

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

E.A.P. DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Efecto modulador de la respuesta inmune humoral de extractos de *Lepidium peruvianum* Chacón (Maca) en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida

TESIS

para optar el título profesional de Biólogo con Mención en Biología Celular y Genética.

AUTORA

Dina Torres Gonzales

ASESORA

Libertad Alzamora Gonzales

Lima - Perú

2008

Asesora: Dra. Libertad Alzamora Gonzales
Profesora Principal de la Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Dedico este trabajo a la
memoria de mi padre
porque su sueño se lleve acabo.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Libertad Alzamora, por brindarme su constante apoyo, cariño y consejos en lo intelectual y espiritual, en momentos difíciles; por su constante entusiasmo en el laboratorio y por sus valiosos aportes y sugerencias.

Al Profesor Erasmo Colona por su gran apoyo, su sincera amistad y por su gran sentido del humor.

A mis Padres Juan y Dolores por su dedicación, en especial a mi madre por sus consejos y constante aliento.

A todos mis hermanos en especial a mi hermana Susana por su amor fraterno y apoyo incondicional en cada momento importante de mi vida.

A mis fieles amigos de la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a Ruth, Carlos y Carmela, quienes me permitieron compartir con ellos momentos que siempre llevaré en mis recuerdos y por su sincera amistad; a Patty, Jaqui, Madeley, Martín y otros amigos que fueron llegando y que me brindaron todo su apoyo y me permitieron llevar a cabo este trabajo.

Al Profesor Yarleque a Gustavo y Rocio por darme las facilidades necesarias para usar el espectrofotómetro en su laboratorio.

CONTENIDO	Pag.
Resumen	6
Abstract	8
Abreviaturas	10
Introducción	11
Antecedentes	13
Material y Métodos	19
Resultados	25
Discusión	39
Conclusiones	43
Recomendaciones	44
Referencias Bibliográficas	45
Tablas	51
Figuras	75
Anexos	82

RESUMEN

Las raíces de *Lepidium peruvianum* Chacón (maca) son reconocidas por sus propiedades curativas dentro de la medicina tradicional, estas poseen metabolitos secundarios con actividad biológica como alcaloides, flavonoides y glicosinolatos que podrían estimular la recuperación del sistema inmune en animales con inmunosupresión experimental por Ciclofosfamida (CP) que induce supresión del sistema inmune humoral en ratones.

El presente trabajo tuvo como objetivo comprobar el efecto modulador de la maca sobre la respuesta inmune humoral en ratones suprimidos con ciclofosfamida.

Fueron obtenidos tres tipos de extractos: clorofórmico (ECI), metanólico (EMe) y acuoso (EAc) que se administraron por vía oral en dosis de 300mg/Kg del peso corporal.

Para cada extracto fueron empleados 30 ratones machos Balb/c, los cuales fueron divididos en cinco grupos: I.- tratado con extracto, inmunosuprimido e inmunizado con glóbulos rojos de carnero (GRC), II.- sólo inmunosuprimido e inmunizado con GRC, III.- sólo tratado con extracto e inmunizado con GRC, IV, sin extracto e inmunizado con GRC y V.- sin extracto, sin ciclofosfamida y sin inmunización con GRC. Cada grupo fue de 6 ratones, a los cuales se les administró los extractos por diez días, el día 11 fueron inmunizados con GRC, el día 13 fueron inmunosuprimidos con CP a una concentración de 50mg/kg por vía intraperitoneal, se continuo el tratamiento durante 20 días. Al final del experimento se evaluó el peso corporal, peso de órganos relacionados, celularidad de órganos linfoides, recuento de células sanguíneas, así como el nivel de la hemoglobina, el título de anticuerpos hemaglutinantes y se realizó la cuantificación de anticuerpos fijadores de complemento.

La dosis de 50mg/kg de ciclofosfamida produjo una inmunosupresión en los grupos tratados lo cual fue evidenciado en la disminución ligera del peso corporal, la reducción del número celular en órganos linfoides y en la significativa reducción del título de anticuerpos en los grupos inmunosuprimidos, siendo más resaltante en la respuesta inmune primaria.

Se obtuvo un resultado significativo en el incremento de glóbulos blancos (WBC), linfocitos (LYM) y hemoglobina (HGB) en el grupo I tratado con extracto acuoso para la respuesta inmune humoral. En el grupo I tratado con extracto clorofórmico se evidenció un incremento significativo en el recuento celular de timo y bazo en respuesta inmune primaria (RIP) y el extracto metanólico presentó mayor efecto en el recuento celular del timo y

médula ósea en respuesta inmune secundaria (RIS). Asimismo, el título de anticuerpos hemaglutinantes fue significativamente superior ($p<0.05$) en los animales tratados con extracto acuoso e inmunosuprimido para RIP y metanólico para RIS. Al igual que en la prueba de fijación de complemento, el extracto metanólico presentó mayor efecto en RIP y RIS.

La administración de los extractos de maca moduló el sistema inmune humoral de los ratones inmunosuprimidos y fue el extracto metanólico el de mayor efecto en RIP y el extracto acuoso en la RIS.

Palabras clave: inmunomodulación, metabolitos secundarios, ciclofosfamida, *Lepidium peruvianum*, maca.

ABSTRACT

The roots of *Lepidium peruvianum* Chacón (maca) they are recognized by their medicine properties inside the traditional medicine. They have secondary metabolites with biological activity as alkaloids, flavonoids and glucosinolates that can stimulates the recovery of the immune system in animals with experimental immunosuppression by cyclophosphamide (CP) that induces suppression of the immune system humoral in mice.

The objective of the present study was verify the modulating effect of the “maca” on the immune response humoral in mice suppressed with cyclophosphamide.

Three types of extracts were obtained: chloroformic (ECI), methanol (EMe) and aqueous (EAc) that they were administered for oral route in dose of 300mg/Kg of the body weight.

For every extract were used 30 mice males Balb/c, which were divided in five groups: I.- treated with extract, suppressed and immunized with red blood sheep's cells (GRC), II.- only suppressed and immunized with GRC, III.- only treated with extract and immunized with GRC, IV.- only immunized with GRC, and V.- Without extract, without cp and without immunization with GRC. Each group was six mice, treated by different extract for ten days, and 11th day were immunized by red blood sheep's cells (SRBC), 13 th day were immunosuppressed with CP to the dose of 50mg/Kg this treatment was continuing by 20 days. At the end of the experiment there was evaluated the body weight, relative organ weight, lymphoid organ cellularity, blood cells count, this way as the level of hemoglobin, titre and quantitative haemolysis of SRBC assay.

The dose of 50mg/kg Cyclophosphamida produced an immunosuppression in the treated groups which was demonstrated by the light decrease of the body weight decrease, the reduction in lymphoid organ cellularity in the significant decrease of antibodies in the suppressive groups, it was more expressive in immune primary response.

A significant result obtained in the increase of white blood cells (WBC), lymphocytes (LYM) and hemoglobin (HGB) in the group I treated with aqueous extract for the immune response humoral. In the group I treated with chloroform extract I demonstrate a significant increase in the cellular count of the spleen and spleen in immune primary response (RIP) and the extract methanol present major effect in the cellular inventory of the spleen and bony marrow cell in immune secondary response (RIS).

Likewise, the titre of antibodies hemagglutinants was significantly high ($p < 0.05$) in the animals treated with aqueous extract for RIP and methanol extract for RIS. As in the

test of fixation of complement, the methanol extract present was a major effect in the groups treated in RIP end for RIS.

The administration of the extracts of “maca” modulated the immune system humoral of the mice suppressed being the methanol extracts that of major effect in RIP and the aqueous extract in the RIS.

Keywords: Immunomodulation, Secondary metabolites, Cyclophosphamide, Immunossuppression, *Lepidium peruvianum*, “maca”.

