

NOTA CIENTIFICA

Evaluación preliminar del efecto de *Lepidium meyenii* Walp en el desarrollo embrionario de ratón (†)

Preliminary Evaluation Effect of *Lepidium meyenii* Walp on the embryonic development of mouse

Guadalupe D'Arrigo¹, Víctor Benavides¹ y José Pino¹

Presentado: 05/04/2004

Aceptado: 19/05/2004

Resumen

La "maca", *Lepidium meyenii* Walp, especie vegetal nativa del Perú, es un recurso de gran valor nutricional. Además son varias las investigaciones realizadas en la última década en las cuales se ha comprobado sus efectos sobre la fertilidad de mamíferos. En este trabajo, evaluamos el posible efecto del extracto liofilizado del hipocótilo de *L. meyenii* Walp en el desarrollo de los embriones pre-implantacionales de *Mus musculus*. Se suministró el liofilizado intra-peritonealmente, en una concentración de 0 g/Kg (grupo control) y 1 g/Kg de peso corporal a dos grupos de ratonas preñadas respectivamente, desde el día 1 hasta el día 4 de preñez. Se evaluaron el estadio de desarrollo, condición y morfología embrionarias, no encontrándose efectos tóxicos del extracto acuoso liofilizado de "maca" en el desarrollo normal de los embriones pre-implantacionales de ratón.

Palabras Claves: Maca, *Lepidium meyenii* Walp, embriones de ratón, desarrollo pre-implantacional

Abstract

The "maca", *Lepidium meyenii* Walp, is a peruvian native plant and resource with a wide nutritional value. Several investigations had been realized in the last decade to probe the "maca" effects on the mammals fertility. In this work, we assessed the effects of lyophilized aqueous extract of *L. meyenii* on the preimplantational embryos of *Mus musculus*. Two concentrations of 0 g/Kg (control group) and 1 g/Kg of body weight of lyophilized aqueous extract were supplied to two groups of pregnant female mice, respectively from day 1 to day 4 of pregnancy. The stage of development, conditions and embryo morphology were evaluated. We found that lyophilized aqueous extract of "maca" cause no toxic effects on the normal development of the preimplantational mouse embryos.

Keywords: Maca, *Lepidium meyenii* Walp, mouse embryo's, pre-implantational development.

Hasta hace pocos años, esta nutritiva raíz de la puna, llamada «maca» (*Lepidium meyenii*) era poco o nada conocida para la gran mayoría de los habitantes del Perú moderno y claramente ignorada por el resto del mundo. La Maca es una crucífera que crece en los páramos altoandinos por encima de los 4000 m de altitud. (León, 1964; Hernández & León, 1994).

La «maca» además de su valor alimenticio es utilizada en medicina popular, con la creencia que, favorece la reproducción en los animales y en el hombre, pero sobre esta supuesta propiedad hay escasa evidencia experimental (Baquerizo, 1968). En estos momentos en los que existe el creciente interés en el uso de la medicina natural, se señala la necesidad de la evaluación de las propiedades de dichas plantas, así como de sus posibles efectos secundarios (Benavides et al., 2000.)

Se han realizado estudios de la acción fisiológica que ejercen los alcaloides de «maca» generando una estimulación marcada en el desarrollo de los folículos de Graaf, y un aumento en los niveles de estrógenos de ratas

(†) Trabajo dedicado a la memoria del Dr. Bernardo Victor Ishiyama Cervantes.

(1) Laboratorio de Reproducción y Biología del Desarrollo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú.

E mail Guadalupe D'Arrigo: gdarrigoh25@yahoo.com

suministradas con «maca» por vía oral. Así mismo, Chacón (1961) evaluando la composición fitoquímica y efectos de la «maca» sobre el aparato reproductor en ratas, encuentra un incremento significativo ($p < 0,05$) en la procreación de las ratas, así como cambios histológicos en los órganos internos tanto masculinos como femeninos.

Otros estudios realizados en ratas, ratones y cobayos, han demostrado las propiedades de la «maca» sobre el comportamiento sexual y sus efectos positivos sobre la fertilidad: incremento en el número de espermatozoides en tubos seminíferos y aumento en el número de folículos de Graaf como evidencia de estimulación de la maduración folicular. (Zheng, 2000; Matos, 1995; Álvarez, 1993; Cicero et al., 2001; Chacón, 1990)

Los estudios de embriones pre- y post-implantacionales han generado nuevas perspectivas en la acción de drogas y químicos naturales, con la finalidad de entender la toxicidad en la gestación temprana. A pesar de esto, muchos estudios están incompletos y no muestran efectos significativos sobre el embrión (Del Valle & Orihuela, 1996).

En el presente trabajo se ha evaluado el efecto del extracto acuoso liofilizado de *Lepidium meyenii* Walp sobre los embriones pre-implantacionales de ratón *Mus musculus*.

