosférica por la fracción de O_2 en el aire (0.21). Es así que cualquier caída de la presión atmosférica en la altura se ve reflejado en una disminución de la presión parcial de O_2 y esto debe ser compensado por mecanismos fisiológicos en el hombre. Segundo, la temperatura del ambiente declina con la altura. Dependiendo de la elevación, estación y zona climática, la temperatura declina $1^\circ C$ por cada 100-250m de elevación (154). Tercero, la humedad disminuye con la altura. Esta caída es más rápida que la disminución de otros elementos atmosféricos (155). Cuarto, la radiación solar no sólo aporta el rango de luz visible (400-750 nm), su espectro

también contiene radiación infrarroja por encima de los 750 nm y radiación ultravioleta (UV) por debajo de los 400 nm. A su vez, el rango UV se subdivide en UV-A (400-320 nm), UV-B (320-280 nm) y UV-C (280-200 nm) (156). Con el aumento de cada 1000 m en altura, la exposición a UV-A y UV-B incrementa entre 10% a 20% (157).

En la zona de Pucuncho (4335 msnm) en los Andes Peruanos en Arequipa se han encontrado 260 herramientas como puntas de lanzas y hachas que datan de hace 12 000 años atrás. Poco después de la presencia humana en esta zona de Arequipa, se encuentra evidencia humana en las cuevas de Pikimachay (cuevas de las pulgas) en Pacaicasa, Ayacucho.

A pesar de las temperaturas frías, la alta radiación solar y bajas condiciones de O₂, los cazadores y recolectores colonizaron los ambientes extremos de los Andes peruanos en el periodo del Pleistoceno Tardío, esto es 2000 años después que los humanos entraron a América del Sur (158). Sin embargo, no es claro el proceso evolutivo molecular asociado a tal adaptación.

No se conoce si los Andes fueron inicialmente poblados por individuos genéticamente predispuestos con una reducida susceptibilidad al estrés de la altura o si fueron los descendientes de pobladores pioneros los que se adaptaron al estrés ambiental con el tiempo (153).

Aunque, 12000 años puede parecer un tiempo suficiente para la adaptación a través de la selección natural, como se demuestra en los niveles bajos de hemoglobina y altos de peso al nacer en poblaciones Aymaras de las zonas altoandinas de Puno del Perú, la llegada de los españoles en el siglo XVI introdujo un mestizaje generacional que le podría haber restado valor al proceso adaptativo de la población andina (159). La pérdida adaptativa no debe ser generalizada, pues los pobladores en los Andes sur como se ha mencionado presentan un menor mestizaje hispano por lo que presentan un mayor tiempo de residencia generacional que pobladores de los Andes centrales (160), tal como lo demuestran estudios de diversidad genética en la población de los Andes centrales (152).

Actualmente, en el Perú, el 30% de la población reside en altitudes por encima de 2000 metros (161). El departamento de Puno tiene una población de 1 268 441 habitantes, Puno como provincia tiene una población de 229 236 habitantes (162) . El territorio del departamento de Puno comprende 32.1% zona de selva desde los 500 msnm y el resto zona de sierra, Andes sur, hasta los 5500 msnm.

Una de las características más resaltantes en los nativos de altura de los Andes es la modificación en los parámetros hematológicos. A medida que aumenta el lugar de residencia de los nativos de altura también se eleva el número de glóbulos rojos y la concentración de hemoglobina (163). Sin embargo, esto no es observado en los pobladores Tibetanos con más de 25 000 años de residencia en las alturas del Tíbet en comparación a los Han que residen en la misma zona menos de 80 años (164); demostrando que los menores niveles de hemoglobina observados

en los tibetanos pueden estar acompañados de un factor genético (165). Cuando la hemoglobina es mayor de 21 g/dl en varones y mayor de 19 g/dl en mujeres, se define a esta condición como eritrocitosis excesiva y es observada en poblaciones con menor antigüedad generacional en la altura como en los Andes. Por lo tanto, la eritrocitosis excesiva está asociada al mal de montaña crónico, considerado una falta de adaptación a la altura (164).

Finalmente, se postula que las características fenotípicas para el éxito de adaptación funcional observadas en los nativos de altura en los Andes se deben a la influencia ambiental durante el periodo de crecimiento y desarrollo que se expresa en la adultez; como un mayor volumen pulmonar asociado a un incremento del área alveolar y capilarización del tejido, moderado incremento de glóbulos rojos y concentración de hemoglobina y rasgos genéticos (166).

2.3 Justificación del estudio

Los metabolitos peptídicos están involucrados en procesos inflamatorios, infecciosos y oxidativos. Algunos de estos procesos son observados en personas que viven en altura. Se ha demostrado que el consumo de maca, tanto en animales como en humanos, ha reducido o contrarrestado este tipo de eventos adversos.

El conocer la metabolómica en la vía de los péptidos en peruanos que viven a nivel del mar y en altura nos puede ayudar a comprender las diferencias entre estas poblaciones. Además, si el consumo de maca negra o roja por tres meses

cambia los niveles de algunos metabolitos peptídicos, puede ser un primer paso para la búsqueda de mecanismos de acción a través de estas rutas. Por lo tanto, esto nos permitirá darle un valor agregado a la maca como un nutracéutico.

Por otro lado, la aplicación de la metabolómica abre las puertas para dar a conocer esta nueva metodología que puede ser incorporada por otros grupos de investigación que trabajan con plantas enfocadas en la medicina tradicional o como suplemento alimenticio.

2.4 Pregunta de investigación

¿El consumo de maca roja o negra por tres meses modifica el perfil de metabolitos en la vía de los péptidos en los pobladores de altura y de los del nivel del mar?

2.5 Hipótesis

La respuesta metabolómica en la vía de los péptidos al consumo de extracto de maca roja o negra por tres meses es diferente en Puno que en Lima.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

El objetivo del presente proyecto es comparar la metabolómica de la vía de los péptidos al consumo de maca negra, maca roja o un placebo en nativos adultos de Lima (150 msnm) y Puno (3820 msnm).

3.2 Objetivos específicos

1. Comparar la metabolómica basal en la vía de los péptidos entre la población de Lima y Puno.
2. Comparar la respuesta metabolómica en la vía de los péptidos al consumo de extracto de maca roja o maca negra comparados con placebo por tres meses en la población de Lima.
3. Comparar la respuesta metabolómica en la vía de los péptidos al consumo de extracto de maca roja o maca negra comparados con placebo por tres meses en la población de Puno
4. Comparar el porcentaje de cambio en los niveles de metabolitos que causa el consumo de maca roja, negra o un placebo entre los sujetos de Lima y Puno.

4. METODOLOGÍA

4.1 Diseño del estudio

El estudio fue realizado en base a un análisis secundario de datos que provienen del proyecto “Metabolómica, aceptabilidad y seguridad alimentaria al consumo de maca (*Lepidium meyenii*) en varones y mujeres adultas de Cerro de Pasco (4340 msnm) y de Lima (150 msnm)” con código SIDISI 0000061697; el cual es un estudio experimental, de intervención doble ciego controlado por placebo donde la muestra fue seleccionada por conveniencia y los grupos de tratamiento se distribuyeron aleatoriamente.

El proyecto original en Lima y Cerro de Pasco fue ampliado a poblaciones en otras ciudades (Puno e Iquitos). Por temas administrativos, las muestras analizadas para el estudio metabolómico fueron consideradas para Lima y Puno.

4.2 Diseño experimental del estudio

4.2.1 Población y muestra

El estudio fue diseñado y aplicado en 208 voluntarios de 18 a 65 años de edad de la ciudad de Lima (n=103) y Puno (n=105), posteriormente fueron divididos en tres grupos: Grupo 1: placebo; Grupo 2: extracto de maca roja; Grupo 3: extracto de maca negra.

El estudio fue doble ciego porque los sujetos participantes y los investigadores (incluyendo a los que hicieron los análisis de laboratorio) no conocían la asignación. El muestreo fue por conveniencia, conforme a los siguientes criterios de inclusión y de exclusión:

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
<ul style="list-style-type: none"> • Edad: 18 a 65 años. • Varones y mujeres. • Forma de Selección: Voluntarios, con Consentimiento Informado firmado. • No haber tenido alguna enfermedad en los últimos tres meses. • No haber recibido medicación en los últimos tres meses. • Residente por lo menos 10 años en el lugar de estudio. 	<ul style="list-style-type: none"> • Embarazo. • Fumadores crónicos. • Mujeres amenorreicas no asociadas a embarazo o menopausia. • Sujetos que refieran tener dislipidemia, diabetes mellitus o síndrome metabólico. • Sujetos con presión arterial sistólica > 140 mm Hg y/o PA diastólica > 100 mm Hg. • Sujetos que en la prueba de salud (cuestionario) presentan puntaje menor de 50 puntos. Cuestionario validado para poblaciones de nivel del mar y altura (167). Ver Anexo I.

4.2.2 Procedimientos y técnicas

Los voluntarios que concluyeron el estudio en los cuales se llevó a cabo el estudio de metabólica corresponden a 30 en Lima y 70 en Puno.

La administración del sachet de maca o del placebo se realizó diariamente por un periodo de 12 semanas (3 meses). Estos grupos fueron distribuidos de la siguiente manera:

- Grupo 1: Placebo.
- Grupo 2: Extracto atomizado de maca roja,
- Grupo 3: Extracto atomizado de maca negra,

4.2.2.1 Muestra de sangre para el estudio metabólico

El protocolo para la obtención de la muestra de sangre, separación de plasma y envío a EEUU fue el siguiente:

- a. Para la toma de cada muestra se solicitó ayuno de por lo menos 12 horas a cada voluntario. Se tomaron las muestras en cada individuo al inicio (basal, T0) y final (3 meses, T3) del tratamiento.
- b. La extracción de la muestra de sangre venosa (20 ml) fue colectada en un tubo tipo vacutainer conteniendo EDTA como anticoagulante para obtener plasma. Se utilizó un movimiento de izquierda a derecha para la mezcla.
- c. Los tubos fueron colocados inmediatamente a 4°C hasta su centrifugación para evitar la hemólisis.
- d. Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 2000 g por 15 minutos a 4 °C.
- e. El plasma y suero fueron separadas en alícuotas en tubos ependorf estériles y almacenadas a -20°C.
- f. Las muestras de Puno fueron enviados por vía aérea hacia Lima congeladas a -80°C (hielo seco).

- g. El envío de las muestras de Lima hacia EEUU fue realizada conservando la temperatura de -80°C (hielo seco). La recepción de la muestra y análisis metabólico estuvo a cargo de la compañía Metabolon Inc. (Carolina del Norte, Estados Unidos).

4.5.2 Producto: Maca y Maltodextrina (Placebo)

Los sachet de atomizado de maca conteniendo 3 gramos fueron de la empresa Cayenatur EIRL. El producto placebo fue la muestra control. El placebo tuvo como base la maltodextrina que es el excipiente con la cual se hace el atomizado de los extractos hidroalcohólicos de maca roja y maca negra.

4.2.3 Diagrama de flujo del diseño experimental

En la **Figura 4** se muestra el número de participantes reclutados, perdidos en el seguimiento y los que terminaron el tratamiento. Finalmente, las muestras analizadas para metabolómica fueron inferiores al número de participantes que concluyeron los tres meses de tratamiento.

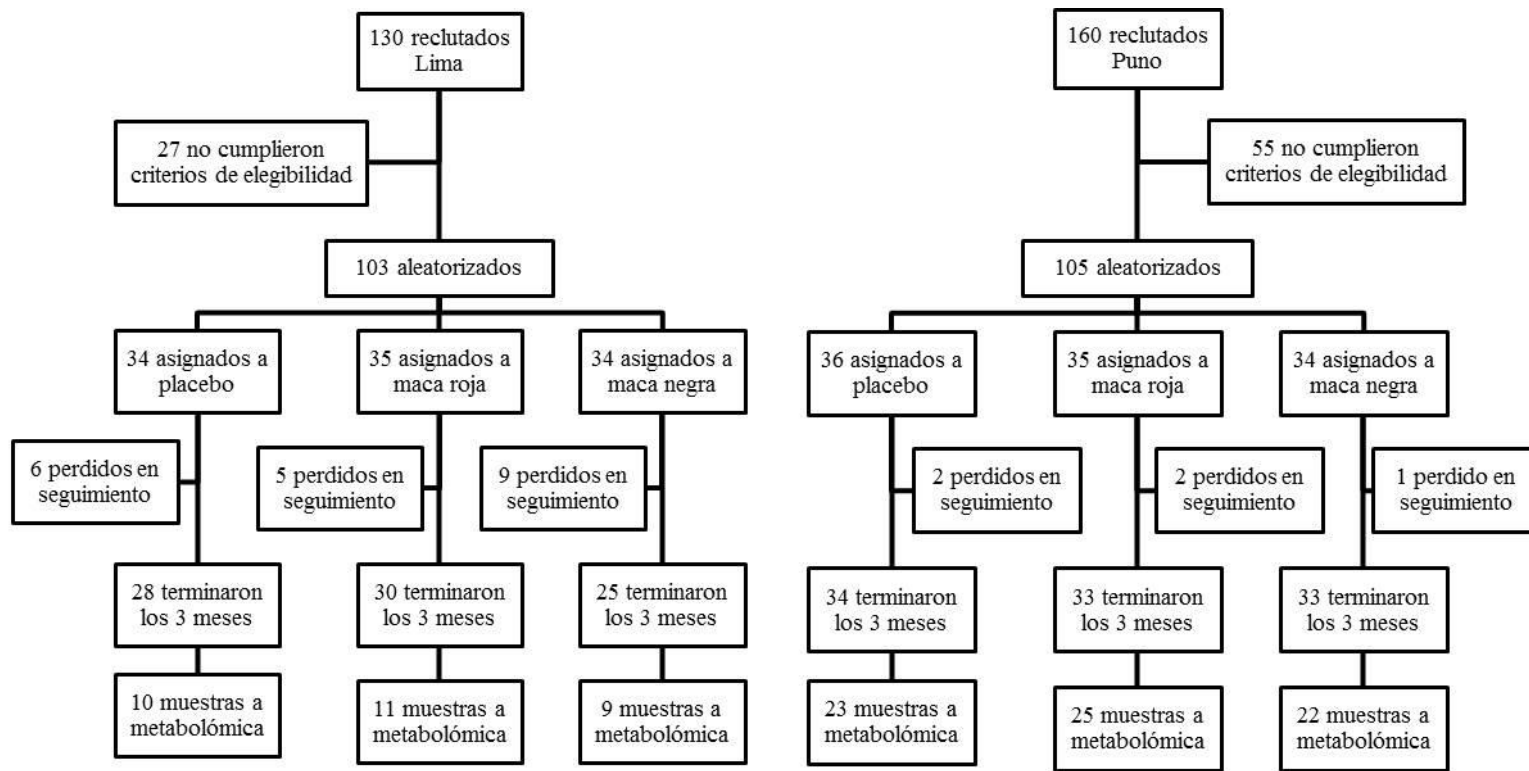


Figura 4. Diagrama de flujo del estudio de metabolómica en Lima y Puno.

4.3 Operacionalización de Variables:

4.3.1 Variables Dependientes:

1. Metabolómica: metabolitos de la vía de péptidos en plasma (cuantitativo)

4.3.2 Variables Independientes:

- a. Lugar de residencia (Lima, Puno): Dicotómico.
- b. Sexo (masculino, femenino): Dicotómico.
- c. Edad (18-65 años): Cuantitativo.
- d. Consumo de extracto atomizado (maca roja, maca negra o placebo):
Nominal.

4.3.3 Operacionalización de variables:

La metabolómica en muestras de plasma con EDTA fueron evaluados en el Laboratorio Metabolon Inc. (Estados Unidos).

Metabolon es una compañía de productos y servicios de diagnóstico que ofrece la plataforma líder de perfiles bioquímicos de la industria. Metabolon ha desarrollado y patentado la tecnología y metodologías que a la vez permiten detectar y cuantificar todas las pequeñas moléculas presentes en muestras biológicas complejas.

4.4 Metabolómica

Las muestras recepcionadas por Metabolon fueron almacenadas a -80°C hasta ser procesadas. En este estudio se usó el plasma para el análisis de metabolómica.

La empresa Metabolon utiliza dos equipos de cromatografía líquida de ultra alta eficiencia (UHPLC) acoplados a espectrómetros de masa en tándem (MS/MS). A esto se suma que uno de ellos lleva acoplado una columna de cromatografía adaptada a los compuestos de ionización positiva LC-MS/MS (+ESI) y el otro equipo a los compuestos de ionización negativa LC-MS/MS (-ESI). Además, utiliza un equipo de cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas GC-MS. Se recogen los datos correspondientes al tiempo de retención, peso molecular (m/z) y espectros MS/MS de todos los iones detectables en la muestra.

El total de compuestos analizados fueron 683 con identidad conocida. Los valores de cada metabolito fueron normalizadas mediante transformación log. En aquellos metabolitos sin valores se les imputó el valor mínimo observado para cada compuesto. En el presente trabajo se compararon los metabolitos que provienen de la vía de los péptidos. En la **Tabla 9** se detallan los 34 metabolitos distribuidos en 5 sub-vías peptídicas.

Tabla 9. Descripción de los metabolitos según su sub-vía peptídica, plataforma utilizada para su análisis y código en las diferentes bases de datos.

Sub-vía peptídica	Metabolito (nombre bioquímico)	Plataforma	HMDB	PUBCHEM
Gamma-glutamil aminoácido	gamma-glutamilalanina	LC/MS positivo	HMDB29142	440103
	gamma-glutamilglutamato	LC/MS positivo	HMDB11737	92865
	gamma-glutamilglutamina	LC/MS positivo	HMDB11738	150914
	gamma-glutamilglicina	LC/MS positivo	HMDB11667	165527
	gamma-glutamilhistidina	LC/MS positivo		7017195
	gamma-glutamilisoleucina	LC/MS positivo	HMDB11170	14253342
	gamma-glutamilleucina	LC/MS positivo	HMDB11171	151023
	gamma-glutamil-epsilon-lisina	LC/MS positivo	HMDB03869	65254;14284565
	gamma-glutamilmetionina	LC/MS positivo	HMDB29155	7009567
	gamma-glutamilfenilalanina	LC/MS positivo	HMDB00594	111299
	gamma-glutamiltreonina*	LC/MS positivo	HMDB29159	
	gamma-glutamiltriptófano	LC/MS positivo	HMDB29160	3989307
	gamma-glutamiltirosina	LC/MS negativo	HMDB11741	94340
	gamma-glutamilvalina	LC/MS positivo	HMDB11172	7015683
	gamma-glutamil-2-aminobutirato	LC/MS positivo		
Dipéptido derivado	carosina	LC/MS polar	HMDB00033	439224
	N-acetilcarosina	LC/MS positivo	HMDB12881	9903482
	anserina	LC/MS negativo	HMDB00194	112072
Dipéptido	histidilalanina	LC/MS positivo		351667
	leucilalanina	LC/MS positivo		259321
	leucilglicina	LC/MS positivo		79070
	fenilalanilalanina	LC/MS positivo		6993123;5488196
	prolilglicina	LC/MS positivo		7408076;6426709
	valilglutamina	LC/MS positivo		5253209
	valilglicina	LC/MS negativo		136487
	valilleucina	LC/MS positivo		352039
leucilglutamina	LC/MS positivo		4305457	
Polipéptido	bradiquinina	LC/MS positivo	HMDB04246	439201
	hidroxi-pro(3)-bradiquinina	LC/MS positivo	HMDB11728	169947
	des-arg(9)-bradiquinina	LC/MS negativo	HMDB04246	105044
	HWESASXX	LC/MS positivo		
	XHWESASXXR	LC/MS positivo		
	HWESASLLR	LC/MS positivo		
Péptido de clivaje del fibrinógeno	DSGEGDFXAEGGGVR	LC/MS negativo		

HMDB: Base de datos del metaboloma humano; LC/MS: Cromatografía líquida / espectrometría de masas.