ABREVIATURAS

GRC	:	Glóbulos Rojos de Carnero
CP	:	Ciclofosfamida
EAc	:	extracto acuoso
EMe	:	extracto metanólico
ECl	:	extracto clorofórmico
RIP	:	Respuesta Inmune Primaria
RIS	:	Respuesta Inmune Secundaria
Hb	:	Hemoglobina
Ab	:	Anticuerpo
Ag	:	Antígeno
WBC	:	Conteo de células blancas
LYM	:	Linfocitos
HGB	:	Hemoglobina
PLT	:	Plaquetas
HCT	:	Hematocrito
EDTA	:	ácido etilendiaminotetraacético.
CH50	:	Unidad lítica de Complemento, 50% de hemólisis
CL	:	Cloroformo
PBS	:	buffer fosfato salino
HA	:	Hemaglutinación
GMT	:	media geométrica
Ig	:	Inmunoglobulina
V. Sem.	:	Vesículas seminales
i.p.	:	Vía intraperitoneal.

INTRODUCCIÓN

Lepidium peruvianum Chacón, Maca, es una crucífera altoandina, que se encuentra distribuida entre los 3,500 y 4,800 m. Gloria Chacón (1990) menciona que en el Perú, de acuerdo a Ferreira (1986), existían 11 especies clasificadas del género *Lepidium*, Chacón agrega *Lepidium peruvianum* como una nueva especie.

L. peruvianum es una planta comestible y se aprecia mucho por su valor nutritivo, especialmente en proteínas y minerales (Reyna *et al.*, 1995) carbohidratos, aminoácidos esenciales y contenido de fibra (Dini *et al.*, 1994) su importancia económica esta vinculada principalmente a sus propiedades vigorizantes y estimulantes en la reproducción, al incrementar la fertilidad en humanos y animales (Quiroz *et al.*, 1996, Obregón, 1998). Otras propiedades recientemente atribuidas en numerosas páginas de internet a *Lepidium peruvianum* son el incremento de la memoria, la estimulación del metabolismo, podría combatir la anemia (interviniendo en la producción de glóbulos rojos y leucocitos), leucemia, VIH, alcoholismo y otros; sin embargo ninguna de estas actividades han sido científicamente demostradas.

Trabajos previos indican que la maca presenta efecto modulador sobre el sistema inmune y estas propiedades estarían relacionadas a los metabolitos secundarios. Existen estudios realizados en maca a nivel bioquímico y fitoquímico y de sus propiedades revitalizante y reguladora (Chacón, 1961; Ganzera *et al.*, 2002; Piacente *et al.*, 2002).

Neelam *et al.*, (2001) evaluaron la actividad inmunomoduladora del extracto alcohólico de *Mangifera indica* L. y determinaron sus propiedades de incrementar la producción de anticuerpos y estimular la activación de células T y células B.

El extracto acuoso de *Trigonella foenum graecum* L. presentó efecto estimulador en la sistema inmune humoral en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida (Bilal, *et al.*, 2002).

El presente estudio pretendió determinar el efecto de los extractos metanólico, acuoso y clorofórmico de *Lepidium peruvianum* sobre la respuesta inmune humoral en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida para lo cual se propuso los siguientes objetivos específicos:

1. Preparar los extractos metanólico, clorofórmico y acuoso de *Lepidium peruvianum* y determinar la presencia los alcaloides, saponinas y flavonoides.
2. Estandarizar el protocolo de inmunosupresión con el empleo de ciclofosfamida.
3. Determinar el efecto inmunomodulador de cada extracto sobre la producción de anticuerpos.
4. Identificar el extracto con mayor efecto inmunomodulador en el modelo experimental.

ANTECEDENTES

1. Efectos biológicos de los metabolitos secundarios de *Lepidium peruvianum* Chacón.

Los metabolitos secundarios son aquellos compuestos que intervienen en los procesos fisiológicos de los organismos que los sintetizan (Robert *et al.*, 1991). Las funciones que cumplen los metabolitos son de proteger a la planta de sus depredadores, atraer polinizadores y simbiontes y brindarles protección (Loyola y Vargas, 1985, citados por Robert *et al.*, 1991). Estos metabolitos secundarios cumplirían un rol importante en la sobrevivencia de las plantas. El aislamiento y conocimiento estructural de sus compuestos permiten diseñar modelos sintéticos aplicados a casos terapéuticos ya que su acción fisiológica en el hombre es amplia, es por ello que un gran número de alcaloides ya han sido identificados y se extraen de diversas partes de las plantas medicinales (Wadi, 1965; Lock, 1994). Los metabolitos secundarios presentes en las plantas son elementos biológicos como flavonoides, polisacáridos, glucanos, ácidos polisaturados, alcaloides y otros componentes fisiológicamente activos. Los estudios analíticos revelan que la maca contiene numerosos principios biológicamente activos.

Algunos estudios sugirieron que los metabolitos secundarios encontrados en extractos de maca son componentes importantes responsables de sus efectos fisiológicos. En 1961 Chacón evaluó las raíces de maca y determinó la presencia de 4 alcaloides en los extractos de acetona, éter sulfúrico y alcohol denominándolas macaína 1, 2, 3 y 4. Asimismo, Dini *et al.*, (1994) detectó por cromatografía de capa fina de un extracto alcalino de polvo de maca realizado en cloroformo 3 fracciones de alcaloides positivas al reactivo de Dragendorff.

Según Chacón (1961) los alcaloides contenidos en *Lepidium peruvianum* administrados a ratas, estimularon la maduración de los folículos de Graff y el un aumento en los niveles de estrógenos.

En los estudios realizados por Johns (1980) en raíces de maca de la localidad de Huayre, Junín determinó en sus muestras que fueron almacenadas en p-diclorobenceno la presencia de glucosinolatos e isotiocianatos y relacionó la acción de los glucosinolatos

sobre procesos hormonales reproductivos. Los glucosinolatos y las amidas benciladas se asocian a un efecto anticancerígeno y están presentes en varias familias de *Brassicaceae* (Wattenberg, 1997). Mas adelante Genyi *et al.*, (2006) hallaron en las raíces y hojas frescas y secas de *L. peruvianum* glucosinolatos aromáticos, benzilglucosinolato (glucotropaeolin) y p-methoxybenzilglucosinolato.

Cui *et al.*, (2003), identificaron los alcaloides Lepidilina A (1,3-dibenzilado- 4,5-dimetilimidazol cloride) y Lepidilina B (1,3-dibenzilado-2,4,5-trimetilimidazol cloride) asimismo otro metabolito recientemente identificado es la macamida, una clase distinta de metabolito secundario encontrado sólo en *Lepidium meyenii* Walp. como la n-benzilhexa- decanamide, la n-enzil--(9Z)-octadecenamide, la n-enzil - (9Z, 12Z)-octadecadienamide, la n-enzil - (9Z, 12Z, 15Z)-octadecatrienamide y la n-benzil-octadecanamide (Megan *et al.*, 2004).

Illescas, (1994) realiza un trabajo mas completo al analizar fitoquímicamente las raíces pulverizadas de tres ecotipos de maca (amarilla, roja y morada) e identificó tres fracciones de alcaloides y un flavonoide, encontró también presencia de esteroides, triterpenos, compuestos fenólicos, cumarinas, taninos, glucósidos, saponinas, aminoácidos libres y aminos secundarias alifáticas y aminos terciarias. Determinó también micronutrientes y componentes nutritivos entre ellos fructuosa que es recomendada para combatir la fatiga en los atletas. Estos datos coinciden con los estudios realizados por Gonzales *et al.*, (2006), donde el extracto de maca presenta alcaloides, esteroides, taninos glicósidos cardiotónicos y saponinas.

