

Suplementación con el extracto hidroalcohólico de maca negra (*Lepidium meyenii*) y evaluación de los cambios en marcadores bioquímicos metabólicos asociados al desarrollo de Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) en un modelo de ratas machos *Rattus norvegicus* inducidos a sobrecarga de hierro

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN  
NUTRICIÓN

AUTOR(ES)

ALDANA KESSIA PANDURO ROSALES  
DIANA SARAI PAZ SALINAS

ASESOR(ES)

CARLA JEANNINE GONZALES  
ARIMBORGO

CO-ASESOR

CINTHYA MARGARITA VASQUEZ VELASQUEZ

LIMA – PERÚ  
2026

**Jurado calificador**

**Presidente:** Dr. Luis Miguel Baquerizo Sedano

**Vocal:** Esp. Helard Andres Manrique Hurtado

**Secretario:** Dra. Cecilia Yanet Alfaro Flores



UNIVERSIDAD PERUANA  
CAYETANO HEREDIA

### DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Los egresados:

| N° | APELLIDOS Y NOMBRES           |
|----|-------------------------------|
| 1. | PANDURO ROSALES ALDANA KESSIA |
| 2. | PAZ SALINAS DIANA SARAÍ       |

*(Agregar filas adicionales si hay más autores)*

Pertenecientes al programa de la **CARRERA PROFESIONAL DE NUTRICIÓN** autores del trabajo titulado: **Suplementación con el extracto hidroalcohólico de maca negra (*Lepidium meyenii*) y evaluación de los cambios en marcadores bioquímicos metabólicos asociados al desarrollo de Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) en un modelo de ratas machos *Rattus norvegicus* inducidos a sobrecarga de hierro**, el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el **TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN NUTRICIÓN** bajo la modalidad de **TESIS**.

En calidad de docentes asesores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

| N° | APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE     | FACULTAD | NIVEL DE ASESORÍA |
|----|-------------------------------------|----------|-------------------|
| 1. | GONZALES ARIMBORG CARLA JEANNINE    | FACI     | ASESOR            |
| 2. | VASQUEZ VELASQUEZ CINTHYA MARGARITA | FACI     | CO ASESOR         |

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de **19%**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **3656016907**; fecha de entrega: **21/09/2026**).
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 21 de septiembre de 2026**

Firma del asesor

N° DNI: 40422398

ORCID: 0000-0002-6419-3345

Firma del co asesor

N° DNI: 72865744

ORCID: 0000-0002-3326-0437

## DEDICATORIA

En primer lugar, a Dios, por darme la fortaleza e inteligencia necesarias durante esta carrera profesional.

A mi madre, por motivarme día tras día y enseñarme a ser perseverante en cada área de mi vida.

A mi perrito Barky, por su amor y apoyo incondicional durante tantas noches de estudio.

A nuestras asesoras, por brindarnos las herramientas necesarias para culminar con éxito este proyecto.

Asimismo, a mi compañera de tesis, Aldana, porque juntas logramos superar cada obstáculo a pesar del cansancio y altibajos que pudimos tener en algún momento.

*Diana Saraí Paz Salinas*

Dedico este trabajo, en primer lugar, a Dios, por acompañarme durante todo este camino, darme fortaleza en los momentos difíciles y permitirme llegar hasta aquí.

A mis padres, por confiar siempre en mí, en mis decisiones y en la capacidad que tengo para alcanzar lo que me propongo. Gracias por respetar mi camino, y por estar siempre que los necesitaba.

A mi hermana y a mis sobrinos, por formar parte de mi vida y de este camino.

A mis abuelos, que partieron durante el desarrollo de esta tesis, por todo lo que compartí con ellos y por los recuerdos que me acompañan. Espero que se sientan orgullosos de mí desde el lugar donde estén.

A mis amigas, por escucharme, darme ánimos y acompañarme en los momentos en que este proceso se hizo más difícil.

Después de todos los altibajos que pasamos junto a Diana, mi compañera de tesis, me quedo con la satisfacción de que seguimos adelante y logramos terminar una etapa académica más.

*Aldana Kessia Panduro Rosales*

## **AGRADECIMIENTO**

Al Dr. Gustavo F. Gonzales Rengifo; ex-jefe del Laboratorio de Endocrinología y Reproducción, por su orientación y experiencia a lo largo de este proceso. Sus valiosas enseñanzas y tiempo dedicado para la resolución de dudas en cada etapa de la investigación fueron fundamentales para el desarrollo de esta presente tesis.

A la MSc. Cinthya M. Vásquez Velásquez, por su apoyo y paciencia a lo largo de este proceso. Agradecemos cada uno de sus consejos a nivel académico y personal, y la confianza depositada en nosotras para la realización de esta investigación.

A la Dra. Carla Gonzales Arimborgo, por su orientación brindada durante la etapa final del desarrollo de esta tesis, cuyas observaciones contribuyeron al fortalecimiento del presente trabajo.

A la Lic. Jeannett M. Rivera Mantalaya, por su apoyo tanto en la enseñanza del manejo de animales de experimentación como en la inoculación de sulfato ferroso por vía orogástrica.

# ÍNDICE

|                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| RESUMEN .....                                                                                                  | 1  |
| ABSTRACT .....                                                                                                 | 2  |
| I. INTRODUCCIÓN .....                                                                                          | 3  |
| II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....                                                          | 9  |
| III. JUSTIFICACIÓN .....                                                                                       | 10 |
| IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....                                                                            | 11 |
| V. HIPÓTESIS .....                                                                                             | 11 |
| 5.1. Hipótesis general: .....                                                                                  | 11 |
| 5.2. Hipótesis específicas: .....                                                                              | 12 |
| VI. OBJETIVOS .....                                                                                            | 12 |
| 6.1. Objetivo general .....                                                                                    | 12 |
| 6.2. Objetivos específicos .....                                                                               | 12 |
| VII. MATERIALES Y MÉTODOS .....                                                                                | 12 |
| 7.1. Animales de experimentación .....                                                                         | 12 |
| 7.2. Tamaño de muestra .....                                                                                   | 13 |
| 7.3. Protocolo experimental .....                                                                              | 14 |
| 7.4. Inducción a sobrecarga de hierro (SCH) .....                                                              | 16 |
| 7.5. Preparación del extracto de maca negra .....                                                              | 17 |
| 7.6. Medición de peso corporal .....                                                                           | 17 |
| 7.7. Determinación de glucosa .....                                                                            | 18 |
| 7.8. Determinación de insulina .....                                                                           | 18 |
| 7.9. Determinación del Índice HOMA .....                                                                       | 19 |
| 7.10. Operacionalización de variables .....                                                                    | 19 |
| 7.11. Análisis estadístico .....                                                                               | 20 |
| 7.12. Consideraciones éticas .....                                                                             | 21 |
| 7.13. Bioseguridad .....                                                                                       | 21 |
| 7.13.1. Diseño y condiciones apropiadas del ambiente donde se realizará el<br>procedimiento experimental ..... | 21 |
| 7.13.2. Mantenimiento preventivo de equipos a utilizar en el experimento .....                                 | 22 |
| 7.13.3. Equipo de Protección Personal para los procedimientos experimentales .....                             | 23 |
| 7.13.4. Métodos de descontaminación en el laboratorio .....                                                    | 24 |
| 7.13.5. Gestión de desechos a generar en el experimento .....                                                  | 24 |

|       |                                                                                 |    |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| VIII. | RESULTADOS .....                                                                | 25 |
| 8.1.  | Variación de glucosa en ayunas entre el día 0 y día 30 del experimento .....    | 25 |
| 8.2.  | Variación de glucosa en ayunas entre el día 30 y día 44 del experimento .....   | 26 |
| 8.3.  | Valores de insulina, índice HOMA-IR y HOMA- BETA al final del experimento ..... | 27 |
| 8.4.  | Peso corporal de la rata según grupo control y grupo de SCH al día 30 .....     | 30 |
| 8.5.  | Peso corporal de la rata en todos los grupos al día 44 respecto al día 30.....  | 32 |
| IX.   | DISCUSIÓN.....                                                                  | 33 |
| X.    | FORTALEZAS Y LIMITACIONES .....                                                 | 40 |
| XI.   | CONCLUSIONES.....                                                               | 40 |
| XII.  | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                | 40 |
|       | ANEXOS.....                                                                     | 58 |

## RESUMEN

**Introducción:** El consumo excesivo de hierro en el mundo ha creado preocupación por el riesgo de sobrecarga de hierro (SCH) en los tejidos. Un estudio en nuestro laboratorio ha demostrado que ratones que consumen dosis crecientes de sulfato ferroso aumentan los niveles de glucemia a los 30 días de tratamiento en función dosis-respuesta. Igualmente hemos demostrado que la maca negra (*Lepidium meyenii*) puede reducir el impacto negativo de la estreptozotocina, fármaco que produce diabetes mellitus.

**Objetivo:** Evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de maca negra (EHMN) sobre los marcadores bioquímicos metabólicos (glucosa, insulina e Índice HOMA) asociados al desarrollo de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) en un modelo de ratas inducidos a SCH.

**Materiales y métodos:** Estudio experimental con 24 ratas Holtzman divididas en 4 grupos: control (dH<sub>2</sub>O), sobrecarga de hierro (SCH), SCH + maca negra (5 mg de EHMN/1 mL de agua), y SCH + metformina (24.3 mg de MET/1 mL de agua). Se administró 1 mL de FeSO<sub>4</sub> (7.5 mg de Fe elemental/kg/día) durante 4 semanas. Los tratamientos con maca negra y metformina se administraron por 14 días. Se midió la glucosa en sangre con métodos colorimétricos y, por último, en el día 44, se extrajo sangre para la evaluación de los niveles de insulina y posterior cálculo de HOMA-IR y HOMA-BETA. Las medias entre grupos se compararon usando

**Resultados:** Todos los grupos inducidos a SCH durante 30 días elevaron la glucemia significativamente ( $p=0.024$ ), a excepción del grupo control (dH<sub>2</sub>O) ( $p=0.315$ ). El grupo 3, SCH + EHMN, después del periodo de tratamiento con EHMN, redujo sus valores de glucemia en 25.8 mg/dL ( $p=0.001$ ), presentando resultados similares al grupo 4 (SCH + MET), el cual redujo sus valores en 24.5 mg/dL ( $p=0.001$ ). En el día 44, no se observaron diferencias significativas en los valores de insulina entre los grupos ( $p=0.133$ ). Asimismo, el HOMA-IR mostró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos SCH y SCH+EHMN ( $p=0.018$ ); mientras que, los valores de HOMA-BETA presentaron significancia entre los grupos control y SCH ( $p=0.030$ ). Por otro lado, todos los grupos presentaron un incremento significativo de peso corporal durante la etapa de inducción a SCH; sin embargo, el grupo SCH + EHMN no incrementó significativamente su peso después de la fase de tratamiento ( $p=0.102$ ). **Palabras claves:** Sobrecarga de Hierro, maca negra, glucosa, insulina, metformina.

## ABSTRACT

**Introduction:** Excessive consumption of iron in the world has raised concerns about the risk of tissue iron overload (SCH). A study in our laboratory has shown that mice consuming increasing doses of ferrous sulfate increase blood glucose levels 30 days after treatment in a dose-response function. We have also shown that black maca (*Lepidium meyenii*) can reduce the negative impact of streptozotocin, a drug that causes diabetes mellitus. **Objective:** To evaluate the effect of black maca hydroalcoholic extract (EHMN) on metabolic biochemical markers (glucose, insulin and HOMA Index) associated with the development of type 2 Diabetes Mellitus (DM2) in a rat model induced to SCH. **Materials and methods:** Experimental study with 24 Holtzman rats divided into 4 groups: control (dH<sub>2</sub>O), iron overload (SCH), SCH + black maca (5 mg of EHMN/1 mL of water), and SCH + metformin (24.3 mg of MET/1 mL of water). 1 mL of FeSO<sub>4</sub> (7.5 mg of elemental Fe/kg/day) was administered for 4 weeks. Treatments with black maca and metformin were administered for 14 days. Blood glucose was measured using colorimetric methods and finally, on day 44, blood was drawn for evaluation of insulin levels and subsequent calculation of HOMA-IR and HOMA-BETA. The means between groups were compared using ANOVA and then the Scheffé post hoc test was applied. **Results:** All groups treated with SCH for 30 days showed a significant increase in blood glucose ( $p=0.024$ ), with the exception of the control group (dH<sub>2</sub>O) ( $p=0.315$ ). Group 3, SCH (days 1 to 30) + EHMN (days 31 to 44), after the EHMN treatment period, reduced their blood glucose levels by 25.8 mg/dL ( $p=0.001$ ), showing similar results to group 4 (SCH + MET), which reduced its levels by 24.5 mg/dL ( $p=0.001$ ). On day 44, no significant differences in insulin levels were observed between the groups ( $p=0.133$ ). Furthermore, the HOMA-IR showed a statistically significant difference between the SCH and SCH+EHMN groups ( $p=0.018$ ); while the HOMA-BETA showed significance between the control and SCH groups ( $p=0.030$ ). On the other hand, all groups showed a significant increase in body weight during the SCH induction phase; however, the SCH + EHMN group did not significantly increase its weight after the treatment phase ( $p=0.102$ ). **Key words:** Iron Overload, Black Maca, Glucose, Insulin, Metformin.

## I. INTRODUCCIÓN

En el año 2017, se estableció la Norma Técnica Sanitaria (NTS) N°134-2017 “Norma técnica para el manejo terapéutico y preventivo de la anemia en niños, adolescentes, mujeres gestantes y puérperas” del Ministerio de Salud (MINSA) en la población peruana, donde se detalló el procedimiento para la suplementación con hierro tanto en personas anémicas como no anémicas (1).

La suplementación se enfocó principalmente en poblaciones vulnerables, es así que, en el caso de infantes, para un óptimo crecimiento y desarrollo de órganos, se priorizaba una suplementación de 2 mg de hierro/kg de peso corporal para niños menores de 6 meses seguido de la administración de micronutrientes desde los 6 meses hasta los 3 años. Por otro lado, a las gestantes se les brindaba 60 mg de hierro elemental a partir de la semana 14 de gestación y 120 mg de hierro elemental si el inicio del control prenatal ocurría después de la semana 32 (1), con la finalidad que durante el embarazo se transfiera 360 mg de hierro hacia el feto y se cubra el consumo de 450 mg de este metal para el feto, la placenta y el parto (2). Asimismo, se indicaba que las puérperas debían ser suplementadas con una dosis de 60 mg de hierro elemental (1).

Actualmente, la NTS N° 213-2024 “Norma Técnica de Salud: Prevención y control de la anemia por deficiencia de hierro en el niño y la niña, adolescentes, mujeres en edad fértil, gestantes y puérperas” ha derogado la NTS N°134-2017, no obstante, no presenta cambios en la dosis recomendada de suplementación para el manejo preventivo de las poblaciones vulnerables antes mencionadas (3). Por lo que, esta nueva NTS no estaría enfocándose en las evidencias controversiales a la salud como la sobrecarga de hierro (SCH) que generaría el manejo preventivo con hierro en poblaciones vulnerables (4).

Al consumir los suplementos brindados en el manejo preventivo contra la anemia, se administra hierro orgánico o hemínico ( $\text{Fe}^{2+}$ ); mientras que, en la dieta también lo pueden ingerir de forma inorgánica o no hemínica ( $\text{Fe}^{3+}$ ); donde el hemínico ingresa al enterocito mediante el transportador Heme Carrier Protein 1 (HCP1), y el no hemínico por el transportador de metales divalentes (DMT1). Para la absorción de hierro no hemínico, este debe reducirse por el citocromo B duodenal y en un medio ácido, y una vez dentro del enterocito debe metabolizarse por la

hemo oxigenasa HO-1 para posteriormente ser exportado a la sangre a través de la ferroportina y ser oxidado nuevamente por acción de la hefestina, con la finalidad de ser transportado por la transferrina (Tf) como ion férrico hacia los tejidos junto al hierro proveniente de la degradación de la hemoglobina (sistema monocito-macrófago) (5).

Este ingreso a la circulación va a ocurrir solo si hay necesidad del organismo y se ha reducido los niveles de hepcidina sérica. Si no ocurre ello, el hierro dentro del enterocito es almacenado en la ferritina hasta su utilización, proceso que, si no se lleva a cabo en el tiempo de vida del enterocito, este hierro es liberado a la luz intestinal y progresa hacia el intestino grueso (5).

Los distintos tejidos tienen un receptor para transferrina (RTf) donde se une la Tf para luego formar el complejo RTf-Tf que será endocitado con la finalidad de que el hierro sea reducido nuevamente por la metalorreductasa en el citosol para cumplir distintas funciones, tales como la síntesis del grupo hemo y su almacenamiento en complejos multiméricos de ferritina (marcador inflamatorio de fase aguda y marcador de los niveles de reservas de hierro en los tejidos) (5).

Para la regulación del metabolismo del hierro, las proteínas involucradas en la absorción y almacenamiento del metal son reguladas post-transcripcionalmente mediante la interacción entre las secuencias IRE (elemento de respuesta al hierro) ubicados en el ARNm que codifica para proteínas como DMT1, ferroportina, RTf, con las proteínas reguladoras del hierro (IRPs: IRP1 y IRP2). Esta interacción aumenta cuando los niveles de Fe intracelular disminuyen e inhibe que el ARNm que codifica para ferritina sea transcrito, con la finalidad de aumentar la absorción y disminuir el almacenamiento. En el caso contrario, cuando los niveles de Fe intracelular aumentan, no se lleva a cabo esta interacción, causando que el ARNm de DMT1 y RTf se degraden y se da la traducción de ferritina, disminuyendo la absorción y aumentando el almacenamiento (6,7).

Por otro lado, se tiene el papel de la hepcidina (Hp) sintetizada principalmente por los hepatocitos, tejido adiposo, corazón, placenta y riñones, como hormona reguladora de la biodisponibilidad del hierro, pues controla el flujo de hierro proveniente de la dieta a la sangre a través de los enterocitos, y de la liberación de

hierro de los macrófagos que proviene de los hematíes senescentes y de los depósitos (hígado y bazo) (8, 9).

La producción de Hp está regulada por los niveles de Fe extracelular, depósitos y en otros casos por procesos inflamatorios, donde esta hormona es producida a nivel hepático en respuesta a la IL-6 para actuar como una proteína de fase aguda que inhibe a la ferroportina I para disminuir la absorción intestinal de hierro; y por otro lado, aumentar su captación y almacenamiento por los macrófagos y el hígado (aumento de ferritina), además de la inhibición de la liberación de este mineral hacia la Tf (8,9). Cuando los niveles de Fe intra y extracelular se elevan tras una continua sobreingesta de Fe, una suplementación no requerida o por problemas genéticos, la producción de esta hormona peptídica aumenta para evitar la absorción y sobre todo liberación de depósitos. Esta regulación se da mediante la reducción en la expresión de los transportadores de la membrana apical DMT1 y HCP1; e internalización de la ferroportina de la membrana transmembrana, con la finalidad de disminuir la exportación de hierro a partir de los enterocitos, macrófagos y hepatocitos hacia la sangre y aumentando los niveles del metal a nivel intracelular (6,7).