4.5 Análisis estadístico

Se usó el programa STATA versión 12. Los datos fueron normalizados por Metabolon Inc. mediante una transformación log. En muestras con varianzas iguales se aplicó la prueba *t de Student* para datos relacionados o independientes según sea el caso. Al no cumplirse la homogeneidad de varianzas se aplicó la prueba *t de Welch*.

En la comparación de más de dos grupos se analizó por ANOVA. Además, para comparar la diferencia de dos medias después de ANOVA se aplicaron análisis post hoc.

Cada participante fue su propio control al comparar el basal (T0) con el efecto del tratamiento a los tres meses (T3). Para evaluar el efecto del consumo de maca con el grupo placebo se compararon las medias de los deltas (T3 – T0) para cada compuesto mediante la prueba *t de Welch*.

Como los niveles basales de metabolitos fueron diferentes entre las poblaciones de altura y de nivel del mar, se comparó el porcentaje de cambio ($\% \text{ cambio} = ((T3-T0)/T0) \times 100\%$) para evaluar el efecto de los tratamientos. La generación de estas nuevas variables fueron evaluadas de acuerdo a su distribución normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk. En caso de no cumplirse la distribución normal, los grupos fueron comparados por la prueba Kruskal-Wallis y posteriormente pruebas entre dos grupos por la prueba U de Mann-Whitney.

Se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para evaluar el efecto del consumo de maca sobre los niveles de cada metabolito después de controlar para edad, género y altitud.

Los datos son mostrados como media \pm error estándar. Se considera un nivel de significancia: $P < 0.05$.

4.6 Aspectos éticos

El presente estudio con código SISIDI 100864 fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (Constancia 333 – 12 -17) el 25 de mayo del 2017. Todos los métodos, técnicas y procedimientos a aplicar en la investigación estuvieron dentro de las normas nacionales e internacionales para proyectos de investigación en humanos aplicando la versión de Helsinki.

5. RESULTADOS

5.1 Características clínicas de los pacientes.

La edad de los pobladores de Lima fue 33.13 ± 2.26 años y en Puno fue de 36.74 ± 1.60 años ($P > 0.05$). La proporción de mujeres fue significativamente mayor en Puno (57.14%) que en Lima (33.33%) ($P = 0.029$). Por ello el sexo será controlado en el análisis multivariado.

De los 34 metabolitos analizados, 2 de ellos (anserina y carnosina) fueron detectados en menos del 10% de las muestras analizadas, por tal motivo son excluidos del análisis estadístico.

5.2 Metabolómica Basal en la vía de los péptidos.

Si buscamos determinar las diferencias del tratamiento con maca entre las dos poblaciones, primero debemos conocer las diferencias antes del tratamiento (basal). En la **Tabla 10** se comparan 32 metabolitos en la vía de los péptidos entre los pobladores de Lima y Puno. Las concentraciones de 25 metabolitos fueron significativamente diferentes, 3 metabolitos tenían una mayor concentración en Lima (gamma-glutamylglutamina, gamma-glutamyl-epsilon-lisina, valilglutamina) y 18 metabolitos en Puno (gamma-glutamylglutamato, gamma-glutamylhistidina, gamma-glutamylisoleucina, gamma-glutamylleucina, gamma-glutamylmetionina, gamma-glutamylfenilalanina, gamma-glutamylfenilalanina, gamma-

glutamiltreonina, gamma-glutamiltirosina, gamma-glutamilvalina, histidilalanina, leucilalanina, leucilglicina, prolilglicina, valilglicina, valilleucina, leucilglutamina, bradiquinina, des-arg(9)-bradiquinina, HWESASXX, XHWESASXXR, HWESASLLR, DSGEGDFXAEGGGVR). La única sub-vía peptídica que no mostró diferencia significativa entre ambas poblaciones fue la del dipéptido derivado (metabolito: N-acetilcarnosina). En resumen, niveles más altos de metabolitos de la vía de los péptidos se observan en Puno.

La metabolómica basal (T0) entre los grupos que iniciarían el tratamiento con maca roja, maca negra y placebo en Lima no mostró diferencia significativa ($P>0.05$) (**Tabla 11**). Igualmente, la metabolómica basal (T0) en Puno entre los 3 grupos no mostró diferencia significativa ($P>0.05$) (**Tabla 12**).

Tabla 10. Metabolómica basal en la vía de los péptidos en individuos de Lima y Puno.

Sub-vía	Metabolito	Lima	Puno	Sig.
		n=30	n=70	
GGAA	GGalanina	1.39±0.18	1.67±0.15	0.2742
	GGglutamato	0.26±0.06	1.57±0.15	<0.0001
	GGglutamina	1.50±0.13	1.16±0.11	0.025
	GGglicina	1.77±0.13	1.60±0.1	0.307
	GGhistidina	1.41±0.05	1.58±0.07	0.0154
	GGisoleucina	1.34±0.08	1.93±0.08	<0.0001
	GGleucina	1.29±0.06	1.83±0.07	<0.0001
	GG-epsilon-lisina	2.02±0.14	1.48±0.14	0.0089
	GGmetionina	1.41±0.13	1.80±0.15	0.049
	GGfenilalanina	0.95±0.05	1.73±0.12	<0.0001
	GGtreonina	1.21±0.09	1.48±0.08	0.0418
	GGtriptófano	0.88±0.07	0.89±0.06	0.917
	GGtirosina	1.01±0.04	1.58±0.1	<0.0001
	GGvalina	1.54±0.08	1.85±0.07	0.0076
GG-2-aminobutirato	1.61±0.15	1.46±0.14	0.4555	
Dipéptido derivado	N-acetilcarnosina	1.20±0.1	1.13±0.07	0.5852
Dipéptido	histidilalanina	0.04±0	0.74±0.12	<0.0001
	leucilalanina	0.85±0.27	5.15±0.79	0.0015
	leucilglicina	0.32±0.06	3.13±0.53	0.0001
	fenilalanilalanina	1.16±0.08	1.12±0.1	0.7901
	prolilglicina	1.14±0.11	1.51±0.14	0.0335
	valilglutamina	5.46±0.99	1.59±0.27	<0.0001
	valilglicina	0.67±0.1	3.93±0.5	<0.0001
	valilleucina	1.05±0.07	1.97±0.19	0.0034
leucilglutamina	0.40±0.05	7.77±1.55	0.0001	
Polipéptido	bradiquinina	0.94±0.19	1.65±0.21	0.0145
	hidroxi-pro(3)-bradiquinina	0.90±0.17	0.75±0.1	0.4841
	des-arg(9)-bradiquinina	0.18±0.04	1.37±0.2	0.0001
	HWESASXX	1.59±0.23	3.50±0.47	0.0004
	XHWESASXXR	0.11±0.03	2.55±0.55	<0.0001
	HWESASLLR	1.09±0.21	5.93±0.74	<0.0001
P. de clivaje del fibrinógeno	DSGEGDFXAEGGGVR	0.37±0.09	2.41±0.64	0.0024

Tabla 11. Metabolómica basal en la vía de los péptidos en los grupos de tratamiento de Lima.

Sub-vía	Metabolito	Lima Pl	Lima MR	Lima MN	Sig.
		n=10	n=11	n=9	
GGAA	GGalanina	1.10±0.19	1.35±0.31	1.76±0.41	0.3602
	GGglutamato	0.20±0.05	0.24±0.07	0.36±0.18	0.5608
	GGglutamina	1.26±0.19	1.42±0.24	1.86±0.24	0.1886
	GGglicina	1.53±0.2	1.72±0.11	2.10±0.34	0.2261
	GGhistidina	1.43±0.13	1.40±0.05	1.39±0.09	0.9463
	GGisoleucina	1.35±0.15	1.38±0.12	1.29±0.18	0.9200
	GGleucina	1.31±0.14	1.32±0.08	1.23±0.1	0.8140
	GG-epsilon-lisina	2.19±0.33	2.11±0.23	1.72±0.14	0.4010
	GGmetionina	1.19±0.16	1.34±0.19	1.74±0.3	0.2158
	GGfenilalanina	0.92±0.11	1.01±0.08	0.90±0.1	0.6902
	GGtreonina*	1.08±0.2	1.34±0.14	1.21±0.12	0.5004
	GGtriptófano	0.80±0.13	1.02±0.11	0.79±0.15	0.3497
	GGtirosina	0.98±0.11	1.11±0.05	0.93±0.04	0.2172
	GGvalina	1.53±0.16	1.61±0.11	1.47±0.16	0.7648
GG-2-aminobutirato	1.31±0.2	1.57±0.23	1.99±0.31	0.1898	
Dipéptido derivado	N-acetilcarnosina	1.27±0.16	1.21±0.17	1.10±0.21	0.8060
Dipéptido	histidilalanina	0.04±0	0.04±0	0.04±0	--
	leucilalanina	0.63±0.39	1.13±0.6	0.75±0.36	0.7437
	leucilglicina	0.36±0.1	0.33±0.12	0.26±0.09	0.8021
	fenilalanilalanina	1.11±0.1	1.22±0.14	1.13±0.2	0.8367
	prolilglicina	1.07±0.2	1.42±0.1	0.87±0.22	0.1002
	valilglutamina	5.17±1.69	7.42±2.0	3.39±1.06	0.2575
	valilglicina	0.64±0.24	0.73±0.12	0.64±0.14	0.9060
	valilleucina	0.98±0.1	1.21±0.15	0.93±0.06	0.2096
Polipéptido	leucilglutamina	0.32±0.05	0.44±0.11	0.43±0.11	0.6348
	bradiquinina	0.90±0.34	0.60±0.2	1.40±0.45	0.2409
	hidroxi-pro(3)-bradiquinina	0.70±0.3	0.80±0.24	1.23±0.37	0.4444
	des-arg(9)-bradiquinina	0.11±0.04	0.13±0.05	0.30±0.11	0.1725
	HWESASXX	1.22±0.37	1.54±0.43	2.05±0.4	0.3838
	XHWESASXXR	0.16±0.07	0.10±0.02	0.07±0.02	0.3634
PDF	HWESASLLR	0.87±0.32	0.76±0.15	1.73±0.57	0.1453
	DSGEGDFXAEGGGVR	0.47±0.22	0.35±0.14	0.29±0.09	0.7528

Pl: Placebo; MR: maca roja; MN: maca negra; NS: no significativo.

Tabla 12. Metabolómica basal en la vía de los péptidos en los grupos de tratamiento de Puno.

Sub-vía	Metabolito	Puno Pl	Puno MR	Puno MN	Sig.
		n=23	n=25	n=22	
GGAA	GGalanina	1.79±0.26	1.50±0.24	1.75±0.29	0.7070
	GGglutamato	1.70±0.25	1.59±0.28	1.43±0.26	0.7823
	GGglutamina	1.27±0.2	1.02±0.2	1.21±0.2	0.6562
	GGglicina	1.59±0.14	1.59±0.2	1.63±0.18	0.9862
	GGhistidina	1.64±0.13	1.53±0.1	1.58±0.11	0.7872
	GGisoleucina	1.98±0.19	1.91±0.08	1.91±0.13	0.9316
	GGleucina	1.87±0.14	1.79±0.09	1.82±0.12	0.8928
	GG-epsilon-lisina	1.36±0.21	1.40±0.21	1.70±0.3	0.5699
	GGmetionina	1.93±0.29	1.72±0.25	1.76±0.24	0.8280
	GGfenilalanina	1.60±0.2	1.75±0.2	1.86±0.23	0.6863
	GGtreonina	1.53±0.19	1.47±0.1	1.45±0.09	0.9116
	GGtriptófano	1.01±0.13	0.84±0.08	0.82±0.11	0.3894
	GGtirosina	1.49±0.19	1.69±0.15	1.55±0.15	0.6900
	GGvalina	1.87±0.15	1.90±0.1	1.77±0.1	0.7292
	GG-2-aminobutirato	1.40±0.2	1.44±0.25	1.55±0.26	0.9021
Dipéptido derivado	N-acetilcarnosina	0.98±0.11	1.30±0.12	1.10±0.11	0.1342
Dipéptido	histidilalanina	0.42±0.13	0.84±0.22	0.96±0.24	0.1451
	leucilalanina	3.46±1.03	5.91±1.54	6.06±1.43	0.3267
	leucilglicina	1.89±0.57	3.96±1.13	3.49±0.92	0.2546
	fenilalanilalanina	0.96±0.15	1.24±0.19	1.16±0.2	0.5400
	prolilglicina	1.26±0.21	1.64±0.23	1.63±0.27	0.4311
	valilglutamina	1.96±0.65	1.22±0.2	1.62±0.46	0.5127
	valilglicina	2.71±0.6	4.43±0.88	4.63±1.03	0.2318
	valilleucina	1.51±0.19	2.17±0.37	2.23±0.38	0.2462
	leucilglutamina	4.45±1.45	7.88±2.43	11.10±3.75	0.2304
Polipéptido	bradiquinina	1.35±0.34	1.87±0.4	1.72±0.35	0.5840
	hidroxi-pro(3)-bradiquinina	0.57±0.11	0.69±0.18	1.02±0.22	0.1896
	des-arg(9)-bradiquinina	1.10±0.31	1.47±0.33	1.54±0.38	0.6286
	HWESASXX	2.70±0.68	3.73±0.86	4.07±0.9	0.4807
	XHWESASXXR	1.95±0.61	2.99±1.24	2.66±0.84	0.7346
	HWESASLLR	4.22±0.87	6.05±1.16	7.60±1.68	0.1843
PDF	DSGEGDFXAEGGVR	1.65±0.86	2.93±1.42	2.62±0.93	0.7032

Pl: Placebo; MR: maca roja; MN: maca negra; NS: no significativo.

5.3 Respuesta metabólica en la vía de los péptidos al tratamiento en Lima y Puno

En la **Tabla 13** se muestran los valores de los metabolitos antes (T0) y después del tratamiento (T3) con maca roja, maca negra y placebo en los sujetos de Lima. Se observan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre el basal y a los 3 meses de tratamiento en 8, 13 y 9 metabolitos para los grupos de placebo, maca roja y maca negra, respectivamente. En todos los casos, los metabolitos con diferencia significativa disminuyeron su valor luego de 3 meses de tratamiento.

En la **Tabla 14** se muestran los valores de metabolitos de los sujetos de Puno, antes (T0) y después (T3) del tratamiento con maca roja, maca negra y placebo. Presentan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre el basal y a los 3 meses de tratamiento en 20, 23 y 25 metabolitos para los grupos de placebo, maca roja y maca negra, respectivamente. Indistinto del grupo de tratamiento, todos los metabolitos con diferencia significativa mostraron niveles bajos en comparación a su basal.

Tabla 13. Comparación de la metabolómica en la vía de los péptidos al consumo del placebo, extracto de maca roja y extracto de maca negra en la población de Lima.

Sub-vía	Metabolito	Lima: placebo			Lima: maca roja			Lima: maca negra		
		T0	T3	Sig.	T0	T3	Sig.	T0	T3	Sig.
GGAA	GGalanina	1.10±0.19	1.16±0.09	0.703	1.35±0.31	1.29±0.16	0.450	1.76±0.41	0.94±0.1	0.160
	GGglutamato	0.20±0.05	0.14±0	0.286	0.24±0.07	0.15±0.01	0.229	0.36±0.18	0.14±0	0.249
	GGglutamina	1.26±0.19	1.29±0.12	0.885	1.42±0.24	1.67±0.15	0.948	1.86±0.24	1.35±0.23	0.445
	GGglicina	1.53±0.2	0.70±0.06	0.006	1.72±0.11	0.78±0.08	<0.001	2.10±0.34	0.88±0.07	0.005
	GGhistidina	1.43±0.13	0.66±0.05	<0.001	1.40±0.05	0.76±0.05	<0.001	1.39±0.09	0.69±0.05	0.001
	GGisoleucina	1.35±0.15	0.49±0.05	0.001	1.38±0.12	0.58±0.07	<0.001	1.29±0.18	0.54±0.1	0.019
	GGleucina	1.31±0.14	0.61±0.04	0.002	1.32±0.08	0.65±0.05	<0.001	1.23±0.1	0.61±0.06	0.002
	GG-epsilon-lisina	2.19±0.33	1.06±0.13	0.002	2.11±0.23	0.92±0.07	<0.001	1.72±0.14	1.06±0.05	0.003
	GGmetionina	1.19±0.16	0.91±0.12	0.168	1.34±0.19	1.18±0.08	0.191	1.74±0.3	0.99±0.13	0.068
	GGfenilalanina	0.92±0.11	0.5±0.08	0.031	1.01±0.08	0.64±0.07	0.0012	0.90±0.1	0.64±0.06	0.018
	GGtreonina	1.08±0.2	0.74±0.08	0.191	1.34±0.14	0.87±0.1	0.013	1.21±0.12	0.76±0.1	0.022
	GGtriptófano	0.80±0.13	0.76±0.15	0.788	1.02±0.11	0.85±0.1	0.069	0.79±0.15	0.99±0.17	0.094
	GGtirosina	0.98±0.11	0.59±0.07	0.028	1.11±0.05	0.67±0.06	<0.001	0.93±0.04	0.65±0.04	0.006
GGvalina	1.53±0.16	0.57±0.04	0.001	1.61±0.11	0.62±0.07	<0.001	1.47±0.16	0.61±0.08	0.005	
GG-2-aminobutirato	1.31±0.2	1.19±0.13	0.828	1.57±0.23	1.30±0.16	0.154	1.99±0.31	1.15±0.13	0.068	
DD	N-acetilcarnosina	1.27±0.16	1.12±0.16	0.312	1.21±0.17	1.13±0.15	0.088	1.10±0.21	1.01±0.2	0.929
Dipéptido	histidilalanina	0.04±0	0.04±0	--	0.04±0	0.04±0	--	0.04±0	0.04±0	--
	leucilalanina	0.63±0.39	0.6±0.3	0.180	1.13±0.6	0.19±0.05	0.241	0.75±0.36	1.89±1	0.339
	leucilglicina	0.36±0.1	0.31±0.14	0.668	0.33±0.12	0.17±0.04	0.137	0.26±0.09	0.74±0.3	0.145
	fenilalanilalanina	1.11±0.1	0.73±0.09	0.082	1.22±0.14	0.70±0.11	0.002	1.13±0.2	1.24±0.2	0.706
	prolilglicina	1.07±0.2	1.12±0.21	0.477	1.42±0.1	1.18±0.05	0.021	0.87±0.22	0.98±0.22	0.171
	valilglutamina	5.17±1.69	3.54±0.91	0.666	7.42±2.0	3.13±0.89	0.058	3.39±1.06	5.33±1.12	0.098
	valilglicina	0.64±0.24	0.5±0.14	0.230	0.73±0.12	0.53±0.11	0.188	0.64±0.14	1.13±0.4	0.188
	valilleucina	0.98±0.1	0.83±0.07	0.604	1.21±0.15	0.88±0.08	0.014	0.93±0.06	1.82±0.76	0.270
leucilglutamina	0.32±0.05	0.48±0.13	0.220	0.44±0.11	0.30±0.05	0.500	0.43±0.11	1.27±0.73	0.313	
Polipéptido	bradiquinina	0.90±0.34	0.53±0.32	0.094	0.60±0.2	0.32±0.17	0.977	1.40±0.45	0.86±0.37	0.459
	OH-pro(3)-bradiquinina	0.70±0.3	0.44±0.21	0.390	0.80±0.24	0.51±0.21	0.287	1.23±0.37	0.94±0.35	0.577
	des-arg(9)-bradiquinina	0.11±0.04	0.18±0.08	0.951	0.13±0.05	0.16±0.07	0.402	0.30±0.11	0.26±0.11	0.859
	HWESASXX	1.22±0.37	0.55±0.13	0.074	1.54±0.43	0.37±0.1	0.055	2.05±0.4	1.30±0.43	0.273
	XHWESASXXR	0.16±0.07	0.05±0	0.138	0.10±0.02	0.05±0	0.060	0.07±0.02	0.10±0.04	0.615
	HWESASLLR	0.87±0.32	0.21±0.08	0.059	0.76±0.15	0.13±0.02	0.003	1.73±0.57	0.33±0.11	0.060
PDF	DSGEGDFXAEGGGVR	0.47±0.22	0.26±0.17	0.373	0.35±0.14	0.13±0.06	0.287	0.29±0.09	1.59±1.23	0.336

Tabla 14. Comparación de la metabolómica en la vía de los péptidos al consumo del placebo, extracto de maca roja y extracto de maca negra en la población de Puno.

