

EFFECTO ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Lepidium meyenii walpers* (Maca) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN CON OSTEOPOROSIS INDUCIDA

The Antioxidant Effect from the Milky Juice Of *Lepidium Meyenii Walpers* (Maca)
In Experimental Animals With Caused Osteoporosis

Elena R. Benavides R., John Bastidas P., Eart J. Cruz C., Rosmery Junes O., G. Vila P., Man Y. Yep Ch.

Departamento Académico de Bioquímica. Facultad de Farmacia y Bioquímica.
Universidad Nacional Mayor de San Marcos

RESUMEN

Se evaluó el efecto antioxidante de *Lepidium meyenii walpers* (Maca) en ratas albinas para observar su influencia sobre el desarrollo de la osteoporosis. Se utilizaron 25 ratas hembras albinas de 4 meses de edad, las que fueron divididas en 5 grupos, el primer grupo (G1) considerado como control y 4 grupos experimentales (G2, G3, G4 y G5) se les indujo osteoporosis aplicándoseles heparina 2UI/g/interdiariamente por un periodo de tres semanas, al mismo tiempo se efectuó la administración de antioxidantes (G3) y productos naturales (maca al G4 y soya al G5) siendo G2 el grupo control de osteoporosis. Al término de este periodo se tomó muestras de sangre y orina para los análisis de Catalasa (CAT) y Superóxido Dismutasa (SOD) para evaluar el efecto antioxidante e Hidroxiprolina urinaria y calcio como marcadores de la resorción ósea. El grupo G2 que presentó osteoporosis mostró una elevación de sus enzimas antioxidantes mientras que la maca fue el producto natural que presentó resultados considerables en comparación con el grupo G3 al que se administró vitaminas C, E y selenito y el grupo G5 al que se administró soya. Por lo tanto se evidencia una influencia favorable del consumo de maca contra el progreso de la osteoporosis. En conclusión la maca puede ser utilizada como alternativa en la prevención y tratamiento de esta enfermedad.

Palabras clave: Superóxido Dismutasa, Catalasa, Calcio, Hidroxiprolina, Osteoporosis, Maca.

SUMMARY

We evaluate the maca antioxidant effect in albino rats to observe its influence in the development of osteoporosis. Twenty five (25) four month female albino rats were used and divided into five groups. G1 a control group and four sample groups (G2, G3, G4 and G5) were forced to have osteoporosis with heparina 2U/g/every other day for a three week period, at the same time they were given antioxidants (G3) and natural products (maca, G4 and soya, G5) where G2 the osteoporosis control group. At the end of this period blood and urine samples were taken for the analysis of catalase (CAT) and dismutase super oxide (SOD) to evaluate the antioxidant effect and Hidroxiprolina urine and calcium as indicators in the lose out of calcium (resorbtion osea). The G2 which presented osteoporosis showed an increase in their antioxidants enzymes while maca was the natural product which presented reasonable results in comparison with the one obtained in group G3 which were given vitamin C,E and selenite and the group G5 which were given soya.

Therefore we could observe the favorable maca consumption against the osteoporosis evolution. In conclusion maca could be used as an alternative and in the prevention and treatment of this illness.

Keywords: Ddismutase super oxide, Catalase, Calcium, Hidroxiproline, Osteoporosis, Maca.

Efecto Antioxidante del Extracto Acuoso de *Lepidium Meyenii Walpers* (Maca) en Animales de Experimentación con Osteoporosis Inducida

INTRODUCCIÓN

La osteoporosis es una de las enfermedades de mayor prevalencia en la actualidad y es definida por la OMS como una enfermedad sistémica del esqueleto caracterizada por una baja masa ósea y un deterioro de la microarquitectura del tejido óseo. Uno de los factores en la patogenia de la osteoporosis es el evidente desbalance entre la resorción y formación ósea, al igual que en el proceso de resorción ósea fisiológica los osteoclastos son el principal tipo celular implicado en la resorción ósea patológica (1), a su vez estas células derivan de la línea osteoblástica que segregan diversos factores de crecimiento y diferenciación(2).