Chacón, (1961) registró que la presencia de alcaloides se encontraron en los extractos acetónico, etéreo y alcohólico mas no en el solvente acuoso; en el extracto alcaloideo halló cuatro tipos de alcaloides “macainas” (Chacón, 1990). Estos alcaloides presentan componentes como las catequinas y los isotiocianatos las cuales estarían relacionadas con su actividad antioxidante y al comparar con los trabajos de otros autores se concluyó que esta actividad se debería en mayor grado a los isotiocianatos que a las catequinas (Sandoval *et al.*, 2002).

Asimismo están presentes los flavonoides que son pigmentos naturales que se encuentran en las plantas, semillas, frutas y bebidas como vino y cerveza, poseen múltiples

efectos positivos debido a su acción antioxidante y eliminadora de radicales libres (Martinez *et al.*, 2002). A estos compuestos químicos fenólicos se les atribuyen propiedades diurética, hemostática, astringente y antiinflamatoria. Se dice además que la maca podría tener compuestos que ayudan a mantener un balance entre oxidantes y antioxidantes, degradando los radicales libres y dando un efecto citoprotector a través de su actividad antioxidante (Sandoval *et al.*, 2002). Rosas *et al.* (2004) llevaron a cabo un estudio en extractos de *L. peruvianum* probando su efecto antioxidante mediante la inducción de hemólisis en eritrocitos *in vitro* y concluyeron que los extractos acuoso y metanólico poseen mayor efecto antioxidante que el extracto clorofórmico.

Los extractos de maca poseen, además, saponinas que son glicósidos esteroideos que forman abundante espuma al agitar las soluciones acuosas. Las saponinas crudas como las purificadas tienen acción estimulante sobre el sistema nervioso central, antipirética, sedante, expectorante, antitusiva, previenen las úlceras provocadas por el estrés, aceleran la movilidad intestinal y muestran actividad antiinflamatoria. (Sánchez, 1994). Promueven la síntesis de ARN y de proteínas (Yoshikoshi, 1996). Se han realizados estudios en *Portulaca olerácea* L, donde la presencia de saponinas aceleraron el crecimiento de los embriones vegetales, lo que hace pensar en un posible papel hormonal (García, 2000).

Tapia *et al.*, (2000) estudiaron el efecto anti-estrés de la maca y los resultados mostraron que los animales suplementados con maca tuvieron una mayor resistencia al desarrollo de signos de neuroticismo, lograron menores puntajes de neuroticismo y tuvieron desaparición de los signos de neuroticismo más rápidamente que los animales que no recibieron maca, demostraron científicamente las propiedades anti-estrés de la maca.

Los metabolitos secundarios como los alcaloides pueden presentar efectos nocivos en grandes cantidades, en el trabajo realizado por Nieto *et al.*, (2004) evaluaron el efecto tóxico agudo y sub-agudo a nivel hepático y renal del extracto alcohólico de la harina de *Lepidium peruvianum* Chacón sp. y concluyeron que el extracto alcohólico de maca podría afectar la función hepática y renal a dosis muy elevadas (23,627 mg./kg., es decir, 787.57 veces la dosis terapéutica), por lo que consideraron a este extracto relativamente inocuo.

Valerio *et al* (2005) indican que la maca tiene un bajo grado de toxicidad aguda vía oral en animales y bajo grado de toxicidad celular *in vitro*.

2. Inmunomodulación.

La inmunomodulación es un balance complejo entre células efectoras y reguladoras y un desbalance en este mecanismo puede generar una patogénesis (Steven *et al.*, 1985). La inmunosupresión es uno de los principales obstáculos en el tratamiento de cáncer convencional por la quimioterapia y radioterapia por ello que diversos inmunomoduladores, naturales y sintéticos, son estudiados con el fin de aliviar los efectos, que es uno de los principales problemas en la terapia convencional. Se han realizado muchos estudios acerca de la actividad inmunomoduladora que ejercen los metabolitos secundarios en las plantas.

Así por ejemplo en el extracto acuoso de *Trigonella foenum graecum* L. se determinó su actividad inmunomoduladora debido al aumento de la capacidad fagocítica de los macrófagos el cual se vio reflejado a través de un incremento en el conteo de células de la médula ósea, (Bilal *et al.*, 2002).

Otros estudios han demostrado que el extracto acuoso de *Clausena excavata* estimuló la actividad fagocítica sobre la actividad enzimática lisosomal (Manosroi. *et al.*, 2003).

Tiwari *et al.*, (2004) evaluaron la actividad del extracto acuoso de *Tridax procumbens*, y registraron incremento en el índice fagocítico de leucocitos y el aumento del título de anticuerpos hemaglutinante; comprobando así el efecto estimulador sobre la respuesta inmune.

Wimolnut *et al.*, (2004), demostraron que el extracto de *Aeginetia indica* Roxb. tiene una actividad estimuladora en células T.

En el estudio de los extractos de *Piper longum* Linn. y piperina se encontraron un incremento en el título de anticuerpos circulantes (Sunila *et al.*, 2004).

Se han ido investigando el potencial terapéutico de las plantas debido a la presencia de metabolitos secundarios que le dan capacidad inmunomoduladora (Guerra *et al.*, 2002) y en otros casos actúan inhibiendo la actividad linfocitaria (Morales *et al.*, 1994). En *L. peruvianum* se podría presentar actividad moduladora sobre el sistema inmune, por los resultados obtenidos en investigaciones realizadas por Alzamora *et al.*, (2003).

3. Ciclofosfamida y sus efectos en el sistema inmune.

Hay fármacos que son utilizados como inmunosupresores para el tratamiento contra el rechazo de injertos. Los tratamientos inmunosupresores utilizados comúnmente son las toxinas metabólicas, como la azatioprina y la ciclofosfamida; estas eliminan las células que están proliferando rápidamente. Estos agentes inhiben la maduración de linfocitos desde sus precursores inmaduros y también eliminan a las células T maduras que están proliferando y que han sido estimuladas por los aloantígenos.

Los inmunosupresores como Ciclofosfamida son comúnmente utilizados en quimioterapia y en el tratamiento de enfermedades autoinmunes (Zaide *et al.*, 1990), estos métodos producen efectos como náuseas, vómitos, ulceraciones mucosas, alopecia, fibrosis pulmonar, toxicidad hepática y cardíaca. Estas drogas también pueden producir la inhibición de la estimulación inmunitaria, brindando una gran ayuda en el tratamiento del cáncer, pero puede ser causa de infección fulminante y muerte por enfermedades que en otro caso no serían mortales, como la tuberculosis fulminante en una persona en quien la enfermedad previamente ha sido activada; la CP también es utilizada para prevenir rechazo inmunológico en trasplantes (corazón, riñón, hígado, etc), la ciclofosfamida presenta un efecto inmunomodulador, por lo que cumple un rol importante en la respuesta antitumoral (Schiavoni, 2000).

La administración de grandes dosis de ciclofosfamida (CP), produce atrofia importante de todo el tejido linfoide, lo que a su vez disminuye la producción de células T como de anticuerpos. En consecuencia, el nivel de inmunidad humoral para casi todos los invasores extraños del organismo está disminuido. La ciclofosfamida puede inducir la liberación de citoquinas (IL - 10) y el aumento de esta lo cual conlleva a una inmunosupresión (Rojas *et al.*, 2005).

La ciclofosfamida inhibe la fase S del ciclo celular, la producción de anticuerpos, induce linfocitopenia tanto de linfocitos T y B. La ciclofosfamida al disminuir la formación y el depósito de inmunocomplejos e inmunoglobulinas, disminuye la producción de interleucinas pro-inflamatorias (Artym *et al.*, 2005).