Sub-vía	Metabolito	Puno placebo			Puno maca roja			Puno maca negra		
		T0	T3	Sig.	T0	T3	Sig.	T0	T3	Sig.
GGAA	GGalanina	1.79±0.26	1.08±0.13	0.019	1.50±0.24	0.71±0.1	0.008	1.75±0.29	0.84±0.12	0.01
	GGglutamato	1.70±0.25	0.50±0.13	0.001	1.59±0.28	0.36±0.07	<0.001	1.43±0.26	0.38±0.09	0.001
	GGglutamina	1.27±0.2	0.75±0.1	0.037	1.02±0.2	0.52±0.08	0.042	1.21±0.2	0.60±0.1	0.016
	GGglicina	1.59±0.14	0.86±0.1	<0.001	1.59±0.2	0.73±0.08	0.001	1.63±0.18	0.65±0.07	<0.001
	GGhistidina	1.64±0.13	0.72±0.04	<0.001	1.53±0.1	0.75±0.04	<0.001	1.58±0.11	0.71±0.04	<0.001
	GGisoleucina	1.98±0.19	0.64±0.05	<0.001	1.91±0.08	0.71±0.06	<0.001	1.91±0.13	0.55±0.05	<0.001
	GGleucina	1.87±0.14	0.80±0.05	<0.001	1.79±0.09	0.82±0.05	<0.001	1.82±0.12	0.71±0.05	<0.001
	GG-epsilon-lisina	1.36±0.21	0.91±0.09	0.059	1.40±0.21	0.88±0.05	0.040	1.70±0.3	0.97±0.1	0.027
	GGmetionina	1.93±0.29	0.83±0.1	0.001	1.72±0.25	0.66±0.07	0.001	1.76±0.24	0.72±0.1	<0.001
	GGfenilalanina	1.60±0.2	0.87±0.07	0.003	1.75±0.2	1.06±0.09	0.001	1.86±0.23	0.87±0.08	<0.001
	GGtreonina	1.53±0.19	0.81±0.06	0.003	1.47±0.1	0.85±0.06	<0.001	1.45±0.09	0.85±0.07	<0.001
	GGtriptófano	1.01±0.13	0.71±0.07	0.012	0.84±0.08	0.60±0.04	0.004	0.82±0.11	0.59±0.06	0.053
	GGtirosina	1.49±0.19	0.93±0.07	0.005	1.69±0.15	1.08±0.07	0.001	1.55±0.15	0.90±0.06	<0.001
	GGvalina	1.87±0.15	0.65±0.05	<0.001	1.90±0.1	0.68±0.06	<0.001	1.77±0.1	0.57±0.05	<0.001
GG-2-aminobutirato	1.40±0.2	0.66±0.08	0.002	1.44±0.25	0.54±0.08	0.002	1.55±0.26	0.65±0.1	0.003	
DD	N-acetilcarnosina	0.07±0.05	0.31±0.13	0.071	0.02±0	0.02±0	--	0.02±0	0.02±0	0.329
Dipéptido	histidilalanina	0.98±0.11	0.91±0.06	0.372	1.30±0.12	1.32±0.1	0.700	1.10±0.11	0.90±0.08	0.015
	leucilalanina	0.48±0.15	0.52±0.14	0.866	0.26±0	0.26±0	--	0.26±0	0.26±0	--
	leucilglicina	0.42±0.13	0.19±0.08	0.150	0.84±0.22	0.25±0.12	0.016	0.96±0.24	0.26±0.11	0.010
	fenilalanilalanina	3.46±1.03	1.90±0.84	0.260	5.91±1.54	1.15±0.43	0.006	6.06±1.43	1.48±0.5	0.004
	prolilglicina	1.89±0.57	0.42±0.09	0.015	3.96±1.13	0.86±0.37	0.012	3.49±0.92	0.65±0.31	0.009
	valilglutamina	0.96±0.15	0.86±0.18	0.710	1.24±0.19	1.15±0.18	0.767	1.16±0.2	0.86±0.09	0.148
	valilglicina	1.26±0.21	0.54±0.1	0.011	1.64±0.23	0.62±0.11	0.001	1.63±0.27	0.41±0.12	<0.001
	valilleucina	1.96±0.65	0.54±0.1	0.046	1.22±0.2	0.90±0.23	0.325	1.62±0.46	0.62±0.19	0.051
leucilglutamina	2.71±0.6	1.20±0.26	0.034	4.43±0.88	1.14±0.21	0.001	4.63±1.03	1.02±0.27	0.003	
Polipéptido	bradiquinina	1.51±0.19	0.87±0.08	0.007	2.17±0.37	1.27±0.26	0.024	2.23±0.38	1.20±0.35	0.044
	OH-pro(3)-bradiquinina	4.45±1.45	2.26±0.88	0.187	7.88±2.43	3.21±1.48	0.082	11.10±3.75	3.77±1.54	0.046
	des-arg(9)-bradiquinina	1.35±0.34	1.32±0.34	0.922	1.87±0.4	1.10±0.3	0.073	1.72±0.35	1.45±0.37	0.532
	HWESASXX*	0.57±0.11	0.95±0.27	0.092	0.69±0.18	0.69±0.22	0.995	1.02±0.22	1.10±0.27	0.738
	XHWESASXXR	1.10±0.31	0.51±0.16	0.082	1.47±0.33	0.44±0.13	0.001	1.54±0.38	0.48±0.13	0.008
PDF	HWESASLLR	2.70±0.68	1.13±0.3	0.048	3.73±0.86	1.21±0.32	0.009	4.07±0.9	1.12±0.31	0.004
	DSGEGDFXAEGGGVR	1.95±0.61	0.79±0.24	0.089	2.99±1.24	0.50±0.1	0.058	2.66±0.84	0.66±0.18	0.014

5.4 Niveles de metabolitos peptídicos en respuesta al tipo tratamiento en Lima y Puno

Se compararon los deltas (valor final menos valor inicial) de los niveles de cada metabolito peptídico para determinar el efecto de los tratamientos al finalizar los tres meses. El delta de cada metabolito fue obtenido primero por persona y luego se obtuvo la media por tratamiento. Se analizó por la prueba *t de Student* o la prueba *t de Welch*.

En la **Tabla 15** se muestran las comparaciones de los deltas de los metabolitos peptídicos entre tratamientos en Lima. Al comparar el placebo con maca roja se observó una diferencia significativa para prolilglicina, con un delta positivo para el placebo y un delta negativo para maca roja (0.11 ± 0.15 vs -0.41 ± 0.15 ; $P=0.024$). No se observaron diferencias significativas en el delta de ningún metabolito entre placebo y maca negra. Entre maca roja y maca negra se observaron diferencias en los deltas de los metabolitos gamma-glutamiltriptófano (-0.32 ± 0.16 vs 0.27 ± 0.14 ; $P=0.014$), gamma-glutamiltirosina (-0.51 ± 0.07 vs -0.23 ± 0.06 ; $P=0.008$), fenilalanilalanina (-0.58 ± 0.14 vs 0.09 ± 0.22 ; $P=0.017$) y prolilglicina (-0.41 ± 0.15 vs 0.25 ± 0.16 ; $P=0.009$).

En la **Tabla 16** se muestran las comparaciones de los deltas de los metabolitos peptídicos entre tratamientos en Puno. No se observaron diferencias significativas al comparar los diferentes grupos de tratamiento.

Tabla 15. Deltas de los metabolitos peptídicos en personas que consumieron el placebo, extracto de maca roja y extracto de maca negra en la población de Lima.

Sub-vía	Metabolito	Placebo	MR	Sig.	Placebo	MN	Sig.	MR	MN	Sig.
GGAA	GGalanina	0.11±0.27	-0.29±0.37	0.404	0.11±0.27	-0.58±0.38	0.149	-0.29±0.37	-0.58±0.38	0.597
	GGglutamato	-0.06±0.05	-0.09±0.07	0.755	-0.06±0.05	-0.22±0.18	0.376	-0.09±0.07	-0.22±0.18	0.461
	GGglutamina	0.04±0.23	0.02±0.32	0.974	0.04±0.23	-0.24±0.29	0.477	0.02±0.32	-0.24±0.29	0.569
	GGglicina	-0.80±0.22	-0.98±0.10	0.465	-0.80±0.22	-1.20±0.31	0.302	-0.98±0.10	-1.20±0.31	0.459
	GGhistidina	-0.72±0.13	-0.75±0.06	0.783	-0.72±0.13	-0.62±0.11	0.569	-0.75±0.06	-0.62±0.11	0.268
	GGisoleucina	-0.82±0.16	-0.91±0.12	0.635	-0.82±0.16	-0.66±0.22	0.566	-0.91±0.12	-0.66±0.22	0.298
	GGleucina	-0.65±0.15	-0.75±0.07	0.561	-0.65±0.15	-0.59±0.13	0.76	-0.75±0.07	-0.59±0.13	0.270
	GG-epsilon-lisina	-1.18±0.27	-1.18±0.22	0.997	-1.18±0.27	-0.64±0.14	0.109	-1.18±0.22	-0.64±0.14	0.069
	GGmetionina	-0.26±0.17	-0.30±0.21	0.891	-0.26±0.17	-0.60±0.29	0.314	-0.30±0.21	-0.60±0.29	0.403
	GGfenilalanina	-0.39±0.15	-0.36±0.09	0.867	-0.39±0.15	-0.31±0.10	0.672	-0.36±0.09	-0.31±0.10	0.699
	GGtreonina	-0.30±0.21	-0.61±0.20	0.295	-0.30±0.21	-0.33±0.12	0.887	-0.61±0.20	-0.33±0.12	0.276
	GGtriptófano	0.05±0.18	-0.32±0.16	0.139	0.05±0.18	0.27±0.14	0.358	-0.32±0.16	0.27±0.14	0.014
	GGtirosina	-0.34±0.13	-0.51±0.07	0.247	-0.34±0.13	-0.23±0.06	0.474	-0.51±0.07	-0.23±0.06	0.008
	GGvalina	-0.89±0.17	-1.11±0.09	0.279	-0.89±0.17	-0.78±0.20	0.692	-1.11±0.09	-0.78±0.20	0.144
GG-2-aminobutirato	-0.07±0.30	-0.43±0.28	0.387	-0.07±0.30	-0.71±0.33	0.174	-0.43±0.28	-0.71±0.33	0.536	
DD	N-acetilcarnosina	-0.12±0.11	-0.22±0.12	0.522	-0.12±0.11	0.03±0.35	0.680	-0.22±0.12	0.03±0.35	0.470
Dipéptido	histidilalanina	0	0	--	0	0	--	0	0	--
	leucilalanina	-0.22±0.15	-0.77±0.62	0.422	-0.22±0.15	1.15±1.13	0.221	-0.77±0.62	1.15±1.13	0.135
	leucilglicina	-0.08±0.18	-0.16±0.10	0.689	-0.08±0.18	0.50±0.31	0.114	-0.16±0.10	0.50±0.31	0.071
	fenilalanilalanina	-0.30±0.15	-0.58±0.14	0.185	-0.30±0.15	0.09±0.22	0.165	-0.58±0.14	0.09±0.22	0.017
	prolilglicina	0.11±0.15	-0.41±0.15	0.024	0.11±0.15	0.25±0.16	0.544	-0.41±0.15	0.25±0.16	0.009
	valilglutamina	-0.93±2.09	-4.75±2.22	0.228	-0.93±2.09	1.74±0.93	0.277	-4.75±2.22	1.74±0.93	0.018
	valilglicina	-0.21±0.17	-0.26±0.19	0.844	-0.21±0.17	0.65±0.45	0.078	-0.26±0.19	0.65±0.45	0.06
	valilleucina	-0.07±0.13	-0.41±0.14	0.090	-0.07±0.13	0.89±0.75	0.202	-0.41±0.14	0.89±0.75	0.125
leucilglutamina	0.12±0.09	-0.09±0.13	0.203	0.12±0.09	0.82±0.76	0.351	-0.09±0.13	0.82±0.76	0.210	
Polipéptido	bradiquinina	-0.69±0.37	0.01±0.32	0.167	-0.69±0.37	-0.54±0.69	0.847	0.01±0.32	-0.54±0.69	0.455
	OH-pro(3)-bradiquinina	-0.31±0.35	-0.24±0.22	0.861	-0.31±0.35	-0.29±0.50	0.970	-0.24±0.22	-0.29±0.50	0.925
	des-arg(9)-bradiquinina	0.004±0.07	0.08±0.09	0.513	0.004±0.07	-0.03±0.19	0.842	0.08±0.09	-0.03±0.19	0.563
	HWESASXX*	-0.77±0.38	-1.04±0.48	0.660	-0.77±0.38	-0.80±0.68	0.966	-1.04±0.48	-0.80±0.68	0.767
	XHWESASXXR	-0.11±0.07	-0.05±0.02	0.393	-0.11±0.07	0.03±0.05	0.129	-0.05±0.02	0.03±0.05	0.157
	HWESASLLR	-0.71±0.33	-0.62±0.16	0.809	-0.71±0.33	-1.37±0.63	0.347	-0.62±0.16	-1.37±0.63	0.220
PDF	DSGEGDFXAEGGVR	-0.25±0.27	-0.18±0.16	0.819	-0.25±0.27	1.30±1.27	0.225	-0.18±0.16	1.30±1.27	0.216

Tabla 16. Deltas de los metabolitos peptídicos en personas que consumieron el placebo, extracto de maca roja y extracto de maca negra en la población de Puno.

Sub-vía	Metabolito	Placebo	MR	Sig.	Placebo	MN	Sig.	MR	MN	Sig.
GGAA	GGalanina	-0.71±0.28	-0.79±0.27	0.830	-0.71±0.28	-0.91±0.38	0.641	-0.79±0.27	-0.91±0.38	0.830
	GGglutamato	-1.19±0.24	-1.23±0.25	0.917	-1.19±0.24	-1.05±0.27	0.697	-1.23±0.25	-1.05±0.27	0.917
	GGglutamina	-0.51±0.23	-0.50±0.23	0.979	-0.51±0.23	-0.61±0.23	0.764	-0.50±0.23	-0.61±0.23	0.979
	GGglicina	-0.73±0.14	-0.86±0.19	0.596	-0.73±0.14	-0.97±0.16	0.25	-0.86±0.19	-0.97±0.16	0.596
	GGhistidina	-0.92±0.13	-0.78±0.11	0.419	-0.92±0.13	-0.87±0.11	0.780	-0.78±0.11	-0.87±0.11	0.419
	GGisoleucina	-1.34±0.18	-1.20±0.09	0.471	-1.34±0.18	-1.36±0.12	0.921	-1.20±0.09	-1.36±0.12	0.471
	GGleucina	-1.07±0.14	-0.97±0.09	0.562	-1.07±0.14	-1.11±0.12	0.810	-0.97±0.09	-1.11±0.12	0.562
	GG-epsilon-lisina	-0.45±0.23	-0.52±0.24	0.824	-0.45±0.23	-0.73±0.31	0.462	-0.52±0.24	-0.73±0.31	0.824
	GGmetionina	-1.10±0.28	-1.06±0.26	0.917	-1.10±0.28	-1.04±0.25	0.883	-1.06±0.26	-1.04±0.25	0.917
	GGfenilalanina	-0.72±0.22	-0.69±0.19	0.908	-0.72±0.22	-0.99±0.20	0.377	-0.69±0.19	-0.99±0.20	0.908
	GGtreonina	-0.72±0.21	-0.62±0.13	0.696	-0.72±0.21	-0.60±0.10	0.631	-0.62±0.13	-0.60±0.10	0.696
	GGtriptófano	-0.30±0.11	-0.24±0.07	0.657	-0.30±0.11	-0.23±0.11	0.665	-0.24±0.07	-0.23±0.11	0.657
	GGtirosina	-0.57±0.18	-0.60±0.15	0.878	-0.57±0.18	-0.64±0.14	0.733	-0.60±0.15	-0.64±0.14	0.878
	GGvalina	-1.22±0.14	-1.21±0.09	0.951	-1.22±0.14	-1.20±0.10	0.901	-1.21±0.09	-1.20±0.10	0.951
GG-2-aminobutirato	-0.74±0.21	-0.90±0.26	0.639	-0.74±0.21	-0.90±0.27	0.645	-0.90±0.26	-0.90±0.27	0.639	
DD	N-acetilcarnosina	-0.06±0.07	0.02±0.06	0.348	-0.06±0.07	-0.21±0.08	0.169	0.02±0.06	-0.21±0.08	0.348
Dipéptido	histidilalanina	-0.23±0.15	-0.59±0.23	0.200	-0.23±0.15	-0.71±0.25	0.105	-0.59±0.23	-0.71±0.25	0.200
	leucilalanina	-1.56±1.35	-4.75±1.58	0.134	-1.56±1.35	-4.58±1.41	0.128	-4.75±1.58	-4.58±1.41	0.134
	leucilglicina	-1.47±0.56	-3.10±1.14	0.219	-1.47±0.56	-2.84±0.99	0.230	-3.10±1.14	-2.84±0.99	0.219
	fenilalanilalanina	-0.09±0.25	-0.08±0.27	0.973	-0.09±0.25	-0.30±0.20	0.532	-0.08±0.27	-0.30±0.20	0.973
	prolilglicina	-0.72±0.26	-1.02±0.25	0.410	-0.72±0.26	-1.22±0.31	0.222	-1.02±0.25	-1.22±0.31	0.410
	valilglutamina	-1.42±0.67	-0.31±0.31	0.131	-1.42±0.67	-1.00±0.48	0.617	-0.31±0.31	-1.00±0.48	0.131
	valilglicina	-1.51±0.66	-3.29±0.90	0.124	-1.51±0.66	-3.61±1.06	0.098	-3.29±0.90	-3.61±1.06	0.124
	valilleucina	-0.64±0.21	-0.90±0.37	0.562	-0.64±0.21	-1.02±0.48	0.462	-0.90±0.37	-1.02±0.48	0.562
leucilglutamina	-2.19±1.61	-4.67±2.57	0.428	-2.19±1.61	-7.34±3.46	0.178	-4.67±2.57	-7.34±3.46	0.428	
Polipéptido	bradiquinina	-0.03±0.35	-0.78±0.41	0.184	-0.03±0.35	-0.27±0.42	0.674	-0.78±0.41	-0.27±0.42	0.184
	OH-pro(3)-bradiquinina	0.38±0.22	0.00±0.12	0.125	0.38±0.22	0.08±0.23	0.342	0.00±0.12	0.08±0.23	0.125
	des-arg(9)-bradiquinina	-0.59±0.32	-1.04±0.27	0.292	-0.59±0.32	-1.05±0.36	0.344	-1.04±0.27	-1.05±0.36	0.292
	HWESASXX*	-1.57±0.75	-2.52±0.89	0.423	-1.57±0.75	-2.95±0.91	0.248	-2.52±0.89	-2.95±0.91	0.423
	XHWESASXXR	-1.16±0.65	-2.49±1.25	0.364	-1.16±0.65	-2.00±0.75	0.402	-2.49±1.25	-2.00±0.75	0.364
	HWESASLLR	-1.69±1.18	-3.90±1.26	0.211	-1.69±1.18	-5.25±1.77	0.099	-3.90±1.26	-5.25±1.77	0.211
PDF	DSGEGDFXAEGGVR	-0.95±0.82	-1.92±1.41	0.563	-0.95±0.82	-1.85±0.86	0.455	-1.92±1.41	-1.85±0.86	0.563

5.5 Comparación del porcentaje de cambio de los metabolitos peptídicos en respuesta al tipo tratamiento entre ciudades

Buscando uniformizar y comparar los niveles de metabolitos tras el tratamiento entre Lima y Puno, se comparó el porcentaje de cambio ($\% \text{ cambio} = ((T3-T0)/T0) \times 100\%$). Los metabolitos se presentan en gráficas de caja y bigotes y se compararon por la prueba Kruskal-Wallis y posteriormente pruebas entre dos grupos por la prueba U de Mann-Whitney.