Cuando no se logra la homeostasis de hierro mediante las vías metabólicas anteriormente descritas, el exceso de hierro es considerado un riesgo potencial para la salud, ya que es inexistente la excreción de hierro fisiológicamente, y solo puede reducirse de 1 a 2 mg de hierro o <0,05% por la pérdida de sangre y la descamación de células (10). Sumado a ello, se ha demostrado que la SCH dismetabólica caracterizada por un máximo en la saturación de Tf (>50%), indicador de hemocromatosis, está asociada a un deterioro en la capacidad de respuesta de la Hp, lo que genera una resistencia a esta hormona y pierde su efectividad de limitar la absorción y liberación de hierro (11) como en situaciones inflamatorias, donde a pesar de que la hepcidina esté elevada no bloquea por completo a la entrada de hierro a los tejidos, proceso ejemplificado en Rivera J. (2024) donde tras 5 mg Fe elemental de sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4$ )/kg de peso corporal en ratones se ve efecto a nivel orgánico, en el hígado y niveles de glucosa, por el continuo ingreso del hierro generando un riesgo de SCH intracelular (12). Por lo tanto, la regulación de la absorción, distribución y utilización de hierro es

indispensable para evitar enfermedades de gran intensidad requiriendo atención médica intensiva (6).

El efecto de SCH se ha visto asociado a un mayor desarrollo de resistencia a la insulina (RI), ya que modifica la sensibilidad a la insulina generando una disminución de la captación y el transporte de glucosa (13). Esta alteración en la homeostasis de la insulina se debe al deterioro de la funcionalidad de las células  $\beta$  de los islotes Langerhans por causa de la toxicidad de los ácidos grasos libres y citoquinas inflamatorias (14), debido al daño oxidativo, con mayor frecuencia por el radical más reactivo de oxígeno ( $\bullet\text{OH}$ ) proveniente de la reacción de Fenton (15, 16) y actúa sobre los componentes celulares como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, produciendo así cambios funcionales y bioquímicos como es la producción y excreción de insulina (17).

La situación se agrava cuando se tiene en cuenta que las células  $\beta$  tienen una cantidad relativamente menor de enzimas antioxidantes, como la catalasa y glutatión peroxidasa a comparación de otros órganos (17, 18).

Otra explicación frecuente que se tiene frente a esta asociación es el desencadenamiento del flujo autofágico en etapa tardía de la SCH, lo que conduce a la RI mediante la activación del bloqueo del complejo mTOR1 (mTORC1) en los autolisosomas, el represor más potente de la autofagia en respuesta al estrés, afectando la reforma y número de lisosomas (19).

De esta manera, las células  $\beta$  pierden la capacidad de defensa ante el estrés oxidativo y la relación radical ascorbilo/anión ascorbato ( $\text{A}\bullet/\text{AH}^-$ ), indicador de estrés oxidativo, cada vez incrementa, lo cual se evidenció en un estudio realizado por Jaccard, et al. donde tras una infusión de 1000 mg de carboximaltosa férrica en mujeres, los valores de dicha relación aumentaron en el día 14 (20). Posteriormente, se descubrió que la acumulación excesiva de hierro sistémico proveniente de la ingesta también está asociada a Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) (21), como lo demostrado en el estudio de cohortes realizado en China por Gao, et al. (22).

Además, una SCH podría estar alterando las vías metabólicas de lípidos, como lo observado en una inducción a SCH aguda en ratones donde aumentaron los

niveles de triglicéridos séricos y del colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL), además, de una disminución del colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL); al disminuir la expresión de adiponectina, hormona que promueve el catabolismo de lípidos (23).

Por otro lado, diversos estudios han evidenciado que la maca (*Lepidium meyenii*), planta altoandina originaria de Perú, presenta diversos efectos biológicos en la fertilidad (24-26), memoria (27), disminución de los síntomas de la menopausia (27), anti-estrés oxidativo (28, 29), y antifatiga debido principalmente al N-bencil-hexadecanamida (NBH) (30), que aumentó las rutas relacionadas a las oxidación de la glucosa, como los niveles de glucógeno hepático y la regulación positiva NAD<sup>+</sup>/NADH, junto a la disminución de los niveles de lactato deshidrogenasa, nitrógeno ureico y amoníaco (28-30).

Asimismo, el fenotipo maca negra, ha sido asociado a la reducción de glucemia en sangre en modelo murino inducido a diabetes (31); no obstante, Rodrigo, et al., demostraron que adicional al efecto hipoglucemiante está su efecto antioxidante contra el daño celular en ratas con diabetes inducidas mediante el incremento de la concentración de vitamina C circulante y la disminución del marcador de lipoperoxidación sérica (29).

Dentro de los componentes activos presentes en la subfracción del extracto etanólico de la maca n-butanol (NBT), se ha descubierto el papel del glucosinolato de bencilo frente a la regulación del metabolismo de la glucosa y lípidos en células con resistencia a la insulina al regular las vías de señalización APK y PI3K (32).

En un estudio realizado por Wan, et al., se observa que la maca negra es capaz de revertir los efectos negativos sobre el metabolismo de la glucosa y lípidos ocasionados por una dieta rica en glucosa/fructosa para evitar la progresión de trastornos metabólicos en hámsteres dorados, ya que ciertos componentes activos de este alimento, siendo los principales los macaenos y macamidas, son capaces de regular positivamente y negativamente la expresión de genes de enzimas que controlan el flujo neto de la glucólisis y gluconeogénesis, respectivamente (33). Tal es el caso de fosfofructocinasa (Pfkfb3 y Pfkfb1) que participa en la glucólisis y la fructosa bifosfatasa-1 (Fbp1), enzima responsable de la gluconeogénesis (33).

Asimismo, es capaz de regular positivamente la expresión de genes de enzimas que participan en el ciclo del ácido tricarboxílico y aquellos involucrados en la señalización de PPAR $\alpha$ , el cual es un regulador fundamental del metabolismo de los lípidos, con el aumento de la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos y la inhibición de la lipogénesis para la disminución de triglicéridos y mejora de la esteatosis, que de por sí se evidenció por un daño en el tejido hepático tras encontrar un aumento en los niveles de las enzimas alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) (33).

Además, se ha observado un efecto antioxidante y protector en células RAW264.7 de un nuevo polisacárido compuesto por los monosacáridos arabinosa y galactosa contra la lesión causada por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, donde fue capaz de reducir los niveles de radicales superóxido, hidroxilo, quelación de Fe<sup>+2</sup>, inhibición de la peroxidación lipídica, del compuesto 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), radical ABTS<sup>+</sup> (34); que en un estado proinflamatorio conducen a la elevación de la síntesis de la proteínas C-reactiva (PCR) que termina evolucionando en una RI y con ello a un síndrome metabólico (SM) y DM2 (35). Asimismo, mejorar la actividad del superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GSH-Px) y catalasa (CAT) (34).

Debido a la alta demanda del uso de plantas medicinales como tratamiento de algunas enfermedades, la maca es un recurso potencial para mejorar la calidad de vida de individuos con RI por su propiedad hipoglucemiante y antioxidante. En estudios recientes murinos, se considera el tiempo de cocción de la maca negra en su preparación tradicional como punto clave para evaluar las propiedades antes mencionadas, donde a 60 minutos hay un incremento de la propiedad antioxidante e hipoglucemiante en comparación con 30 minutos de cocción (36).

En el presente estudio, el objetivo es evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de maca negra (EHMN) sobre los marcadores bioquímicos metabólicos (glucosa, insulina y Índice HOMA) asociados al desarrollo de DM2 en un modelo de ratas inducidas a SCH.

## **II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

Durante los últimos 60 años, la suplementación de hierro ha sido una de las estrategias más difundidas para el manejo preventivo o terapéutico de la anemia, especialmente en gestantes y niños. La idea subyacente a esta práctica es que el hierro es un nutriente esencial para la producción de hemoglobina y la prevención de anemia. Sin embargo, investigaciones recientes han revelado que las mayores prevalencias de anemia en niños entre 6 y 23 meses podrían ser el resultado de un diagnóstico inadecuado de esta condición hematológica (37), pues en este grupo etario es normal que los niveles de hemoglobina (Hb) disminuyen después del nacimiento, cuando los niveles son elevados debido a un ambiente hipóxico intrauterino, seguido por un ajuste al ambiente aeróbico postnatal (38).

Este problema se ha visto reflejado en la reciente modificación del punto de corte para la definición de anemia por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS), que redujo el valor de 11 g/dL a 10.5 g/dL el 8 de marzo de 2024 (3), provocando así una reducción de la prevalencia de anemia en Lima Metropolitana de 45% a 25% en el grupo etario de 6 a 23 meses (39).

Esta nueva definición sugiere que gran parte de la población infantil ha estado recibiendo una mayor cantidad de hierro de la necesaria, evidenciado en el aumento del 23.9% en el consumo de suplemento preventivo de hierro desde el 2007 hasta 2021 según la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar (ENDES) (40). A pesar de que en los últimos dos años este porcentaje se ha reducido siendo una diferencia no significativa, esta reducción no es suficiente para abordar adecuadamente el problema. La homeostasis del hierro en el cuerpo se regula principalmente a través de su absorción y no de su excreción (41), lo que generaría un riesgo a SCH en este grupo etario, con efectos negativos sobre su salud.

La SCH está asociada con problemas en el crecimiento infantil como la reducción de la longitud y la circunferencia de la cabeza, tal como se ha demostrado en bebés suecos de 9 meses con bajo riesgo de deficiencia de hierro, o la reducción de las puntuaciones z de peso y longitud para la edad de los bebés indonesios con SCH y bebés asiáticos que tuvieron un peso saludable al nacer (4).

Adicionalmente, las elevadas reservas de hierro durante la gestación, expresada en altos niveles de ferritina sérica, están asociadas con un riesgo elevado de diabetes mellitus gestacional (DMG) (42), y esta condición genera un mayor riesgo de parto prematuro y bajo peso al nacer en el tercer trimestre (43).

Además, existe evidencia de que la ingesta excesiva de hierro está asociada con un riesgo incrementado de desarrollar DM2. Se ha reportado que personas que ingieren mayor hierro tienen un 50% más de riesgo al desarrollo de DM2 (44, 45) o la propia suplementación periconcepcional superior a 30 o 60 mg/día durante el segundo trimestre también es un factor de riesgo independiente para DM2 (45), debido a la disminución de la secreción de insulina por el deterioro primario de las células  $\beta$ , resultando en un aumento en los niveles de glucosa en sangre (46), y alteraciones en el catabolismo de lípidos.

Los modelos murinos han demostrado que ratones macho, tanto obesos como no obesos, que reciben de 0 a 5 mg de hierro/kg peso corporal presentan un aumento significativo en los niveles de glucosa en sangre tras 15 o 30 días de tratamiento (12), lo que indica que la SCH en los tejidos contribuye a la elevación de la glucosa y la obesidad, siendo ambos factores de riesgo para la DM2 (12).

### **III. JUSTIFICACIÓN**

Es fundamental evaluar la SCH debido a su influencia en el desarrollo de DM2; puesto que, altera la función de las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans, resultando en una disminución de la producción de insulina y un aumento de la RI (13, 14). Este efecto se debe a un daño oxidativo mediado por radicales libres y a una alteración en el perfil lipídico, que se manifiesta en un aumento de triglicéridos y colesterol LDL, y una disminución de colesterol HDL (23). La relación entre SCH y DM2 resalta la necesidad de investigar estos mecanismos para identificar nuevas estrategias de prevención y tratamiento para esta enfermedad metabólica creciente.

Si bien existen algunas estrategias terapéuticas como la terapia antioxidante e intervenciones específicas para evitar la SCH, tales como la flebotomía, suplementación con moduladores de hierro o terapia de quelación del hierro (47),

no se ha tomado en cuenta productos naturales como la maca negra (*Lepidium meyenii*) que demostró efectividad en casos de hiperglucemia y alteraciones del metabolismo de lípidos (48). Asimismo, su alta capacidad antioxidante puede asegurar el equilibrio oxidativo y prevenir enfermedades relacionadas a la nutrición (48); y retrasar el pico glucémico y mantiene un grado de glucemia por debajo de 300 mg/mL con una administración de 2 g/kg de peso corporal durante 14 días en un modelo murino (49).

Debido a ello, el interés en este producto ha crecido exponencialmente dentro de la industria farmacéutica; donde el extracto acuoso genera un mayor incremento de los metabolitos activos (50). A pesar de ello, se utilizan mayormente los extractos hidroalcohólicos de maca en las investigaciones como el ensayo clínico realizado por Gonzales, et al. (51) y que parte de esa información ha sido utilizada por Bailon N. para su tesis de licenciatura sobre la afectación metabólica de los metabolitos pertenecientes a las rutas de los aminoácidos tras el consumo prolongado de maca negra en sujetos residentes al nivel del mar (52), y por la tesis de Portella J. donde se realizó una comparación del consumo de la maca negra y maca roja sobre la respuesta metabólica de la vía de los péptidos en mujeres y hombres adultos residentes de Puno e Iquitos, lo cual indicaría factibilidad del tratamiento con maca negra en la población peruana y mundial que experimentaría las consecuencias de una elevada glucemia en sangre por SCH (53).

#### **IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es el efecto de la administración del EHMN sobre los marcadores bioquímicos metabólicos (glucosa, insulina e Índice HOMA) asociados al desarrollo de DM2 en un modelo de ratas inducidas a SCH?

#### **V. HIPÓTESIS**

##### **5.1. Hipótesis general:**

El tratamiento con EHMN revierte el efecto de la SCH inducida en ratas machos, restableciendo a valores normales los marcadores bioquímicos metabólicos (glucosa, insulina e Índice HOMA) asociados con DM2.

### **5.2. Hipótesis específicas:**

- Los niveles de glucemia serán más bajos en el grupo suplementado con EHMN en comparación del control positivo o equitativo al grupo tratado con metformina que fueron expuestos a SCH.
- Los niveles de insulina serán más bajos en el grupo suplementado con EHMN en comparación del control positivo o equitativo al grupo tratado con metformina que fueron expuestos a SCH.
- Los niveles del Índice HOMA (HOMA-IR y HOMA-BETA) serán más bajos en el grupo suplementado con EHMN en comparación del control positivo o equitativo al grupo tratado con metformina que fueron expuestos a SCH.

## **VI. OBJETIVOS**

### **6.1. Objetivo general**

Evaluar el efecto del EHMN sobre los marcadores bioquímicos metabólicos (glucosa, insulina e Índice HOMA) asociados al desarrollo de DM2 en un modelo de ratas inducidas a SCH.

### **6.2. Objetivos específicos**

- Determinar el efecto del EHMN sobre los niveles de glucemia en ratas con SCH.
- Determinar el efecto del EHMN sobre los niveles de insulina en ratas con SCH.
- Determinar el efecto del EHMN sobre los niveles del Índice HOMA (HOMA-IR y HOMA-BETA) en ratas con SCH.

## **VII. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **7.1. Animales de experimentación**

El presente estudio ha sido realizado en 24 ratas macho de la cepa Holtzman distribuidas aleatoriamente en 4 grupos de 6 ratas, cuyo peso promedio aproximado fue de 400 g y una edad de 4 meses (54), provenientes de las

instalaciones del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH).

Respecto a las condiciones de hábitat y alimentación presentes en el laboratorio, estas ratas se han mantenido a temperatura ambiente (20-25 °C) y a humedad relativa ambiental (40-70%) con un ciclo de luz/oscuridad de 12:12 horas y alimentados con purina y agua a disposición ad libitum. En el estudio se colocaron 6 ratas por jaula de polipropileno con un área de piso por animal de 387 cm<sup>2</sup>, con una altura de 17.8 cm para ratas con un peso promedio hasta 500 g (55).

## 7.2. Tamaño de muestra

El cálculo del tamaño de muestra se basó en la aplicación de la siguiente fórmula de diferencias en grupos independientes:

$$n_e = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \times S^2}{d^2}$$

Donde:

$Z_{\alpha}$  = nivel de significancia del 95%

$Z_{\beta}$  = potencia del 80%

S = varianza del grupo de referencia

d= diferencia que se desea detectar, en base al valor de insulina

Según lo reportado por Rodrigo y col (2011), se consideró una diferencia de insulina de 1.716 en el grupo control. La varianza reportada fue de 2, en el grupo tratado con maca negra (29).

$$n_e = \frac{(1.96 + 0.84)^2 \times 2^2}{1.716^2} = 4.02$$

Se obtuvo un total de 5 animales, considerando el 10% de pérdida, se consideró un total de 6 animales por grupo. Teniendo un total de 24 ratas distribuidas aleatoriamente en 4 grupos de 6 animales.

### 7.3. Protocolo experimental

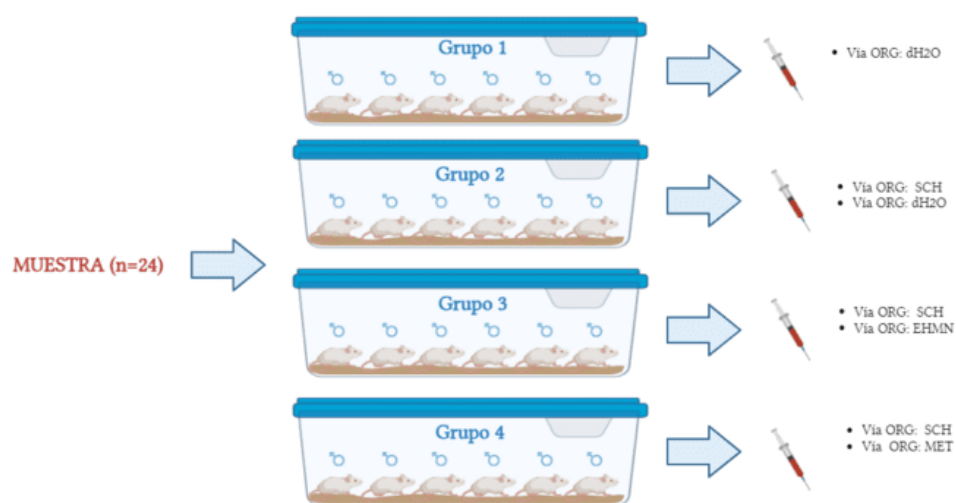
Grupos experimentales: Este es un estudio experimental realizado en ratas de 4 meses en la Unidad de Endocrinología y Reproducción de la UPCH. Las ratas machos de la cepa Holtzman (n=24) han sido asignadas en 4 grupos de 6 ratas cada uno, de la siguiente manera:

El primer grupo o control, recibió 1 ml de agua destilada (vía orogástrica), el segundo grupo o control positivo fue inducido a SCH con 1 ml de FeSO<sub>4</sub> (7.5 mg Fe elemental/kg de peso corporal de la rata) (vía orogástrica) y 1 ml de agua destilada (vía orogástrica) (12) (Figura 1, Figura 2).

En el grupo 3, los roedores inducidos a SCH con la misma cantidad de FeSO<sub>4</sub> fueron suplementados con una dosis de 5 de mg EHMN/1mL de dH<sub>2</sub>O (10.6 mg de EHMN/kg de peso corporal de la rata) (Figura 1, Figura 2) (31), el cual es equivalente al consumo de maca negra en los Andes del Perú, diariamente en un periodo de 14 días por vía orogástrica (49).

Por otro lado, los roedores inducidos a SCH del Grupo 4 con la misma cantidad de FeSO<sub>4</sub> antes mencionado fueron suplementados con metformina (LABORATORIOS PORTUGAL S.R.L.), cuya dosis fue de 24.3 mg de MET/1 mL de dH<sub>2</sub>O (50 mg/kg de peso corporal de la rata) diariamente en un periodo de 14 días por vía orogástrica (Figura 1, Figura 2) (56).