Se ha comprobado su acción inmunosupresora en ratones tratados con ciclofosfamida en diferentes estudios como el realizado por Davis y Kuttan, (1998) quienes utilizan ciclofosfamida para inducir leucopenia a dosis de 25mg/Kg en ratones. Bilal *et al.*, (2001) emplearon ciclofosfamida en dosis única de 50mg/Kg por vía intraperitoneal para disminuir el sistema inmune humoral y probar los efectos del extracto de *Cassia occidentalis* L. En el presente trabajo se utilizó ciclofosfamida a la dosis de 50mg/Kg.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Elaboración de extractos de *Lepidium peruvianum* Chacón (Maca)

La maca fue colectada en la ciudad de Chupaca (Junín) entre Febrero y Marzo del 2004; clasificada por la Dra. Magda Chanco en el Museo de Historia Natural y procesada en el Laboratorio de Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNMSM. Se conservó en un ambiente refrigerado y posteriormente se elaboraron los extractos. El protocolo para la elaboración de los extractos fue realizado de acuerdo a lo descrito por Alzamora (2004).

Las raíces de maca fueron seleccionadas y limpiadas, después se procedió a cortarlas en trozos muy pequeños que se secaron en estufa de aire circulante a una temperatura de 45° C durante dos días, una vez desecado se procedió a la trituration en molino manual, la molienda se realizó en una licuadora y finalmente se tamizó para conseguir un polvo fino que se conservó en recipientes para la preparación de cada extracto.

1.1. Extracto acuoso (EAc). Se maceró 300g de *Lepidium peruvianum* pulverizado en 950ml de agua destilada estéril en un frasco de vidrio color oscuro, todo el proceso fue realizado a 10° C por espacio de 2 semanas, agitándose diariamente. Terminado el tiempo se procedió al filtrado por vacío obteniéndose una solución más concentrada la cual se liofilizó, logrando un rendimiento de aproximadamente el 3%.

1.2. Extracto metanólico (EMe). Se maceró 300g de *Lepidium peruvianum* pulverizado en 600ml de Metanol en frascos oscuros, por espacio de 10 días a temperatura ambiente, con agitación diaria. Transcurrido el tiempo se procedió a filtrar al vacío, utilizando papel Watman, Se obtuvo 700ml de solución, seguidamente se procedió a concentrar la solución en la estufa de aire circulante, a 45° C hasta $\frac{1}{4}$ del volumen inicial. La muestra se colocó en placas petri a 40° C hasta la total evaporación del solvente; el extracto se colectó y conservó a 10° C en viales.

1.3. Extracto clorofórmico (ECI). Se maceró 300g de *Lepidium peruvianum* pulverizado en 600ml de metanol en un frasco oscuro durante 10 días a temperatura ambiente, transcurrido el tiempo se realizó un filtrado al vacío, utilizando papel Watman N° 1, se obtuvo 700ml de extracto metanólico, seguidamente se procedió a concentrar a 45°C en

estufa de aire circulante hasta obtener la tercera parte del volumen inicial, el concentrado de extracto metanólico se ajustó a pH 5 y se trasvasó a una pera de separación y se realizó el lavado agregando benceno (v/v), se agitó por varios minutos y se dejó en reposo hasta que se definan las fases orgánica y bencénica. La fase orgánica se localizó en la parte inferior de la pera, se observa de color blanquecino y la fase bencénica se localiza en la parte superior con un color amarillento por la presencia de pigmentos y resinas (figura 11), se colectó la fase orgánica en un frasco y se descartó la fase bencénica.

Finalmente se extrajo la fase clorofórmica para la cual se llevó el pH a 9 de la solución colectada, en una pera de decantación, se realizó la extracción empleando cloroformo (CL) hasta agotamiento, se agitó y se dejó por una hora hasta la definición de las fases orgánica y clorofórmica. Se colectó la fase clorofórmica que se localizó en la parte inferior y se concentró en un rotaevaporador hasta $\frac{1}{4}$ del volumen total, luego se procedió a secar en la estufa a 40°C hasta obtener el extracto clorofórmico libre de solvente.

Cada extracto fue sometido a pruebas para detectar flavonoides, saponinas y alcaloides. Para detectar saponinas se agitaron 50ml de cada extracto por 5 minutos y se observó la formación y mantenimiento de espuma alcaloides (Domínguez, 1973).

La prueba de flavonoides se realizó por la reacción de Shinoda, dando positivo por el viraje al color rojo intenso.

Para detectar alcaloides se empleó el reactivo de Dragendorff que contienen sales de ácidos de metales pesados (yoduro de bismuto y potasio) las cuales forman precipitados, una coloración naranja indicaría presencia de alcaloides (Domínguez, 1973).

2. Inmunomodulación con extractos de maca

2.1. Inmunosupresión. La concentración administrada fue de 50mg/kg en dosis única, inyectando 0.2ml por vía intraperitoneal (i.p.). La dosis de Ciclofosfamida fue aplicada en base a los reportes publicados por Alzamora *et al.*, (2004). Fig. 1.

2.2. Tratamiento de los animales con los extractos: (EAc, EMe y ECI). Se preparó una solución de cada uno de los extractos de maca a una concentración de 300mg/kg , se diluyó en agua bidestilada y se conservó a -4° C bajo cero, las dosis se administraron en un volumen de 2ml por vía oral durante 20 días para obtener una respuesta inmune primaria (RIP) y por 30 días para obtener una respuesta inmune secundaria (RIS).

2.3. Inmunización con Glóbulos Rojos de Carnero (GRC). Se emplearon GRC al 10% vía i.p., como antígeno para medir la producción de anticuerpos con la finalidad de evaluar la respuesta inmune humoral, Fig. 1.

3. Evaluación de la Actividad inmunomoduladora

Los ratones fueron mantenidos en un bioterio bajo condiciones fisiológicas estables, para verificar su adaptación se mantuvieron bajo observación por 3 días, procediendo luego a la aplicación del protocolo experimental descrito.

Se trabajó con 30 ratones machos balb/c de 6 semanas de edad de un peso de 28 a 30g, los animales fueron divididos en cinco grupos experimentales, de seis ratones cada grupo, de acuerdo a la siguiente relación:

Grupo I: (EAc-CP, EMe-CP ó ECI-CP), con extracto de maca, inmunosuprimido con ciclofosfamida e inmunizados con GRC vía i.p.

Grupo II: (CP), sólo inmunosuprimido con ciclofosfamida e inmunizado con GRC vía i.p.

Grupo III: (EAc, EMe ó ECI), sólo con extracto de maca e inmunizado con GRC vía i.p.

Grupo IV: (sin EAc, sin EMe ó sin ECI), sin extracto de maca e inmunizado con GRC vía i.p.

Grupo V: (N), sin extracto de maca, sin inmunosupresión con CP y sin inmunización con GRC.

El protocolo empleando se describe en la Tabla 1 y fig. 1.

Tabla 1. Grupos de tratamiento con los extractos de maca en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida.

GRUPOS	I	II	III	IV	V
Extracto de maca (EAc, EMe ó ECl)	√	-	√	-	-
Inmunosuprimidos con CP	√	√	-	-	-
Inmunizados con GRC	√	√	√	√	-

EAc: Extracto Acuoso
 CP: ciclofosfamida
 (√) : tratado

EMe: Extracto Metanólico
 GRC: Glóbulos Rojos de Carnero
 (-) : No tratado

ECl: Extracto Clorofórmico

Los datos fueron expresados como media geométrica \pm desviación estándar y el análisis estadístico se realizó mediante la prueba t-student, considerando significancia $p < 0.05$.

3.1. Control del peso corporal y órganos linfoides de los animales

Al término del protocolo de tratamiento (el 21^{avo} día para RIP y 31^{avo} día para RIS), se realizó la evaluación morfoanatómica de cada grupo, los ratones se sacrificaron por dislocación cervical. Se registró para cada ratón su peso corporal y el de sus órganos (bazo, timo, hígado, riñones, testículos y vesículas seminales); también se extrajo una muestra de sangre por punción cardíaca y se colocó en viales con EDTA (para los hemogramas) y sin anticoagulante en tubos con gel (para la obtención de sueros). Los órganos linfoides: bazo, timo y médula ósea se tamizaron para realizar el recuento celular.