A continuación se mostrarán las gráficas de 6 metabolitos peptídicos con diferencia estadísticamente significativa por la prueba de Kruskal-Wallis. El resto de los metabolitos se encuentran en la sección de Anexo II.

Gamma-glutamylglutamato

La comparación general muestra un $p=0.0003$. Se observó diferencias estadísticamente significativas entre Lima-Placebo vs Puno-Placebo ($p=0.018$), Lima-Placebo vs Puno-Maca roja ($p=0.007$), Lima-Placebo vs Puno-Maca negra ($p=0.014$), Lima-Maca roja vs Puno-Placebo ($p=0.024$), Lima-Maca roja vs Puno-Maca roja ($p=0.012$) y Lima-Maca roja vs Puno-Maca negra ($p=0.044$).

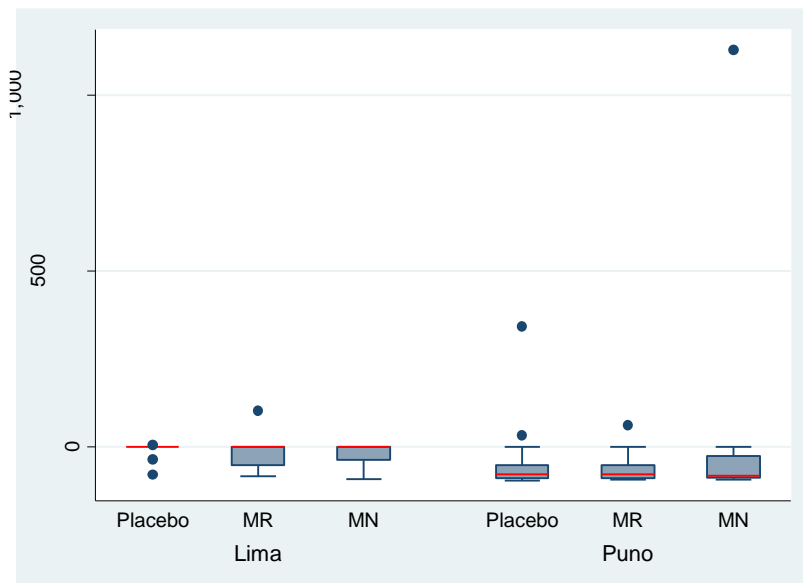


Gráfico 1. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylglutamato en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Gamma-glutamilmethionina

La comparación general muestra un $p=0.029$. Se observó diferencia estadísticamente significativa Lima-Maca roja vs Puno-Placebo ($p=0.029$).

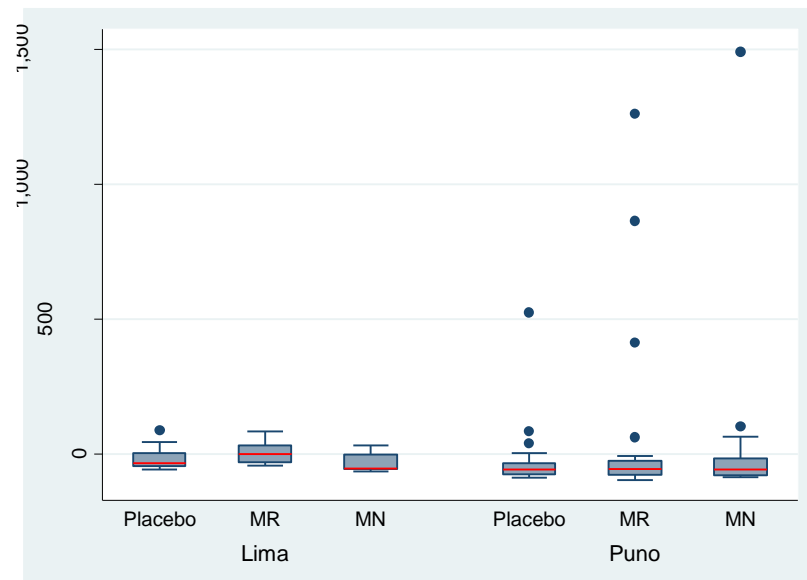


Gráfico 2. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamilmethionina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Leucilglutamina

La comparación general muestra un $p=0.015$. Se observó diferencia estadísticamente significativa entre Lima-Maca negra vs Puno-Maca roja ($p=0.031$).

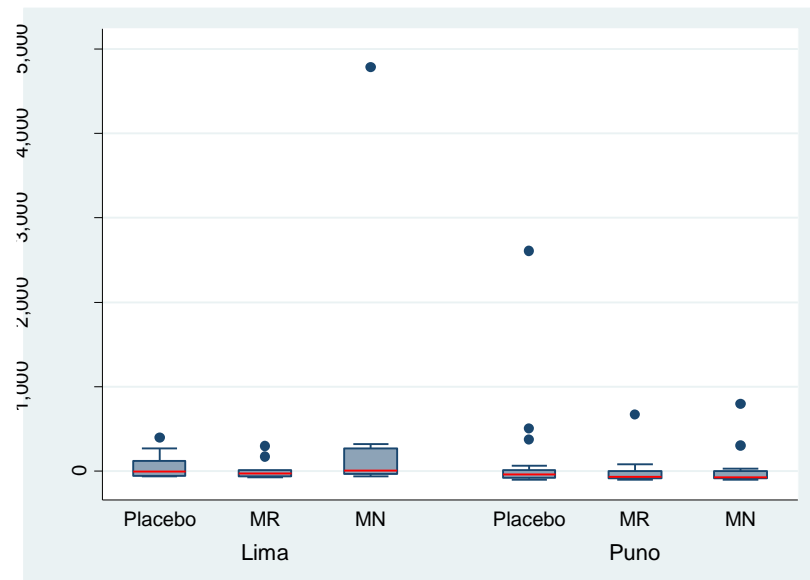


Gráfico 3. Porcentaje de cambio del metabolito leucilglutamina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Leucilglicina

La comparación general muestra un $p=0.009$. Se observó diferencias estadísticamente significativas entre Lima-Maca negra vs Puno-Maca roja ($p=0.029$) y Lima-Maca negra vs Puno-Maca negra ($p=0.02$).

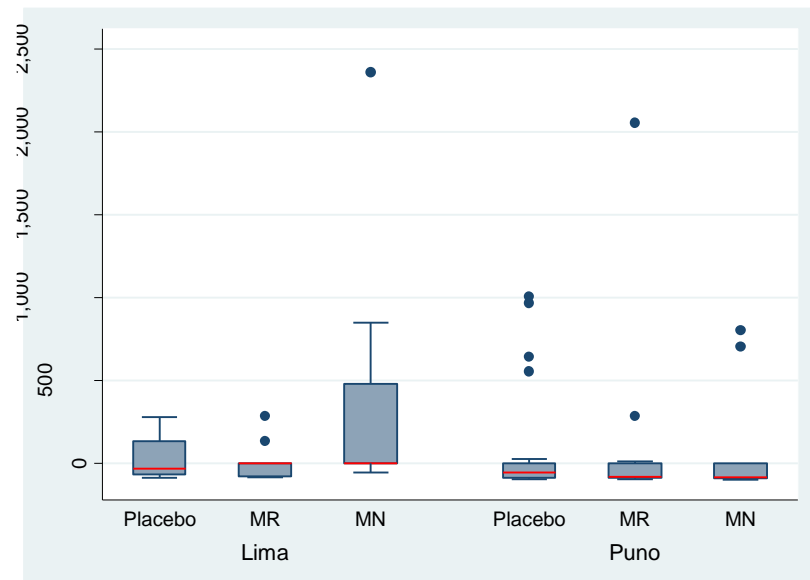


Gráfico 4. Porcentaje de cambio del metabolito leucilglicina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Prolilglicina

La comparación general muestra un $p=0.0001$. Se observó diferencias estadísticamente significativas entre Lima-Placebo vs Puno-Maca roja ($p=0.014$), Lima-Placebo vs Puno-Maca negra ($p=0.004$), Lima-Maca roja vs Puno-Maca negra ($p=0.006$), Lima-Maca negra vs Puno-Maca roja ($p=0.015$) y Lima-Maca negra vs Puno-Maca negra ($p=0.005$).

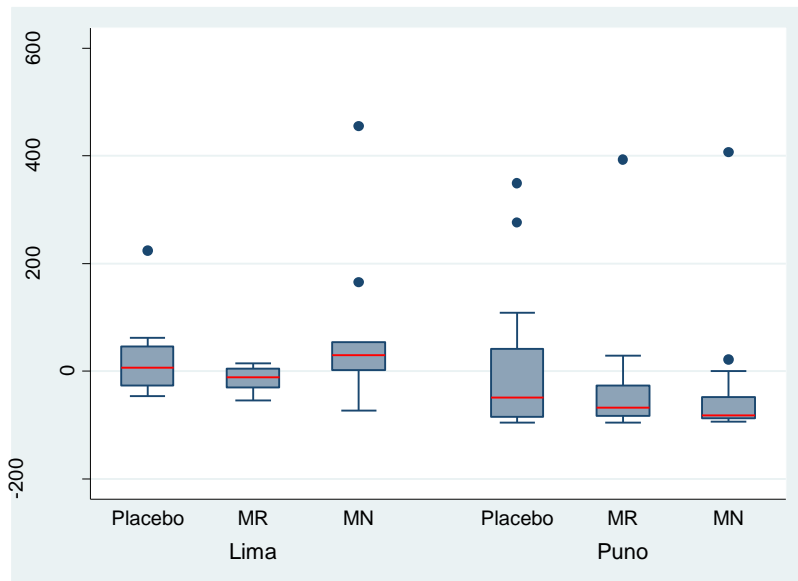


Gráfico 5. Porcentaje de cambio del metabolito prolilglicina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

Valilleucina

La comparación general muestra un $p=0.006$. Se observó diferencias estadísticamente significativas entre Lima-Maca negra vs Puno-Maca roja ($p=0.035$) y Lima-Maca negra vs Puno-Maca negra ($p=0.016$).

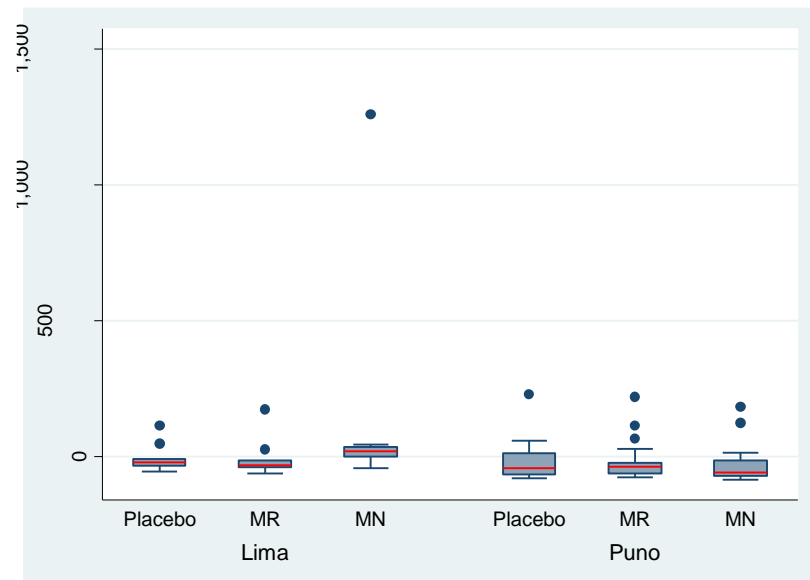


Gráfico 6. Porcentaje de cambio del metabolito valilleucina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

5.6 Resumen de la metabolómica basal y en la respuesta al consumo de maca.

En la **Tabla 17** se presenta el resumen del número de metabolitos que presentan diferencias significativas ($P < 0.05$) en el basal y al tratamiento con placebo, maca roja y maca negra en las ciudades de Lima y Puno. las dos ciudades y por trat, sexo y edad para cada ciudad ($P < 0.05$).

Tabla 17. Resumen estadístico en la metabolómica basal (T0) y respuesta al tratamiento (T3) en Lima y Puno.

Metabolitos	Lima/Puno	Lima Placebo T3/T0	Lima MR T3/T0	Lima MN T3/T0	Puno Placebo T3/T0	Puno MR T3/T0	Puno MN T3/T0
Número de metabolitos con $p < 0.05$	25	8	13	9	20	23	25
Niveles más altos ↑ o más bajos ↓	3↑ / 22↓	0↑ / 8↓	0↑ / 13↓	0↑ / 9↓	0↑ / 20↓	0↑ / 23↓	0↑ / 25↓

5.7 Análisis de regresión lineal múltiple.

En la **Tabla 18** se muestra el resultado del análisis multivariado. El único metabolito que mostró asociación con el tratamiento de maca (roja) fue N-acetilcarnosina. El nivel de N-acetilcarnosina se modifica significativamente con el consumo de maca roja en un modelo corregido para edad, altura y género.

Tabla 18. Análisis de regresión multivariado del metabolito N-acetilcarnosina en la población general.

Variables	N-acetilcarnosina (R^2 ajustado = 0.559)				
	Coficiente	EE	P	IC 95%	
Tratamiento (placebo vs. maca roja)	0.170	0.051	0.001	0.070	0.270
Edad (años)	-0.006	0.002	0.002	-0.010	-0.002
Altura (no expuesto vs. expuesto)	0.152	0.054	0.006	0.045	0.260
Género (mujeres vs. hombres)	0.756	0.050	0.000	0.657	0.855
Constante	-0.138	0.140	0.326	-0.414	0.138

EE: error estándar; P: Valor de P; IC 95%: Intervalo de confianza al 95%.

Variable dependiente: N-acetilcarnosina.

6. DISCUSIÓN

El presente estudio busca responder la interrogante sobre los efectos del consumo de maca roja o negra por tres meses en los niveles de metabolitos en la vía de los péptidos en dos ciudades, una a nivel del mar y la otra en altura. Sin embargo, para poder comparar el efecto de la maca entre las dos ciudades, es imprescindible conocer primero las diferencias en los metabolitos peptídicos en estas dos poblaciones en su estado basal.

De los 34 metabolitos en estudio sólo se pudieron realizar los análisis estadísticos en 32 metabolitos, puesto que dos metabolitos sólo fueron detectados en menos del 10% de las muestras. Los 32 metabolitos restantes pertenecen a 5 sub-vías peptídicas. Existen diferencias en el estado basal entre los participantes de Lima y Puno en 25 metabolitos que pertenecen a 4 sub-vías peptídicas (Gamma-glutamil aminoácido, dipéptido, polipéptido y péptido de clivaje del fibrinógeno); sólo la sub-vía del dipéptido derivado fue similar entre los individuos de las dos ciudades.

En la sub-vía de la gamma-glutamil aminoácido (15 metabolitos), 9 metabolitos en Puno tenían un nivel elevado respecto a Lima, mientras que, en Lima sólo 2 metabolitos presentaban niveles más altos que en Puno. Se ha postulado que la finalidad de los metabolitos GGAA es el transporte e incorporación de aminoácidos al interior de la célula (111). Una de las principales enzimas participantes para formar metabolitos en esta vía es la GGT (168). Un estudio

observacional que incluyó 487 sujetos nativos de altura de la provincia de Junín, de edades entre 30 – 75 años de edad, mostraron niveles normales de la enzima GGT (≤ 51 UI/L) (169).

El precursor de los metabolitos gamma-glutamil aminoácido es el glutatión, el cual es un agente central en la defensa antioxidante celular. Se ha demostrado que la exposición crónica a la altura (residentes) conduce a un estado de estrés oxidativo (170). Como consecuencia, el glutatión plasmático total tuvo un nivel elevado en residentes de altura comparados con los del nivel del mar (1.29 ± 0.10 $\mu\text{mol/L}$ versus 1.55 ± 0.19 , $p < 0.0001$) (170). De este modo, aunque el nivel de la enzima GGT está dentro del valor normal en altura (169), podemos asociar una mayor concentración del sustrato glutatión con los niveles incrementados del producto como los metabolitos gamma-glutamil aminoácidos plasmáticos.

A los tres meses, entre 8-9 metabolitos en Lima y 14-15 metabolitos en Puno pertenecientes a la sub-vía de los GGAA disminuyeron sus niveles independientemente del grupo de tratamiento. Se ha observado que los niveles de la enzima GGT son similares entre sujetos nativos de altura consumidores o no de maca (27.5 UI/L, 14.1/75.9 vs 23.5 UI/L, 18.0/45.70; mediana y percentil 10 y 90). Un experimento realizado en caballos de carreras en Estambul (40 msnm) demostró que los niveles de GGT eran superiores cuando su alimentación convencional llevaba 75 g/día de extracto de maca por 45 días, en comparación a los otros dos grupos con una alimentación sin maca o con 50 g/día de extracto de maca ($p=0.01$);

sin embargo, los niveles de GGT en los tres grupos se encontraban dentro de los valores normales de referencia para estos animales (171).