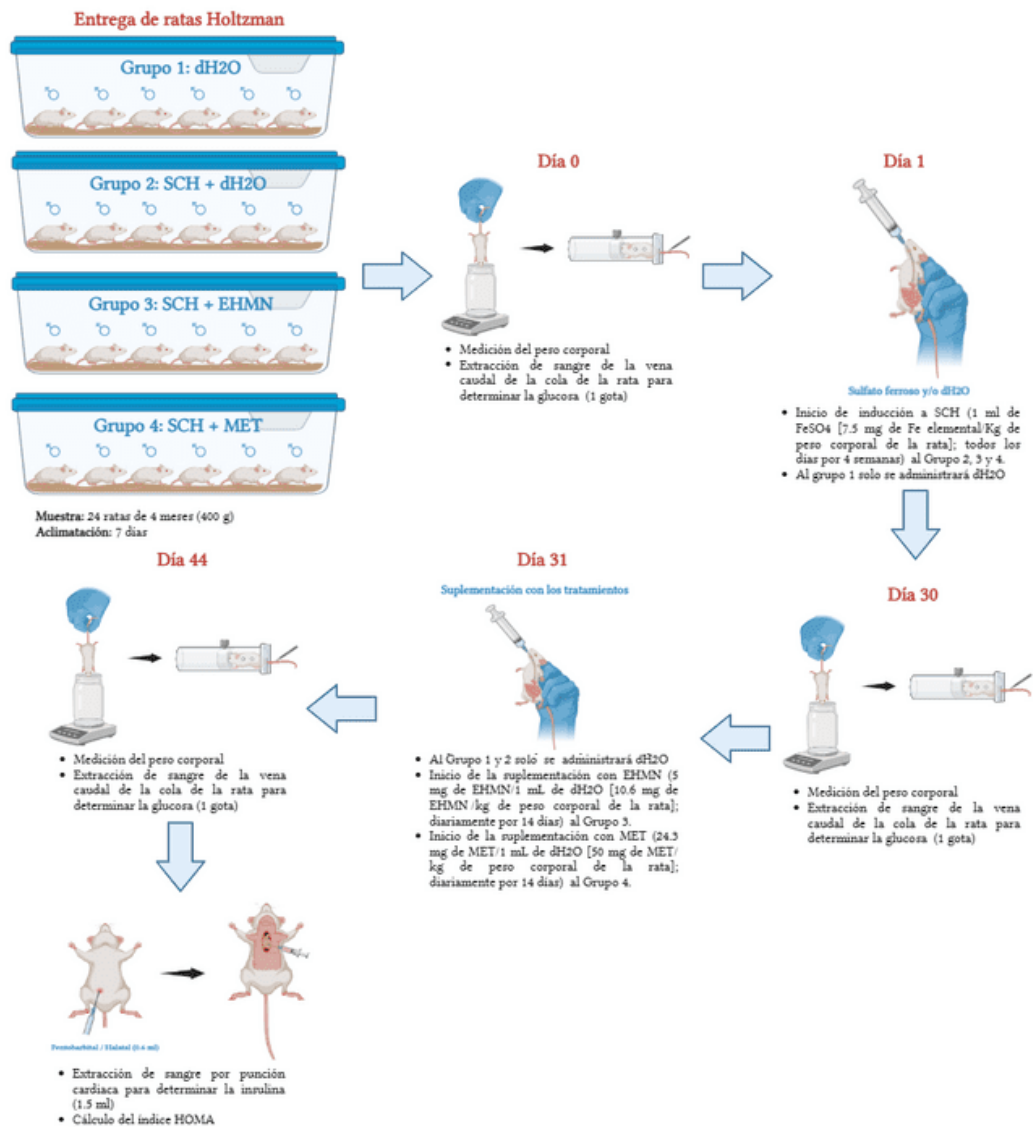
**Figura 1.** Clasificación de grupos



dH<sub>2</sub>O: agua destilada, vía ORG: vía orogástrica, SCH: sobrecarga de hierro, EHMN: extracto hidroalcohólico de maca negra, MET: metformina.

**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 2.** Procedimientos del experimento



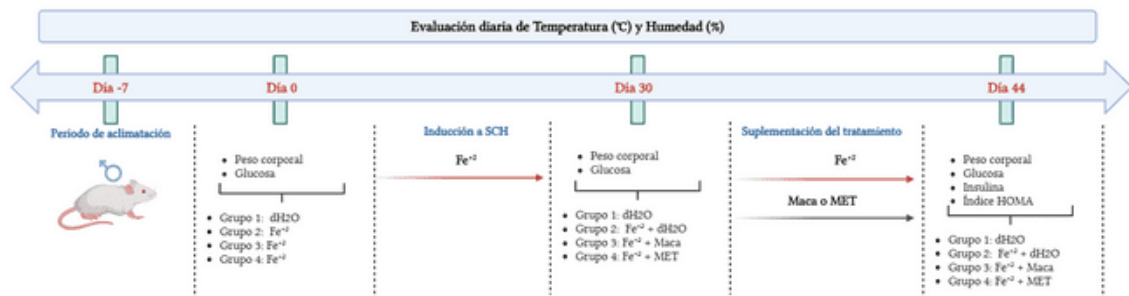
dH<sub>2</sub>O: agua destilada, SCH: sobrecarga de hierro, EHMN: extracto hidroalcohólico de maca negra, MET: metformina, HOMA: IR y BETA.

**Fuente:** Elaboración propia

Se debe resaltar que antes de iniciar con el experimento, la muestra total de ratas tuvo 7 días de aclimatación. Desde allí, se mantuvieron a las ratas a una temperatura ambiente (20-25 °C) y a humedad relativa ambiental

(40-70%) hasta finalizar el experimento (55). Asimismo, se midió el peso corporal y glucosa en los días 0, 30 y 44; mientras que, la insulina, y el cálculo del Índice HOMA-IR y HOMA-BETA en el día 44 (Figura 2, Figura 3).

**Figura 3.** Tiempos y mediciones de marcadores bioquímicos en los grupos experimentales



dH<sub>2</sub>O: agua destilada, SCH: sobrecarga de hierro con 1 ml de FeSO<sub>4</sub> (7.5 mg de Fe elemental/kg de peso corporal de la rata), Maca: extracto diluido de maca negra con una dosis de 5 mg de EHMN/1 mL de dH<sub>2</sub>O (10.6 mg de EHMN/kg de peso corporal de la rata), MET: fármaco diluido de metformina con una dosis de 24.3 mg de MET/1 mL de dH<sub>2</sub>O [50 mg de MET/kg de peso corporal de la rata], Índice HOMA: IR y BETA.

**Fuente:** Elaboración propia.

#### 7.4. Inducción a sobrecarga de hierro (SCH)

La inducción a SCH en los grupos correspondientes (Grupo 2, Grupo 3 y Grupo 4) se realizó en base al procedimiento realizado por Rivera J (12). Esta fue efectuada vía orogástrica con una sonda de rata reusable de 18G y una jeringa descartable.

Se administró 1 ml de FeSO<sub>4</sub> (7.5 mg de Fe elemental/kg de peso corporal de la rata), todos los días durante 4 semanas (12), lo cual no supera la dosis letal para ratas (LD 50) (57).

El jarabe utilizado en el experimento tiene el lote N° 87441833 y RS EN-04577 con una dosificación empleada por cada 100 mL de 300 mg de Fe elemental (12), y corresponde a la dosis máxima de terapia oral (100 -300 mg de hierro por día), que equivale a 300 mg de hierro elemental para un adulto humano de 60 kg (58). Este procedimiento se realizó todos los días

hasta finalizar el tratamiento, es decir, desde el día 1 hasta el día 43. Asimismo, se administró la misma cantidad de agua destilada al Grupo 1, siendo el vehículo del jarabe de sulfato ferroso administrado en los anteriores grupos mencionados. Después de la inducción a SCH en las ratas correspondientes, al día siguiente se inició con la suplementación con los tratamientos, donde se le administró un 1 ml de agua destilada al Grupo 1 y 2, el cual es vehículo para la dilución de maca negra y metformina administrado en el Grupo 3 y 4, respectivamente (Figura 2, Figura 3) (31, 56).

#### **7.5. Preparación del extracto de maca negra**

La maca (*Lepidium meyenii* Walp.), perteneciente a la familia Brassicaceae es cultivada en la sierra central de los Andes de Perú entre los 4000-4500 msnm a partir de un suelo rocoso, con condiciones climáticas frías, fuertes vientos y luz solar intenso (59). Esta planta fue obtenida de Junín por Gonzales, et al, cuyo estudio evidenció que 1 kg de hipocótilos secos de maca negra (*Lepidium meyenii*) generó 132 g de extracto hidroalcohólico al ser procesado con etanol acuoso (70% V/V) mediante percolación a temperatura ambiente durante 24 horas, y concentrados a baja presión hasta conseguir un peso constante. Posterior a ello, el extracto se sometió a un proceso de secado por aspersión (31). Para el experimento, se utilizó la maca negra atomizada de la marca Juvenis, el cual fue patentado por Gonzales, et al.

#### **7.6. Medición de peso corporal**

La medición del peso corporal de las ratas se realizó mediante el uso de la balanza (CAMRY modelo EK2151H-10) del laboratorio de forma constante (Figura 2, Figura 3), el cual tiene una capacidad máxima de 5 kg y una precisión de 0.01 g. Los valores fueron expresados en gramos (12).

### **7.7. Determinación de glucosa**

La determinación de la glucemia basal (mg/dL) sirve para saber el estado normoglucémico de las ratas antes de la inducción a SCH y la administración de la suplementación con EHMN, para la posterior comparación entre los valores de glucosa de cada grupo (60).

Después de un ayuno de 15 horas, se anestesió a las ratas con 1 ml del anestésico general Halatal/2.5 kg de peso corporal (0.16 mL del anestésico en una rata con un promedio de 400 g) vía intraperitoneal. Luego, se midió la glucosa a las ratas mediante el uso de fotometría de reflectancia a partir de las muestras de sangre extraídas de la vena caudal de la cola de cada rata (0.2-0.3 ml) con la ayuda de un bisturí, que luego fueron colocadas en tiras reactivas para ser insertadas al glucómetro Accu-Check Instant que requiere sólo 0.6 µL como tamaño de muestra, siendo un proceso de baja complejidad (60-62), mientras se detiene el sangrado de la cola de la rata con una gasa estéril; asimismo, se calibró este instrumento de medición de glucosa por cada uso (12, 27).

Este procedimiento se realizó al inicio, a la mitad y al finalizar el procedimiento experimental; es decir, el día 0, día 30 y día 44 (Figura 2, Figura 3) (27).

Los resultados fueron expresados en mg/dL y para el análisis estadístico, como la media  $\pm$  error estándar (62).

### **7.8. Determinación de insulina**

El nivel de insulina en plasma (ng/mL) se midió utilizando el Rat/Mouse Insulin ELISA Kit Millipore Merck (EZRMI-13K) y el dispositivo Multiskan FC (Thermo Fisher Inc., Massachusetts, EE. UU.). Este procedimiento se realizó al finalizar el procedimiento experimental; es decir, el día 44 (Figura 2, Figura 3). Se debe resaltar que, la extracción de sangre de los grupos experimentales se realizó mediante punción cardíaca tras un procedimiento de eutanasia con 0.6 ml de Halatal ® (Montana SA, Lima, Perú) por inyección intraperitoneal, cuya dosis es el triple al utilizado en procesos de

anestesia (1 ml de Halatal/2.5 kg de peso corporal de la rata, equivalente a 0.2 ml por rata experimental) (63).

### 7.9. Determinación del Índice HOMA

Para el cálculo del valor de HOMA-IR, se utilizó la siguiente fórmula: glucosa (mmol/L) x insulina ( $\mu$ IU/mL) /22,5. Para el cálculo del valor porcentual del HOMA- $\beta$  se utilizó la siguiente fórmula:  $20 \times \text{insulina } (\mu\text{IU/ml}) / \text{glucosa mmol/L} - 3,5$  (Figura 2, Figura 3) (64). La concentración de glucosa, determinada en mg/dL mediante el glucómetro Accu-Chek Instant, fue convertida a mmol/L considerando el peso molecular de la glucosa (180.16 g/mol). Asimismo, la concentración de insulina, determinada en ng/mL mediante el kit Rat/Mouse Insulin ELISA Kit (EZRMI-13K, Merck Millipore), fue convertida a  $\mu$ IU/mL utilizando un factor de conversión aproximado de 28,8 (1 ng/mL  $\approx$  28,8  $\mu$ IU/mL), de acuerdo con la recomendación proporcionada por el soporte técnico del fabricante. Dado que el kit cuantifica la insulina en unidades de masa (ng/mL) empleando estándares de insulina de rata, mientras que la unidad  $\mu$ IU/mL se basa en actividad biológica, esta conversión se consideró aproximada a los estándares internacionales.

### 7.10. Operacionalización de variables

**Tabla 1.** Operacionalización de variables

| Variable             | Variable de interés | Definición Conceptual                                                                                                                               | Definición operacional                                                                                                                                         | Fuente de obtención | Tipo de variable      | Escala de medición |
|----------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------|
| Grupo de tratamiento | Exposición          | Tratamientos aplicados para la determinación y cumplimiento del objetivo en base al modelo de inducción de SCH, administración de maca negra y MET. | Grupo 1: control negativo (dH <sub>2</sub> O)<br>Grupo 2: control positivo (SCH + dH <sub>2</sub> O)<br>Grupo 3: con administración de maca negra (SCH + EHMN) | Rivera, 2024 (12)   | Categoría, politómica | Nominal            |

|                                        |           |                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                |                                           |                        |          |
|----------------------------------------|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------|----------|
|                                        |           |                                                                                                                                                                                                              | Grupo 4: con administración de fármaco (SCH + MET)                                             |                                           |                        |          |
| Variación de glucemia                  | Resultado | Diferencia de glucemia reportada en mg/dL en sangre obtenida en la cola de las ratas entre los días 0, 30 y 44 de experimentación.                                                                           | Valores continuos de 0 (mg/dL) en adelante.                                                    | Hernández, 2019 (60); Figueroa, 2016(62). | Cuantitativa, continua | De razón |
| Variación de insulina al día 44        | Resultado | Diferencia de insulina reportada en U/mL en sangre obtenida en cola de las ratas, divididas en grupos, en el día 44.                                                                                         | Valores continuos de 0 (U/mL) en adelante.                                                     | Gou, 2021(63)                             | Cuantitativa, continua | De razón |
| Índice HOMA al día 44                  | Resultado | Método de evaluación de la función de las células $\beta$ , la resistencia a la insulina y la sensibilidad a la insulina a partir de concentraciones de glucosa en ayunas e insulina en sangre en el día 44. | HOMA-IR: Valores continuos de 0 en adelante.<br>HOMA-BETA: Valores continuos de 0 en adelante. | Gou, 2021 (63)                            | Cuantitativa, continua | De razón |
| Variación del peso corporal del animal | Control   | Diferencia de peso del animal medido por balanza analítica expresado en g, hasta el día 44.                                                                                                                  | Valores continuos de 0 (g) en adelante.                                                        | Rivera, 2024 (12)                         | Cuantitativa, continua | De razón |

**Fuente:** Elaboración propia

### 7.11. Análisis estadístico

Los datos fueron almacenados en una base de Excel, y el análisis fue mediante el uso del paquete estadístico STATA versión 18.0 (STATA Corp,

Texas, USA, RRID: SCR\_012763). Para la estadística descriptiva, se reportaron las variables cuantitativas como media  $\pm$  error estándar, mientras que, las variables categóricas se expresaron en frecuencias relativas y absolutas.

Se utilizó la estadística bivariada, la cual constó de la aplicación del análisis de las varianzas o ANOVA, y se aplicó la prueba post-hoc de Scheffé ya que la distribución de las variables fue normal, evaluado mediante el test Shapiro-Wilk, la comparación de la media, moda y mediana. De esta forma, se evaluaron las diferencias de los parámetros metabólicos entre los cuatro grupos tratados. Un  $p < 0.05$  indicó una diferencia estadísticamente significativa.

#### **7.12. Consideraciones éticas**

El protocolo fue registrado y se consignó un código SIDISI 214659. Asimismo, requirió la aprobación del Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales - CIEA de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Se aplicaron las medidas y normas de la “Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio” del Institute of Laboratory Animal Resources, & National Research Council (1999) (65).

Por otro lado, se debe recalcar que el procedimiento experimental ya ha sido validado en el laboratorio al estudiar la maca negra y el yacón en ratones diabéticos (31). Al finalizar el estudio, las ratas utilizadas en el experimento, quienes pasaron por un proceso de eutanasia con 0.6 mL de Halatal® (Montana SA, Lima, Perú) por inyección intraperitoneal, fueron desechadas según protocolo de bioseguridad.

#### **7.13. Bioseguridad**

##### **7.13.1. Diseño y condiciones apropiadas del ambiente donde se realizará el procedimiento experimental**

Los procedimientos se realizaron en el Laboratorio de Endocrinología y Reproducción de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH) que es BSL-1 y desarrolla distintas líneas de

investigación como es Adaptación endocrino-reproductiva en altura; Propiedades biológicas de plantas medicinales altoandinas; Andrología; Salud materno-Infantil; Dermato-endocrinología. Asimismo, varios de sus proyectos de investigación utilizan modelos murinos como la realizada por González G. y col. (31). o el estudio de Leiva J. (66). Además, estudios con modelos murinos han recibido honorables premios, lo que indica condiciones apropiadas y de calidad para el desarrollo del protocolo de experimentación para llevar a cabo nuestro proyecto de tesis sin ningún inconveniente.

#### **7.13.2. Mantenimiento preventivo de equipos a utilizar en el experimento**

El programa de mantenimiento se realizó según el Manual de Mantenimiento Preventivo y Correctivo de Equipos de la DIRESA Callao realizado en el 2013, en el cual se establecieron varios puntos como el asegurar el correcto funcionamiento y uso de equipos mediante la utilización de instructivos de operación de todos los equipos de su área, así como llevar el registro diario de los mismos que está diseñado considerando las características del equipo y su uso (frecuencia, condiciones, producto esperado, etc.) siendo requisitos establecidos, consignar el nombre del equipo, marca, serie, fechas de uso y firma del usuario (67), donde poseen los siguientes registros:

- FOR-001 INVENTARIO FÍSICO DE EQUIPOS
- FOR-002 FICHA TÉCNICA DE EQUIPOS
- FOR-003 NECESIDAD DE MANTENIMIENTO DE EQUIPOS
- FOR-004 PROGRAMA DE MANTENIMIENTO DE EQUIPOS DE LABORATORIO
- FOR-005 INFORME DEL SERVICIO DE MANTENIMIENTO DE EQUIPOS
- FOR-006 REGISTRO DE MANTENIMIENTO DE EQUIPOS

- FOR-007 REGISTRO DE EQUIPOS
- FOR-008 TARJETA DE MANTENIMIENTO DE EQUIPOS/APARATOS DE LABORATORIO

Asimismo, se detalló el mantenimiento general de la balanza analítica, donde se mencionó que la balanza se caracteriza por ser instrumento de alta precisión, por lo que las rutinas de mantenimiento a cargo del operador son mínimas y las actividades diarias son las siguientes (67):

- Se limpió el platillo de pesaje, para evitar que tenga residuos de polvo o suciedad. La limpieza se efectuó con una pieza de tela limpia humedecida con agua destilada.
- Se limpió externa e internamente la cámara de pesaje. Se verificó que los vidrios estuvieran libres de polvo.
- Se verificó que los mecanismos de ajuste de la puerta frontal de la cámara de pesaje funcionen adecuadamente (67).