Recientes estudios (3,4) demuestran que la estimulación de los factores de crecimiento y diferenciación incrementa los niveles intracelulares de especies reactivas de oxígeno (EROS) que a su vez actúan como mediadores intermediarios en la cascada del Factor de Necrosis Tumoral (TNF) (5) que a su vez potencian la actividad osteoclástica del hueso; estos resultados indican que los EROS actúan como mediadores intracelulares de la diferenciación osteoclástica (6). Ante la evidencia de la participación de EROS en la etiología de la osteoporosis se han realizado numerosos trabajos que describen y demuestran la participación del stress oxidativo en la fisiopatología ósea (4,7,8,9), así como el papel de los antioxidantes como Vitamina C(10), Vitamina E, selenio (11) en el tratamiento y su prevención, dando resultados favorables previniendo la degeneración de la microarquitectura ósea (12). El empleo de recursos naturales con actividad antioxidante es muy importante ya que se ha demostrado, en la práctica clínica actual, que la maca es útil para la prevención y tratamiento de fatiga, presión arterial, ansiedad, disminución de la libido, menopausia tardía y en la osteoporosis.

Por lo expuesto dada la necesidad de profundizar la investigación integral de esta planta, se trazó como objetivo realizar una evaluación de la actividad antioxidante de la maca en la evolución de la osteoporosis en animales de experimentación.

MATERIAL Y MÉTODOS

El diseño del trabajo es de tipo experimental, transversal enfrentando casos y controles, para lo cual se utilizaron 25 ratas hembras albinas de 4 meses y medio de edad, las cuales se distribuyeron

en 5 grupos de 5 ratas cada uno mediante el siguiente esquema:

- Grupo 1 (G1-blanco): administración de 0.5 ml cloruro de sodio 0.9%
- Grupo 2 (G2-control): administración de heparina 2 UI/g. (12)
- Grupo 3 (G3-antioxidantes): administración de heparina 2 UI/g. y una mezcla de vitaminas E 100mg/Kg. vitamina C 100mg/Kg. y selenito 0.05mg/Kg.
- Grupo 4 (G4-maca): administración de heparina 2 UI/g. y 5mL/Kg. de extracto acuoso de maca de 5 g/100ml de concentración
- Grupo 5 (G5-soya): administración de heparina 2 UI/g. y 3mL/Kg. de leche de soya de 12.5g/100mL de concentración

Se indujo a osteoporosis utilizando Heparina (12, 13, 14,15) vía intraperitoneal interdiariamente durante 3 semanas. La administración de los antioxidantes y productos naturales fue mediante sonda naso-gástrica a los grupos correspondientes interdiariamente por 3 semanas, igual que la heparina.

El extracto de maca se hizo a partir de Maca procedente de la sierra central que luego de ser limpiada y cortada apropiadamente se preparó una decocción de 50 g. para 1 Litro. En el caso de la soya fue 125 g. para un Litro.

La recolección de las muestras biológicas (sangre y orina) se realizó al finalizar las 3 semanas. Se efectuaron 4 ensayos, dos de los cuales fueron para determinar los niveles enzimáticos de Superóxido Dismutasa por el Método de Misra y Fridovich (16) y Catalasa por el Método de Bergmeyer (17), mientras que para evaluar la resorción ósea se evaluó Hidroxiprolina por el método Firschein y JP Shill modificado (18,19) y niveles de calcio por permanganometría.

RESULTADOS

Los valores de SOD y CAT se muestran elevados en el grupo heparinizado (G2) que fue sometido a osteoporosis, respecto a los controles (G1) mientras que en los que además de ser heparinizados se les administró la mezcla de vitaminas antioxidantes (G3) los valores fueron menores para SOD pero en CAT los valores son superiores al blanco, por otro lado tanto los que recibieron Maca (G4) y Soya (G5) luego de ser heparinizados muestran unos valores más próximos al blanco. Siendo G4 ligeramente mejor que G5 (Figuras 1,2).