Como se observa en los resultados respecto a la sub-vía peptídica de los GGAA, el consumo del extracto de maca roja o negra no cambia significativamente los niveles de estos metabolitos en comparación al placebo. Aunque, es importante mencionar que algunos de estos metabolitos, específicamente gamma-glutamilfenilalanina, gamma-glutamilglicina y gamma-glutamilhistidina fueron asociados inversamente con el cáncer de próstata (115, 119); el gamma-glutamilglutamato estaba incrementado en líneas de cáncer celular (172) y la gamma-glutamilvalina fue asociado negativamente con niveles del Log IL-6 en adultos mayores (149).

En la sub-vía de los dipéptidos se evaluaron 9 metabolitos. Entre los sujetos de Lima y Puno se observaron diferencias en el estado basal con niveles más altos en 7 metabolitos en Puno y sólo 1 metabolito en Lima. Después del tratamiento con maca en Lima, se observó diferencia significativa para el metabolito prolilglicina entre los deltas de placebo y maca roja (0.11 ± 0.15 vs -0.41 ± 0.15 ; $p=0.024$). Cuando se comparó el porcentaje de cambio entre ciudades después del tratamiento con maca negra, los niveles de leucilglicina, prolilglicina y valilleucina mostraron resultados opuestos, aumentaron en Lima y disminuyeron en Puno.

La mayoría de los dipéptidos son intermediarios de corta vida previa a una degradación en aminoácidos individuales. Por ejemplo, la prolilglicina es un

producto de degradación de algunas proteínas o péptidos, como el péptido elastina. La prolilglicina puede ser el mediador por el cual la elastina ha mostrado un efecto beneficioso en la estructura y función de vasos sanguíneos en ratas hipertensas (173). Con las conclusiones de este último estudio y lo encontrado en el presente trabajo, podemos hipotetizar que la maca negra puede ayudar a proteger la estructura de los vasos sanguíneos en la altura al reducir los niveles de prolilglicina. Por el contrario, en Lima los niveles de prolilglicina incrementaron con la maca negra. Por lo tanto, ante un evento de exposición aguda a la altura, estas personas podrían beneficiarse al proteger sus vasos sanguíneos a causa de la hipertensión inducida por la hipoxia hipobárica (174).

Seis metabolitos fueron analizados en la sub-vía de los polipéptidos. Se observaron 5 metabolitos con niveles elevados en sujetos de Puno en comparación a los de Lima (HWESASLLR, HWESAXX y XHWESASXXR, bradiquinina y des-arg(9)-bradiquinina). Los metabolitos de esta vía están involucrados con respuestas del sistema inmune y eventos inflamatorios.

Los metabolitos HWESASLLR, HWESAXX y XHWESASXXR están relacionados con fragmentos de la proteína C3 del complemento. El sistema del complemento cumple un rol importante en la integridad celular y homeostasis tisular. El precursor, proteína del complemento C3, presenta niveles más bajos en nativos de altura que en nativos de Lima (175). Similarmente, en otro estudio donde se evaluó el proteoma plasmático en nativos de altura se determinó que el complemento C3 era más bajo que en sujetos a nivel del mar, indicando el rol

adaptativo de esta proteína en los nativos de altura (176). Las coincidencias entre una baja concentración del precursor proteico (complemento C3) y niveles elevados de sus fragmentos peptídicos (HWESASLLR, HWESAXX y XHWESASXXR) en nativos de altura, sugiere que la adaptación a la hipoxia hipobárica se acompaña de proteasas plasmáticas que generan la escisión de péptidos específicos. El consumo de maca roja o negra no generó cambios en la concentración de estos metabolitos frente al placebo, ni en la comparación entre exposición o no a la altura.

La bradiquinina y des-arg(9)-bradiquinina, se encuentran en niveles elevados en los residentes de altura en comparación a los residentes de nivel del mar. Ambos polipéptidos reducen la resistencia vascular y actúan como agentes hipotensores. La bradiquinina es degradado a des-arg(9)-bradiquinina a través de la enzima ACE y la aminopeptidasa P (143, 144). Un estudio in vitro mostró que la maca tiene efecto reduciendo la actividad de ACE (177). A pesar de ello, no se observó un cambio significativo en los niveles de estos metabolitos tras el consumo de maca en el presente estudio. Estos resultados correlacionan con lo demostrado por el estudio de Gonzales-Arimborgo y colaboradores evaluando la presión sanguínea, donde el consumo de extracto de maca roja o negra por doce semanas en sujetos de altura o de nivel del mar no mostró cambios en la presión sanguínea sistólica o diastólica comparada al placebo (20).

En la sub-vía del péptido de clivaje de fibrinógeno el metabolito analizado es DSGEGDFXAEGGGVR. Este metabolito tiene como precursor al fibrinógeno, el cual es convertido a fibrina por acción de la enzima trombina y participa en el

proceso de la coagulación. Se ha observado que en Puno los niveles de DSGEGDFXAEGGGVR son significativamente más altos que en Lima (2.41 ± 0.64 vs 0.37 ± 0.09 , $P=0.0024$). Coincidentemente, su precursor, el fibrinógeno, se encuentra incrementado en la altura, ya sea por un periodo agudo de exposición (178), una estancia en meses (179, 180) o en residentes (181).

En el presente estudio, el consumo de extracto de maca no mostró diferencias significativas en los niveles de DSGEGDFXAEGGGVR en comparación al consumo del placebo. Sin embargo, los niveles de DSGEGDFXAEGGGVR en la altura disminuyeron significativamente tras el tratamiento con maca negra respecto a su basal. Este efecto puede deberse a las mayores concentraciones de polifenoles en la maca negra que en la maca roja (12); actuando indirectamente sobre las concentraciones plasmáticas del fibrinógeno, precursor de DSGEGDFXAEGGGVR. Un estudio demostró que el consumo de al menos un kiwi por semana se asoció con concentraciones plasmáticas más bajas de fibrinógeno, debido al alto contenido de polifenoles y vitaminas en el kiwi (182).

Un marcador inflamatorio, IL-6, está relacionado con niveles elevados de fibrinógeno (183) y su metabolito DSGEGDFXAEGGGVR (117) en adultos mayores. Similarmente, los niveles de IL-6 y fibrinógeno se encuentran elevados durante la exposición a la altura de modo agudo o crónico en humanos (88, 178-181, 184). El consumo de maca, por lo tanto, puede ser útil en adultos mayores y personas expuestas a la altura para contrarrestar el efecto inflamatorio que se presenta. En una encuesta relacionada con el estado de salud en una población de

altura en los Andes Centrales, se demostró que aquellos sujetos que reportaron ser consumidores de maca presentaron un mejor estado de salud y niveles más bajos de IL-6 comparado con aquellos sujetos que no consumen maca (88). Además, el mayor consumo de plantas crucíferas, familia a la que pertenece la maca, fue asociada con efectos antiinflamatorios al presentar menores niveles sistémicos de marcadores inflamatorios (185).

El metabolito N-acetilcarnosina perteneciente a la sub-vía del dipéptido derivado es la forma acetilada de carnosina (β -alanina y L-histidina). La carnosina es un antioxidante poderoso adquirido por la ingesta de carne. La enzima carnosinasa es responsable de su degradación a nivel plasmático (134), siendo indetectable luego de 5.5 horas después de la ingesta de carne (186). En cambio, la N-acetilcarnosina es resistente a la hidrólisis de la carnosinasa como se evidenció por sus concentraciones plasmáticas constantes antes y después de la ingesta de carne (134).

Los niveles de N-acetilcarnosina no mostraron diferencias significativa entre Lima y Puno antes o después del consumo de extracto de maca. Sin embargo, el análisis multivariado demuestra que este metabolito está directamente relacionado con el consumo de maca roja. Tres mecanismos hipotéticos pueden ser sugeridos para esta asociación, donde la maca roja: i) confiere mayor estabilidad a la molécula de la N-acetilcarnosina ante la degradación de la carnosinasa; ii) estimula una mayor conversión de carnosina a N-acetilcarnosina; iii) a través de los sulfurafanes, metabolitos de los isotiocianatos (35), promueve la síntesis de otros

antioxidantes que compiten con la carnosina, manteniendo sus niveles elevados en plasma (187).

Algunas limitaciones o debilidades pueden ser reconocidas para este estudio. Primero, la disparidad en el número de sujetos comparados entre las dos ciudades, dificultando también un análisis comparativo de género (mujeres vs varones). Debemos entender que la realización de ensayos metabolómicos es un procedimiento de alto costo y no todos los centros cuentan con esta tecnología. Segundo, la baja o tal vez nula, concentración plasmática de algunos metabolitos que no alcanzaron al límite de detección en los equipos, debiendo imputarse los datos con el valor mínimo detectado para el resto de sujetos. Tercero, la influencia de la dieta y la flora intestinal (importante en la actividad de la mirosinasa) que pueden modular el perfil metabolómico de los sujetos en estudio (188). Cuarto, no es posible controlar variables como el factor genético, la actividad física o ejercicio que pueden tener efecto sobre los niveles de los metabolitos.

La principal fortaleza del estudio es la novedad para estudiar los metabolitos peptídicos. Puesto que, los péptidos están implicados en procesos inflamatorios y oxidativos, similar a la condición que experimenta un individuo al vivir en altura. Por otro lado, el estudio tiene fortalezas de diseño. La correcta elección del análisis metabolómico realizado en plasma y no en suero. La degradación de péptidos en suero es más rápida que en plasma (189). Además, el uso de quelantes como EDTA en el tubo de colecta de sangre, ayuda a la inactivación de enzimas dependientes de calcio y metales (189, 190).

7. CONCLUSIONES

La población de altura (Puno, 3820 msnm) tiene niveles plasmáticos elevados de metabolitos en la vía de los péptidos en comparación a la población de nivel del mar (Lima, 150 msnm).

La respuesta de metabolitos peptídicos al consumo de maca roja o maca negra es mayor en la población de Puno que en Lima, reflejado en la disminución de sus concentraciones en un mayor número de metabolitos.

El bajo número de participantes en el estudio no permite inferir la respuesta metabolómica al consumo de maca respecto al género.

El tratamiento con maca negra a nivel del mar aumentó los niveles de los metabolitos leucilglicina, prolilglicina y valilleucina; mientras que en altura (Puno, 3820 msnm) estos metabolitos disminuyeron.

El consumo de maca roja se asoció directamente con los niveles plasmáticos de N-acetilcarnosina.

El consumo de maca contribuye con un efecto antioxidativo expresado en el cambio de las concentraciones de metabolitos peptídicos relacionados con estrés oxidativo.

8. RECOMENDACIONES

- Como algunos metabolitos no fueron detectados por su bajo o nula concentración en sangre, se recomienda un estudio metabolómico en muestras de orina.
- Las concentraciones elevadas de metabolitos pertenecientes a diferentes vías peptídicas sugieren que la altura ejerce cambios en el organismo por diversos mecanismos. Estos resultados abren puertas para realizar nuevas investigaciones que abarquen estas rutas peptídicas.
- Evaluar un perfil de disbiosis intestinal al inicio y final del tratamiento con maca para futuros ensayos clínicos en humanos. De esta manera, podemos asociar la incorporación de los nutrientes al organismo con el tipo de población bacteriana en la flora intestinal.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ekor M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Frontiers in pharmacology*. 2014;4:177.
2. WHO. The World Medicines Situation 2011, in *Traditional medicines: Global Situation, Issues and Challenges*. 3 ed. Geneva 2011. 1-14 p.
3. Cobo B. *History of the new world: Biblioteca de autores españoles*; 1956. 430 p.
4. Tello J, Hermann M, Calderón A. La maca (*Lepidium meyenii* Walp.) cultivo alimenticio potencial para las zonas altoandinas. *Bol Lima*. 1992;14:59-66.
5. Gonzales GF, Miranda S, Nieto J, Fernandez G, Yucra S, Rubio J, et al. Red maca (*Lepidium meyenii*) reduced prostate size in rats. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*. 2005;3:5.
6. Gonzales GF, Nieto J, Rubio J, Gasco M. Effect of Black maca (*Lepidium meyenii*) on one spermatogenic cycle in rats. *Andrologia*. 2006;38(5):166-72.
7. Zheng BL, He K, Kim CH, Rogers L, Shao Y, Huang ZY, et al. Effect of a lipidic extract from *lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats. *Urology*. 2000;55(4):598-602.
8. Inoue N, Farfan C, Gonzales GF. Effect of butanolic fraction of yellow and black maca (*Lepidium meyenii*) on the sperm count of adult mice. *Andrologia*. 2016;48(8):915-21.
9. Gonzales GF, Gonzales-Castaneda C, Gasco M. A mixture of extracts from Peruvian plants (black maca and yacon) improves sperm count and reduced

- glycemia in mice with streptozotocin-induced diabetes. *Toxicology mechanisms and methods*. 2013;23(7):509-18.
10. Rubio J, Yucra S, Gasco M, Gonzales GF. Dose-response effect of black maca (*Lepidium meyenii*) in mice with memory impairment induced by ethanol. *Toxicology mechanisms and methods*. 2011;21(8):628-34.
 11. Rubio J, Dang H, Gong M, Liu X, Chen SL, Gonzales GF. Aqueous and hydroalcoholic extracts of Black Maca (*Lepidium meyenii*) improve scopolamine-induced memory impairment in mice. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. 2007;45(10):1882-90.
 12. Zevallos-Concha A, Nunez D, Gasco M, Vasquez C, Quispe M, Gonzales GF. Effect of gamma irradiation on phenol content, antioxidant activity and biological activity of black maca and red maca extracts (*Lepidium meyenii* walp). *Toxicology mechanisms and methods*. 2016;26(1):67-73.
 13. 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*. 2012;44 Suppl 1:362-9.
 14. Gonzales C, Cardenas-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.
 15. Leiva-Revilla J, Guerra-Castanon F, Olcese-Mori P, Lozada I, Rubio J, Gonzales C, et al. [Effect of red maca (*Lepidium meyenii*) on INF-gamma levels in ovariectomized rats]. *Revista peruana de medicina experimental y*

- salud publica. 2014;31(4):683-8. Efecto de la maca roja (*Lepidium meyenii*) sobre los niveles de IFN-gamma en ratas ovariectomizadas.
16. Lee MS, Shin BC, Yang EJ, Lim HJ, Ernst E. Maca (*Lepidium meyenii*) for treatment of menopausal symptoms: A systematic review. *Maturitas*. 2011;70(3):227-33.
 17. Lee MS, Lee HW, You S, Ha KT. The use of maca (*Lepidium meyenii*) to improve semen quality: A systematic review. *Maturitas*. 2016;92:64-9.
 18. Shin BC, Lee MS, Yang EJ, Lim HS, Ernst E. Maca (*L. meyenii*) for improving sexual function: a systematic review. *BMC complementary and alternative medicine*. 2010;10:44.
 19. Gonzales G. Maca: Del alimento perdido de los Incas al milagro de los Andes: Estudio de seguridad alimentaria y nutricional. *Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas*. 2010;17(1):16-36.
 20. Gonzales-Arimborgo C, Yupanqui I, Montero E, Alarcon-Yaquetto DE, Zevallos-Concha A, Caballero L, et al. Acceptability, Safety, and Efficacy of Oral Administration of Extracts of Black or Red Maca (*Lepidium meyenii*) in Adult Human Subjects: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2016;9(3).
 21. Kumar A, Mosa KA, Ji L, Kage U, Dhokane D, Karre S, et al. Metabolomics assisted biotechnological interventions for developing plant-based functional foods and nutraceuticals. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2017:0.

22. Zhang J, Tian Y, Yan L, Zhang G, Wang X, Zeng Y, et al. Genome of Plant Maca (*Lepidium meyenii*) Illuminates Genomic Basis for High-Altitude Adaptation in the Central Andes. *Molecular plant*. 2016;9(7):1066-77.
23. Van de Peer Y, Mizrahi E, Marchal K. The evolutionary significance of polyploidy. *Nature reviews Genetics*. 2017.
24. Yeh S, Moffatt BA, Griffith M, Xiong F, Yang DS, Wiseman SB, et al. Chitinase genes responsive to cold encode antifreeze proteins in winter cereals. *Plant physiology*. 2000;124(3):1251-64.
25. Doherty CJ, Van Buskirk HA, Myers SJ, Thomashow MF. Roles for Arabidopsis CAMTA transcription factors in cold-regulated gene expression and freezing tolerance. *The Plant cell*. 2009;21(3):972-84.
26. Dini A, Migliuolo G, Ratrelli L, Saturnino P, Schettino O. Chemical composition of *Lepidium meyeri*. *Food Chem*. 1994;49:347-9.
27. Yllescas M. Estudio Químico y Físicoquímico de 3 ecotipos de *Lepidium meyenii* de Carhuamayo. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1994.
28. Gonzales GF, Villaorduna L, Gasco M, Rubio J, Gonzales C. [Maca (*Lepidium meyenii* Walp), a review of its biological properties]. *Revista peruana de medicina experimental y salud publica*. 2014;31(1):100-10. Maca (*Lepidium meyenii* Walp), una revisión sobre sus propiedades biológicas.
29. Clement C, Diaz Grados DA, Avula B, Khan IA, Mayer AC, Ponce Aguirre DD, et al. Influence of colour type and previous cultivation on secondary metabolites in hypocotyls and leaves of maca (*Lepidium meyenii* Walpers). *Journal of the science of food and agriculture*. 2010;90(5):861-9.