3.2. Hemograma

Hemograma es el recuento y la morfología de los glóbulos rojos, leucocitos, plaquetas, hematocrito, concentración de hemoglobina y de otras células sanguíneas. Para la prueba se evaluaron los valores promedio de células blancas totales (WBC), linfocitos (LYM), hemoglobina (HGB), hematocrito (HCT) y plaquetas (PLT) empleando un hemocitómetro electrónico.

3.3. Celularidad de órganos linfoides

Los órganos linfoides timo y bazo se extrajeron sobre un papel filtro, se eliminaron los tejidos sobrantes y grasas.

Ambos órganos fueron tamizados en placas petri empleando medio RPMI con suero bovino fetal (10%), penicilina y eritromicina. También se realizó el recuento celular de la médula ósea roja considerando un fémur. El conteo celular se realizó en cámara de Neubauer.

3.4. Detección de anticuerpos hemaglutinantes (HA)

La prueba de hemaglutinación (HA) tiene por finalidad evaluar el título de los anticuerpos séricos anti - GRC (Ig M) obtenidos de cada tratamiento. La presencia de un botón indica una reacción negativa y la presencia de una malla indica una reacción positiva (presencia de anticuerpos Ig M).

Los sueros se decomplementaron a 56° C durante 30 minutos en baño maría y fueron conservados en viales estériles a -4°C. La prueba de hemaglutinación se realizó en placas excavadas utilizando 10 µl de suero y PBS 1X como diluyente, se empleó 4 como factor de dilución, se adicionó 50 µl de GRC al 1% a cada pocillo. Las placas fueron incubadas durante 2 horas y se procedió a la lectura. Se consideraron controles de hemaglutinación positivo (con suero estándar). El título será la inversa de la máxima dilución en la que se presenta HA.

3.5. Detección de anticuerpos fijadores de complemento

Esta prueba se realizó para determinar la cantidad mínima de suero problema necesaria para producir la lisis del 50% de los GRC incubados con anticuerpos y complemento de cobayo, con una rigurosa estandarización de las condiciones de reacción. El grado de hemólisis se evaluó midiendo la cantidad de hemoglobina liberada por espectrofotometría a 540nm, se expresó los resultados en unidades de medida CH50 (definida como la inversa de la dilución más alta, que lisa el 50 por 100 de glóbulos rojos sensibilizados).

Los sueros de los animales fueron diluidos en PBS al 1X (Factor de dilución 4), se añadió GRC al 2% y complemento de cobayo (unidad de complemento 1:2). Los viales fueron incubados a 37° C por 30 minutos, centrifugados y se procedió a colectar el sobrenadante, luego se realizó la lectura al espectrofotómetro (540nm).

RESULTADOS

1. Detección de Metabolitos Secundarios

El extracto acuoso y el extracto metanólico fueron sometidos a la prueba de saponinas; en el extracto acuoso se observó la presencia de espuma en mayor cantidad y por un tiempo mayor a 15 minutos, sin embargo en el extracto metanólico se observó menor cantidad de espuma y por un tiempo menor a 5 minutos.

En la reacción de Shinoda para la prueba de flavonoides los tres extractos presentaron reacción positiva.

Utilizando el reactivo de Dragendorff se obtuvo resultado positivo para alcaloides en el extracto clorofórmico y el extracto metanólico y en menor grado para el extracto acuoso.

Tabla 2: Detección de metabolitos secundarios en los tres extractos de *Lepidium peruvianum* Chacón.

Metabolitos secundarios	Extracto acuoso	Extracto metanólico	Extracto clorofórmico
Saponinas	+++	+	-
Flavonoides	+	+	+
alcaloides	±	++	+++

+: hay reacción

±.: reacción muy débil

- : no hay reacción

El extracto acuoso tuvo un rendimiento de 3.288g de extracto por cada 100g de maca pulverizada. El extracto metanólico por cada 100g de polvo se obtuvo 0.9g de extracto y en el extracto clorofórmico el rendimiento por cada 100g de maca en polvo fue de 0.385g de extracto.

2. Inmunomodulación de la respuesta humoral empleando extracto acuoso de *Lepidium peruvianum* Chacón en ratones suprimidos con ciclofosfamida

El grupo II (CP) disminuyó en su actividad física, motilidad y apetito, solo los primeros días de la inmunosupresión, luego de tres días su actividad volvió a normalizarse a diferencia del grupo I (EAc-CP), donde no se observó cambios notables en su comportamiento y mantuvo su actividad normal. Se observó también que los grupos que recibían la dosis de extracto mostraban mas motilidad agilidad, actividad y apetito.

2.1. Control del peso corporal y órganos linfoides de los animales

A. Peso corporal. En RIP no hubo una variación significativa entre el grupo I (EAc-CP) y el grupo II (CP) a pesar que este último presentó un peso inferior. En RIS el peso promedio (GMT) obtenido de los ratones del grupo I (EAc-CP) fue de 34.62g. y del grupo II (CP) fue de 33.72g, pero no fue significativo, (Tabla 3).

B. Peso de órganos linfoides

➤ **Timo.** En RIP el peso promedio del timo de los ratones del grupo II (CP) presentó una reducción significativa al ser comparado con el grupo III (EAc) y IV (sin EAc). Asimismo se observó diferencias entre los pesos de 33.3mg del grupo I (EAc-CP) y de 25.8mg del grupo II (CP), pero no fue estadísticamente significativo, (Tabla 3).

Para RIS se observó diferencia significativa al comparar el grupo I (52.5mg) con el grupo III (30mg) ,(Tabla 3).

➤ **Bazo.** El peso (GMT) del bazo del grupo I (EAc-CP) fue superior (205 mg) al de los otros grupos, siendo estadísticamente significativo con respecto al grupo II (CP) y III (EAc), el grupo II (CP) presentó un peso inferior (123.33mg) con relación a los demás grupos., (Tabla 3).

En RIP no se observó diferencia significativa entre los grupos.

C.- Peso de otros órganos internos

- **Hígado.** Para RIP se observó diferencia significativa entre los grupos I (1.47) y III (1.95) asimismo entre los grupo II (1.26mg) y III (1.95mg), (Tabla 4). En RIS al comparar los pesos promedio (GMT) entre los grupos I (EAc-CP) y II (CP), no se halló diferencia significativa aunque este ultimo tuvo mayor peso.
- **Riñones.** En RIP se halló diferencia significativa entre los grupos II (397.5mg) y III (494.6mg), (Tabla 4). Para RIS la diferencia de los pesos promedio (GMT) de los grupos, no resultó significativa a pesar que el grupo I (EAc-CP) y III (EAc) fue mayor el peso que en el grupo II (CP), (Tabla 4).
- **Testículos.** En RIP no hubo diferencia significativa entre los tratamientos. La diferencia entre el grupo I (EAc-CP) (202.5mg) y III (EAc) (221.67mg) fue estadísticamente significativa ($p = 0.026$), (Tabla 4).
- **Vesículas seminales.** En RIP hubo diferencia significativa entre el grupo III (296.6mg) con respecto a los grupos I (138.3mg) y II (144.1mg), (Tabla 4). En RIS el peso promedio (GMT) del grupo II (CP) fue inferior con respecto a los grupos I (EAc-CP) y IV (sin EAc) hallándose diferencia significativa, (Tabla 4).

2.2. Análisis de Hemograma

En RIP no se observó diferencias significativas para WBC entre los grupos experimentales, al comparar los valores promedio de LYM en el grupo II (2.01%L) y el grupo III (4.65%L) se halló diferencia significativa, al igual que en HCT al comparar los grupos II (25.35%) con el III (42.9) ($p < 0.05$), (Tabla 5).