También, se usó la información proporcionada por el Ministerio de Salud (MINSA) respecto al Modelo de Organización de la Red de Laboratorios del Primer Nivel de Atención, donde se detalló que la recuperación de equipos específicos; fue obligatorio establecer tiempos mínimos de garantía (no menores de un año) para la reparación efectuada y los mecanismos efectivos de reclamo y penalidad al proveedor que no cumpla con tal condición (68).

### **7.13.3. Equipo de Protección Personal para los procedimientos experimentales**

Para la realización de los procedimientos descritos en el laboratorio de Endocrinología y Reproducción de UPCH, las personas a cargo del experimento siguieron las normas de higiene y de seguridad estipulado en la Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón creado por el Ministerio de Salud (MINSA) (69); junto al Manual de Bioseguridad de laboratorio de la Organización Mundial de la Salud (OMS), los cuales fueron los siguientes (70):

- Se utilizó mandilón clínico o bata de laboratorio de mangas largas, preferiblemente con puños ajustados, y de uso exclusivo en el laboratorio.
- Se utilizó cubrecalzado apropiado para el laboratorio que cubrió la parte superior del pie.
- Se utilizó gorro quirúrgico, guantes quirúrgicos y cubrebocas para el manejo de las ratas.

#### **7.13.4. Métodos de descontaminación en el laboratorio**

En el Laboratorio de Endocrinología y Reproducción de UPCH, se aplicó el método de descontaminación de superficies inertes como mesas y equipos de laboratorio con solución de alcohol con una concentración del 70%; asimismo, se utilizó para la desinfección de manos del personal (71).

#### **7.13.5. Gestión de desechos a generar en el experimento**

En nuestro país se aplica la NTS N°144.MINSA/2018/DIGESA “Gestión integral y manejo de residuos sólidos en establecimientos de salud, servicios médicos de apoyo y centros de investigación”, donde se clasifica en clase A para los residuos biocontaminados en bolsa roja (residuos contaminados por agentes infecciosos o con concentraciones de microorganismos de potencial riesgo para la persona, clase B para los residuos especiales en bolsa amarilla (con características agresivas tales como corrosividad, reactividad, inflamabilidad, toxicidad, explosividad y radiactividad), que se reúnen en residuos químicos peligrosos, residuos farmacéuticos y radiactivos; y clase C, para los residuos comunes en bolsa negra, los cuales no pertenecen a ninguna de las categorías mencionadas con anterioridad (72).

Por lo tanto, los procedimientos para desechar cada tipo de residuo en este experimento fueron los siguientes (72):

- Los objetos punzocortantes fueron colocados en contenedores rígidos y resistentes a perforaciones, etiquetados con el

símbolo de riesgo biológico, para su posterior esterilización con autoclave.

- Los desechos biocontaminados fueron colocados en bolsas de revestimiento de color rojo, para su posterior esterilización con autoclave.
- Los desechos no peligrosos y generales fueron colocados en contenedores con bolsas de revestimiento de color negro.

Las ratas de experimentación tras pasar un proceso de eutanasia y extracción de sangre mediante punción cardíaca pasaron al procedimiento de desecho anteriormente descrito. Asimismo, el laboratorio de Endocrinología y Reproducción de UPCH cumplió con esta normativa (73).

## VIII. RESULTADOS

### 8.1. Variación de glucosa en ayunas entre el día 0 y día 30 del experimento

Respecto a la variación de los niveles de glucemia, el grupo control después de los 30 días solo incrementó en 1.8 mg/dL de su valor basal ( $p=0.315$ ), mientras que, el grupo SCH presentó un aumento de 17.3 mg/dL ( $p=0.024$ ). Al comparar el delta de glucosa entre ambos grupos, se observó una diferencia significativa con un  $p=0.002$  (*Tabla 2, Gráfico 1*).

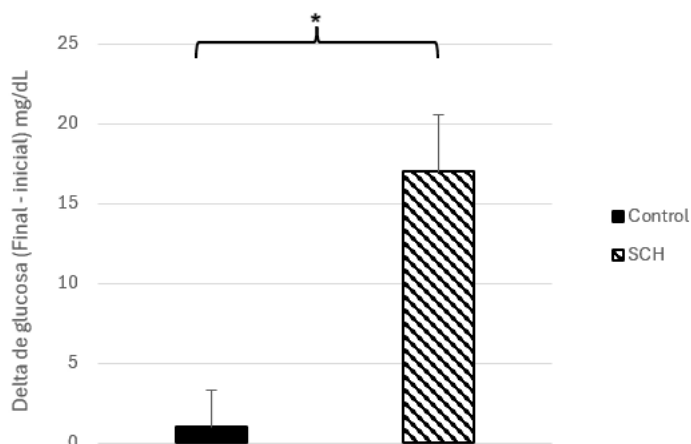
**Tabla 2.** Niveles de glucosa en la fase de inducción a sobrecarga de hierro

| Grupo | Glucosa 0      | Glucosa 30      | $\Delta$ Glucosa (Día 30 - 0) | p - value (intra-grupo) | p - value (entre grupo) |
|-------|----------------|-----------------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1     | 90.5 $\pm$ 3.2 | 92.3 $\pm$ 2.6  | 1.8 $\pm$ 3.6                 | 0.315                   | 0.002                   |
| 2     | 94.6 $\pm$ 4.4 | 111.9 $\pm$ 5.6 | 17.3 $\pm$ 2.3                | 0.024                   |                         |

**Nota:** Datos expresados como media  $\pm$  error estándar (EE). Las comparaciones intra-grupo se realizó mediante la prueba t-Student pareada (Día 30 vs. Día 0); y las comparaciones entre grupos mediante la prueba de ANOVA. Se consideró significancia estadística cuando  $p<0.05$ .

**Fuente:** Elaboración propia.

**Gráfico 1.** Cambio absoluto de glucosa al día 30 respecto al valor basal



**Nota:** SCH: Sobrecarga de Hierro; \* =  $p < 0.05$  mediante prueba de ANOVA. Datos expresados como media  $\pm$  error estándar (EE) del  $\Delta$  Glucosa (Día 30 - 0); cuyo valor es  $17.3 \pm 2.3$  en grupo SCH ( $p = 0.024$ ) y  $1.8 \pm 3.6$  en grupo control ( $p = 0.315$ ).

**Fuente:** Elaboración propia.

## 8.2. Variación de glucosa en ayunas entre el día 30 y día 44 del experimento

En la fase de tratamiento, desde el día 31 al 44, se administraron las respectivas soluciones de tratamiento y sulfato ferroso al grupo SCH + EHMN y grupo SCH + MET, además de la continua administración de 1 mL de sulfato ferroso al grupo SCH. Durante ello, el grupo control presentó una mínima variación en los niveles de glucemia al día 44 en comparación al día 30, registrando una disminución de 4.7 mg/dL ( $p = 0.055$ ), mientras que el grupo SCH registró un aumento de 10.3 mg/dL ( $p = 0.027$ ). Por otro lado, el grupo SCH + EHMN disminuyó en 25.8 mg/dL los niveles de glucosa en sangre ( $p = 0.001$ ), mientras que, el grupo SCH + MET redujo en 24.5 mg/dL ( $p = 0.001$ ).

Asimismo, estos dos últimos grupos tratados no presentaron significancia en el delta de valores de glucemia ( $p = 0.997$ ), lo que indica que el efecto de la maca negra es comparable con la metformina al generar la misma respuesta convencional. Al comparar el delta de glucemia entre el grupo SCH con el grupo SCH + EHMN, se observó diferencia significativa ( $p = 0.001$ ), lo cual fue una situación similar al comparar el delta de glucemia del grupo SCH con el grupo SCH + MET ( $p = 0.001$ ) (*Tabla 3, Gráfico 2*) (*Anexo 10, Figura 1*).

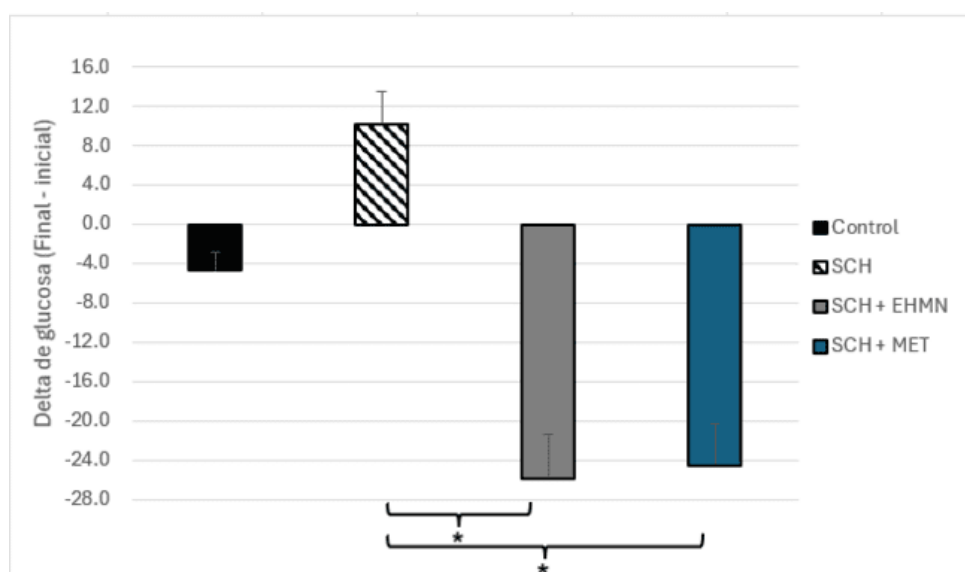
**Tabla 3.** Niveles de glucosa en la fase de tratamiento

| Grupo | Glucosa 30      | Glucosa 44      | $\Delta$ Glucosa (Día 44 - 30) | p - value (intra-grupo) | p - value (entre grupo) |
|-------|-----------------|-----------------|--------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1     | 95.2 $\pm$ 2.6  | 87.7 $\pm$ 2.4  | -4.7                           | 0.055                   | <0.001                  |
| 2     | 117.2 $\pm$ 5.3 | 119.8 $\pm$ 7.5 | 10.3                           | 0.027                   |                         |
| 3     | 107.8 $\pm$ 3.7 | 82.0 $\pm$ 2.0  | -25.8                          | 0.001                   |                         |
| 4     | 110.7 $\pm$ 4.7 | 86.2 $\pm$ 1.9  | -24.5                          | 0.001                   |                         |

**Nota:** Datos expresados como media  $\pm$  error estándar (EE). Las comparaciones intra-grupo se realizó mediante la prueba t-Student pareada (Día 44 vs. Día 30); y las comparaciones entre grupos mediante la prueba de ANOVA. Se consideró significancia estadística cuando  $p < 0.05$ .

**Fuente:** Elaboración propia.

**Gráfico 2.** Cambio absoluto de glucosa al día 44 respecto al día 30 en todos los grupos experimentales



**Nota:** SCH: Sobrecarga de Hierro; EHMN: Extracto Hidroalcohólico de Maca Negra; MET: Metformina. \* =  $p < 0.05$  mediante prueba de ANOVA y post-hoc de Scheffé. Datos expresados como media  $\pm$  error estándar (EE) del  $\Delta$  Glucosa (Día 44 - 30); cuyo valor es -25.8 en grupo SCH + EHMN ( $p = 0.001$ ), -24.5 en grupo SCH + MET ( $p = 0.001$ ), 10.3 en grupo SCH y -4.7 en grupo control ( $p = 0.027$ ).

**Fuente:** Elaboración propia.

### 8.3. Valores de insulina, índice HOMA-IR y HOMA- BETA al final del experimento

Al evaluar estadísticamente los valores de insulina obtenidos el día 44, no se encontraron diferencias estadísticas entre los grupos ( $p = 0.133$ ), a pesar de una

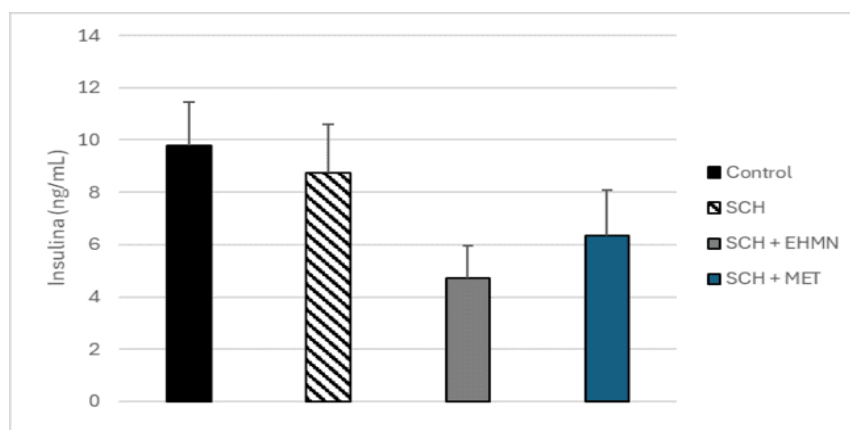
pequeña tendencia a la significancia entre los grupos 2 y 3 (*Tabla 4, Gráfico 3*).

**Tabla 4.** Niveles de insulina en todos los grupos

|            | INSULINA        | p-value |
|------------|-----------------|---------|
| Control    | $9.8 \pm 1.7^a$ | 0.133   |
| SCH        | $8.7 \pm 1.9^a$ |         |
| SCH + EHMN | $4.7 \pm 1.3^a$ |         |
| SCH + MET  | $6.4 \pm 1.7^a$ |         |

**Nota:** SCH: Sobrecarga de Hierro; EHMN: Extracto Hidroalcohólico de Maca Negra; MET: Metformina. Datos expresados como media  $\pm$  error estándar (EE) del nivel de insulina al Día 44. Letras superíndice diferentes señalan diferencias significativas entre grupos según la prueba post hoc ( $p < 0.05$ ); los grupos que comparten al menos una letra no presentan diferencias significativas.  
**Fuente:** Elaboración propia.

**Gráfico 3.** Concentración de insulina (ng/mL) en todos los grupos



**Nota:** SCH: Sobrecarga de Hierro; EHMN: Extracto Hidroalcohólico de Maca Negra; MET: Metformina. Se obtuvieron los siguientes valores: Control =  $9.8 \pm 1.7$ ; SCH =  $8.7 \pm 1.9$ ; SCH + EHMN =  $4.7 \pm 1.3$ ; SCH + MET =  $6.4 \pm 1.7$ .

**Fuente:** Elaboración propia.

Asimismo, al calcular el HOMA-IR en todos los grupos, se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos SCH y SCH+EHMN ( $p=0.018$ ); y SCH + MET ( $p=0.036$ ) (*Tabla 5, Gráfico 4*); en el caso de HOMA-BETA, se obtuvo un ( $p=0.02$ ), siendo la diferencia estadísticamente significativa entre los grupos control y SCH ( $p=0.030$ ). No se observó diferencia significativa entre los demás grupos (*Tabla 6, Gráfico 5*).

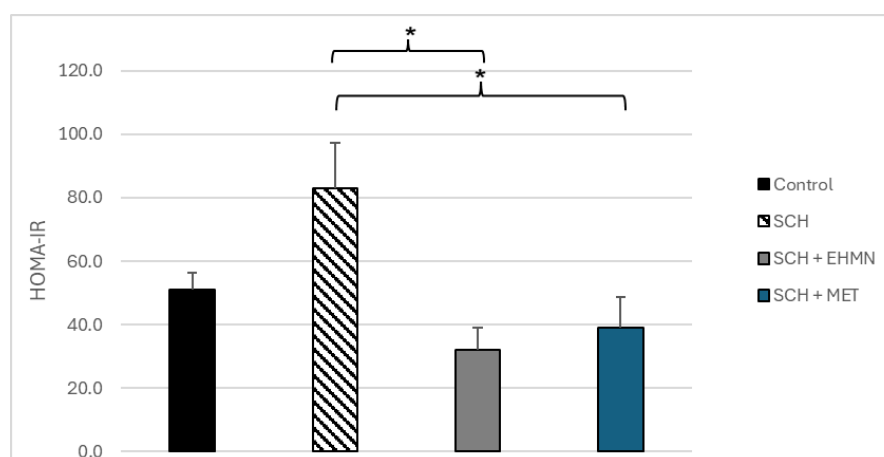
**Tabla 5.** Niveles de índice HOMA-IR en todos los grupos

|            | HOMA-IR                  | p-value |
|------------|--------------------------|---------|
| Control    | 51.0 ± 5.3 <sup>ab</sup> | 0.009   |
| SCH        | 83.1 ± 14.0 <sup>a</sup> |         |
| SCH + EHMN | 31.9 ± 7.0 <sup>b</sup>  |         |
| SCH + MET  | 39.0 ± 9.5 <sup>b</sup>  |         |

**Nota:** SCH: Sobrecarga de Hierro; EHMN: Extracto Hidroalcohólico de Maca Negra; MET: Metformina. Valores calculados a partir de datos individuales de cada rata expresados como media ± error estándar (EE) del nivel de HOMA-IR al Día 44. Letras superíndice diferentes señalan diferencias significativas entre grupos según la prueba post hoc ( $p < 0.05$ ); los grupos que comparten al menos una letra no presentan diferencias significativas.

**Fuente:** Elaboración propia.

**Gráfico 4.** Niveles de índice HOMA-IR en todos los grupos



**Nota:** SCH: Sobrecarga de Hierro; EHMN: Extracto Hidroalcohólico de Maca Negra; MET: Metformina. \* =  $p < 0.05$  mediante prueba de ANOVA y post-hoc de Scheffé. Se obtuvieron los siguientes valores: Control = 51.0 ± 5.3; SCH = 83.1 ± 14.0; SCH + EHMN = 31.9 ± 7.0; SCH + MET = 39.0 ± 9.5.

**Fuente:** Elaboración propia.

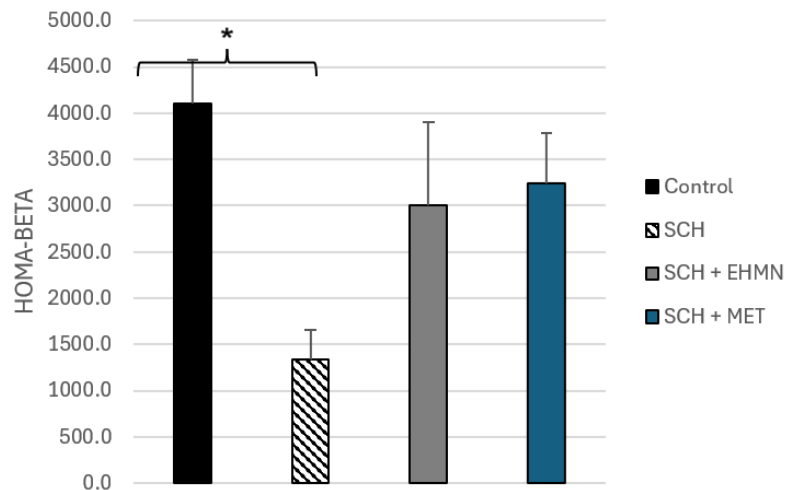
**Tabla 6.** Niveles de índice HOMA-BETA en todos los grupos

|            | HOMA-BETA                     | p-value |
|------------|-------------------------------|---------|
| Control    | 4105.8 ± 469.0 <sup>a</sup>   | 0.02    |
| SCH        | 1341.6 ± 314.4 <sup>b</sup>   |         |
| SCH + EHMN | 3010.7 ± 892.0 <sup>a,b</sup> |         |
| SCH + MET  | 3237.5 ± 549.6 <sup>a,b</sup> |         |

**Nota:** SCH: Sobrecarga de Hierro; EHMN: Extracto Hidroalcohólico de Maca Negra; MET: Metformina. Valores calculados a partir de datos individuales de cada rata y expresados como media ± error estándar (EE) del nivel de HOMA-BETA al Día 44. Letras superíndice diferentes señalan diferencias significativas entre grupos según la prueba post hoc ( $p < 0.05$ ); los grupos que comparten al menos una letra no presentan diferencias significativas.