30. Meissner HO, Mscisz A, Mrozikiewicz M, Baraniak M, Mielcarek S, Kedzia B, et al. Peruvian Maca (*Lepidium peruvianum*): (I) Phytochemical and Genetic Differences in Three Maca Phenotypes. *International journal of biomedical science : IJBS*. 2015;11(3):131-45.
31. Zhao J, Avula B, Chan M, Clement C, Kreuzer M, Khan IA. Metabolomic differentiation of maca (*Lepidium meyenii*) accessions cultivated under different conditions using NMR and chemometric analysis. *Planta medica*. 2012;78(1):90-101.
32. Valentova K, Ulrichova J. *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii* - prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*. 2003;147(2):119-30.
33. Chen L, Li J, Fan L. The Nutritional Composition of Maca in Hypocotyls (*Lepidium meyenii* Walp.) Cultivated in Different Regions of China. *Journal of Food Quality*. 2017;En prensa.
34. Zhang J, Wang HM, Zhao YL, Zuo ZT, Wang YZ, Jin H. Comparison of Mineral Element Content in a Functional Food Maca (*Lepidium meyenii* Walp.) from Asia and South America. *Journal of analytical methods in chemistry*. 2015;2015:530541.
35. Valerio LG, Jr., Gonzales GF. Toxicological aspects of the South American herbs cat's claw (*Uncaria tomentosa*) and Maca (*Lepidium meyenii*) : a critical synopsis. *Toxicological reviews*. 2005;24(1):11-35.
36. Valentova K, Stejskal D, Bartek J, Dvorackova S, Kren V, Ulrichova J, et al. Maca (*Lepidium meyenii*) and yacon (*Smallanthus sonchifolius*) in

- combination with silymarin as food supplements: in vivo safety assessment. Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association. 2008;46(3):1006-13.
37. Fahey JW, Zalcmann AT, Talalay P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. Phytochemistry. 2001;56(1):5-51.
 38. Barba FJ, Nikmaram N, Roohinejad S, Khelfa A, Zhu Z, Koubaa M. Bioavailability of Glucosinolates and Their Breakdown Products: Impact of Processing. Frontiers in nutrition. 2016;3:24.
 39. Jhons T. The anu and the maca. J Ethnobiol. 1981;1:208-12.
 40. Piacente S, Carbone V, Plaza A, Zampelli A, Pizza C. Investigation of the tuber constituents of maca (*Lepidium meyenii* Walp.). Journal of agricultural and food chemistry. 2002;50(20):5621-5.
 41. Dini I, Tenore G, Dini A. Glucosinolates from maca (*Lepidium meyenii*). Biochem Syst Ecol. 2002;30:1097-90.
 42. Esparza E, Hadzich A, Kofer W, Mithofer A, Cosio EG. Bioactive maca (*Lepidium meyenii*) alkamides are a result of traditional Andean postharvest drying practices. Phytochemistry. 2015;116:138-48.
 43. Anubhuti S, Ashok S, Prashant Y, Dhiraj S. Isothiocyanates in Brassica: Potential Anti Cancer Agents. Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP. 2016;17(9):4507-10.
 44. Ganzera M, Zhao J, Muhammad I, Khan IA. Chemical profiling and standardization of *Lepidium meyenii* (Maca) by reversed phase high

- performance liquid chromatography. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. 2002;50(7):988-91.
45. Herraiz T, Galisteo J. Tetrahydro-beta-carboline alkaloids occur in fruits and fruit juices. Activity as antioxidants and radical scavengers. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2003;51(24):7156-61.
 46. Gonzales GF, Gonzales-Castaneda C. The Methyltetrahydro-{beta}-Carbolines in Maca (*Lepidium meyenii*). *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*. 2009;6(3):315-6.
 47. Cui B, Zheng BL, He K, Zheng QY. Imidazole alkaloids from *Lepidium meyenii*. *Journal of natural products*. 2003;66(8):1101-3.
 48. Gonzales GF, Ruiz A, Gonzales C, Villegas L, Cordova A. Effect of *Lepidium meyenii* (maca) roots on spermatogenesis of male rats. *Asian journal of andrology*. 2001;3(3):231-3.
 49. Gonzales GF, Rubio J, Chung A, Gasco M, Villegas L. Effect of alcoholic extract of *Lepidium meyenii* (Maca) on testicular function in male rats. *Asian journal of andrology*. 2003;5(4):349-52.
 50. Gonzales GF, Gasco M, Cordova A, Chung A, Rubio J, Villegas L. Effect of *Lepidium meyenii* (Maca) on spermatogenesis in male rats acutely exposed to high altitude (4340 m). *The Journal of endocrinology*. 2004;180(1):87-95.
 51. 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. *Journal of ethnopharmacology*. 2006;103(3):448-54.

52. Rubio J, Riqueros MI, Gasco M, Yucra S, Miranda S, Gonzales GF. *Lepidium meyenii* (Maca) reversed the lead acetate induced -- damage on reproductive function in male rats. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. 2006;44(7):1114-22.
53. Bustos-Obregon E, Yucra S, Gonzales GF. *Lepidium meyenii* (Maca) reduces spermatogenic damage induced by a single dose of malathion in mice. *Asian journal of andrology*. 2005;7(1):71-6.
54. Valenzuela-Estrada M, Parra R, Velasco-Martín J, Núñez H, Regadera J, Bustos-Obregón E. Efecto de la maca peruana (*Lepidium meyenii*) y de la melatonina sobre el desarrollo testicular del ratón expuesto a hipoxia hipobárica continua. *Int J Morphol*. 2014;32(1):70-8.
55. Portella-Ruiz J, Gonzales GF. Fragmentación del ADN espermático: origen, evaluación y repercusión en la fertilidad masculina. *Ginecol Obstet Mex*. 2016;84(7):455-61.
56. Clement C, Kneubuhler J, Urwyler A, Witschi U, Kreuzer M. Effect of maca supplementation on bovine sperm quantity and quality followed over two spermatogenic cycles. *Theriogenology*. 2010;74(2):173-83.
57. Valdivia Cuya M, Yarasca De La Vega K, Levano Sanchez G, Vasquez Cavero J, Temoche Garcia H, Torres Torres L, et al. Effect of *Lepidium meyenii* (maca) on testicular function of mice with chemically and physically induced subfertility. *Andrologia*. 2016;48(8):927-34.

58. Cicero AF, Bandieri E, Arletti R. *Lepidium meyenii* Walp. improves sexual behaviour in male rats independently from its action on spontaneous locomotor activity. *Journal of ethnopharmacology*. 2001;75(2-3):225-9.
59. Cicero AF, Piacente S, Plaza A, Sala E, Arletti R, Pizza C. Hexanic Maca extract improves rat sexual performance more effectively than methanolic and chloroformic Maca extracts. *Andrologia*. 2002;34(3):177-9.
60. Lentz A, Gravitt K, Carson CC, Marson L. Acute and chronic dosing of *Lepidium meyenii* (Maca) on male rat sexual behavior. *The journal of sexual medicine*. 2007;4(2):332-9; discussion 9-40.
61. Oshima M, Gu Y, Tsukada S. Effects of *Lepidium meyenii* Walp and *Jatropha macrantha* on blood levels of estradiol-17 beta, progesterone, testosterone and the rate of embryo implantation in mice. *The Journal of veterinary medical science*. 2003;65(10):1145-6.
62. Meissner HO, Mrozikiewicz P, Bobkiewicz-Kozłowska T, Mscisz A, Kedzia B, Lowicka A, et al. Hormone-Balancing Effect of Pre-Gelatinized Organic Maca (*Lepidium peruvianum* Chacon): (I) Biochemical and Pharmacodynamic Study on Maca using Clinical Laboratory Model on Ovariectomized Rats. *International journal of biomedical science : IJBS*. 2006;2(3):260-72.
63. Chung F, Rubio J, Gonzales C, Gasco M, Gonzales GF. Dose-response effects of *Lepidium meyenii* (Maca) aqueous extract on testicular function and weight of different organs in adult rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2005;98(1-2):143-7.

64. Gasco M, Villegas L, Yucra S, Rubio J, Gonzales GF. Dose-response effect of Red Maca (*Lepidium meyenii*) on benign prostatic hyperplasia induced by testosterone enanthate. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2007;14(7-8):460-4.
65. Gasco M, Yucra S, Rubio J, Gonzales GF. *Lepidium meyenii* (Maca) Varieties Did Not Alter Female Reproductive Parameters in Adult Intact Rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*. 2008;5(1).
66. Zorrilla D. Evaluación de efecto protector de *Lepidium meyenii* (MACA) sobre el daño producido por acetato de plomo en embrión de ratón. [Tesis para optar el título de Licenciado en Biología]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2009.
67. Ruiz-Luna AC, Salazar S, Aspajo NJ, Rubio J, Gasco M, Gonzales GF. *Lepidium meyenii* (Maca) increases litter size in normal adult female mice. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*. 2005;3:16.
68. Berry SJ, Coffey DS, Walsh PC, Ewing LL. The development of human benign prostatic hyperplasia with age. *The Journal of urology*. 1984;132(3):474-9.
69. Alibasic E, Ramic E, Batic Mujanovic O, Avdibasic E, Husic D, Alic A. Assessment of osteoporosis in family medicine obtained by ultrasound densitometry. *Acta informatica medica : AIM : journal of the Society for Medical Informatics of Bosnia & Herzegovina : casopis Drustva za medicinsku informatiku BiH*. 2013;21(4):274-6.

70. Zhang Y, Yu L, Ao M, Jin W. Effect of ethanol extract of *Lepidium meyenii* Walp. on osteoporosis in ovariectomized rat. *Journal of ethnopharmacology*. 2006;105(1-2):274-9.
71. C. G. Efecto del tratamiento combinado de Maca Roja (*Lepidium meyenii*) con moduladores de los receptores de estrógenos (SERMs) sobre la estructura ósea y la histomorfometría del epitelio uterino y mamario en ratas ovariectomizadas [Tesis doctoral]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2013.
72. Yi F, Tan XL, Yan X, Liu HB. In silico profiling for secondary metabolites from *Lepidium meyenii* (maca) by the pharmacophore and ligand-shape-based joint approach. *Chinese medicine*. 2016;11:42.
73. Rubio J, Caldas M, Davila S, Gasco M, Gonzales GF. Effect of three different cultivars of *Lepidium meyenii* (Maca) on learning and depression in ovariectomized mice. *BMC complementary and alternative medicine*. 2006;6:23.
74. Ai Z, Cheng AF, Yu YT, Yu LJ, Jin W. Antidepressant-like behavioral, anatomical, and biochemical effects of petroleum ether extract from maca (*Lepidium meyenii*) in mice exposed to chronic unpredictable mild stress. *Journal of medicinal food*. 2014;17(5):535-42.
75. Bajo R, Pusil S, Lopez ME, Canuet L, Pereda E, Osipova D, et al. Scopolamine effects on functional brain connectivity: a pharmacological model of Alzheimer's disease. *Scientific reports*. 2015;5:9748.
76. Rubio J, Qiong W, Liu X, Jiang Z, Dang H, Chen SL, et al. Aqueous Extract of Black Maca (*Lepidium meyenii*) on Memory Impairment Induced by

- Ovariectomy in Mice. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM. 2011;2011:253958.
77. Guo SS, Gao XF, Gu YR, Wan ZX, Lu AM, Qin ZH, et al. Preservation of Cognitive Function by *Lepidium meyenii* (Maca) Is Associated with Improvement of Mitochondrial Activity and Upregulation of Autophagy-Related Proteins in Middle-Aged Mouse Cortex. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM. 2016;2016:4394261.
78. Wu H, Kelley CJ, Pino-Figueroa A, Vu HD, Maher TJ. Macamides and their synthetic analogs: evaluation of in vitro FAAH inhibition. Bioorganic & medicinal chemistry. 2013;21(17):5188-97.
79. Hajdu Z, Nicolussi S, Rau M, Lorantfy L, Forgo P, Hohmann J, et al. Identification of endocannabinoid system-modulating N-alkylamides from *Heliopsis helianthoides* var. *scabra* and *Lepidium meyenii*. Journal of natural products. 2014;77(7):1663-9.
80. Panlilio LV, Justinova Z, Goldberg SR. Inhibition of FAAH and activation of PPAR: new approaches to the treatment of cognitive dysfunction and drug addiction. Pharmacology & therapeutics. 2013;138(1):84-102.
81. Suárez S, Oré R, Arnao I, Rojas L, Trabucco J. Extracto acuoso de *Lepidium meyenii* Walp (maca) y su papel como adaptógeno, en un modelo animal de resistencia física. An Fac med. 2009;70(3):181-5.
82. Yang Q, Jin W, Lv X, Dai P, Ao Y, Wu M, et al. Effects of macamides on endurance capacity and anti-fatigue property in prolonged swimming mice. Pharmaceutical biology. 2016;54(5):827-34.

83. Tang W, Jin L, Xie L, Huang J, Wang N, Chu B, et al. Structural Characterization and Antifatigue Effect In Vivo of Maca (*Lepidium meyenii* Walp) Polysaccharide. *Journal of food science*. 2017;82(3):757-64.
84. Li J, Sun Q, Meng Q, Wang L, Xiong W, Zhang L. Anti-fatigue activity of polysaccharide fractions from *Lepidium meyenii* Walp. (maca). *International journal of biological macromolecules*. 2017;95:1305-11.
85. Vecera R, Orolin J, Skottova N, Kazdova L, Oliyarnik O, Ulrichova J, et al. The influence of maca (*Lepidium meyenii*) on antioxidant status, lipid and glucose metabolism in rat. *Plant Foods Hum Nutr*. 2007;62(2):59-63.
86. Rodrigo M, Valdivieso R, Suárez S, Oriondo R, Oré R. Disminucion del daño oxidativo y efecto hipoglicemiante de la maca (*Lepidium meyenii* Walp) en ratas con diabetes inducida por streptozotocina. *An Fac med*. 2011;72(1):7-11.
87. Gonzales GF, Cordova A, Gonzales C, Chung A, Vega K, Villena A. *Lepidium meyenii* (Maca) improved semen parameters in adult men. *Asian journal of andrology*. 2001;3(4):301-3.
88. Gonzales GF, Gasco M, Lozada-Requena I. Role of maca (*Lepidium meyenii*) consumption on serum interleukin-6 levels and health status in populations living in the Peruvian Central Andes over 4000 m of altitude. *Plant Foods Hum Nutr*. 2013;68(4):347-51.
89. Benites Goni HE, Cok Garcia J, Bussalleu Caverro A, Bustamente Robles KY, Zegarra Chang A, Bravo E, et al. [Assesing the effect of *Lepidium meyenii* "Maca" on the gastric mucosa in patients with functional dyspepsia]. *Revista de gastroenterologia del Peru : organo oficial de la Sociedad de*

- Gastroenterologia del Peru. 2014;34(1):39-43. Evaluacion del efecto de la *Lepidium meyenii* "Maca" en la mucosa gastrica en pacientes con dispepsia funcional.
90. Valentova K, Buckiova D, Kren V, Peknicova J, Ulrichova J, Simanek V. The in vitro biological activity of *Lepidium meyenii* extracts. *Cell biology and toxicology*. 2006;22(2):91-9.
 91. Diaz P, Cardenas H, Orihuela PA. Red Maca (*Lepidium meyenii*) did not affect cell viability despite increased androgen receptor and prostate-specific antigen gene expression in the human prostate cancer cell line LNCaP. *Andrologia*. 2016;48(8):922-6.
 92. Cavalli-Sforza LL. The Human Genome Diversity Project: past, present and future. *Nature reviews Genetics*. 2005;6(4):333-40.
 93. Yan SK, Liu RH, Jin HZ, Liu XR, Ye J, Shan L, et al. "Omics" in pharmaceutical research: overview, applications, challenges, and future perspectives. *Chinese journal of natural medicines*. 2015;13(1):3-21.
 94. Oliver SG, Winson MK, Kell DB, Baganz F. Systematic functional analysis of the yeast genome. *Trends in biotechnology*. 1998;16(9):373-8.
 95. Fiehn O. Combining genomics, metabolome analysis, and biochemical modelling to understand metabolic networks. *Comparative and functional genomics*. 2001;2(3):155-68.
 96. Tugizimana F, Piater L, Dubery I. Plant metabolomics: A new frontier in phytochemical analysis. *S Afr J Sci*. 2013;109(5/6).

97. Nicholson JK, Holmes E, Kinross JM, Darzi AW, Takats Z, Lindon JC. Metabolic phenotyping in clinical and surgical environments. *Nature*. 2012;491(7424):384-92.
98. Hayton S, Maker GL, Mullaney I, Trengove RD. Experimental design and reporting standards for metabolomics studies of mammalian cell lines. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2017.
99. Bictash M, Ebbels TM, Chan Q, Loo RL, Yap IK, Brown IJ, et al. Opening up the "Black Box": metabolic phenotyping and metabolome-wide association studies in epidemiology. *Journal of clinical epidemiology*. 2010;63(9):970-9.
100. Sugimoto M, Wong DT, Hirayama A, Soga T, Tomita M. Capillary electrophoresis mass spectrometry-based saliva metabolomics identified oral, breast and pancreatic cancer-specific profiles. *Metabolomics : Official journal of the Metabolomic Society*. 2010;6(1):78-95.
101. Viant MR, Rosenblum ES, Tierdema RS. NMR-based metabolomics: a powerful approach for characterizing the effects of environmental stressors on organism health. *Environmental science & technology*. 2003;37(21):4982-9.
102. Dona AC, Jimenez B, Schafer H, Humpfer E, Spraul M, Lewis MR, et al. Precision high-throughput proton NMR spectroscopy of human urine, serum, and plasma for large-scale metabolic phenotyping. *Analytical chemistry*. 2014;86(19):9887-94.

103. Murray K, Boyd² R, Eberlin M, Langley J, Li L, Naito Y. Definitions of terms relating to mass spectrometry (IUPAC Recommendations 2013). *Pure Appl Chem.* 2013;85(7):1515-609.
104. Wishart DS, Tzur D, Knox C, Eisner R, Guo AC, Young N, et al. HMDB: the Human Metabolome Database. *Nucleic acids research.* 2007;35(Database issue):D521-6.
105. Wishart DS, Jewison T, Guo AC, Wilson M, Knox C, Liu Y, et al. HMDB 3.0--The Human Metabolome Database in 2013. *Nucleic acids research.* 2013;41(Database issue):D801-7.
106. The Human Metabolome Database. HMDB. Alberta2017 [25/06/17]; Available from: <http://www.hmdb.ca/>.
107. Doshi R, Day PJ. Metabolomics of serum peptides. *Protein and peptide letters.* 2009;16(5):460-6.
108. Bridges RJ, Meister A. gamma-Glutamyl amino acids. Transport and conversion to 5-oxoproline in the kidney. *The Journal of biological chemistry.* 1985;260(12):7304-8.
109. Liu Y, Hyde AS, Simpson MA, Barycki JJ. Emerging regulatory paradigms in glutathione metabolism. *Advances in cancer research.* 2014;122:69-101.
110. Emdin M, Pompella A, Paolicchi A. Gamma-glutamyltransferase, atherosclerosis, and cardiovascular disease: triggering oxidative stress within the plaque. *Circulation.* 2005;112(14):2078-80.
111. Meister A, Tate SS. Glutathione and related gamma-glutamyl compounds: biosynthesis and utilization. *Annual review of biochemistry.* 1976;45:559-604.

112. Board PG, Moore KA, Smith JE. Purification and properties of gamma-glutamylcyclotransferase from human erythrocytes. *The Biochemical journal*. 1978;173(2):427-31.
113. Derkach A, Sampson J, Joseph J, Playdon MC, Stolzenberg-Solomon RZ. Effects of dietary sodium on metabolites: the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH)-Sodium Feeding Study. *The American journal of clinical nutrition*. 2017;106(4):1131-41.
114. Semba RD, Trehan I, Li X, Salem N, Jr., Moaddel R, Ordiz MI, et al. Low serum omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids and other metabolites are associated with poor linear growth in young children from rural Malawi. *The American journal of clinical nutrition*. 2017;106(6):1490-9.
115. Mondul AM, Moore SC, Weinstein SJ, Karoly ED, Sampson JN, Albanes D. Metabolomic analysis of prostate cancer risk in a prospective cohort: The alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention (ATBC) study. *International journal of cancer*. 2015;137(9):2124-32.
116. Bhargava P, Fitzgerald KC, Calabresi PA, Mowry EM. Metabolic alterations in multiple sclerosis and the impact of vitamin D supplementation. *JCI insight*. 2017;2(19).
117. Lustgarten MS, Fielding RA. Metabolites Associated With Circulating Interleukin-6 in Older Adults. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2016.
118. Koch M, Freitag-Wolf S, Schlesinger S, Borggrefe J, Hov JR, Jensen MK, et al. Serum metabolomic profiling highlights pathways associated with liver fat

- content in a general population sample. *European journal of clinical nutrition*. 2017;71(8):995-1001.
119. Huang J, Mondul AM, Weinstein SJ, Koutros S, Derkach A, Karoly E, et al. Serum metabolomic profiling of prostate cancer risk in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. *British journal of cancer*. 2016;115(9):1087-95.
120. Butte NF, Liu Y, Zakeri IF, Mohny RP, Mehta N, Voruganti VS, et al. Global metabolomic profiling targeting childhood obesity in the Hispanic population. *The American journal of clinical nutrition*. 2015;102(2):256-67.
121. Weiner J, 3rd, Parida SK, Maertzdorf J, Black GF, Repsilber D, Telaar A, et al. Biomarkers of inflammation, immunosuppression and stress with active disease are revealed by metabolomic profiling of tuberculosis patients. *PloS one*. 2012;7(7):e40221.
122. Fukui Y, Itoh K. A Plasma Metabolomic Investigation of Colorectal Cancer Patients by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *The Open Analytical Chemistry Journal*. 2010;4:1-9.
123. Pietzner M, Kaul A, Henning AK, Kastenmuller G, Artati A, Lerch MM, et al. Comprehensive metabolic profiling of chronic low-grade inflammation among generally healthy individuals. *BMC medicine*. 2017;15(1):210.
124. Fukushima T, Iizuka H, Yokota A, Suzuki T, Ohno C, Kono Y, et al. Quantitative analyses of schizophrenia-associated metabolites in serum: serum D-lactate levels are negatively correlated with gamma-glutamylcysteine in medicated schizophrenia patients. *PloS one*. 2014;9(7):e101652.