Se usaron ratones *Mus musculus* de la cepa Swiss Rockefeller mantenidos bajo condiciones de bioterio de 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad. Se seleccionaron hembras de 6 a 8 semanas de edad que fueron cruzadas con machos fértiles (8-10 semanas

de edad) comprobándose la cópula al día siguiente por la presencia del tapón vaginal. A todas las ratonas sometidas a tratamiento se les dio agua y comida *ad libitum*.

Se preparó un extracto acuoso de la raíz de *L. meyenii* (ecotipo amarillo) al 10% (p/v). Luego la solución fue filtrada y liofilizada. A partir de este último se preparó una dosis de 1g/Kg de peso corporal del animal diluido en agua destilada. Las hembras preñadas fueron divididas en dos grupos: (a) Grupo Tratado al que se les inyectó intra-peritonealmente una dosis de 1g/ Kg de peso corporal desde el día 1 de preñez; (b) Grupo Control, al que se les inyectó agua destilada. Pasadas las 83 horas post-cópula se procedió a la evaluación de los embriones para lo cual se sacrificaron, por dislocación cervical, a las hembras y se extirparon los cuernos uterinos y oviductos los cuales fueron perfusionados con buffer fosfato salino (PBS, Sigma) pH 7,4 (Hogan et al., 1986).

Los embriones fueron examinados usando un microscopio de contraste de fase. Para la clasificación se usó la gradación propuesta por Dorn & Kramer (1987) con algunas modificaciones: Grado 1: El embrión tiene forma redonda y no tiene blastómeros libres; Grado 2: El embrión presenta blastómeros libres; Grado 3: El embrión presenta blastómeros libres y presenta malformaciones severas, Degenerados: El embrión tiene forma de tazón o está achatado, además, presenta membrana celular rota.

Para el análisis estadístico se empleó el programa estadístico SPSS, realizándose la prueba del χ^2 y/o el test exacto de Fisher. Se

Tabla 1. Evaluación morfológica de los embriones (Gradación de acuerdo a Dorn & Kramer, 1987), expresado en porcentaje. Control: agua destilada, Maca: 1g/Kg.

Dosis	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Degenerado	Total
Control	85,7 (48)	7,1 (4)	1,8 (1)	5,4 (3)	100 (56)
Maca	84,5 (49)	8,6 (5)	3,4 (2)	3,4 (2)	100 (58)

Los números en paréntesis indican el número de embriones evaluados.

Tabla 2. Porcentaje de embriones por estadio embrionario. Control: agua destilada, Maca: 1g/Kg.

Dosis	1-8 cell	Mórulas	Blastocistos	Total
Control	5,4 (3)	46,4 (26)	48,2 (27)	100 (56)
Maca	5,2 (3)	46,6 (27)	48,3 (28)	100 (58)

Los números en paréntesis indican el número de embriones evaluados.

consideró estadísticamente significativo un valor $p < 0,05$.

Nuestros resultados demostraron que el extracto acuoso liofilizado de «maca» (1g/Kg), no causaba ninguna alteración en el desarrollo normal de embriones, obteniéndose un porcentaje similar de embriones en Grado 1 entre el grupo control y el tratado (85,7% y 84,5%, respectivamente), mientras que el porcentaje más bajo de embriones degenerados (3,4%) lo tenía el grupo tratado (Tabla 1). Lo mismo ocurre al evaluar el porcentaje de los embriones normales: el grupo tratado con maca muestra un 87,9% de normalidad, y 12,1% de anormales. Finalmente, no se encontró ningún retraso en el desarrollo embrionario, observándose un 48,3% de embriones en estadio de blastocisto frente a un 48,2% del control (Tabla 2). El análisis estadístico χ^2 y el test exacto de Fisher, demostró que no existía un nivel de significancia entre el grupo tratado y el control, en los 3 parámetros que se evaluaron ($p > 0,05$).

Nuestros resultados muestran que existe un alto porcentaje de embriones normales en el grupo tratado con maca (87,9%) frente a un 12,1% de embriones con alteraciones, similar a los datos obtenidos para el grupo control. Esto indicaría que la «maca» no produce ningún efecto tóxico para el desarrollo de embriones pre-implantacionales de ratón. En 1998, Beltrán et al., demostraron la ausencia de toxicidad de la «maca» al determinar la dosis letal media de este producto que superó los 15 g/Kg de peso del animal. Así mismo, Álvarez (1993), trabajando con cobayos encontraron que la maca mejoraba la fertilidad y reproducción de los animales que fueron alimentados con una dieta que incluyó «maca».

Tampoco se evidenció retraso en el desarrollo embrionario pre-implantacional tratados con el extracto acuoso liofilizado de «maca» encontrándose cerca del 50% de los embriones en estadio de Blastocisto (48,3%), mientras que en el control fue de 48,2%. Posteriormente, Apumayta y Lock (1993), han reportado que la maca posee propiedades estrogénicas. Chacón (1961), luego de trabajar con ratas hembras albinas inoculada vía intraperitoneal con extracto alcaloidal de «maca», demostró un incremento en la maduración folicular.