Figura 1. Actividad de Superóxido Dismutasa en sangre

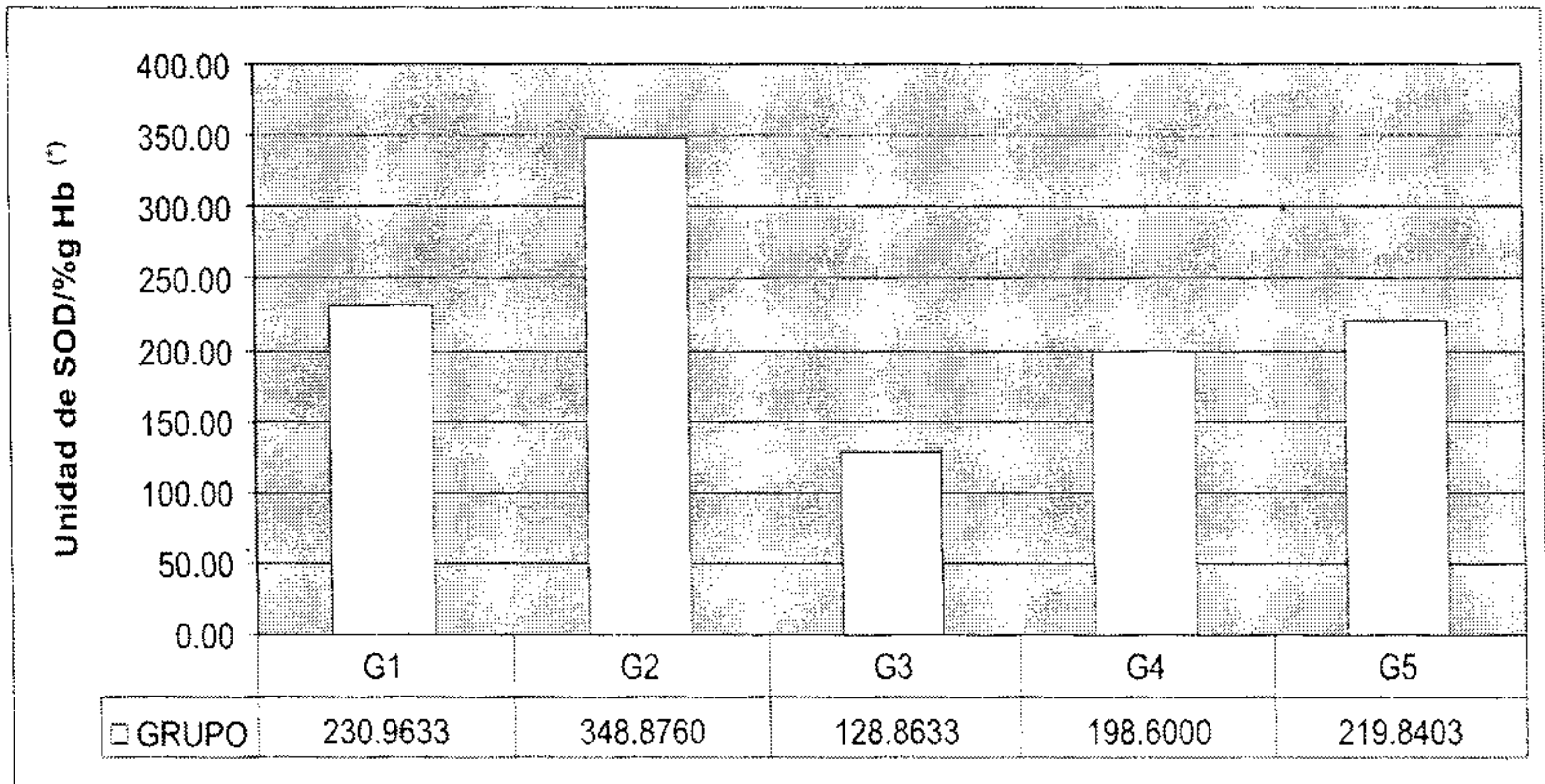
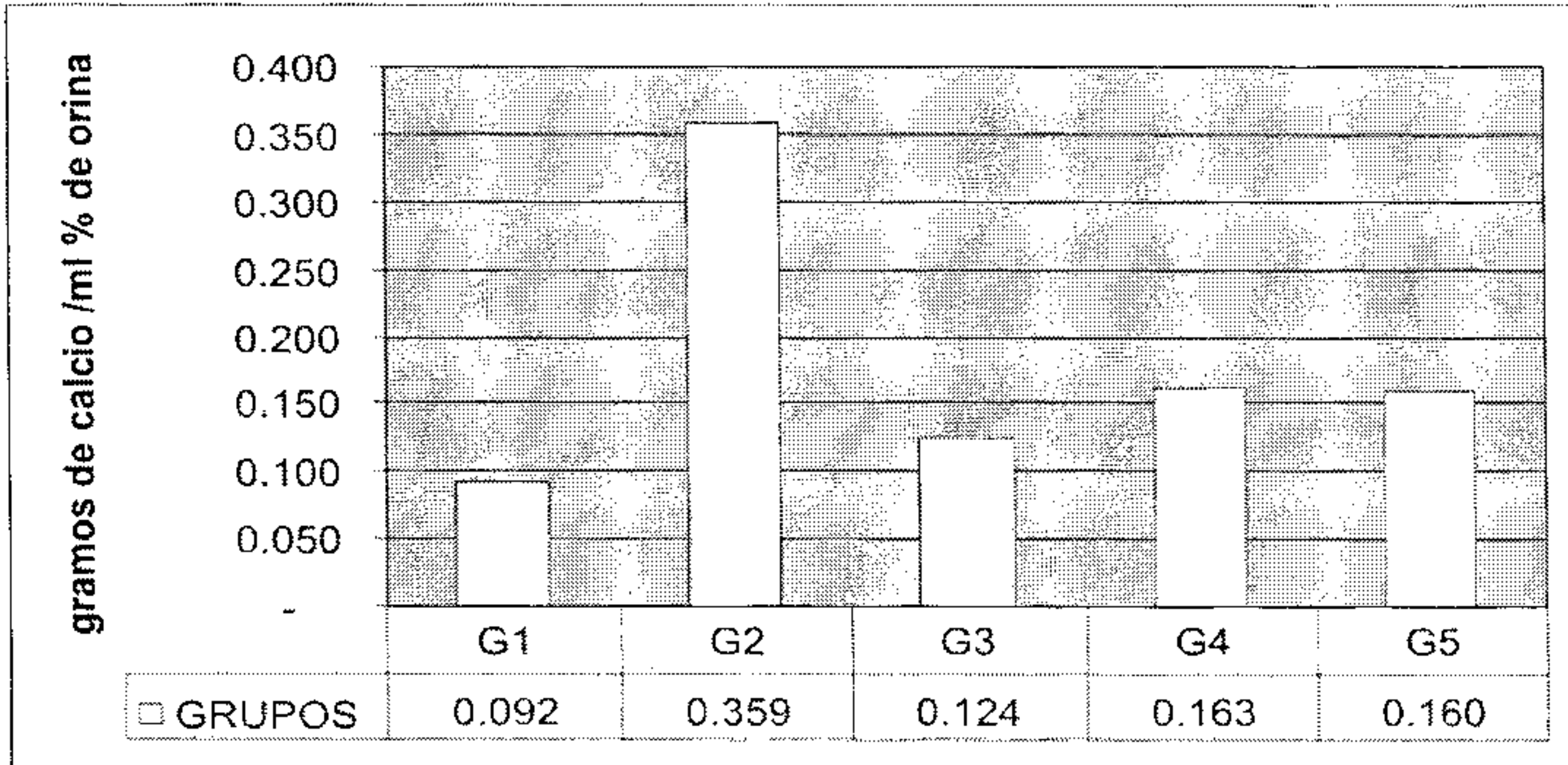