125. Boldyrev AA, Aldini G, Derave W. Physiology and pathophysiology of carnosine. *Physiological reviews*. 2013;93(4):1803-45.
126. Jakobsen LM, Yde CC, Van Hecke T, Jessen R, Young JF, De Smet S, et al. Impact of red meat consumption on the metabolome of rats. *Molecular nutrition & food research*. 2017;61(3).
127. Cheung W, Keski-Rahkonen P, Assi N, Ferrari P, Freisling H, Rinaldi S, et al. A metabolomic study of biomarkers of meat and fish intake. *The American journal of clinical nutrition*. 2017;105(3):600-8.
128. Everaert I, Mooyaart A, Baguet A, Zutinic A, Baelde H, Achten E, et al. Vegetarianism, female gender and increasing age, but not CNDP1 genotype, are associated with reduced muscle carnosine levels in humans. *Amino acids*. 2011;40(4):1221-9.
129. Prokopieva VD, Yarygina EG, Bokhan NA, Ivanova SA. Use of Carnosine for Oxidative Stress Reduction in Different Pathologies. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016;2016:2939087.
130. Letzien U, Oppermann H, Meixensberger J, Gaunitz F. The antineoplastic effect of carnosine is accompanied by induction of PDK4 and can be mimicked by L-histidine. *Amino acids*. 2014;46(4):1009-19.
131. Arner P, Henjes F, Schwenk JM, Darmanis S, Dahlman I, Iresjo BM, et al. Circulating carnosine dipeptidase 1 associates with weight loss and poor prognosis in gastrointestinal cancer. *PloS one*. 2015;10(4):e0123566.
132. Yang QJ, Zhao JR, Hao J, Li B, Huo Y, Han YL, et al. Serum and urine metabolomics study reveals a distinct diagnostic model for cancer cachexia. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*. 2018;9(1):71-85.

133. Dubois VD, Bastawrous A. N-acetylcarnosine (NAC) drops for age-related cataract. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2017;2:CD009493.
134. Yeum KJ, Orioli M, Regazzoni L, Carini M, Rasmussen H, Russell RM, et al. Profiling histidine dipeptides in plasma and urine after ingesting beef, chicken or chicken broth in humans. *Amino acids*. 2010;38(3):847-58.
135. Chaleckis R, Murakami I, Takada J, Kondoh H, Yanagida M. Individual variability in human blood metabolites identifies age-related differences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2016;113(16):4252-9.
136. Ming X, Stein TP, Barnes V, Rhodes N, Guo L. Metabolic perturbation in autism spectrum disorders: a metabolomics study. *Journal of proteome research*. 2012;11(12):5856-62.
137. Sekula P, Goek ON, Quaye L, Barrios C, Levey AS, Romisch-Margl W, et al. A Metabolome-Wide Association Study of Kidney Function and Disease in the General Population. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2016;27(4):1175-88.
138. Liang T, Wang N, Li W, Li A, Wang J, Cui J, et al. Identification of complement C3f-desArg and its derivative for acute leukemia diagnosis and minimal residual disease assessment. *Proteomics*. 2010;10(1):90-8.
139. An Y, Bekesova S, Edwards N, Goldman R. Peptides in low molecular weight fraction of serum associated with hepatocellular carcinoma. *Disease markers*. 2010;29(1):11-20.

140. Conraux L, Pech C, Guerraoui H, Loyaux D, Ferrara P, Guillemot JC, et al. Plasma peptide biomarker discovery for amyotrophic lateral sclerosis by MALDI-TOF mass spectrometry profiling. *PloS one*. 2013;8(11):e79733.
141. Xin YN, Geng N, Lin ZH, Cui YZ, Duan HP, Zhang M, et al. Serum complement C3f and fibrinopeptide A are potential novel diagnostic biomarkers for non-alcoholic fatty liver disease: a study in Qingdao Twins. *PloS one*. 2014;9(9):e108132.
142. Meng Q, Ge S, Yan W, Li R, Dou J, Wang H, et al. Screening for potential serum-based proteomic biomarkers for human type 2 diabetes mellitus using MALDI-TOF MS. *Proteomics Clinical applications*. 2017;11(3-4).
143. Marceau F, Gendreau M, Barabe J, St-Pierre S, Regoli D. The degradation of bradykinin (BK) and of des-Arg9-BK in plasma. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 1981;59(2):131-8.
144. Cyr M, Lepage Y, Blais C, Jr., Gervais N, Cugno M, Rouleau JL, et al. Bradykinin and des-Arg(9)-bradykinin metabolic pathways and kinetics of activation of human plasma. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2001;281(1):H275-83.
145. Leeb-Lundberg LM, Marceau F, Muller-Esterl W, Pettibone DJ, Zuraw BL. International union of pharmacology. XLV. Classification of the kinin receptor family: from molecular mechanisms to pathophysiological consequences. *Pharmacological reviews*. 2005;57(1):27-77.
146. Altmaier E, Fobo G, Heier M, Thorand B, Meisinger C, Romisch-Margl W, et al. Metabolomics approach reveals effects of antihypertensives and lipid-

- lowering drugs on the human metabolism. *European journal of epidemiology*. 2014;29(5):325-36.
147. Yu D, Moore SC, Matthews CE, Xiang YB, Zhang X, Gao YT, et al. Plasma metabolomic profiles in association with type 2 diabetes risk and prevalence in Chinese adults. *Metabolomics : Official journal of the Metabolomic Society*. 2016;12.
148. Fukui Y, Itoh K. A Plasma Metabolomic Investigation of Colorectal Cancer Patients by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Open Anal Chem J*. 2010;4:1-9.
149. Lustgarten MS, Fielding RA. Metabolites Associated With Circulating Interleukin-6 in Older Adults. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences*. 2017;72(9):1277-83.
150. Fitian AI, Nelson DR, Liu C, Xu Y, Ararat M, Cabrera R. Integrated metabolomic profiling of hepatocellular carcinoma in hepatitis C cirrhosis through GC/MS and UPLC/MS-MS. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2014;34(9):1428-44.
151. Ding YH, Guo JH, Hu QY, Jiang W, Wang KZ. Protein Biomarkers in Serum of Patients with Schizophrenia. *Cell biochemistry and biophysics*. 2015;72(3):799-805.
152. Cabana GS, Lewis CM, Jr., Tito RY, Covey RA, Caceres AM, Cruz AF, et al. Population genetic structure of traditional populations in the Peruvian Central Andes and implications for South American population history. *Human biology*. 2014;86(3):147-65.

153. Fehren-Schmitz L, Georges L. Ancient DNA reveals selection acting on genes associated with hypoxia response in pre-Columbian Peruvian Highlanders in the last 8500 years. *Scientific reports*. 2016;6:23485.
154. Little MA, Hanna JM. Cold responses of high altitude populations. *International journal of biometeorology*. 1977;21(2):123-34.
155. Peattie R. *Mountain Geography - A Critique And Field Study*: Read Books Limited; 2013.
156. Ambach W, Blumthaler M, Schöpf T. Increase of biologically effective ultraviolet radiation with altitude. *Journal of Wilderness Medicine*. 1993;4(2):189-97.
157. Blumthaler M, Ambach W, Rehwald W. Solar UV-A and UV-B radiation fluxes at two Alpine stations at different altitudes. *Theoretical and Applied Climatology*. 1992;46(1):39-44.
158. Rademaker K, Hodgins G, Moore K, Zarrillo S, Miller C, Bromley GR, et al. Paleoindian settlement of the high-altitude Peruvian Andes. *Science*. 2014;346(6208):466-9.
159. Gonzales GF. Peruvian contributions to the study on human reproduction at high altitude: from the chronicles of the Spanish conquest to the present. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2007;158(2-3):172-9.
160. Gonzales GF. [Impact of high altitude on pregnancy and newborn parameters]. *Revista peruana de medicina experimental y salud publica*. 2012;29(2):242-9. Impacto de la altura en el embarazo y en el producto de la gestacion.

161. Gonzales GF. [Hemoglobin and testosterone: importance on high altitude acclimatization and adaptation]. *Revista peruana de medicina experimental y salud publica*. 2011;28(1):92-100. Hemoglobina y testosterona: importancia en la aclimatacion y adaptacion a la altura.
162. INEI. Magnitud y Crecimiento Poblacional. Lima [cited 2017 07/07/2017]; Available from: <https://www.inei.gob.pe/estadisticas/indice-tematico/poblacion-y-vivienda/>.
163. Leon-Velarde F, Gamboa A, Chuquiza JA, Esteba WA, Rivera-Chira M, Monge CC. Hematological parameters in high altitude residents living at 4,355, 4,660, and 5,500 meters above sea level. *High altitude medicine & biology*. 2000;1(2):97-104.
164. Gonzales GF. Importancia de la Testosterona en la Adaptacion a la Altura. *Int J Med Surg Sci*. 2015;2(4):689-97.
165. Wu TY, Liu FY, Hu L, Wei CY, Wang ZG, Ouzhou L, et al. Hematological parameters in high altitude residents: Tibetan natives versus Han migrants. *Zhongguo ying yong sheng li xue za zhi = Zhongguo yingyong shenglixue zazhi = Chinese journal of applied physiology*. 2014;30(6):516-25.
166. Frisancho AR. Developmental functional adaptation to high altitude: review. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*. 2013;25(2):151-68.
167. Gonzales GF, Rubio J, Gasco M. Chronic mountain sickness score was related with health status score but not with hemoglobin levels at high altitudes. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2013;188(2):152-60.

168. Griffith OW, Bridges RJ, Meister A. Transport of gamma-glutamyl amino acids: role of glutathione and gamma-glutamyl transpeptidase. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1979;76(12):6319-22.
169. Gonzales GF, Tapia V. Increased levels of serum gamma-glutamyltransferase and uric acid on metabolic, hepatic and kidney parameters in subjects at high altitudes. Journal of basic and clinical physiology and pharmacology. 2015;26(1):81-7.
170. Jefferson JA, Simoni J, Escudero E, Hurtado ME, Swenson ER, Wesson DE, et al. Increased oxidative stress following acute and chronic high altitude exposure. High altitude medicine & biology. 2004;5(1):61-9.
171. Bilal T, Abas I, Korkmaz S, Ates A, Keser O, Kumas C. Effects of Maca (*Lepidium meyenii Walp*) powder on serum indices and metabolic responses in racehorses. The Journal of Animal & Plant Sciences. 2016;26(4):901-8.
172. Halama A, Guerrouahen BS, Pasquier J, Satheesh NJ, Suhre K, Rafii A. Nesting of colon and ovarian cancer cells in the endothelial niche is associated with alterations in glycan and lipid metabolism. Scientific reports. 2017;7:39999.
173. Takemori K, Yamamoto E, Ito H, Kometani T. Prophylactic effects of elastin peptide derived from the bulbus arteriosus of fish on vascular dysfunction in spontaneously hypertensive rats. Life sciences. 2015;120:48-53.
174. Hainsworth R, Drinkhill MJ. Cardiovascular adjustments for life at high altitude. Respiratory physiology & neurobiology. 2007;158(2-3):204-11.

175. Lopez LR, Cantella RA, Piscoya Z, Colichon AA, Delgado M, Recavarren S. Immunological survey in high altitude: effect on antibody production and the complement system. *Annali Sclavo; rivista di microbiologia e di immunologia*. 1975;17(6):769-85.
176. Ahmad Y, Sharma NK, Garg I, Ahmad MF, Sharma M, Bhargava K. An insight into the changes in human plasma proteome on adaptation to hypobaric hypoxia. *PloS one*. 2013;8(7):e67548.
177. Ranilla LG, Kwon YI, Apostolidis E, Shetty K. Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresource technology*. 2010;101(12):4676-89.
178. Imoberdorf R, Garlick PJ, McNurlan MA, Casella GA, Peheim E, Turgay M, et al. Enhanced synthesis of albumin and fibrinogen at high altitude. *J Appl Physiol* (1985). 2001;90(2):528-37.
179. Kotwal J, Apte CV, Kotwal A, Mukherjee B, Jayaram J. High altitude: a hypercoagulable state: results of a prospective cohort study. *Thrombosis research*. 2007;120(3):391-7.
180. Vij AG. Effect of prolonged stay at high altitude on platelet aggregation and fibrinogen levels. *Platelets*. 2009;20(6):421-7.
181. Wang Z, Liu H, Dou M, Du X, Hu J, Su N, et al. The quality changes in fresh frozen plasma of the blood donors at high altitude. *PloS one*. 2017;12(4):e0176390.

182. Recio-Rodriguez JI, Gomez-Marcos MA, Patino-Alonso MC, Puigdomenech E, Notario-Pacheco B, Mendizabal-Gallastegui N, et al. Effects of kiwi consumption on plasma lipids, fibrinogen and insulin resistance in the context of a normal diet. *Nutrition journal*. 2015;14:97.
183. Ferrucci L, Corsi A, Lauretani F, Bandinelli S, Bartali B, Taub DD, et al. The origins of age-related proinflammatory state. *Blood*. 2005;105(6):2294-9.
184. Hartmann G, Tschop M, Fischer R, Bidlingmaier C, Riepl R, Tschop K, et al. High altitude increases circulating interleukin-6, interleukin-1 receptor antagonist and C-reactive protein. *Cytokine*. 2000;12(3):246-52.
185. Jiang Y, Wu SH, Shu XO, Xiang YB, Ji BT, Milne GL, et al. Cruciferous vegetable intake is inversely correlated with circulating levels of proinflammatory markers in women. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 2014;114(5):700-8 e2.
186. Park YJ, Volpe SL, Decker EA. Quantitation of carnosine in humans plasma after dietary consumption of beef. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005;53(12):4736-9.
187. Liu H, Smith AJ, Lott MC, Bao Y, Bowater RP, Reddan JR, et al. Sulforaphane can protect lens cells against oxidative stress: implications for cataract prevention. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2013;54(8):5236-48.
188. Paul B, Barnes S, Demark-Wahnefried W, Morrow C, Salvador C, Skibola C, et al. Influences of diet and the gut microbiome on epigenetic modulation in cancer and other diseases. *Clinical epigenetics*. 2015;7:112.

189. Bottger R, Hoffmann R, Knappe D. Differential stability of therapeutic peptides with different proteolytic cleavage sites in blood, plasma and serum. *PloS one*. 2017;12(6):e0178943.
190. Ilies M, Iuga CA, Loghin F, Dhople VM, Thiele T, Volker U, et al. Impact of blood sample collection methods on blood protein profiling studies. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2017;471:128-34.

10. ANEXO I

Cuestionario de salud

Un cuestionario para evaluar la calidad de vida relacionada con la salud (CVRS) fue aplicado a cada uno de los participantes para la evaluación de su estado de salud. El cuestionario original ha sido reducido y validado para poblaciones de nivel del mar y altura.

Este cuestionario consta de 20 preguntas o ítems sobre salud (SF-20) e incluye 7 dominios: función física, rol físico, dolor corporal, salud general, vitalidad, rol emocional y salud mental. Todos los ítems tienen un puntaje en una escala de 0-100, siendo el puntaje más alto un indicativo de una mejor calidad de vida relacionada a la salud.

Código: _____

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFIA
CUESTIONARIO DE SALUD

Marque una sola respuesta:

1. En general usted diría que su salud es:
 - 1) Mala
 - 2) Regular
 - 3) Buena
 - 4) Excelente

2. ¿Hoy en día cómo diría que es su salud, comparada con la de hace un año?
 - 1) Peor, ahora que hace un año
 - 2) Igual que hace un año
 - 3) Mejor ahora que hace un año

ACTIVIDADES QUE USTED PODRÍA HACER EN UN DÍA NORMAL

3. Su salud actual ¿Le limita para hacer esfuerzos intensos, como correr, levantar objetos pesados, actividades agrícolas fuertes o participar en deportes agotadores? Nota: si responde la opción 3, debe pasar a la pregunta 8 marcando 3 en las preguntas 4, 8, 9 y 7.
 - 1) Me limita mucho ()
 - 2) Me limita un poco ()
 - 3) No me limita nada ()

4. Su salud actual. ¿Le limita para hacer esfuerzos moderados, como actividades agrícolas moderadas, mover una mesa, barrer la casa, o caminar más de una hora o un kilómetro o más?
 - 1) Me limita mucho ()
 - 2) Me limita un poco ()
 - 3) No me limita nada ()

5. Su salud actual. ¿Le limita para coger o llevar las bolsas de las compras del mercado o caminar 100 metros (una cuadra)?
 - 1) Me limita mucho ()
 - 2) Me limita un poco ()
 - 3) No me limita nada ()

6. Su salud actual. ¿Le limita para subir escaleras?
 - 1) Me limita mucho ()
 - 2) Me limita un poco ()
 - 3) No me limita nada ()

7. Su salud actual. ¿Le limita para agacharse, arrodillarse, bañarse o vestirse?
 - 1) Me limita mucho ()
 - 2) Me limita un poco ()
 - 3) No me limita nada ()

PROBLEMAS EN SU TRABAJO O EN SUS ACTIVIDADES COTIDIANAS

8. Durante las 4 últimas semanas:

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

- 1) Bastante
- 2) Regular
- 3) Poco
- 4) No

9. Durante las 4 últimas semanas:

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

- 1) Bastante
- 2) Regular
- 3) Poco
- 4) No

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

- 1) Bastante
- 2) Regular
- 3) Poco
- 4) No

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

- 4) No me ha dificultado nada ()
- 3) Me ha dificultado levemente ()
- 2) Me ha dificultado moderadamente ()
- 1) Me ha dificultado demasiado ()

LAS PREGUNTAS QUE SIGUEN SE REFIEREN A CÓMO SE HA SENTIDO Y CÓMO LE HAN IDO LAS COSAS DURANTE LAS 4 ÚLTIMAS SEMANAS. EN CADA PREGUNTA RESPONDA LO QUE SE PAREZCA MÁS A COMO SE HA SENTIDO USTED

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

18. Creo que me enfermo muy fácilmente

- 1) Totalmente de acuerdo ()
- 2) Moderadamente de acuerdo ()
- 3) Ni de acuerdo ni en desacuerdo ()
- 4) Totalmente en desacuerdo ()

19. Esta usted tan sano como cualquiera

- 1) Totalmente en desacuerdo ()
- 2) Ni de acuerdo ni en desacuerdo ()
- 3) Moderadamente de acuerdo ()
- 4) Totalmente de acuerdo ()

20. Creo que mi salud va a empeorar

- 1) Totalmente de acuerdo ()
- 2) Moderadamente de acuerdo ()
- 3) Ni de acuerdo ni en desacuerdo ()
- 4) Totalmente en desacuerdo ()

11. ANEXO II

Se muestran los gráficos por metabolito que no alcanzaron significancia estadística en la comparación entre grupos respecto al porcentaje de cambio de los niveles de metabolito en respuesta al tratamiento.