**Fuente:** Elaboración propia.

**Gráfico 5.** Niveles de índice HOMA-BETA en todos los grupos



**Nota:** SCH: Sobrecarga de Hierro; EHMN: Extracto Hidroalcohólico de Maca Negra; MET: Metformina. \* =  $p < 0.05$  mediante prueba de ANOVA y post-hoc de Scheffé. Se obtuvieron los siguientes valores: Control = 4105.8 ± 469.0; SCH = 1341.6 ± 314.4; SCH + EHMN = 3010.7 ± 892.0; SCH + MET = 3237.5 ± 549.6.

**Fuente:** Elaboración propia.

#### 8.4. Peso corporal de la rata según grupo control y grupo de SCH al día 30

En la **Gráfico 6**, se observa que hasta el día 15 no hay una tendencia clara de incremento de peso en ambos grupos (control y SCH [aquellos que recibieron hierro]), pues del día 10 al 13 el grupo SCH presenta un mayor incremento de peso en comparación del grupo control; sin embargo, esta situación se

revierte a partir del día 15, donde el grupo control presenta una mayor tendencia al crecimiento en comparación del grupo SCH, diferencia que se mantiene hasta el día 29. Dicha tendencia es más notoria en el día 22, donde se registra una caída en el incremento del peso corporal en ambos grupos.

Para el día 30, ambos grupos (Control y SCH) evidencian un incremento significativo de peso corporal a nivel grupal de 16.33% y 15.47%, con un  $p < 0.001$  para el grupo control y grupo SCH. Sin embargo, no se observa diferencia significativa al comparar el delta de peso corporal entre ambos grupos ( $p = 0.882$ ), indicando que durante esta fase la administración de sulfato ferroso no genera un efecto diferente a lo observado en el grupo control (*Tabla 7, Gráfico 6*).

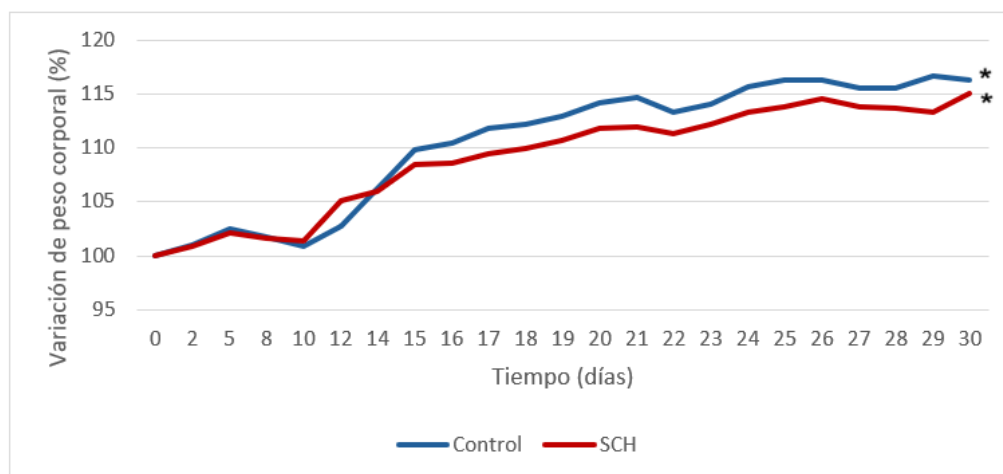
**Tabla 7.** Valores de peso corporal en la fase de inducción a sobrecarga de hierro

| Grupo | Peso 0       | Peso 30      | p - value (intra-grupo) | p - value (entre grupo) |
|-------|--------------|--------------|-------------------------|-------------------------|
| 1     | 405.8 ± 10.0 | 486.0 ± 10.9 | <0.001                  | 0.882                   |
| 2     | 418.3 ± 5.1  | 481.4 ± 5.9  | <0.001                  |                         |

**Nota:** Datos expresados como media ± error estándar (EE). Las comparaciones intra-grupo se realizó mediante la prueba t-Student pareada (Día 30 vs. Día 0); y las comparaciones entre grupos mediante la prueba de ANOVA. Se consideró significancia estadística cuando  $p < 0.05$ .

**Fuente:** Elaboración propia.

**Gráfico 6.** Variación porcentual de peso corporal en la fase de inducción a sobrecarga de hierro



**Nota:** SCH: Sobrecarga de Hierro.  $*=p < 0.05$  mediante la prueba t-Student pareada (Día 30 vs. Día 0) a nivel intragrupal; y las comparaciones entre grupos mediante la prueba de ANOVA. El peso basal fue considerado como el 100%, a partir del cual se calcularon los pesos posteriores para evaluar la variación en función del tiempo. Los valores de variación porcentual fueron: Control =  $16.33 \pm 6.29$  ( $p=0.001$ ); SCH =  $15.47 \pm 8.46$  ( $p=0.001$ ).

**Fuente:** Elaboración propia.

### 8.5. Peso corporal de la rata en todos los grupos al día 44 respecto al día 30

Después de la fase de tratamiento, se observó que tanto el grupo control y grupo SCH presentaron una mayor tendencia al incremento de peso corporal en comparación de los otros dos grupos, siendo el grupo control el que mantuvo la mayor tendencia durante la mayor parte de este periodo, aunque al final, el grupo SCH supera al grupo control (**Gráfico 7**).

Al evaluar estadísticamente, el peso corporal del grupo control incrementó un 3.78% entre los días 30 y 44 ( $p=0.002$ ), mientras que, el grupo SCH incrementó un 4.05% ( $p=0.001$ ); sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en los deltas de peso corporal de ambos grupos ( $p=0.248$ ). Asimismo, el grupo SCH + EHMN no presentó significancia en el aumento del peso corporal ( $p=0.102$ ), en cambio, el grupo SCH + MET sí presentó significancia ( $p=0.024$ ). A pesar de obtener estos resultados entre estos grupos tratados, no se presentó significancia estadística al comparar el delta de peso corporal de ambos grupos ( $p=0.248$ ) (**Tabla 8, Gráfico 7**); de igual manera, mediante la prueba post-hoc de Scheffé se observó que no hay significancia en el delta entre grupos (**Anexo 10, Figura 1**).

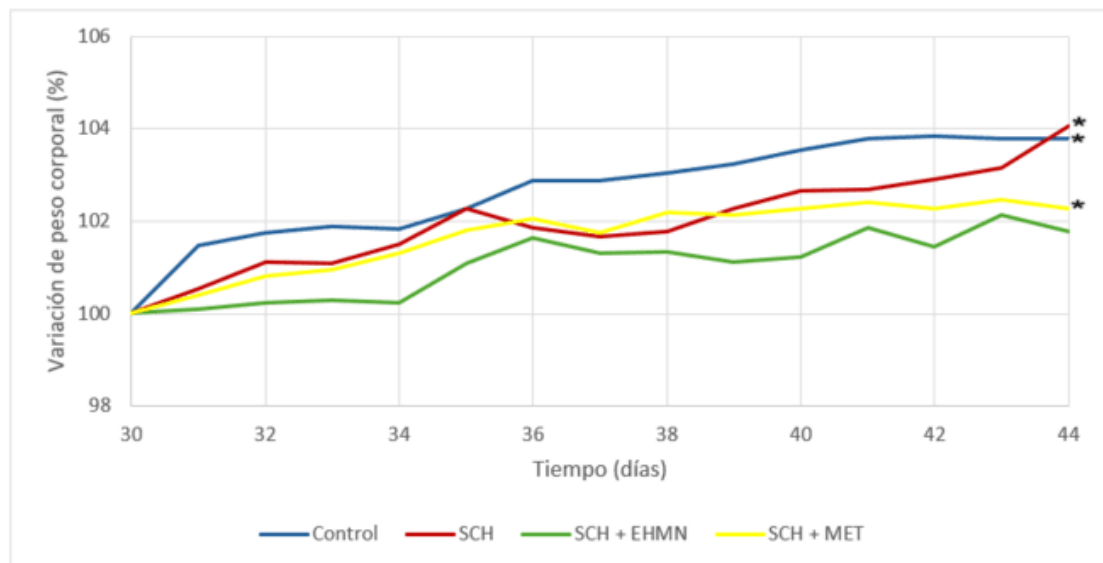
**Tabla 8.** Valores de peso corporal en la fase de tratamiento

| Grupo      | Peso 30          | Peso 44          | p - value (intra-grupo) | p - value (entre grupo) |
|------------|------------------|------------------|-------------------------|-------------------------|
| Control    | $466.7 \pm 15.5$ | $484.3 \pm 15.6$ | 0.002                   | 0.248                   |
| SCH        | $483.2 \pm 13.6$ | $502.8 \pm 9.8$  | 0.001                   |                         |
| SCH + EHMN | $475.3 \pm 5.6$  | $483.5 \pm 8.9$  | 0.102                   |                         |
| SCH + MET  | $486.0 \pm 10.9$ | $497.0 \pm 8.6$  | 0.024                   |                         |

**Nota:** Datos expresados como media  $\pm$  error estándar (EE). Las comparaciones intra-grupo se realizó mediante la prueba t-Student pareada (Día 30 vs. Día 0); y las comparaciones entre grupos mediante la prueba de ANOVA. Se consideró significancia estadística cuando  $p < 0.05$ .

**Fuente:** Elaboración propia.

**Gráfico 7.** Variación porcentual de peso corporal en todos los grupos



**Nota:** SCH: Sobrecarga de Hierro; EHMN: Extracto Hidroalcohólico de Maca Negra; MET: Metformina. \* $p < 0.05$  mediante la prueba t-Student pareada (Día 44 vs. Día 30) a nivel intragrupal; y las comparaciones entre grupos mediante la prueba de ANOVA y post-hoc de Scheffé. El peso del Día 30 fue considerado como el 100%, a partir del cual se calcularon los pesos posteriores para evaluar la variación en función del tiempo. Los valores de variación porcentual fueron: Control =  $3.78 \pm 1.11$  ( $p = 0.002$ ); SCH =  $4.05 \pm 1.05$  ( $p = 0.001$ ); SCH + EHMN =  $1.78 \pm 0.70$  ( $p = 0.102$ ); SCH + MET =  $2.26 \pm 0.78$  ( $p = 0.024$ ).

**Fuente:** Elaboración propia.

## IX. DISCUSIÓN

En el presente estudio, se empleó una dosis de 7.5 mg/kg de hierro elemental en ratas macho, la cual corresponde aproximadamente a 1.22 mg/kg en humanos tras la corrección por tasa metabólica (74); siendo similar con la dosis del manejo de suplementación preventiva contra la anemia en poblaciones vulnerables como niños menores de 6 meses, lo que sugiere su relevancia fisiológica en contextos clínicos reales. El uso de ratas adultas en el modelo experimental permite simular una situación de carga férrica acumulada, semejante a la que puede desarrollarse en humanos a lo largo del tiempo debido a factores como la dieta, exposición ambiental o intervenciones terapéuticas prolongadas, lo que no se lograría con ratas de menor edad, teniendo en cuenta que un modelo de SCH se realiza durante 4 semanas (75). Esta aproximación experimental permite evaluar con mayor

precisión los efectos de tratamientos como el extracto hidroalcohólico de maca negra (EHMN) y metformina (MET), sobre un contexto biológico de sobrecarga de hierro (SCH).

Se ha encontrado que tras la administración de 7.5 mg/kg de hierro elemental a ratas macho en un periodo de 30 días incrementó significativamente los niveles de glucemia, valores que se mantienen similares al día 44 en aquellas ratas que continúan la inoculación con sulfato ferroso sin ningún tratamiento, mientras que, los valores se reducen significativamente en los grupos que reciben EHMN en 25.8 mg/dL y MET en 24.5 mg/dL, siendo el efecto similar de ambos tratamientos, pues no se observa diferencia estadística al comparar el delta de estos grupos. Los resultados reportados concuerdan con lo obtenido por Rivera J, donde tras una ingesta de 5 mg/kg de hierro elemental se genera una sobrecarga de hierro en ratones, produciéndose hiperglucemia, con un incremento de 30 mg/dL del nivel de glucemia (12).

El desbalance de marcadores metabólicos en este estudio experimental podría estar relacionado a la interrupción de la vía de señalización BMP/Smad pues reduce la transcripción de la hepcidina, genera SCH a nivel plasmático y tisular dañando los órganos, lo cual termina en ferroptosis (76, 77). En primer lugar, esto se debe a la inhibición del sistema antiportador cistina/glutamato Xc, lo que genera una disminución de la síntesis del antioxidante glutatión (GSH) (78) cuyo rol fundamental es la protección de las células de la acumulación de L-ROS para limitar la formación adicional de radicales alcoxilo altamente reactivos (L-OO\*) (79), como lo observado en ratones con aterosclerosis inducida por una dieta rica en grasas, quienes desarrollan esa condición por el exceso de producción de ROS acelerada por la diabetes (80).

Asimismo, la enzima hemooxigenasa (HOMX-1) participa en el metabolismo del hierro dentro de los tejidos para degradar el hemo y producir biliverdina, monóxido de carbono de carbono (CO) y hierro ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ); y su gen podría ser responsable de la ferroptosis en un entorno diabético, ya que Meng et al. encontró que su expresión incrementaba conforme avanzaba los estadios de la diabetes, induciendo a SCH y estrés oxidativo (80).

La SCH produce mayores niveles de ROS dentro de las mitocondrias, lo que está asociado con obesidad, RI y DM2. No solo está asociada la disfunción de los

islotos por el incremento de depósitos de hierro en las células pancreáticas (81, 82), sino también puede provocar la pérdida de la actividad neuronal de AgRP y perjudicar la señalización central de insulina y leptina en las neuronas AgRP, lo que activa el estrés del retículo endoplasmático y la inflamación, finalizando en la intolerancia a la glucosa y a niveles elevados de glucosa en sangre (82 - 84).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), dentro de la terapia de primera línea para el tratamiento de Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2), la metformina es uno de los fármacos más usados debido a su eficacia en el control y tratamiento de glucemia y perfil de seguridad pues rara vez ocasiona hipoglucemia y mortalidad, además ha demostrado atenuar la calcificación vascular al tener efectos antiferroptóticos en células musculares lisas vasculares donde se suprime la expresión de GPx4 por la disminución de la síntesis de glutatión (85, 86). No obstante, se han reportado diversos efectos adversos tanto en roedores como en humanos, dentro de los cuales, se encuentran efectos en la histología hepática, renal y del bazo diferentes grados como necrosis, edema, congestión y hemorragia en ratas hembras (87); reducción de la tasa de fertilidad pues solo un 37.5% de los ratones machos tratados tuvieron una reproducción exitosa (88); y molestias gastrointestinales como diarrea, náuseas y sabor metálico, deficiencia de vitamina B12, acidosis láctica raramente (0-0,09 casos por 1000 pacientes-año) en humanos (89). Inclusive cada 1 g/día de uso de metformina se asocia con un riesgo anual 2% mayor de anemia en la población observacional de Genetics of Diabetes Audit and Research in Tayside Scotland (GoDARTS) (90), el tratamiento con metformina que recibe el padre antes de la concepción de su hijo le genera defectos congénitos genitales al niño (91), y un mayor riesgo de desarrollar enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) (92).

Asimismo, se ha determinado que este fármaco puede generar depósitos que terminen dañando la homeostasis corporal y también que a largo plazo se genere resistencia sobre los receptores involucrados en el metabolismo de la glucosa. Se han descrito algunos mecanismos por los cuales la metformina es el fármaco de primera línea en la DM2, una de ellas es la inhibición no competitivo de complejo I (93) de la cadena respiratoria mitocondrial, lo que termine en la reducción de la oxidación de NADH, disminuyendo la gradiente de protones a través de la

membrana mitocondrial interna para limitar la producción de ATP y favorece el incremento de los niveles de AMP y ADP, lo que estimula la activación de AMPK (94, 95) para la restauración del equilibrio energético (96). A pesar de que se necesite altas concentraciones de metformina para lograr esta inhibición reversible el complejo I (93), este fármaco se puede acumular en las células, activando las vías relacionadas con la proteína quinasa activada por AMP (AMPK) alterando rutas como la gluconeogénesis hepática y promoviendo la beta oxidación de los ácidos grasos, pues la AMPK es una proteína quinasa que funciona como un indicador de energía al detectar constantemente el estado energético celular al monitorear los niveles de AMP, ADP y ATP (94, 95) ; en este caso al disminuir los niveles de ATP y aumentar los de AMP, ADP y ATP, se inhibe los procesos anabólicos que consumen ATP y promueve las procesos catabólicos generadoras de ATP (97). Esta regulación energética originada por la metformina a largo plazo podría generar anomalías mitocondriales, como la reducción en la adecuada funcionalidad de la cadena respiratoria mitocondrial o mutaciones específicas en proteínas clave de la mitocondria, que terminaría en una resistencia al propio fármaco al alterar el sitio de unión de la metformina al complejo I, además se señala que se recomienda realizar más estudios sobre la interacción entre el fármaco y la integridad estructural del complejo I (98).

Asimismo, lo alarmante es que, dentro del control de la salud pública y medidas de control nutricional, se busca soluciones terapéuticas más no preventivas, por ello uno de los resultados y pilares de la presente investigación muestra que los resultados entre el extracto de maca negra y la metformina actúan de manera similar sobre los parámetros, sumado a ello, es que los extractos de maca por la literatura científica no presentan valores sustanciales de toxicidad (99). La maca negra, dentro de su composición, contiene componentes principales (almidón, fibra dietética y proteína) y secundarios (minerales, polisacáridos no amiláceos, polifenoles [flavonolignanos], macaenos, macamidas, glucosinolatos y alcaloides) de la maca ya sea de la raíz o partes aéreas (100).

Esta planta tiene un poder antioxidante, es así como Troya et al. (2017) ha demostrado que tiene una capacidad antioxidante in vitro de 41.5% y 19% en los valores de IC<sub>50</sub> al emplear ABTS•+ y DPPH, respectivamente (36, 101). Además, el extracto de maca (1-3 mg/mL) inhibe en un 57% - 74% la degradación in vitro

de la desoxirribosa por radicales hidroxilo (102), lo que estaría contrarrestado la ferroptosis inducida elevada producción de estas ROS, incluso se ha demostrado mediante estudio in silico que los compuestos bioactivos macamidas y macaenos presentes en esta planta son responsables del (A14) aumento de los niveles hepáticos de ARNm de Ppar  $\alpha$  (0,20 veces,  $P < 0,01$ ) (33), proteína que está asociada a la disminución de la ferroptosis inducida por sobrecarga de hierro en el hígado de ratón al promover la expresión de la GPx4 e inhibir la expresión del transportador de hierro plasmático TRF, pues los ratones knock out de PPAR $\alpha$  desarrollaron ferroptosis, la cual se volvió más severa cuando los ratones recibieron una dieta rica en grasas (103). Asimismo, la presencia de metabolitos como el glucosinolato glucotropaeolina dentro de la composición química de la maca negra (104), que también se encuentra presente en las plantas de capuchina, se ha asociado a la mejora de la secreción del péptido (PYY) desde las células L residentes en el intestino delgado, hormona que se encuentra involucrada en la regulación energética y ha demostrado resultados muy prometedores en pacientes con diabetes tipo 2 (105). Asimismo, la suplementación con maca negra mejoró los deterioros metabólicos en hámsteres dorados a través de la regulación de los niveles de actividad de las enzimas que catalizan reacciones irreversibles que ciclo de glucólisis/gluconeogénesis-TCA a través de efectos alostéricos para lograr un flujo neto hacia la gluconeogénesis o la glucólisis en el hígado, favoreciendo la oxidación de la glucosa (33), además de incrementar la expresión de ARNm en los hepatocitos de la enzima glucosa 6-fosfato (G6P) con una administración de 1200 mg/kg de extracto acuoso de maca negra (AEM) (106, 107).