Figura 2. Actividad de la Catalasa en sangre



En la determinación de Hidroxi prolina y calcio en orina, se observa una elevada concentración de ambos marcadores en el grupo G2 (control) siendo G3 (antioxidantes) el que presento menor concertación en ambos caso, pero en hidroxiprolina los valores fueron mucho menores al del

blanco y en calcio se obtuvo valores cercanos al blanco, por otro lado en Hidroxiprolina, G4 (maca) presento una concentración similar al blanco y G5 (soya) una superior al blanco (Cuadro 3, figura 3). En calcio tanto G4 como G5 mostraron valores cercanos al blanco (Cuadro 4, figura 4).

Efecto Antioxidante del Extracto Acuoso de *Lepidium Meyenii Walpers* (Maca) en Animales de Experimentación con Osteoporosis Inducida

Figura 3. Resultados de la determinación hidroxiprolina en orina

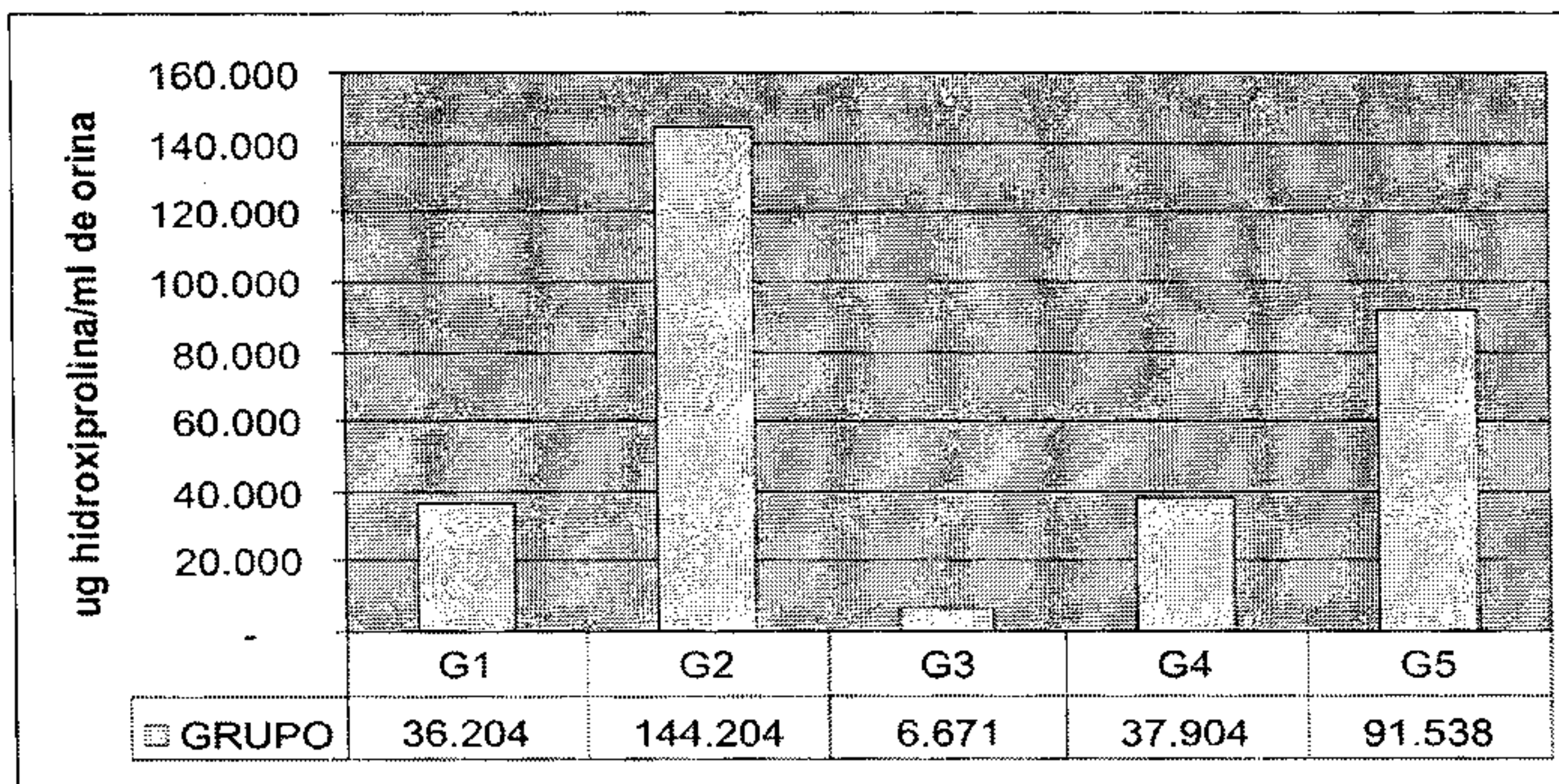
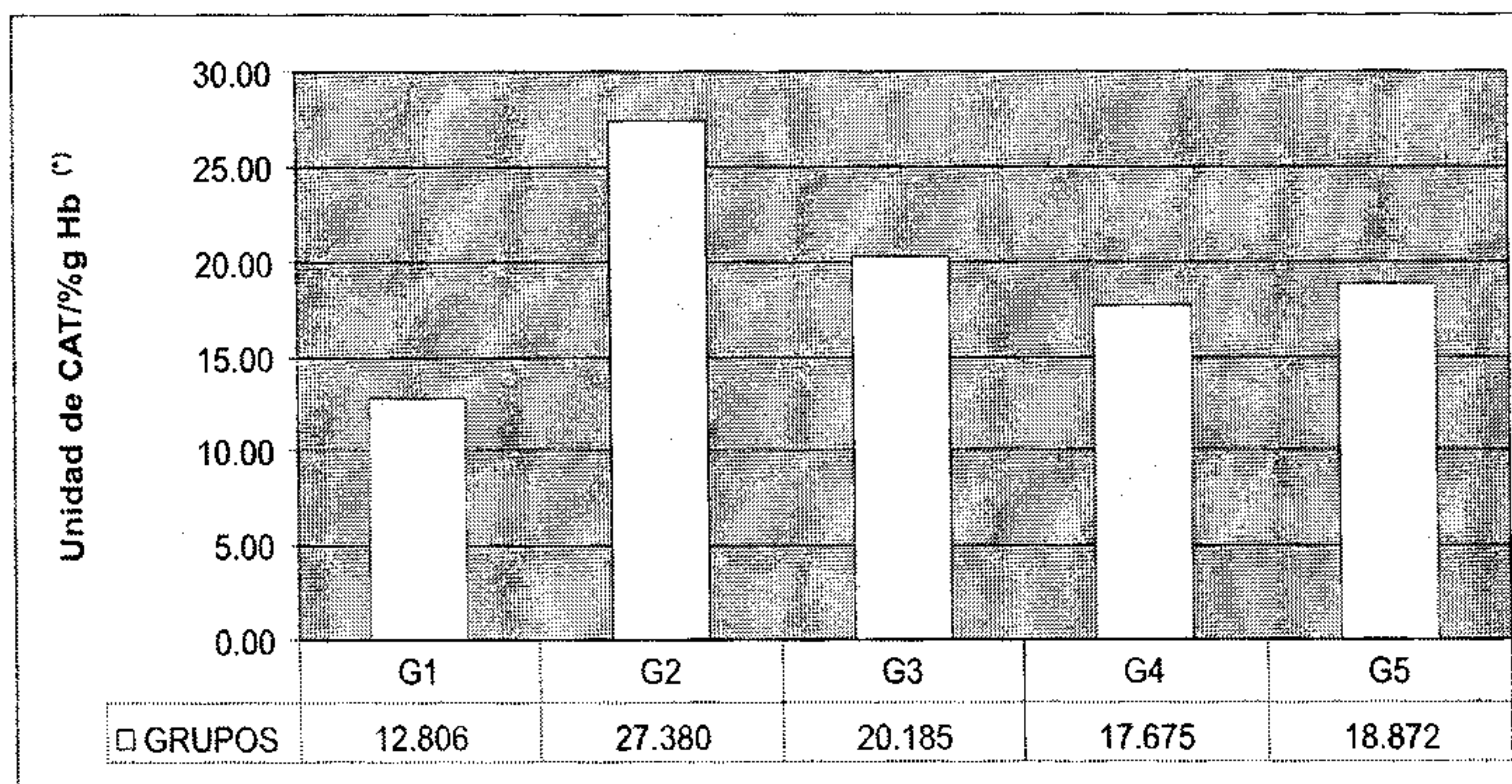