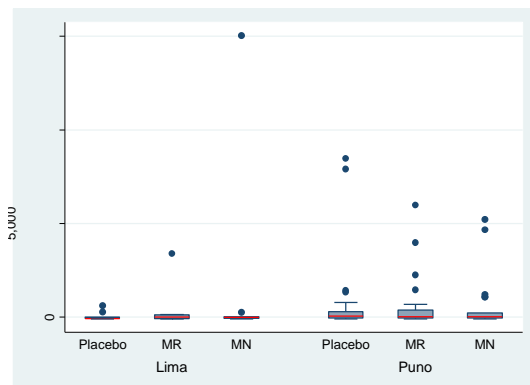


Gráfico 7. Porcentaje de cambio del metabolito bradiquinina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

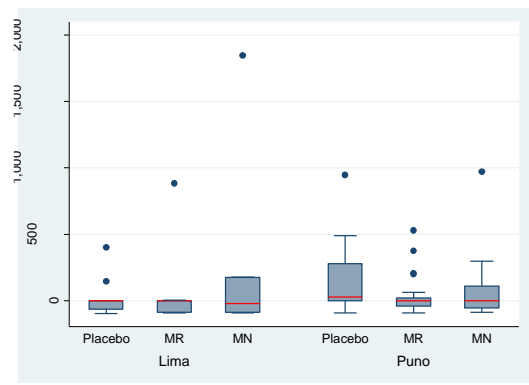


Gráfico 9. Porcentaje de cambio del metabolito hidroxipro(3)-bradiquinina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

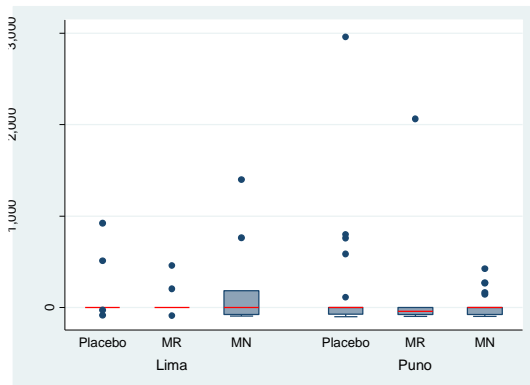


Gráfico 8. Porcentaje de cambio del metabolito des-arg(9)-bradiquinina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

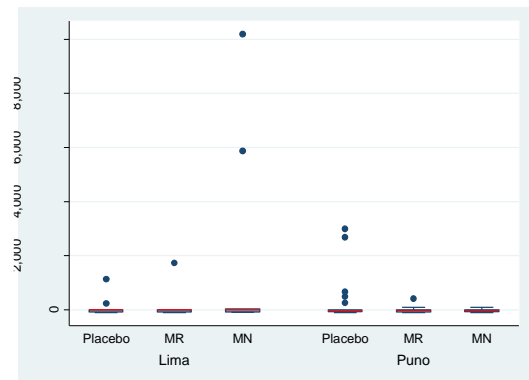


Gráfico 10. Porcentaje de cambio del metabolito DSGEGDFXAEGGGVR en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

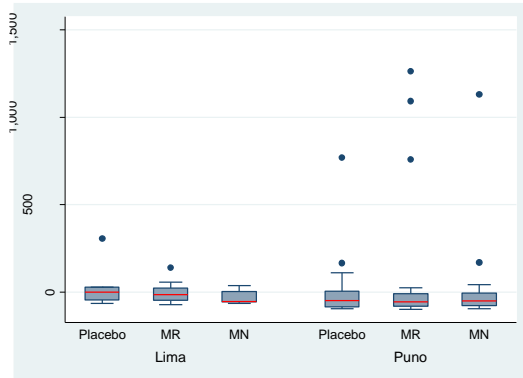


Gráfico 11. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamyl-2-aminobutyrate en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

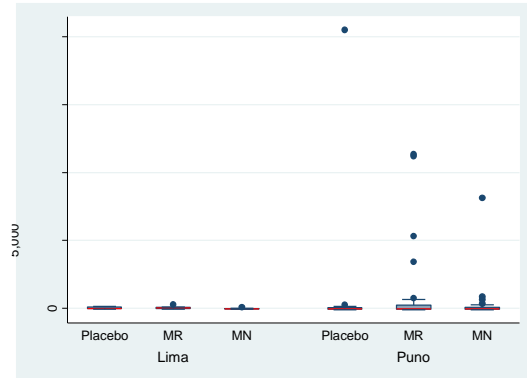


Gráfico 14. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylglutamina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

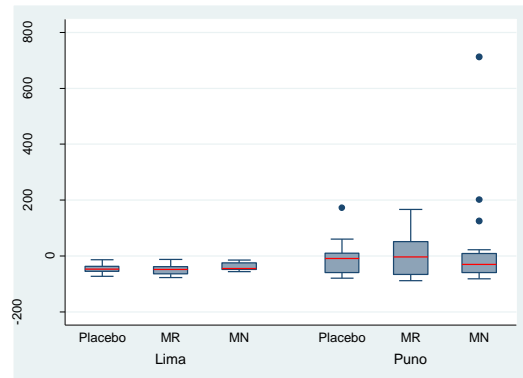


Gráfico 12. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamyl-epsilon-lisina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

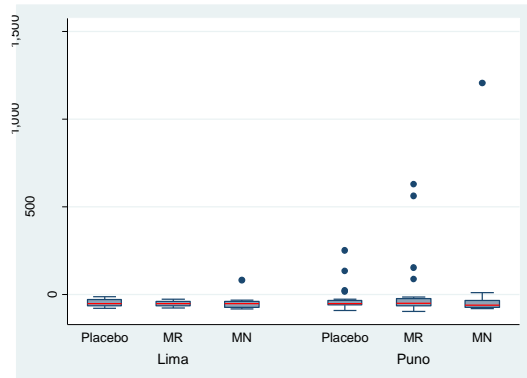


Gráfico 15. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylglycina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

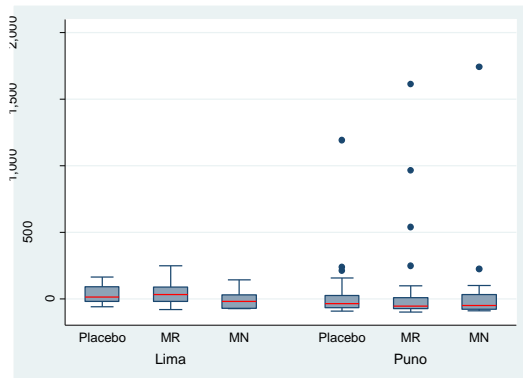


Gráfico 13. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylalanina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

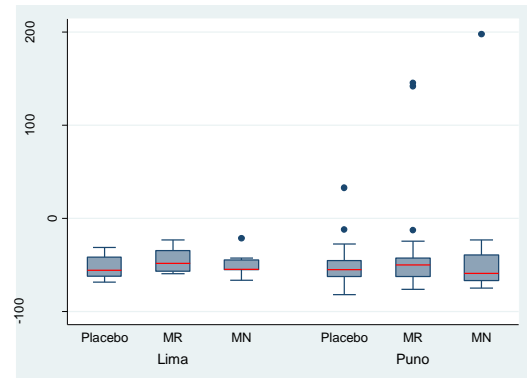


Gráfico 16. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylhistidina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

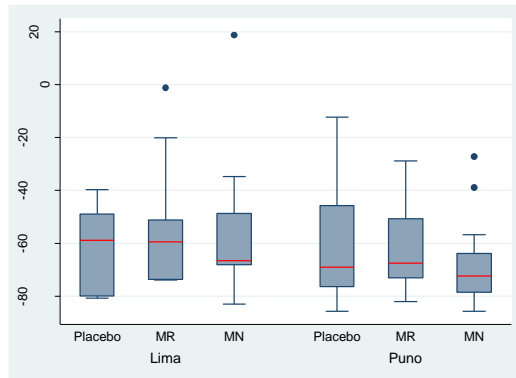


Gráfico 17. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylisoleucina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

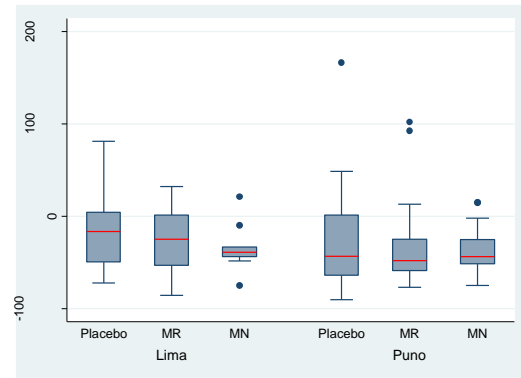


Gráfico 20. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamyltreonina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

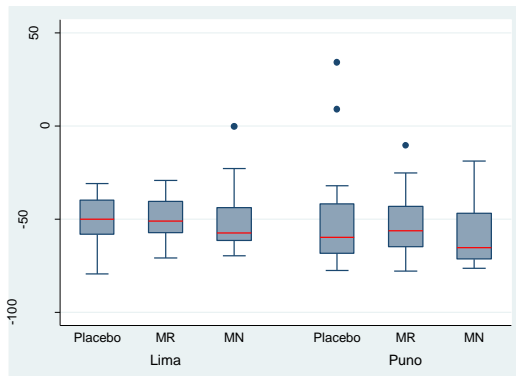


Gráfico 18. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylleucina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

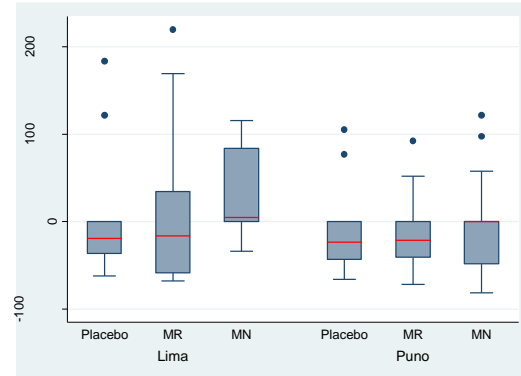


Gráfico 21. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamyltryptófano en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

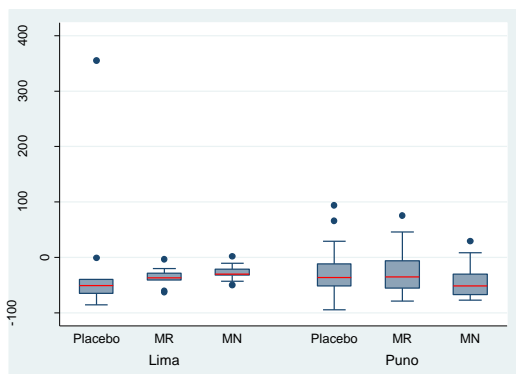


Gráfico 19. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamylphenilalanina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

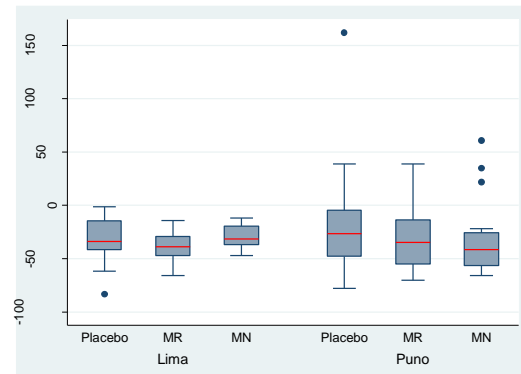


Gráfico 22. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamyltirosina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

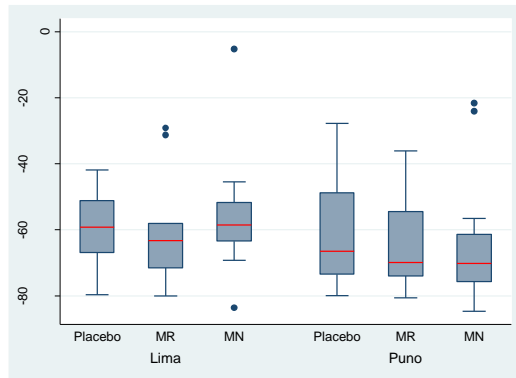


Gráfico 23. Porcentaje de cambio del metabolito gamma-glutamilvalina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

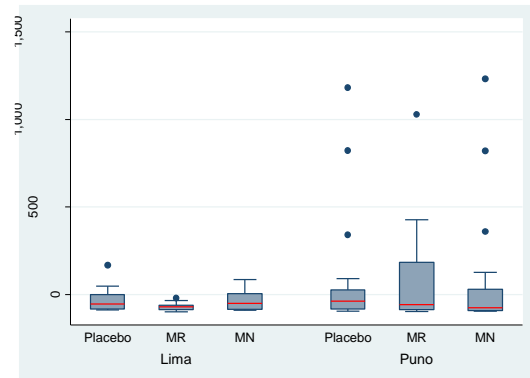


Gráfico 26. Porcentaje de cambio del metabolito HWESASXX en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

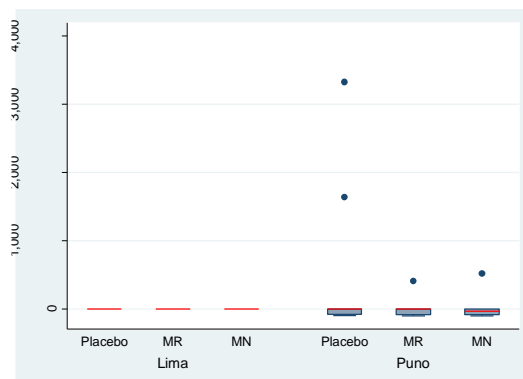


Gráfico 24. Porcentaje de cambio del metabolito histidilalanina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

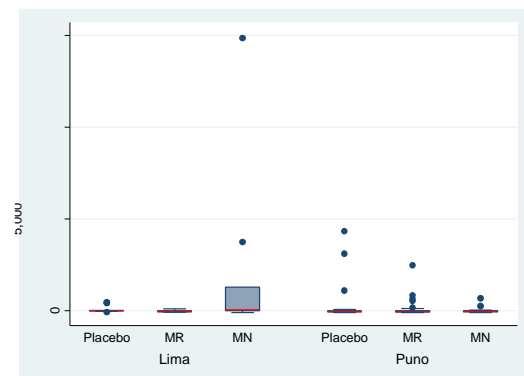


Gráfico 27. Porcentaje de cambio del metabolito leucilalanina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

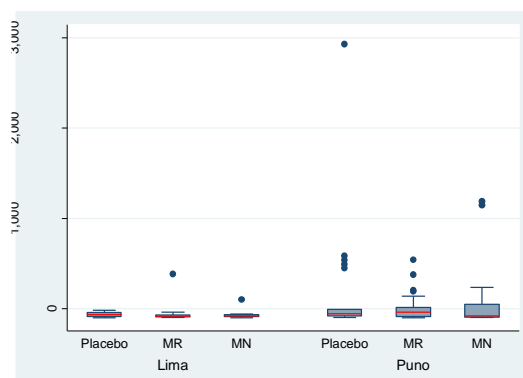


Gráfico 25. Porcentaje de cambio del metabolito HWESASLLR en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

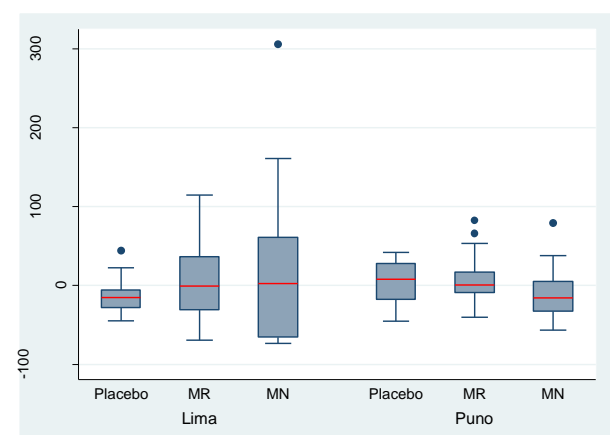


Gráfico 28. Porcentaje de cambio del metabolito N-acetilcarnosina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

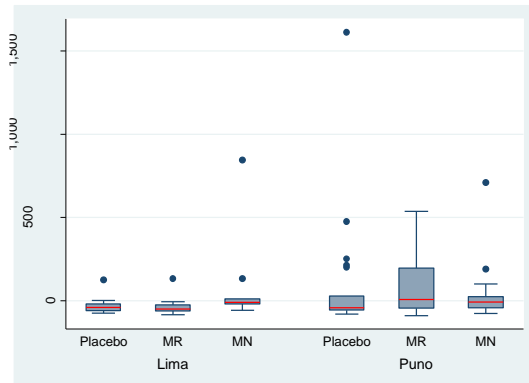


Gráfico 29. Porcentaje de cambio del metabolito fenilalanilalanina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

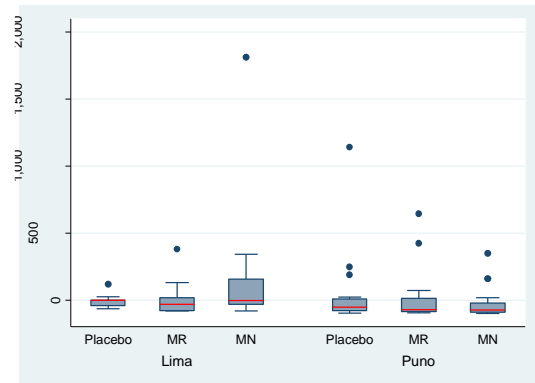


Gráfico 31. Porcentaje de cambio del metabolito valiglicina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

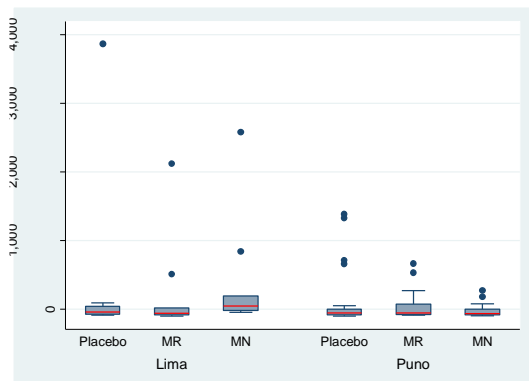


Gráfico 30. Porcentaje de cambio del metabolito valilglutamina en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.

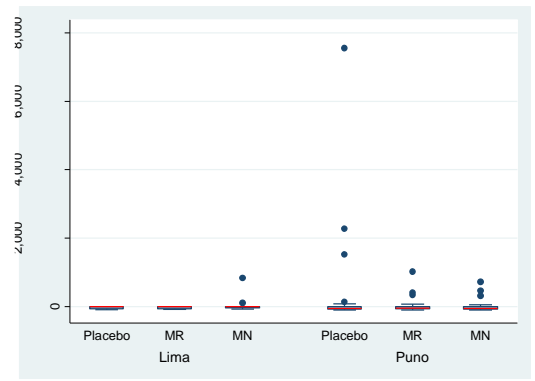


Gráfico 32. Porcentaje de cambio del metabolito XHWESASXXR en respuesta al tratamiento con Placebo, Maca roja (MR) y Maca negra (MN) en Lima y Puno.