Tras la determinación de los valores de insulina y el cálculo del HOMA-IR y HOMA-BETA, se observó que hubo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos para HOMA-IR. Puesto que, es utilizado para determinar la resistencia a la insulina, reflejando la sensibilidad de los tejidos periféricos a esta hormona, en cambio, el HOMA-BETA permite determinar la capacidad de las células beta para la secreción de insulina (108). El HOMA-IR en el grupo SCH fue significativamente mayor a comparación del grupo SCH + EHMN y siguió la misma tendencia, pero sin significancia con los demás grupos, asociándose a una primera etapa de una posible regulación en baja de los receptores insulínicos en

los tejidos periféricos, reduciendo su sensibilidad y generando la hiperglucemia demostrada en este estudio (108).

Respecto al HOMA-BETA, si bien al analizar las concentraciones de insulina entre los diferentes grupos no se evidencian diferencias significativas, se debe considerar de forma conjunta el índice HOMA-BETA ya que brinda alcances respecto a la funcionalidad de las células beta pancreáticas (109). En el grupo de SCH+EHMN, los niveles de insulina son menores en comparación de los demás grupos, y está asociado a un HOMA-BETA mayor al del grupo SCH; por lo que, ello indica que existe una mayor eficiencia en la funcionalidad de las células beta (109). En otras palabras, una cantidad mínima de insulina excretada es suficiente para lograr una adecuada captación de glucosa por los tejidos periféricos. Aquellos que fueron tratados con MET presentaron un nivel mayor de insulina en comparación con EHMN, pero menor a los grupos de SCH y control (109). A pesar de ello, este grupo presentó valores similares de HOMA-BETA indicando una buena función de las células beta pancreáticas en comparación a los grupos no tratados (109).

Respecto al grupo SCH, tiene un valor menor de insulina que el grupo control y mayor que aquellos con tratamiento, asociado a un HOMA-BETA bastante menor a comparación de los demás grupos, lo cual genera una mayor exigencia de las células beta al producir más insulina como mecanismo compensatorio frente a una menor eficiencia funcional, causando una concentración insulínica mayor a los demás grupos de tratamiento. En cambio, el grupo control mantuvo niveles de insulina mayores que los demás asociándose a valores similares de HOMA-BETA a los del grupo de tratamiento, lo que se podría pensar es que tiene adecuada funcionalidad de células beta pancreáticas y tiene una secreción insulínica fisiológicamente normal, en contraste con la respuesta compensatoria observada en el grupo SCH.

Asimismo, la razón por la que el grupo SCH + EHMN presentó valores menores de HOMA-IR de manera significativa a comparación del SCH es posiblemente debido a que esta planta altoandina tiene actividad insulinomimética in vitro en células adiposas 3T3-L1, lo que permite aumentar la captación de glucosa sin actuar necesariamente como un agonista directo del receptor de insulina (IR), asimismo, conduce a la activación de la vía PI3K/Akt en adipocitos, involucrada

en la translocación de GLUT4 en la membrana siendo fuente del aumento de la captación de glucosa (110); por lo cual, el EHMN estaría facilitando la captación de glucosa sin necesidad de niveles de insulina grandes. Además, el poder antioxidante de los compuestos bioactivos de la maca negra es capaz de contrarrestar el daño causado por la ferroptosis en las membranas celulares de los tejidos periférico, esto sobre todo por el aumento de los niveles hepáticos de ARNm de Ppar  $\alpha$  asociado al glucosinolato glucotropaeolina, macaenos y macamidas (103). Por otro lado, se pudo observar un valor de HOMA-IR significativamente menor en el grupo de SCH+MET en comparación con el grupo SCH, esto debido a la capacidad de la metformina para inhibir la producción hepática de glucosa en desórdenes metabólicos, tal como lo indicado por Zhao H. et al. en su estudio de mujeres con síndrome de ovario poliquístico (SOP) (111). Después de la madurez en ratas macho (150 días o 5 meses), el peso corporal aumenta de forma constante, lo cual se evidenció en todos los grupos desde el 30 a 44 días del experimento (112). De la misma manera, el grupo de SCH creció ligeramente más que el grupo control debido a la suplementación con sulfato ferroso de 7.5 mg/kg peso corporal de rata, lo cual es semejante a lo obtenido por Rivera con 5 mg/kg de peso corporal en ratones no obesos (12), mientras que, el grupo control incrementó su peso corporal por su propio desarrollo. En contraste, los grupos tratados con EHMN ( $p=0.102$ ) y MET ( $p=0.024$ ) mantuvieron una variación de peso más estable a lo largo del tiempo, cuya variación del grupo EHMN no fue significativo en comparación con los demás grupos. Por otro lado, el estudio realizado por Gencoglu (2020) encontró que ratas macho Sprague-Dawley de 30 semanas de edad tratadas con polvo de maca (40 mg/kg de peso corporal) durante 60 días mantuvieron su peso corporal ( $p>0.05$ ) (113). La coincidencia entre ambos estudios, independiente de la diferencia de edad de la rata, respalda el efecto modulador de la maca negra sobre el metabolismo sin variaciones significativas en el peso corporal incluso a mayores dosis y tiempo de tratamiento. A su vez, este resultado se puede asociar a la variación de la concentración de seis intermediarios del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA): citrato, 2-oxoglutarato, fumarato, malato, oxalacetato y succinato, demostrado por Patterson et al. (2011) (114); y la regulación de esta ruta metabólica es

fundamental en el tratamiento de sujetos humanos obesos y diabéticos tipo 2 (115, 116).

## **X. FORTALEZAS Y LIMITACIONES**

Una de las principales fortalezas es que la pregunta de investigación y el objetivo del estudio es que muestra uno de los efectos colaterales de la suplementación desproporcionada del consumo de hierro, tanto en la dieta como en los suplementos. Por otro lado, la principal debilidad fue obtener muestras con mediciones puntuales al inicio y al final, ya que se abordan marcadores bioquímicos, estos deberían ser medidos con mayor frecuencia para determinar el efecto y su variación sobre la glucemia y otros parámetros. Otro punto es que se debe estudiar la activación de los receptores asociados a la insulina para determinar la respuesta de la maca.

## **XI. CONCLUSIONES**

Se observa que la SCH en la dieta genera un aumento significativo de la glucemia basal, siendo un potencial diabetógeno. Asimismo, la suplementación con EHMN muestra un efecto hipoglucemiante preliminar comparable al de la metformina en este modelo experimental, lo que sugiere un efecto atenuante ante alteraciones glucémicas inducidas por el hierro.

## **XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Ministerio de Salud. NTS N°134-2017 Norma técnica para el manejo terapéutico y preventivo de la anemia en niños, adolescentes, mujeres gestantes y puérperas [Internet]. 2017 [citado el 02 de abril de 2024]. Disponible en: [https://anemia.ins.gob.pe/sites/default/files/2017-08/RM\\_250-2017-MINSA.PDF](https://anemia.ins.gob.pe/sites/default/files/2017-08/RM_250-2017-MINSA.PDF)
2. Georgieff M, Krebs N, Cusick S. The Benefits and Risks of Iron Supplementation in Pregnancy and Childhood. Annu Rev Nutr. [Internet]. 2019; [citado el 02 de abril de 2024]. 39:121-46. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31091416/>

3. Ministerio de Salud. NTS N°213-2024. Norma técnica de salud: Prevención y control de la anemia por deficiencia de hierro en el niño y la niña, adolescentes, mujeres en edad fértil, gestantes y puérperas [Internet]. 2024 [citado el 16 de abril de 2024]. Disponible en: <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/6166763/5440166-resolucion-ministerial-n-251-2024-minsa.pdf>
4. McMillen S, Dean R, Dihardja E, et al. Benefits and Risks of Early Life Iron Supplementation. *Nutrients* [Internet]. 2022 [citado el 02 de abril de 2024]; 14 (20): 4380. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36297062/>
5. Salazar R. Metabolismo del hierro, inflamación y obesidad. *Saber* [Internet]. 2015 [citado el 16 de abril de 2024]; 27 (1). Disponible en: [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-01622015000100002](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-01622015000100002)
6. Sermini C, Acevedo M. Arredondo M. Biomarcadores del metabolismo y nutrición de hierro. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2017 [citado el 16 de abril de 2024]; 34 (4). Disponible en: <https://www.scielosp.org/article/rpmesp/2017.v34n4/690-698>
7. Roemhild K, Von Maltzahn F, Weiskirchen R, et al. Iron metabolism: pathophysiology and pharmacology. *Trends Pharmacol Sci.* [Internet]. 2021 [citado el 16 de abril de 2024]; 42 (8): 640-656. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7611894/>
8. Cervera A. Anemia de la inflamación/infección. *An Pediatr Contin.* [Internet]. 2012. [citado el 03 de junio de 2024]; 10 (5): 273-81. Disponible en: <https://www.elsevier.es/index.php?p=revista&pRevista=pdf-simple&pii=S1696281812700987&r=51>
9. Chávez J, Huamani A, Yarleque J. La hepcidina y sus implicancias en las estrategias de suplementación con hierro. *Revista Médica Herediana.* [Internet]. 2023. [citado el 03 de junio de 2024]; 34 (3): 180-1. Disponible en: <https://doi.org/10.20453/rmh.v34i3.4930>
10. Gonzales G, Olavegoya P. Fisiopatología de la anemia durante el embarazo: ¿anemia o hemodilución? *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia.* [Internet]. 2019. [citado el 03 de junio de 2024]; 65 (4): 489-502. Disponible

- en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2304-51322019000400013](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-51322019000400013)
11. Rametta R, Dongiovanni P, Pelusi S, Francione P, Iuculano F, Borroni V, et al. Hepcidin resistance in dysmetabolic iron overload. *Liver Int.* [Internet]. 2016. [citado el 04 de mayo de 2024]; 36 (10): 1540-8. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26998752/>
  12. Rivera Manhualaya JM. Efecto de la sobreingesta de sulfato ferroso sobre el hematocrito, la glucemia e histología del hígado y ciego en ratones normales y obesos [Tesis de licenciatura]. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2024. Disponible en: <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/15480>
  13. Harrison A, Lorenzo F, McClain D. Iron and the Pathophysiology of Diabetes. *Annu Rev Physiol.* [Internet]. 2023 [citado el 28 de mayo de 2024]; 85: 339-62. Disponible en: <https://doi.org/10.1146%2Fannurev-physiol-022522-102832>
  14. Petry S, Römer A, Rawat D, et al. Loss and Recovery of Glutaredoxin 5 Is Inducible by Diet in a Murine Model of Diabetes and Mediated by Free Fatty Acids In Vitro. *Antioxidants (Basel)* [Internet]. 2022 [citado el 23 de febrero de 2024]; 11 (4): 788. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35453472/>
  15. Kajarabille N, Latunde G. Programmed Cell-Death by Ferroptosis: Antioxidants as Mitigators. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019 [citado el 23 de febrero de 2024]; 20 (19): 4968. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31597407/>
  16. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2017 [citado el 23 de febrero de 2024]; 2017: 8416763. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28819546/>
  17. Gerber P, Rutter G. The Role of Oxidative Stress and Hypoxia in Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes Mellitus. *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 2017 [citado el 23 de febrero de 2024]; 26 (10): 501-18. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27225690/>

18. Lenzen S, Drinkgern J, Tiedge M. Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues. *Free Radical Biology and Medicine* [Internet]. 1996 [citado el 23 de febrero de 2024]; 20 (3): 463-6. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0891584996020515>
19. Jahng J, Alsaadi R, Palanivel R, et al. Iron overload inhibits late stage autophagic flux leading to insulin resistance. *EMBO Rep* [Internet]. 2019 [citado el 23 de febrero de 2024]; 20 (10): e47911. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31441223/>
20. Jaccard E, Seyssel K, Gouveia A, et al. Effect of acute iron infusion on insulin secretion: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *EClinicalMedicine*. [Internet]. 2022. [citado 3 de junio de 2024];48:101434. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2022.101434>
21. Backe M, Moen I, Ellervik C, et al. Iron Regulation of Pancreatic Beta-Cell Functions and Oxidative Stress. *Annu Rev Nutr* [Internet]. 2016 [citado el 23 de febrero de 2024]; 36: 241-73. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27146016/>
22. Gao H, Yang J, Pan W, et al. Iron Overload and the Risk of Diabetes in the General Population: Results of the Chinese Health and Nutrition Survey Cohort Study. *Diabetes Metab J*. [Internet]. 2022 [citado el 23 de febrero de 2024]; 46 (2): 307-18. Disponible en: <https://e-dmj.org/journal/view.php?doi=10.4093/dmj.2020.0287>
23. Hilton C, Sabaratnam R, Drakesmith H, et al. Iron, glucose and fat metabolism and obesity: an intertwined relationship. *Int J Obes (Lond)*. [Internet]. 2023 [citado el 16 de abril de 2024]; 47 (7): 554-563. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10299911/>
24. Lee W, Lee M, Qu F, et al. Maca (*Lepidium meyenii* Walp.) on semen quality parameters: A systematic review and meta-analysis. *Front Pharmacol*. [Internet]. 2022 [citado el 16 de abril de 2024]; 13: 934740. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36110519/>
25. Alcalde A, Rabasa J. Does *Lepidium meyenii* (Maca) improve seminal quality? *Andrologia*. [Internet]. 2020 [citado el 16 de abril de 2024]; 52 (10): e13755. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32654242/>

26. Zhou B, Chen Y, Luo H, et al. Effect of maca (*Lepidium meyenii*) extract on non-obstructive azoospermia in male mice. *J Ethnopharmacol.* [Internet]. 2023 [citado el 16 de abril de 2024]; 307:116228. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36758913/>
27. Ulloa Del Carpio N, Alvarado D, Quiñones D, et al. Exploring the chemical and pharmacological variability of *Lepidium meyenii*: a comprehensive review of the effects of maca. *Front Pharmacol.* [Internet]. 2024 [citado el 16 de abril de 2024]; 15: 1360422. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10910417/>
28. Zhu H, Xu W, Wang N, et al. Anti-fatigue effect of *Lepidium meyenii* Walp. (Maca) on preventing mitochondria-mediated muscle damage and oxidative stress in vivo and vitro. *Food Funct.* [Internet]. 2021 [citado el 16 de abril de 2024]; 12(7):3132-3141. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33729250/>
29. Rodrigo M, Valdivieso R, Suárez S, et al. Disminución del daño oxidativo y efecto hipoglicemiante de la maca (*Lepidium meyenii* Walp) en ratas con diabetes inducida por streptozotocina. *Anales de la Facultad de Medicina* [Internet]. 2011 [citado el 23 de febrero de 2024]; 72 (1): 7-11. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37920884002>
30. Liu T, Peng Z, Lai W, et al. The Efficient Synthesis and Anti-Fatigue Activity Evaluation of Macamides: The Unique Bioactive Compounds in Maca. *Molecules.* [Internet] 2023 [citado el 16 de abril de 2024]; 28 (9): 3943. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37175353/>
31. Gonzales G, Gonzales 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. *Toxicol Mech Methods* [Internet]. 2013 [citado el 23 de febrero de 2024]; 23 (7): 509-18. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23489070/>
32. Li A, Liu J, Ding F, et al. Maca extracts regulate glucose and lipid metabolism in insulin-resistant HepG2 cells via the PI3K/AKT signalling pathway. *Food Sci Nutr* [Internet]. 2021 [citado el 23 de febrero de 2024]; 9 (6): 2894-2907. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8194906/>

33. Wan W, Li H, Xiang J, et al. Aqueous Extract of Black Maca Prevents Metabolism Disorder via Regulating the Glycolysis/Gluconeogenesis-TCA Cycle and PPAR $\alpha$  Signaling Activation in Golden Hamsters Fed a High-Fat, High-Fructose Diet. *Front Pharmacol*. [Internet]. 2018 [citado el 08 de abril de 2024]; 9: 333. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5897445/>
34. Wang W, Zhang F, Li Q, et al. Structure characterization of one polysaccharide from *Lepidium meyenii* Walp., and its antioxidant activity and protective effect against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced injury RAW264.7 cells. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2018 [citado el 13 de julio de 2024]; 118 (Pt A):816-833. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29953890/>
35. Festa Gomes B, De Melo Accardo C. Mediadores imunoinflamatórios na patogênese do diabetes mellitus. *Revendo Ciências Básicas* [Internet]. 2019 [citado el 13 de julio de 2024]; 17 (1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29953890/>
36. Troya-Santos J, Ale-Borja N, Suárez-Cunza S. Capacidad antioxidante in vitro y efecto hipoglucemiante de la maca negra (*Lepidium meyenii*) preparada tradicionalmente. *Revista de la Sociedad Química del Perú* [Internet]. 2017 [citado el 23 de febrero de 2024]; 83 (1): 40-51. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371951877005>
37. Gonzáles G, Vásquez C. Entendiendo la alta prevalencia de anemia infantil en el Perú y el impacto de la intervención con micronutrientes: ¿Es la ontogenia de la hemoglobina la responsable? [Internet]. 2019 [citado el 28 de mayo de 2024]. Disponible en: <https://anmperu.org.pe/sites/default/files/269.pdf>
38. Gonzáles G, Castillo J, Mendoza P, et al. Anemias nutricionales de la infancia [Internet]. 2021 [citado el 28 de mayo de 2024]. Disponible en: [https://anmperu.org.pe/sites/default/files/anemias\\_nutricionales\\_de\\_la\\_infancia-2021.pdf](https://anmperu.org.pe/sites/default/files/anemias_nutricionales_de_la_infancia-2021.pdf)
39. Vásquez-Velásquez C, Tapia V, Gonzales GF. La nueva guía sobre los puntos de corte de la hemoglobina para definir anemia en individuos y poblaciones. *Rev Soc Peru Med Interna*. [Internet]. 2024 [citado el 04 de abril de 2024]; 37 (1): 15-20. Disponible en: <https://revistamedicinainterna.net/index.php/spmi/article/download/844/855/>

40. Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). Perú: Encuesta Demográfica y de Salud Familiar 2023, Nacional y Departamental [Internet]. 2024 [citado el 15 de junio de 2024]. Disponible en: [https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones\\_digitales/Est/Lib1950/libro.pdf](https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1950/libro.pdf)
41. Boccio J, Salgueiro J, Lysionek A, et al. Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. [Internet]. 2003. [citado el 15 de junio de 2023]; 53(2):119-32. Disponible en: [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222003000200002#:~:text=En%20el%20caso%20particular%20del,de%20su%20eliminaci%C3%B3n%20o%20excreci%C3%B3n](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222003000200002#:~:text=En%20el%20caso%20particular%20del,de%20su%20eliminaci%C3%B3n%20o%20excreci%C3%B3n)
42. Charlebois E, Pantopoulos K. Nutritional Aspects of Iron in Health and Disease. Nutrients. [Internet]. 2023 [citado el 17 de abril de 2024]; 15 (11): 2441. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10254751/>
43. Zhang C, Rawal S. Dietary iron intake, iron status, and gestational diabetes. Am J Clin Nutr. [Internet]. diciembre de 2017 [citado el 2 de abril de 2024]; 106 (Suppl 6): 1672S-1680S. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5701716/>
44. Fu S, Li F, Zhou J, Liu Z. The Relationship Between Body Iron Status, Iron Intake And Gestational Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. Medicine (Baltimore). 2016 [citado el 17 de abril de 2024]; 95 (2): e2383. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4718241/>
45. Zhang Y, Lu Y, Jin L. Iron Metabolism and Ferroptosis in Physiological and Pathological Pregnancy. Int J Mol Sci. [Internet]. agosto. [citado el 28 de mayo de 2024]; 23 (16): 9395. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms23169395>
46. Fernández J, McClain D, Manco M. Mechanisms Linking Glucose Homeostasis and Iron Metabolism Toward the Onset and Progression of Type 2 Diabetes. Diabetes Care [Internet]. 2015 [citado el 23 de febrero de 2024]; 38 (11): 2169-76. Disponible en: <https://diabetesjournals.org/care/article/38/11/2169/37652/Mechanisms-Linking-Glucose-Homeostasis-and-Iron>

47. Feng S, Tang D, Wang Y, et al. The mechanism of ferroptosis and its related diseases. Mol Biomed [Internet]. 2023 [citado el 23 de febrero de 2024]; 4 (1): 33. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10577123/>
48. Alarcón D, Paz V, Gonzales G. El efecto antioxidante de la maca peruana (*Lepidium meyenii*). En: Patel VB, Preedy VR, editores. Toxicology [Internet]. Academic Press; 2021 [citado el 02 de abril de 2024]. p. 519-25. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128190920000509>
49. Troya J, Ale N, Suárez S. Capacidad antioxidante in vitro y efecto hipoglucemiante de la maca negra (*Lepidium meyenii*) preparada tradicionalmente. Revista de la Sociedad Química del Perú. [Internet]. 2017. [citado el 05 de mayo de 2024]; 83 (1): 40-51. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2017000100005](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2017000100005)
50. Maldonado C. Efecto de la maca roja y negra (*Lepidium Meyenii*) en la concentración de metabolitos plasmáticos de las rutas metabólicas de carbohidratos y lípidos en población adulta de Puno (3820 msnm). [Internet]. 2020 [citado el 02 de abril de 2024]. Disponible en: [https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/8950/Efecto\\_MaldonadoMatos\\_Carmen.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/8950/Efecto_MaldonadoMatos_Carmen.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
51. Gonzales-Arimborgo C, Yupanqui I, Montero E, 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) [Internet]. 2016 [citado el 14 de octubre de 2024]; 9 (3): 49. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5039502/>
52. Bailon N. Efecto de la maca (*Lepidium meyenii*) sobre los niveles plasmáticos de los aminoácidos en personas que viven a nivel del mar [Tesis de licenciatura]. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2017. [citado el 03 de mayo de 2024]. Disponible en:

[https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/863/Efecto\\_BailonGonzales\\_Nataly.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/863/Efecto_BailonGonzales_Nataly.pdf?sequence=3&isAllowed=y)

53. Portella J. Respuesta metabólica en la vía de los péptidos al consumo de maca (*Lepidium meyenii*) en varones y mujeres adultos de Lima y Puno [Tesis de maestría]. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2018. Disponible en: [https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/3782/Respuesta\\_PortellaRuiz\\_Jimmy.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/3782/Respuesta_PortellaRuiz_Jimmy.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
54. Vargas Mamani, JJ. Parámetros fisiológicos y metabólicos de la rata de laboratorio (*Rattus norvegicus*). Revista Médica Basadrina [Internet]. 2020 [citado el 11 de agosto de 2024]; 14 (2): 64-68. Disponible en: <https://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/rmb/article/download/1016/1138>
55. Universidad de Costa Rica. Guía para el manejo de animales de laboratorio [Internet]. s.f. [citado el 11 de agosto de 2024]. Disponible en: <http://www.vinv.ucr.ac.cr/sites/default/files/files/Gu%C3%ADa%20para%20el%20Manejo%20de%20Animales%20de%20Laboratorio.pdf>
56. Foretz M, Hébrard S, Leclerc J, et al. Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state. J Clin Invest. [Internet]. 2010 [citado 14 de septiembre de 2024];120(7):2355-69. Disponible en: 10.1172/JCI40671. Epub 2010 Jun 23. PMID: 20577053; PMCID: PMC2898585.
57. PubChem. Hazardous Substances Data Bank (HSDB): 24393 [Internet]. s.f. [citado el 05 de mayo de 2024]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/24393#section=Non-Human-Toxicity-Values>
58. Tobbli E. Cao G. Angerosa M. Ferrous sulfate, but not iron polymaltose complex, aggravates local and systemic inflammation and oxidative stress in dextran sodium sulfate-induced colitis in rats. Drug Des Devel Ther. [Internet]. 2015. [citado el 16 de julio de 2024];9:2585-2597. Disponible en: <https://doi.org/10.2147%2FDDDT.S81863>
59. Baquerizo M. Córdova L. Samaniego C. et al. Composición química, valor biológico y glucosinolatos de harina de maca negra (*Lepidium meyenii* W.)

- extruida y obtencion de mezcla con avena (*Avena sativa*). Rev. Soc. Quím. [Internet]. 2021. [citado el 16 de julio de 2024]; 87(4), 332-344. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2021000400332#:~:text=La%20maca%20](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2021000400332#:~:text=La%20maca%20)
60. Hernández E, Valencia J. Determinación de la respuesta glucémica en ratones experimentales entre tres tipos de chocolate. Alerta. [Internet]. 2019. [citado el 05 de mayo de 2024];2(2):117-24. Disponible en: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/419/4191898006/html/>
  61. MedMedic. Glucómetro Accu-chek Instant [Internet]. s.f. [citado el 05 de septiembre de 2024]. Disponible en: <https://medmedic.pe/glucometro-accu-chek-instant/>
  62. Figueroa M, Rivera M, Sosa E, et al. Perfil glicémico durante el ayuno en ratas macho-Wistar con diabetes tipo 2. Rev Hosp Jua Mex. [Internet]. 2016. [citado el 04 de mayo de 2024]; 83 (1-2): 23-30. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=68728>
  63. S.E.A. Animalario OMG. Eutanasia (rata, ratón, hámster y cobayo) [Internet]. 2005 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://nucleus.usal.es/sites/default/files/servicios/sea/formularios/EutanasiaPNSEA4.pdf>
  64. Song Y, Manson JE, Tinker L, et al. Insulin sensitivity and insulin secretion determined by homeostasis model assessment and risk of diabetes in a multiethnic cohort of women: the Women's Health Initiative Observational Study. Diabetes Care. [Internet]. 2007 [citado el 04 de mayo de 2024]; 30 (7):1747-52. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1952235/>
  65. Institute of Laboratory Animal Resources, & National Research Council. Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio [Internet]. 1999 [citado el 04 de mayo de 2024]. Disponible en: <https://investigacion.uss.cl/wp-content/uploads/2023/04/Guia-para-el-Cuidado-y-Uso-de-los-Animales-de-Laboratorio.pdf>

66. Leiva-Revilla J, Cárdenas-Valencia I, Rubio J, Guerra-Castañón F, Olcese-Mori P, Gasco M, et al. Evaluation of different doses of mashua (*Tropaeolum tuberosum*) on the reduction of sperm production, motility and morphology in adult male rats. *Andrologia*. [Internet]. 2012. [citado el 18 de julio de 2024]; 44 (s1): 205-12. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2011.01165.x>
67. DIRESA CALLAO. Manual de mantenimiento preventivo y correctivo de equipos. [Internet]. 2013. [citado el 18 de julio de 2024]. Disponible en: <https://www.diresacallao.gob.pe/wdiresa/documentos/laboratorio/ManualPreventivoCorrectivoEquipos.pdf>
68. MINSA. Modelo de Organización de la Red de Laboratorios del Primer Nivel de Atención. [Internet]. 2000. [citado el 18 de julio de 2024]. Disponible en: [https://bvs.minsa.gob.pe/local/PSNB/23\\_modeloorganiz.pdf](https://bvs.minsa.gob.pe/local/PSNB/23_modeloorganiz.pdf)
69. MINSA. Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio: Ratón. [Internet]. 2008. [citado 14 de septiembre de 2024]. Disponible en: [https://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/962\\_INS68.pdf](https://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/962_INS68.pdf)
70. OMS. Manual de Bioseguridad de Laboratorio y monografías asociadas. Cuarta Edición. [Internet]. 2020. [citado el 18 de julio de 2024]. Disponible en: <https://www.minsa.gob.pe/Recursos/OTRANS/08Proyectos/2022/Manual%20de%20Bioseguridad%20OMS.pdf>
71. Ministerio de la Producción. Guía para la limpieza y desinfección de manos y superficies. 1ª Edición. [Internet]. 2020. [citado el 18 de julio de 2024]. Disponible en: <https://www.mimp.gob.pe/sinavol/guia-normalizacion.pdf>
72. NTS N° 144-MINSA/2018/DIGESA. Norma Técnica de Salud: “Gestión integral y manejo de residuos sólidos en establecimientos de salud, servicios médicos de apoyo y centros de investigación”. [Internet]. 2018. [citado el 08 de agosto de 2024]. Disponible en: <http://www.digesa.minsa.gob.pe/Orientacion/NTS-144-MINSA-2018-DIGESA.pdf>

73. WHO. Descontaminación y gestión de desechos. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio y monografías complementarias. Cuarta edición. [Internet]. 2023. [citado el 18 de julio de 2024]. Disponible en: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/374887/9789240059504-spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
74. Nair AB, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. J Basic Clin Pharm. [Internet]. 2016 [citado el 12 de junio de 2025]; 7( 2): 27-31. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4804402/>
75. Song Y, Yang N, Si H, Liu T, Wang H, Geng H, Qin Q, Guo Z. Iron overload impairs renal function and is associated with vascular calcification in rat aorta. Biometals. [Internet]. 2022 [citado el 12 de junio de 2025]; 35 (6): 1325-1339. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9674728/>
76. Forrellat-Barrios M, Fernández-Delgado N, Hernández-Ramírez P. Regulación de la hepcidina y homeostasis del hierro: avances y perspectivas. Revista Cubana de Hematología [Internet]. 2012 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 28 (4): 347-356. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubheminmh/rch-2012/rch124d.pdf>
77. Čepelak I, Dodig S, Dodig DČ. Ferroptosis: regulated cell death. Arh Hig Rada Toksikol. [Internet]. 2020 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 71 (2): 99-109. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7968485/>
78. Sakamoto K, Sogabe S, Kamada Y, et al. Discovery of GPX4 inhibitory peptides from random peptide T7 phage display and subsequent structural analysis. Biochem Biophys Res Commun. [Internet]. 2017 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 482 (2): 195-201. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27836545/>
79. Yang WS, Kim KJ, Gaschler MM, et al. Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis. Proc Natl Acad Sci USA. [Internet]. 2016 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 113 (34): E4966-75. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27506793/>

80. Meng Z, Liang H, Zhao J, et al. HMOX1 upregulation promotes ferroptosis in diabetic atherosclerosis. *Life Sciences* [Internet]. 2021 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 284: 119935. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002432052100922X?via%3Dihub>
81. Rueggsegger GN, Creo AL, Cortes TM, et al. Altered mitochondrial function in insulin-deficient and insulin-resistant states. *J Clin Invest*. [Internet]. 2018 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 128 (9): 3671-3681. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30168804/>
82. Zhang Y, Chen L, Xuan Y, et al. Iron overload in hypothalamic AgRP neurons contributes to obesity and related metabolic disorders. *Cell Reports* [Internet]. 2024 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 43 (Issue 3): 113900. Disponible en: [https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247\(24\)00228-6?\\_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2211124724002286%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247(24)00228-6?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2211124724002286%3Fshowall%3Dtrue)
83. Könner AC, Janoschek R, Plum L, et al. Insulin Action in AgRP-Expressing Neurons Is Required for Suppression of Hepatic Glucose Production. *Cell Metabolism* [Internet]. 2007 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 5 (Issue 6): 438-449. Disponible en: [https://www.cell.com/cell-metabolism/fulltext/S1550-4131\(07\)00131-3](https://www.cell.com/cell-metabolism/fulltext/S1550-4131(07)00131-3)
84. Steculorum SM, Ruud J, Karakasilioti I, et al. AgRP Neurons Control Systemic Insulin Sensitivity via Myostatin Expression in Brown Adipose Tissue. *Cell* [Internet]. 2016 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 165 (Issue 1): 125-138. Disponible en: [https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(16\)30194-5](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(16)30194-5)
85. LaMoia TE, Shulman GI. Cellular and Molecular Mechanisms of Metformin Action. *Endocr Rev*. [Internet] 2021 [citado el 22 de noviembre de 2024]; 42 (1): 77-96. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32897388/>
86. Ma WQ, Sun XJ, Zhu Y, et al. Metformin attenuates hyperlipidaemia-associated vascular calcification through anti-ferroptotic effects. *Free Radic*

- Biol Med. [Internet]. 2021 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 165: 229-242. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33513420/>
87. Ameen AAM, Najeeb MK. Assessment of Metformin's Impact on Liver, Kidneys and Spleen Tissues in Normoglycemic Female Albino Rats. Egypt. J. Vet. Sci. [Internet]. 2024 [citado el 24 de noviembre de 2024]; 56 (3): 627-635. Disponible en: [https://journals.ekb.eg/article\\_354499\\_ff2740f8801d5a30d0d331fc344ae9e9.pdf](https://journals.ekb.eg/article_354499_ff2740f8801d5a30d0d331fc344ae9e9.pdf)
  88. Ozturk E, Ferraz-Bannitz R, Efthymiou V, et al. 1675-P: Reproductive and Intergenerational Impacts of Metformin. Diabetes [Internet]. 2023 [citado el 24 de noviembre de 2024]; 72 (Supplement\_1): 1675–P. Disponible en: [https://diabetesjournals.org/diabetes/article/72/Supplement\\_1/1675-P/149730/1675-P-Reproductive-and-Intergenerational-Impacts](https://diabetesjournals.org/diabetes/article/72/Supplement_1/1675-P/149730/1675-P-Reproductive-and-Intergenerational-Impacts)
  89. Salvatore T, Pafundi PC, Marfella R, et al. Metformin lactic acidosis: Should we still be afraid?. Diabetes Research and Clinical Practice [Internet]. 2019 [citado el 24 de noviembre de 2024]; 157: 107879. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168822719312914?via%3Dihub#s0010>
  90. Donnelly LA, Dennis JM, Coleman RL, et al. Risk of Anemia With Metformin Use in Type 2 Diabetes: A MASTERMIND Study. Diabetes Care. [Internet]. 2020 [citado el 24 de noviembre de 2024]; 43 (10):2493-2499. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7510037/>
  91. Wensink MJ, Lu Y, Tian L, et al. Preconception Antidiabetic Drugs in Men and Birth Defects in Offspring : A Nationwide Cohort Study. Ann Intern Med. [Internet]. 2022 [citado el 24 de noviembre de 2024]; 175 (5): 665-673. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9844982/>
  92. Huang KH, Lee CH, Cheng YD, et al. Correlation between long-term use of metformin and incidence of NAFLD among patients with type 2 diabetes mellitus: A real-world cohort study. Front Endocrinol (Lausanne) [Internet]. 2022 [citado el 24 de noviembre de 2024]; 13: 1027484. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9748475/>

93. Vinogradov AD. Catalytic properties of the mitochondrial NADH–ubiquinone oxidoreductase (Complex I) and the pseudo-reversible active/inactive enzyme transition. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* [Internet]. 1998 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 1364 (Issue 2): 169-185. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005272898000267?via%3Dihub>
94. Hardie DG. AMP-Activated Protein Kinase: Maintaining Energy Homeostasis at the Cellular and Whole-Body Levels. *Annual Review of Nutrition* [Internet]. 2014 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 34:31-55 . Disponible en: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-nutr-071812-161148>
95. Guigas B, Viollet B. Targeting AMPK: From Ancient Drugs to New Small-Molecule Activators. In: Cordero M, Viollet B, editors. *AMP-activated Protein Kinase. Experientia Supplementum*. Cham: Springer; 2016. p. 333-359. Disponible en: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-43589-3\\_13](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-43589-3_13)
96. Vial G, Demaille D, Guigas B. Role of Mitochondria in the Mechanism(s) of Action of Metformin. *Front. Endocrinol.* [Internet]. 2019 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 10: 294. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/endocrinology/articles/10.3389/fendo.2019.00294/full>
97. Ayala-Yáñez R, Martínez-Ruiz M, Alonso-de Mendieta M, et al. Metformina: interacciones moleculares, celulares y su repercusión en la Obstetricia. Revisión bibliográfica. *Ginecol Obstet Mex.* [Internet]. 2020 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 88 (3): 161-175. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0300-90412020000300006](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0300-90412020000300006)
98. Agius L, Ford BE, Chachra SS. The Metformin Mechanism on Gluconeogenesis and AMPK Activation: The Metabolite Perspective. *Int. J.*

- Mol. Sci. [Internet]. 2020 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 21 (9): 3240. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/9/3240>
99. Fano D, Vásquez-Velásquez C, Gonzales-Castañeda C, et al. N-Butanol and Aqueous Fractions of Red Maca Methanolic Extract Exerts Opposite Effects on Androgen and Oestrogens Receptors (Alpha and Beta) in Rats with Testosterone-Induced Benign Prostatic Hyperplasia. Evid Based Complement Alternat Med. [Internet]. 2017 [citado el 24 de noviembre de 2024]; 2017: 9124240. Disponible en : <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5742461/#sec3>
  100. Wang S, Zhu F. Chemical composition and health effects of maca (*Lepidium meyenii*). Food Chemistry [Internet]. 2019 [citado el 24 de noviembre de 2024]; 288: 422-443. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814619303942#ab010>
  101. Yábar E, Chirinos R, Campos D. Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en tres ecotipos de maca (*Lepidium meyenii* Walp.) durante la pre-cosecha, cosecha y secado natural post-cosecha. Scientia Agropecuaria [Internet]. 2019 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 10 (1). Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172019000100010&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172019000100010&script=sci_arttext)
  102. Lock O, Rojas R. Química y Farmacología de *Lepidium meyenii* Walp ("Maca"). Química. [Internet]. 2002 [citado el 25 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/download/18650/18903/>
  103. Xing G, Meng L, Cao S, Liu S, Wu J, Li Q, Huang W, Zhang L. PPAR $\alpha$  alleviates iron overload-induced ferroptosis in mouse liver. EMBO Rep. [Internet]. 2022 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 23 (8): e52280. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35703725/>
  104. Perez CJ, Conceição RS, Ifa DR. Chemical profiling and separation of bioactive secondary metabolites in Maca (*Lepidium peruvianum*) by normal