Se observó que en el hemograma obtenido para el grupo I (EAc-CP), el valor promedio (GMT) para leucocitos (WBC) fue de 3.72 $\text{K}/\mu\text{L}$ y del grupo III (EAc) fue de 2.7 $\text{K}/\mu\text{L}$ y la relación de estos valores promedio fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$), (Tabla 5). Así mismo para hemoglobina (HGB) al comparar los valores promedio (GMT) de los grupos III (9.53g/dL) y grupo IV (sin EAc) (11.4g/dL) resultando este último con mayor promedio ($p < 0.05$) y finalmente al comparar los valores promedio para plaquetas (PLT) el

grupo II (CP) presentó mayor promedio respecto al grupo I (EAc-CP) ($p < 0.05$), (Tabla 5).

2.3. Celularidad de órganos linfoides

➤ **Timo.** En RIP se encontró diferencia significativa entre los grupos I (7.6×10^7) y III (23.1×10^7) al igual que entre los grupos II (7.7×10^7) y III (23.1×10^7), (Tabla 6). En la RIS el grupo I (EAc-CP) presenta un incremento en la celularidad (25.73×10^7) con respecto al grupo II (CP) ($p < 0.02$), otra diferencia significativa se encontró al comparar el valor promedio de 24.05×10^7 del grupo II (CP) y el valor promedio de 7.76×10^7 del grupo III (EAc), (Tabla 6).

➤ **Bazo.** En RIP no hubo diferencias entre los tratamientos, $p > 0.05$, (Tabla 6). En RIS los valores promedio (GMT) obtenidos del recuento celular para los grupos II (CP) y III (EAc) fueron similares (50.27 y 52.09×10^7) y mostraron una diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto al grupo I (EAc-CP) que presentó el mayor valor promedio del recuento celular (85.47×10^7),

➤ **Médula ósea.** En RIP no hubo significancia entre los grupos. En RIS el valor promedio (GMT) del número de células del grupo III (N-EAc) fue de 3.43×10^7 y del grupo IV fue de 1.87×10^7 y al relacionar estos dos grupos se halló diferencia significativa ($p < 0.05$), (Tabla 6).

2.4. Titulación de anticuerpos hemaglutinantes (HA)

En RIP el título del grupo II (CP) fue inferior con respecto al título de los grupos I (EAc-CP) y III (EAc), pero no hubo diferencia significativa, (Tabla 7). En la prueba de anticuerpos hemaglutinantes (HA).

En RIS se obtuvo un mayor valor promedio (GMT) en los grupos I (EAc-CP) y III (EAc) con respecto al grupo II (CP) pero no fue estadísticamente significativo, el título de 768 del grupo IV (sin EAc) fue estadísticamente significativo con relación al título de 192 del grupo II (CP), (Tabla 7).

2.5. Análisis de anticuerpos fijadores de complemento. Determinación de la CH50

En RIP el título del grupo II (CP) fue significativamente inferior con respecto al grupo I (EAc-CP) y III (EAc). En RIS el valor promedio (GMT) obtenido para el grupo I (EAc-CP) con 81,920 fue significativamente superior ($p < 0.05$) al grupo II (CP) con 12,800 y III (EAc) con un título de 61,440. (Tabla 7).

3. Inmunomodulación de la respuesta humoral empleando extracto metanólico de *Lepidium peruvianum* Chacón en ratones suprimidos con ciclofosfamida.

El extracto metanólico de maca fue aceptado por los animales. El grupo I (EMe-CP) no mostró diferencias en su comportamiento; su actividad fue normal después de administrarle la dosis de Ciclofosfamida, el grupo II (CP), varió su comportamiento después de la administración de ciclofosfamida, los animales mostraron somnolencia, menos actividad física y menos apetito, el grupo III (EMe) presentó mas actividad física motilidad, agilidad y apetito, los demás grupos presentaron una actividad normal sin cambios notorios.

3.1. Control del peso corporal y órganos linfoides de los animales

A. Peso corporal. En RIP el grupo II (CP) registró un peso corporal promedio menor (29.63g) comparado con el grupo III (EMe) que registró un peso promedio mayor (34.95g) esta diferencia resultó significativa, (Tabla 8).

En RIS el peso promedio (GMT) del grupos II (CP) fue inferior con respecto al de los grupos I (EMe-CP) y III (EMe), pero no fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$), (Tabla 8).

B.- Peso de órganos linfoides

➤ **Timo.** En RIP se registró diferencia significativa al comparar el peso promedio del grupo I (EMe-CP) que fue de 46.6mg con respecto al grupo III (EMe) 83.3mg. Asimismo $p < 0.001$ cuando se compara el peso promedio del grupo II (CP) inferior al del grupo III (EMe), (Tabla 8).

En RIS el peso promedio para el grupo I (EMe-CP) fue de 48mg superior al valor promedio del grupo III (EMe) con 22.5mg ($p < 0.05$). También resultó estadísticamente significativo la relación entre el grupo II (CP) con un peso promedio de 50mg y el grupo III (EMe) con un peso promedio de 22.5mg, (Tabla 8).

- **Bazo.** En RIP no se observó diferencia significativa entre los grupos tratados. En RIS el grupo I (EMe-CP) presentó un peso promedio superior de 156.7 mg con relación a los grupos II (CP) y III (EMe) cuyos pesos fueron 123.3mg y 110mg respectivamente pero estos datos no fueron significativos, (Tabla 8).

C.- Peso de otros órganos internos

Hígado. En RIP el grupo I (EMe-CP) con menor valor promedio, presentó significancia ($p < 0.05$) con respecto a los grupos II (CP) y III (EMe), pero se halló diferencia significativa al compara los valores promedio de los grupos II (CP) con 1.26g y III (EMe) con un peso promedio de 2.14g., (Tabla 9).

En RIS los pesos promedio (GMT) de los grupos I, II, III y IV presentaron valores similares no hallándose diferencias significativas ($p > 0.05$), (Tabla 9).

- **Riñones.** En RIP no se observó diferencias significativas al comparar los grupos experimentales. En RIS al comparar el peso promedio (GMT) entre los grupos I, II, III, y IV, no se halló diferencia significativa, a pesar de que el grupo I (EMe-CP) presentó un peso promedio superior con respecto a los grupos II (CP) y III (EAMe), (Tabla 9).
- **Testículos.** En RIP y RIS el grupo II (CP) presentó peso promedio inferior con relación a los grupos I (EMe-CP) y III (EMe), pero no hubo diferencia significativa al comparar estos grupos experimentales, (Tabla 9).
- **Vesículas seminales.** En RIP no se halló diferencias significativas al relacionar los grupos. En RIS el valor promedio obtenido en el grupo I (EMe-CP) fue superior al de los grupos II (CP) y III (EMe) pero no fue significativo, (Tabla 9).

3.2. Análisis de hemograma

En RIP para WBC se halló diferencia significativa entre el grupo II (CP) cuyo valor promedio fue de 2.85 K/ μ L y el grupo III (EMe) cuyo valor promedio fue de 5.1 K/ μ L; en LYM el valor promedio del grupo III (EMe) fue superior con respecto a los grupos I (EMe-CP) y II (CP) hallándose significancia. Para HGB el grupo III (EMe) cuyo valor promedio fue de 14.01 g/dL fue mayor con respecto a los grupos I (EMe-CP) y II (CP), $P < 0.05$; para HCT y PLT no se halló diferencia significativa entre los valores promedio de los grupos experimentales, (Tabla 10).

En RIS no se halló diferencias significativas al comparar los valores promedios (GMT) de células blancas (WBC) para los grupos I, II, III, y IV, aunque el valor promedio obtenido para el grupo I (3.1 K/ μ L) fue mayor al de los grupos II (2.95 K/ μ L) y III (2.11 K/ μ L), (Tabla 9). Al analizar Linfocitos (LYM) no se halló diferencias significativas entre los valores promedio (GMT) de los grupos I, II, III, y IV ($p > 0.05$). Para Hemoglobina (HGB) y Hematocrito (HCT) no se halló diferencia significativa entre los valores promedio (GMT), pero el grupo II obtuvo mayor valor promedio en relación de los grupos I y III en ambos casos. Cuando se analizó el valor promedio de plaquetas (PLT) se observó que el grupo II (379.8 K/ μ L) presentó un valor superior (GMT) en relación de los grupos I (2.15 K/ μ L) y III (193.67 K/ μ L), ($p < 0.05$), (Tabla 10).