Figura 4. Resultados de los niveles de calcio en orina



DISCUSION

En el proceso de la osteoporosis se observó un aumento de los niveles de calcio e Hidroxipolina en orina, usados como marcadores de resorción ósea, y enzimas antioxidantes, esto se explica porque en el proceso de osteoporosis inducido por heparina hay aumento del número y la actividad osteoclástica (14), que genera la liberación de radicales libres, evidenciado en

el grupo G2. Por otro lado, la producción de radicales libres se debe a dos factores principales el estrés causado por la manipulación de los animales y principalmente por la generación de osteoporosis por heparina. (12, 13, 14,15). Los elevados niveles de la actividad de la Catalasa en el grupo G3 a diferencia de los resultados de SOD, se explica por que existe una producción de PEROXIDO DE HIDROGENO en el proceso de

la diferenciación celular de los osteoclastos y/o en el proceso de resorción ósea. Se evidencia la actividad antioxidante de la maca, teniendo una actividad sobre los radicales libres (SOD) menor que el de las vitaminas (G3) y una actividad sobre los peróxidos de hidrogeno (CAT) ligeramente mejor en comparación con las vitaminas (G3), además muestra resultados similares a los de la soya, cuya actividad antioxidante ya ha sido comprobada. Por todo lo mencionado, se concluye que la maca ha demostrado tener un buen efecto antioxidante, disminuyendo el progreso de la osteoporosis y debido a la actividad antioxidante de la maca comparada al de las vitaminas y la soya, demuestra que esta planta puede ser utilizada como una alternativa mas para la prevención y tratamiento de la osteoporosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Camargo JF, Tobón GJ, Anaya JM.** 2003. Resorción ósea en artritis reumatoidea: Aspectos moleculares y correlación radiológica. *Medunab*; 6 (18):148-154
2. **Khosla S.** 2001. The OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology*; 142: 5050-5055
3. **Bai XC, Lu D, Liu AL, Zhang ZM, Li XM, Zou ZP, Zeng WS, Cheng BL, Luo SQ.** 2005. Reactive oxygen species stimulates receptor activator of NF- κ B ligand expression in osteoblast. *J Biol Chem*; 280(17):17497-506
4. **Lean JM, Davies JT, Fuller K, Jagger CJ, Kirstein B, Partington GA, Urry ZL, Chambers TJ.** 2003. A crucial role for thiol antioxidants in estrogen-deficiency bone loss. *J Clin Invest. Sep*; 112(6):915-23.
5. **Garg AK, Aggarwal BB.** 2002. Reactive oxygen intermediates in TNF signaling. *Mol Immunol*; 39: 509-517.
6. **Lee NK, Choi YG, Baik JY, Han SY, Jeong DW, Bae YS, Kim N, Lee SY.** 2005. A crucial role for reactive oxygen species in RANKL-induced osteoclast differentiation. *Blood*;106(3):852-859
7. **Basu S, Michaelsson K, Olofsson H, Johansson S, Melhus H.** 2001. Association between oxidative stress and bone mineral density. *Biochem. Biophys Res Comm*; 288:275-279.
8. **Mody N, Parhami F, Sarafian TA, Demer LL.** 2001. Oxidative stress modulates osteoblastic differentiation of vascular and bone cells. *Free Radic. Biol. Med*; 31:509-519.
9. **Lean JM, Jagger CJ, Kirstein B, Fuller K, Chambers TJ.** 2005. Hydrogen peroxide is essential for estrogen-deficiency bone loss and osteoclast formation. *Endocrinology*;146(2):728-735
10. **Morton DJ, Barrett-Connor EL, Schneider DL.** 2001. Vitamin C supplement use and bone mineral density in postmenopausal women. *J. Bone Miner. Res*; 16:135-140.
11. **Schwenke DC, Behr SR.** 1998. Vitamin selenium inhibits atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits independently of effects on plasma cholesterol concentrations. *Circ Res*; 83:366-377
12. **Turan B, Can B, Delilbasi E.** 2003. Selenium combined with vitamin E and vitamin C restores structural alterations of bones in heparin-induced osteoporosis. *Clin Rheumatol*; 22: 432-436
13. **Ginsberg J, Kowalchuk G, Hirsh J, Brill P, Burrows R, Coates G, Webber C.** 1990. Héparin effect on bone density. *Thromb Haemost*; 64:286-289
14. **Muir JM, Andrew M, Hirsh J, Weitz JI, Young E, Deschamps P, Shaughnessy SG.** 1996. Histomorphometric analysis of the effects of standard heparin on trabecular bone in vivo. *Blood*; 88(4):1314-1420
15. **Shaughnessy SG, Hirsh J, Bhandari M, Muir JM, Young E, Weitz JI.** 1999. A histomorphometric evaluation of heparin-induced bone loss after discontinuation of heparin treatment in rats. *Blood*; 93(4):1231-1236.
16. **Misra HP, Fridovich I.** 1972. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*; 247: 3170-3175
17. **Luck H.** 1963. A spectrophotometric method for the estimation of catalase In Bergmeyer, H.V.(ed) *Methods of enzymatic analysis* New York, Acad. Press, p. 886-888.
18. **Firschein, H; Sill, J.** 1966. The determination of total hidroxiprolina in urine and bone extracts. *Analytical Biochemistry International Journal*; 14(2): 297 - 304