- and reverse phase thin layer chromatography coupled to desorption electrospray ionization-mass spectrometry. *Mass Spectrometry* [Internet]. 2020 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 56 (Issue 2): e4690. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jms.4690>
105. Schiess S, Platz S, Kemper M, et al. Oral administration of nasturtium affects peptide YY secretion in male subjects. *Mol Nutr Food Res*. [Internet]. 2017 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 61 (8). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28371338/>
  106. Sharabi K, Tavares CD, Rines AK, et al. Molecular pathophysiology of hepatic glucose production. *Mol Aspects Med*. [Internet]. 2015 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 46: 21-33. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26549348/>
  107. Peter A, Stefan N, Cegan A, et al. Hepatic glucokinase expression is associated with lipogenesis and fatty liver in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. [Internet]. 2011 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 96 (7): E1126-30. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21490074/>
  108. Tahapary DL, Pratisthita LB, Fitri NA, et al. Challenges in the diagnosis of insulin resistance: Focusing on the role of HOMA-IR and Tryglyceride/glucose index. *Diabetes Metab Syndr*. [Internet]. 2022 [citado el 02 de febrero de 2025]; 16 (8):102581. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35939943/>
  109. Bermúdez PV, Cano PC, Souki RA, et al. Homeostasis Model Assessment (HOMA) en Pacientes Diabéticos Tipo 2. *AVFT* [Internet]. 2000 [citado el 02 de febrero de 2025]; 19 (1). Disponible en: [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-02642000000100009](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-02642000000100009)
  110. Chen H, Han Y, Jahan I, et al. Extracts of maca (*Lepidium meyenii*) root induce increased glucose uptake by inhibiting mitochondrial function in an adipocyte cell line. *Journal of Herbal Medicine* [Internet]. 2019 [citado el 03 de febrero de 2025]; 17-18: 100282. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2210803319300284?casa>

[\\_token=aEXj9ely-kIAAAAA:G2vYSk48-dI42-gvglqK71mB02Vr2oWzBBoYNWALupztN8FJDWaIs\\_JShr8v8XLSqmCelcNs](#)

111. Zhao H, Xing C, Zhang J, et al. Comparative efficacy of oral insulin sensitizers metformin, thiazolidinediones, inositol, and berberine in improving endocrine and metabolic profiles in women with PCOS: a network meta-analysis. *Reprod Health*. [Internet]. 2021 [citado el 03 de febrero de 2025]; 18(1):171. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8371888/>
112. Ghasemi A, Jeddi S, Kashfi K. The laboratory rat: Age and body weight matter. *EXCLI J*. [Internet]. 2021 [citado el 12 de junio de 2025];20:1431-1445. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8564917/>
113. Gencoglu H. Maca modulates fat and liver energy metabolism markers insulin, IRS1, leptin, and SIRT1 in rats fed normal and high-fat diets. *Arch Physiol Biochem*. [Internet]. 2023 [citado el 24 de noviembre de 2024]; 129 (2): 323-329. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32951476/>
114. Patterson AD, Bonzo JA, Li F, et al. Metabolomics reveals attenuation of the SLC6A20 kidney transporter in nonhuman primate and mouse models of type 2 diabetes mellitus. *J Biol Chem*. [Internet]. 2011 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 286 (22): 19511-22. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21487016/>
115. Satapati S, Sunny NE, Kucejova B, et al. Elevated TCA cycle function in the pathology of diet-induced hepatic insulin resistance and fatty liver. *J Lipid Res*. [Internet]. 2012 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 53 (6): 1080-92. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3351815/>
116. Lu J, Xie G, Jia W, et al. Metabolomics in human type 2 diabetes research. *Front Med*. [Internet]. 2013 [citado el 25 de noviembre de 2024]; 7 (1): 4-13. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23377891/>

## ANEXOS

**Anexo 1. Condiciones apropiadas del ambiente donde se realizará el procedimiento experimental y equipo de protección personal de los investigadores a cargo del experimento**

***Figura 1.*** Ambiente del bioterio 016-2 asignado en el Laboratorio de Investigación y Desarrollo (LID) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH)



**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 2.** Equipo de Protección Personal para los procedimientos experimentales



Fuente: Elaboración propia

## Anexo 2. Manejo y cuidado de los animales experimentales

**Figura 1.** Distribución de las ratas experimentales según grupo de experimento



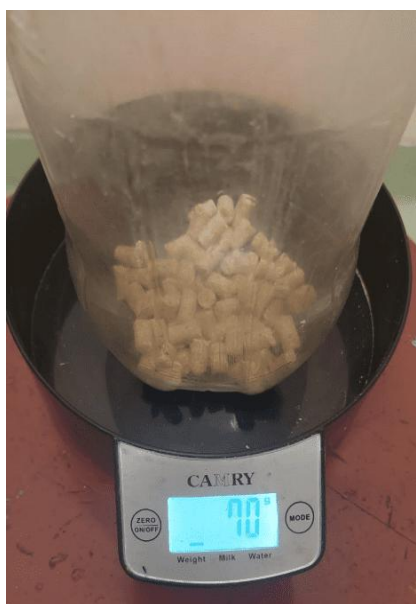
Fuente: Elaboración propia

**Figura 2.** Limpieza de las jaulas para la distribución de ratas experimentales



**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 3.** Proporción de alimento asignado a cada jaula según la cantidad de ratas presentes



**Fuente:** Elaboración propia

### Anexo 3. Pesaje de animales experimentales

**Figura 1.** Materiales para el pesaje de animales experimentales



**Fuente:** Elaboración propia

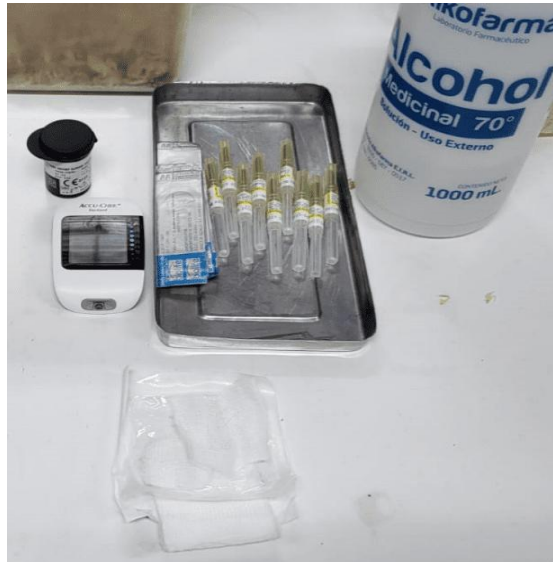
**Figura 2.** Procedimiento de pesaje de una rata experimental



**Fuente:** Elaboración propia

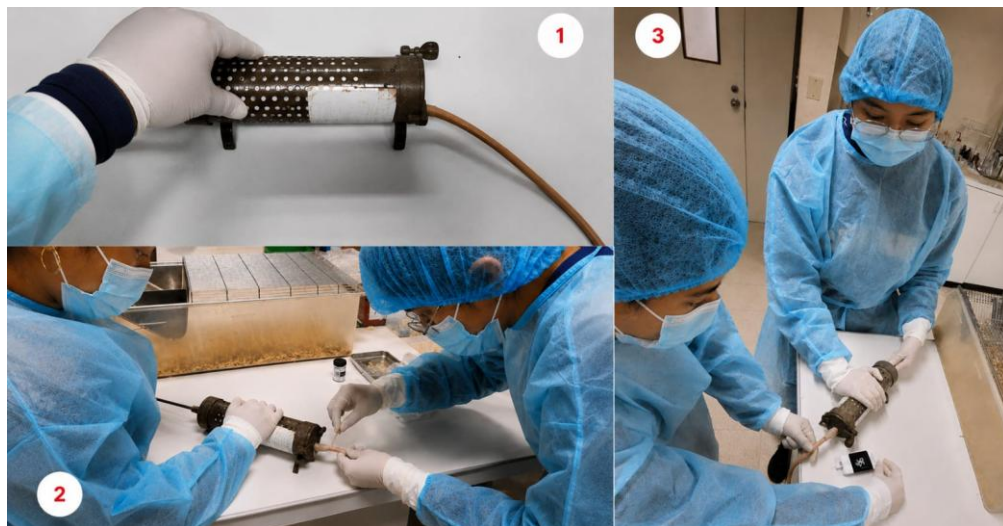
#### Anexo 4. Extracción de sangre de la vena caudal de la cola de los animales experimentales para la medición de glucosa en ayunas

**Figura 1.** Materiales para la extracción de sangre de la vena caudal de la cola de una rata experimental



Fuente: Elaboración propia

**Figura 2.** Procedimiento de extracción de sangre de la vena caudal de la cola de una rata experimental



Fuente: Elaboración propia

## Anexo 5. Inducción a SCH por vía oral a los animales experimentales

**Figura 1.** Materiales para la inducción a SCH a una rata experimental



**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 2.** Procedimiento de inoculación con agua destilado o sulfato ferroso a una rata experimental



**Fuente:** Elaboración propia

**Anexo 6. Preparación de las soluciones de EHMN y MET para la inoculación de tratamiento a los animales experimentales del Grupo 3 y Grupo 4**

**Figura 1.** Materiales para la preparación de la solución de EHMN para los 14 días de tratamiento



**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 2.** Procedimiento de la preparación de la solución de EHMN para los 14 días de tratamiento



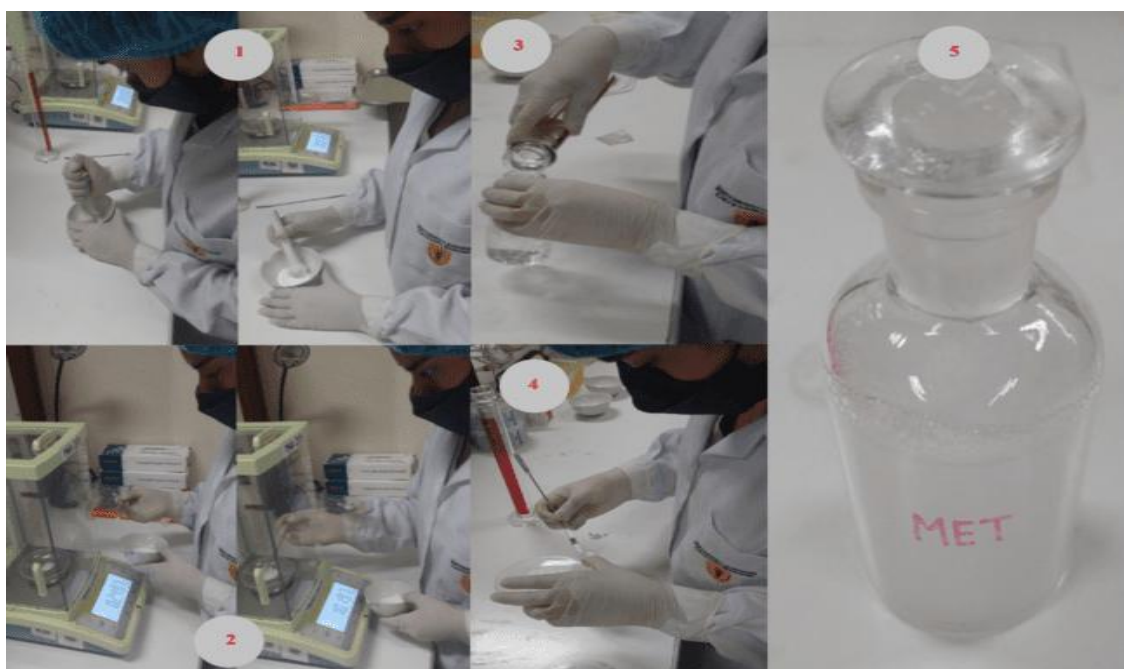
**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 3.** Materiales para la preparación de la solución de MET para los 14 días de tratamiento



**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 4.** Procedimiento de la preparación de la solución de MET para los 14 días de tratamiento



**Fuente:** Elaboración propia

## Anexo 7. Inoculación de tratamientos por vía oral a los animales experimentales del Grupo 3 y 4

**Figura 1.** Materiales para la inoculación de tratamiento a una rata experimental ya sea con EHMN (G3) o MET (G4)



Fuente: Elaboración propia

**Figura 2.** Procedimiento de inoculación con EHMN (G3) o MET (G4) una rata experimental



Fuente: Elaboración propia

**Anexo 8. Eutanasia y extracción de sangre de la vena caudal de la cola de los animales experimentales para la medición de insulina en ayunas**

***Figura 1.*** Materiales para la eutanasia y extracción de sangre por punción cardiaca de una rata experimental



**Fuente:** Elaboración propia

***Figura 2.*** Inducción a eutanasia de cada rata experiemntal mediante la administración intraperitoneal de 0.6 ml de Halatal®



**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 3.** Confirmación de la eutanasia en cada rata experimental mediante ausencia de reflejos

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 4.** Posicionamiento del animal tras la eutanasia para el procedimiento de toracotomía.



**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 5.** Exposición de la cavidad torácica y visualización del corazón.



**Fuente:** Elaboración propia

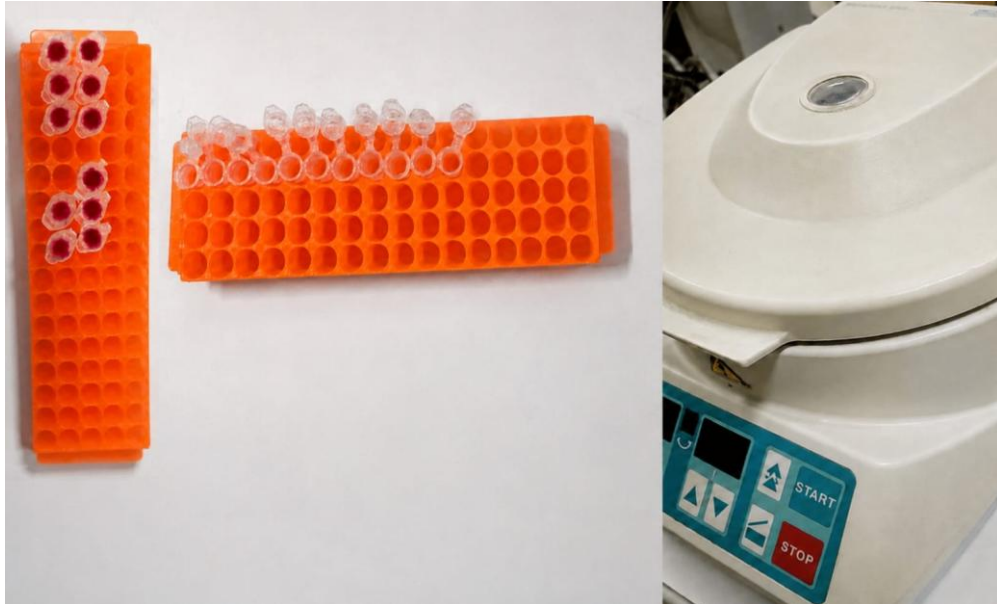
**Figura 6.** Extracción de sangre mediante punción cardíaca.



**Fuente:** Elaboración propia

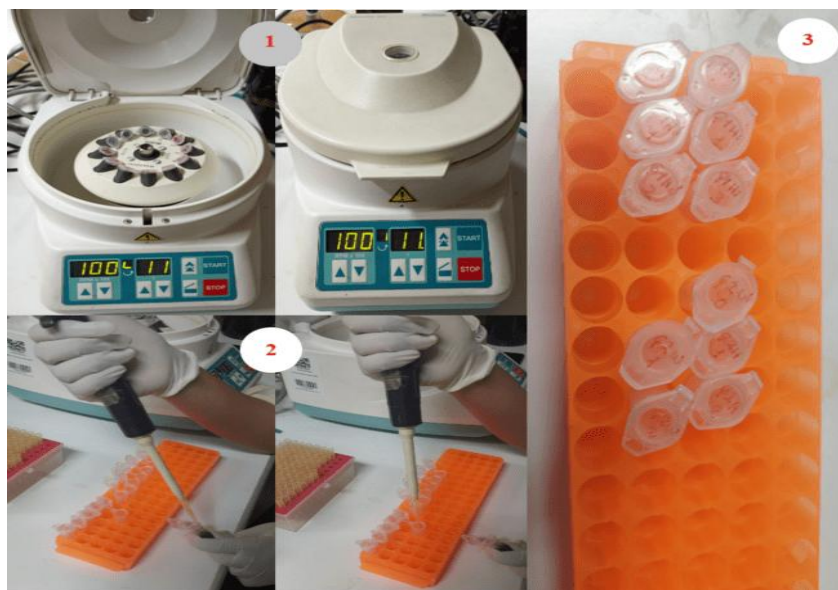
## Anexo 9. Extracción de suero de la sangre recolectada de los animales experimentales para la medición de insulina en ayunas

**Figura 1.** Materiales para la extracción de suero de la sangre recolectada de una rata experimental



Fuente: Elaboración propia

**Figura 2.** Procedimiento de extracción de suero de la sangre recolectada de las ratas experimentales



Fuente: Elaboración propia

## Anexo 10: Gráficos de STATA de los análisis estadísticos empleados

**Figura 1.** Uso de ANOVA y análisis post-hoc mediante Scheffe para evaluar el cambio de peso corporal al día 44 respecto al 30 en todos los grupos.

```
. oneway WPES044 Grupo, sch
```

| Analysis of variance |            |    |            |      |          |
|----------------------|------------|----|------------|------|----------|
| Source               | SS         | df | MS         | F    | Prob > F |
| Between groups       | 495.242029 | 3  | 165.080676 | 1.49 | 0.2485   |
| Within groups        | 2101.36667 | 19 | 110.598246 |      |          |
| Total                | 2596.6087  | 22 | 118.027668 |      |          |

Bartlett's equal-variances test: chi2(3) = 2.0636 Prob>chi2 = 0.559

Comparison of WPES044 by Grupo (Scheffe)

| Row Mean-<br>Col Mean | 1                 | 2                 | 3                |
|-----------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| 2                     | 1.93333<br>0.993  |                   |                  |
| 3                     | -9.5<br>0.501     | -11.4333<br>0.384 |                  |
| 4                     | -6.66667<br>0.753 | -8.6<br>0.618     | 2.83333<br>0.974 |

**Fuente:** Elaboración propia.

**Nota:** “WPES044”: Cambio de peso corporal del día 30 al 44.

**Figura 2.** Uso de ANOVA y análisis post-hoc mediante Scheffe para evaluar el cambio de niveles de glucemia al día 44 respecto al 30 en todos los grupos.

```
oneway cambioglucosa44 Grupo, sch
```

| Analysis of variance |            |    |            |       |          |
|----------------------|------------|----|------------|-------|----------|
| Source               | SS         | df | MS         | F     | Prob > F |
| Between groups       | 3816.76812 | 3  | 1272.25604 | 12.62 | 0.0001   |
| Within groups        | 1915.66667 | 19 | 100.824561 |       |          |
| Total                | 5732.43478 | 22 | 260.565217 |       |          |

Bartlett's equal-variances test: chi2(3) = 4.2455 Prob>chi2 = 0.236

Comparison of cambioglu-44 by Grupo (Scheffe)

| Row Mean-<br>Col Mean | 1                 | 2                 | 3                |
|-----------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| 2                     | 9.66667<br>0.487  |                   |                  |
| 3                     | -21.1667<br>0.016 | -30.8333<br>0.001 |                  |
| 4                     | -19.8333<br>0.025 | -29.5<br>0.001    | 1.33333<br>0.997 |

**Fuente:** Elaboración propia.

**Nota:** “cambioglucosa44”: Cambio de glucosa del día 30 al 44.