En conclusión podemos decir que el extracto acuoso de *Lepidium meyenii* no afecta el desarrollo normal, ni la viabilidad de los embriones pre-implantacionales de ratón, sino que, por el contrario, puede favorecer el desarrollo de los mismos, en concordancia con estudios previos.

Agradecimientos

Agradecemos al PhD. Alvaro Marcelo del laboratorio de Química Bioorgánica del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por permitirnos usar sus instalaciones para la preparación del liofilizado y a la Magíster Libertad Alzamora del Laboratorio de Inmunología de la misma Universidad, por la donación del material vegetal.

Literatura citada

- Álvarez, C. 1993. Utilización de diferentes niveles de «maca» en la fertilidad de cobayo. Tesis Ing. Zootecnista. Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión. Pasco. Perú.
- Apumayta, U. y O. Lock, 1993. La Maca, importante especie vegetal peruana merece un mayor estudio. Revista de Química. Pontificia Universidad Católica del Perú. VII: 214-216.

- Baquerizo, G. 1968. Estudio Químico Bromatológico de *Lepidium meyenii* Walp (maca) y de *Aiphanes var. deltoidea* Burret (Shica-Shica). Tesis. Bachiller en Medicina. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú.
- Beltrán H.; S. Baldeón, E. Carrillo, C. Fuertes, J. Arroyo, S. Sandoval, L. Obregón, 1998. Estudio botánico y clínico de los ecotipos amarillo y morado de *Lepidium peruvianum*: maca. Evaluación de su toxicidad aguda. 143-144 pp. En: L. Obregón, La Maca, planta medicinal y nutritiva del Perú. Instituto de Fitoterapia Americano. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Benavides, V.; J. Rodríguez; G. D'Arrigo; J. Poma, & J. Pino, 2002. Evaluación Preliminar del efecto de *Lepidium meyenii* W. (Brassicaceae) sobre embriones preimplantacionales de ratón. En Libro de Resúmenes de la XI Reunión Científica del Instituto de investigación de Ciencias Biológicas «Antonio Raimondi». Fac. Ciencias Biológicas. UNMSM.
- Benavides, V; G. Trujillo, G. D'Arrigo, U. Paredes, J. Pino. 2000. Evaluación toxicológica preliminar de *Ruta graveolens*, *Origanum vulgare*, y *Persea americana* sobre embriones pre implantacionales de ratón. Rev. Per.Biol. 7 (1):86-88.
- Chacón, G. 1990. La maca, (*Lepidium meyenii* Chacón sp. Nov) y su hábitat. Rev. Per. Biol. 3(2):169-272.
- Chacón, G. 1961. Estudio Fitoquímico de *Lepidium meyenii* Walp. Tesis de Bachiller en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú.
- Cicero, A. F. G.; E. Bandieri; R. Arletti. 2001. *Lepidium meyenii* Walp improves sexual behaviour in male rats independently from its action on spontaneous locomotor activity. J. Ethnopharmacol 75: 225-229.
- Del Valle L. & P. Orihuela, 1996. Cleavage and development in cultured pre-implantation mouse embryos exposed to lidocaine. Reprod toxicol. 10(6):1-6.
- Dorn C. G. & D. C. Kraemer. 1987. Bovine embryo grading. Texas A&M University College of Veterinary Medicine. Department of Physiology and Pharmacology, pp 1-17.
- González G. F.; A. Ruiz; C. González, L. Villegas, A. Córdova, 2001. Effect of *Lepidium meyenii* (maca) roots on spermatogenesis of male rats. Asian J Androl, 3: 231-233.
- Hogan, B.; F. Costantini, & E. Lacy. 1986. Manipulating the mouse embryo. Cold Spring Harbor Laboratory. New York. U.S.A.
- Obregón, L. 1998. Maca. Planta Medicinal y Nutritiva del Perú. Instituto de Fitoterapia Americano, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, 182 pp.
- Hernández, J. E. & J. León, 1994. Andean Roots. En: Neglected crops 1492 from a different perspective. Publicado en colaboración con el Jardín Botánico de Córdoba (España) como parte del Programa Etnobotánica 92. pp:165-179.
- León, J. 1964. The «Maca» (*Lepidium meyenii*), a little known food plant of Peru. Economic Botany Vol. 18: 122-127.
- Matos, T. 1995. Efecto de la Maca (*Lepidium meyenii* Walp) en la presentación de celo en vaquilla Holstein en el estable "Chacra Valdivia" Matahuasi-Concepción. Tesis. Facultad de Zootecnia Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo. Perú
- Zheng, B.L. 2000. Effect of a lipidic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats. Urology 55:598-602.