3.3. Análisis de celularidad de órganos linfoides

➤ **Timo.** En RIP el grupo III (EMe) presentó un valor promedio de 25.1×10^7 superior al grupo I (EMe-CP) cuyo valor fue de 9.45×10^7 y al grupo II (CP) con un valor promedio de 7.7×10^7 , $p < 0.05$. (Tabla 11). En RIS el número de células del grupo I (EMe-CP) fue de 27.84×10^7 , el cual fue significativamente superior al grupo III (EMe) que fue de 8.7×10^7 , el grupo II (CP) también presentó un valor promedio de número de células superior (24.05×10^7) con relación al grupo III (8.69×10^7) encontrándose diferencia significativa. Se comparó los valores promedios obtenidos para el grupo I y II, observándose que el grupo I presenta un mayor número de células, pero $p > 0.05$, (Tabla 11).

- **Bazo.** En RIP no se halló diferencia significativa al comparar los valores promedios de los grupos experimentales. En RIS al comparar el número de células blancas promedio del bazo se observó que el grupo I (EMe-CP), fue superior (58.9×10^7), con relación al grupo III (EMe) (34.6×10^7), pero este valor no fue estadísticamente significativo. (Tabla 11).
- **Médula ósea.** En RIP se halló diferencia significativa al comparar el valor promedio superior del grupo I (EMe-CP) con los demás grupos, (Tabla 11). En RIS el valor obtenido para el grupo I (EMe-CP) fue superior con relación al de los grupos II (CP) y III (EMe), pero no se halló diferencia significativa, entre los demás grupos tampoco se halló diferencia significativa ($p > 0.05$), (Tabla 11).

3.4. Titulación de anticuerpos hemaglutinantes (HA)

Para RIP, el grupo III (EMe) registró un título promedio superior al de los grupos I (EMe-CP) y II (CP), pero no resultó significativo, sin embargo, al comparar los valores promedio del grupo IV (sin EMe) con relación al grupo I (EMe-CP) y II (CP) si hubo significancia, (Tabla 12).

En RIS la titulación de anticuerpos hemaglutinantes el grupo I (EMe-CP) presentó un valor promedio significativamente superior de 640 con respecto al grupo II (CP) que fue de 192 ($p < 0.05$), asimismo el grupo IV (sin EMe) presentó un título significativamente superior con respecto al grupo II (CP), (Tabla 12).

3.5. Análisis de anticuerpos fijadores de complemento. Determinación de la CH50.

Para RIP el grupo I (EMe-CP) registró un mayor promedio de título con respecto a los grupos II (CP) y III (EMe) $p < 0.05$, (Tabla 12).

En RIS el Grupo I (EMe-CP) con valor promedio de 81 920 fue estadísticamente significativo con relación a los grupos II (CP) con valor promedio de 12 800 y grupo III (EMe) con valor promedio de 1 920. Asimismo el grupo II (CP) con valor promedio de 12 800 fue significativamente superior con respecto al grupo III (EMe) que registró un título de 1 920, (Tabla 12).

4. Modulación de la respuesta humoral secundaria empleando extracto clorofórmico de *Lepidium peruvianum* (maca) en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida.

El grupo de animales tratado con el extracto clorofórmico presentó un cierto rechazo a la dosis administrada, por lo que se le aplicó juntamente con sus alimentos.

El grupo I (ECI-CP) no mostró cambios notables en su actividad física a diferencia del grupo II (CP) que presentó menor motilidad, apetito y actividad física.

4.1. Control del peso corporal y órganos linfoides de los animales

A. Peso corporal. En RIP el grupo II (CP) presentó un peso promedio inferior en relación con los grupos I (ECI-CP) y III (ECI), pero no fue significativo, (Tabla 13). en RIS el grupo I (ECI-CP) obtuvo un peso promedio de 37.13g superior al valor promedio del grupo II (CP) que fue de 33.71g y al relacionar estos dos valores se halló diferencia significativa ($p < 0.05$), (Tabla 13). Así también se encontró diferencias entre los valores promedio (GMT) de los grupos I y III, aunque estas no fueron significativas ($p > 0.05$), (Tabla 13).

B. Peso de órganos linfoides

➤ **Timo.** En RIP se observó diferencia significativa al comparar el peso promedio del grupo II (CP) cuyo peso promedio fue de 25.8mg con el grupo III (ECI) y IV (sin ECI) con peso promedio de 47.5mg y 56.7mg respectivamente, (Tabla 13).

En RIS el peso promedio (GMT) de timo en el grupo I (ECI-CP) fue de 35.8mg y del grupo II (CP) fue de 50mg pero al relacionar estos dos valores no fue estadísticamente significativo ($p > 0.05$), (Tabla 13). Igualmente al comparar los demás pesos promedio (GMT), no se halló diferencias significativas.

➤ **Bazo.** Para RIP no se halló diferencia significativa entre los grupos I (ECI-CP) y II (CP), (Tabla 13). En RIS se observó que el grupo I (ECI-CP) obtuvo un peso promedio de 190.83mg superior al de los demás pesos promedio, aunque estadísticamente no fue significativo ($p > 0.05$), (Tabla 13).

C. Peso de otros órganos internos

➤ **Hígado.** En RIP se encontró diferencia significativa entre el grupo I (ECl-CP) que presentó un peso promedio superior de 1.92mg con respecto a los grupos II (CP) y III (ECl) que registraron un peso promedio de 1.26mg y 1.58mg respectivamente, (Tabla 14).

En RIS los pesos promedio (GMT) de los grupos I (ECl-CP), II (CP) y III (ECl) presentaron valores similares y fueron superiores al grupo IV (sin ECl), ($p > 0.05$), (Tabla 14).

➤ **Riñones.** En RIP el grupo I (ECl-CP) presentó un peso promedio de 500mg superior al peso promedio de los grupos II (CP) que fue de 397.5mg y III (ECl) que fue de 382.5mg ($p < 0.05$), también hubo significancia al comparar los grupos III (ECl) con el grupo IV (sin ECl), (Tabla 14). En RIS el peso promedio (GMT) del Grupo II (CP) fue de 464.2mg y del grupo III (ECl) fue de 532.5mg y al relacionar estos dos valores promedio, se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$), (Tabla 14).

➤ **Testículos.** En RIP no hubo diferencia significativa entre los grupos. En RIS el grupo III (ECl) presentó un peso promedio (GMT) superior (241.7mg) en relación a los demás grupos, aunque este no fue significativo ($p > 0.05$). Asimismo el grupo II (CP) presentó un peso promedio menor en relación con los grupos I y III, ($p > 0.05$), (Tabla 14).

➤ **Vesículas seminales.** En RIP no hubo diferencia significativa entre los grupos. En RIS los pesos promedio (GMT) de los grupos I (ECl-CP), grupo III (ECl) son superiores con respecto al grupo II (CP) pero este resultado no fue significativo, (Tabla 14).

4.2. Análisis de hemograma

En RIP solo se halló diferencia significativa al comparar el valor promedio de WBC entre los grupos II (CP) y III (ECl) los cuales fueron de 2.85 K/mL y 3.35K/mL respectivamente. Para linfocitos y hemoglobina (LYM y HGB) se observó que los grupos I (ECl-CP) y III (ECl) presentaron valores superiores con respecto al grupo II (CP), pero no fue significativo, (Tabla 15). En RIS de los valores promedio (GMT) obtenidos para leucocitos (WBC) se observó que hay diferencia significativa entre los grupos I (ECl-CP) y

grupo III (ECI). Al analizar los Linfocitos (LYM) se halló diferencias significativas al relacionar el grupo I (ECI-CP) con un valor promedio de 1,84%L y el grupo III (ECI) con un valor promedio de 3.9%L ($p < 0.05$). Al comparar los valores promedio (GMT) de Hemoglobina (HGB) el grupo II (CP) presentó un valor inferior al de los grupos I (ECI-CP) y III (ECI), pero no fue significativo. Así mismo para Hematocrito (HCT), ($p > 0.05$). Finalmente para Plaquetas (PLT), el grupo II (CP) presentó un valor promedio superior de 379.8K/ μ L con respecto al grupo III (ECI) de 225.8K/ μ L, hallándose diferencia significativa, (Tabla 15).

4.3. Celularidad de órganos linfoides

- **Timo:** Para RIP el timo del grupo II (CP) presentó un valor inferior en la celularidad con respecto a los grupos I (ECI-CP) y III (ECI-CP) pero este resultado no fue significativo, (Tabla 16). En RIS el valor promedio del conteo de células para el grupo II (CP) fue de 24.04×10^7 , el cual fue significativamente superior ($p < 0.05$) al grupo IV (sin ECI) de 9.96×10^7 . El grupo I (ECI-CP) también presentó un valor promedio superior de 22.22×10^7 , con relación al grupo IV (sin ECI) encontrándose diferencia significativa, (Tabla 16).
- **Bazo.** En RIP el grupo I (ECI-CP) presentó mayor valor promedio de número de células con respecto al grupo II (CP) y III (ECI) pero no fue significativo, (Tabla 16). En RIS al comparar los valores promedio del número de células del bazo se observó que el grupo I (ECI-CP), presentó mayor valor promedio (66.7×10^7), con relación a los valores promedio de los grupos II (CP) y III (ECI), pero no fue estadísticamente significativo ($p > 0.05$), (Tabla 16).
- **Medula ósea.** En RIP no se encontró diferencia significativa al relacionar los grupos. En RIS aunque el valor obtenido para el grupo I (ECI-CP) fue mayor en relación con el valor promedio del grupo II (CP) y III (ECI), no se halló diferencia significativa ($p > 0.05$), (Tabla 16).

4.4. Titulación de anticuerpos hemaglutinantes (HA)

En RIP los grupos III (ECl) y IV (sin ECl) presentaron mayor valor promedio de título con respecto a los grupos I (ECl-CP) y II (CP) siendo $p < 0.05$, (Tabla 17). En RIS los grupos que obtuvieron mayor valor promedio de título fueron los grupos III (ECl) y IV (sin ECl) y al ser relacionados con el grupo I (ECl-CP) y II (CP) se halló diferencia significativa ($p < 0.05$), (Tabla 17).

4.5. Análisis de anticuerpos fijadores de complemento. Determinación de la CH50

En RIP se halló diferencia significativa al relacionar el grupo II (CP) cuyo título fue menor con respecto al grupo III (ECl), (Tabla 17). En RIS el grupo II (CP) presentó un título promedio significativamente inferior (4 480) con respecto a los grupos I (ECl-CP), III (ECl) y IV (sin ECl) (61 440, 55 680 y 81 920 respectivamente), (Tabla 17).

5. Efecto de los extractos de *Lepidium peruvianum* en la modulación de la respuesta inmune humoral en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida

Los extractos acuoso, metanólico y clorofórmico se compararon según las variables consideradas en el estudio para cada tipo de prueba, relacionando primero el grupo I (tratado con extracto e inmunosuprimido) con el grupo II (inmunosuprimido) y el grupo III (tratado con extracto) con el grupo II (inmunosuprimido).

5.1. Efecto de los tres extractos de *Lepidium peruvianum* en el peso corporal y de órganos de ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida

En RIP el extracto metanólico fue el que presentó mayor efecto en el peso corporal tanto en el grupo I (EMe-CP>ECl-CP>EAc-CP) como el grupo III (EMe>EAc>ECl) con respecto al grupo II (CP), (Tabla 18). En RIS el extracto clorofórmico del grupo I (ECl-CP) y III (ECl) fueron los que presentaron mayor efecto con respecto a los demás extractos y cuyo valor fue además superior al del grupo II (CP). (Fig. 2). Los resultados obtenidos en el peso de los órganos mostraron que en el timo los tres extractos tanto del grupo I (EMe-CP>EAc-CP>ECl-CP) como del grupo III (EMe>EAc>ECl) presentaron pesos superiores con respecto al grupo II (CP) siendo el extracto metanólico de mayor efecto para ambos grupos, (Tabla 18 y Fig 3). En bazo se observó que el extracto clorofórmico del grupo I

presentó un valor superior con respecto a los demás extractos (ECI-CP>EMe-CP>EAc-CP) y dentro del grupo III fue el extracto metanólico el de mayor valor (EMe>EAc>ECI), pero de estos dos grupos sólo el extracto clorofórmico del grupo I (ECI-CP) registró un peso promedio superior al del grupo suprimido (CP), (Tabla 18 y Fig. 3). En hígado, el extracto que mayor efecto presentó fue el clorofórmico dentro del grupo I (ECI-CP>EMe-CP>EAc-CP), y el extracto metanólico dentro del grupo III (EMe>EAc>ECI) ambos grupos con efectos con valores superiores con respecto al grupo II (CP), (Tabla 18). Para riñón el extracto que mejor efecto presentó dentro del grupo I fue el clorofórmico (ECI-CP> EAc-CP>EMe-CP) , pero los tres tipos de extractos registraron valores superiores con respecto al grupo II (CP), (Tabla 18).

Para RIS en el peso promedio del Timo se observó que el extracto clorofórmico del grupo III presentó mayor valor con respecto a los demás extractos (ECI>EAc>EMe), pero en el grupo I el que mayor respuesta tuvo fue el extracto acuoso (EAc-CP>EMe-CP>ECI-CP) sin embargo, al ser comparados con el grupo II (CP) sólo el extracto acuoso del grupo I (EAc-CP) tuvo mayor efecto, (Tabla 22 y Fig. 8). Con respecto al bazo dentro del grupo I el extracto de mayor peso promedio fue el acuoso (EAc-CP>ECI-CP>EMe-CP), pero dentro del grupo III el extracto de mayor efecto es el clorofórmico (ECI>EAc>EMe) y cuando se compararon con el grupo II (CP) todos presentaron mayor efecto excepto el extracto metanólico del grupo III (EMe), (Tabla 22 y Fig. 8). En el hígado el extracto que presentó mejor efecto sobre el peso promedio fue el clorofórmico tanto en el grupo I (EAc-CP>EMe-CP>EAc-CP) como en el II (ECI>EMe>EAc) siendo todos ellos superiores con respecto al grupo II (CP), (Tabla 22). En el peso promedio de los riñones el extracto con mayor efecto con respecto al grupo II (CP) fue el metanólico del grupo I (EMe-CP>EAc-CP>ECI-CP), (Tabla 22).

5.2. Efecto de los tres extractos de *Lepidium peruvianum*, Chacón en ratones inmunosuprimidos en la evaluación de hemograma

En RIP se observó que para WBC y LYM el extracto de mayor efecto sobre el grupo II (CP) fue el acuoso del grupo I (EAc-CP>EMe-CP>ECI-CP), para HGB y HCT el extracto de mayor efecto con respecto al grupo II (CP) fue el metanólico del grupo I (EMe-

CP>ECI-CP>EAc-CP), en PLT fue el extracto clorofórmico del grupo I (ECI-CP>EMe-CP>EAc-CP), el de mayor efecto con respecto al grupo II (CP), (Tabla 19 y Fig. 4).

En RIS para WBC, LYM el extracto de mayor efecto con respecto al grupo II (CP) fue el acuoso del grupo I (EAc-CP>EMe-CP>ECI-CP), para HGB y HCT se presentó un resultado semejante al anterior (EAc-CP>ECI-CP >EMe-CP) al ser comparado con el grupo II (CP) y para PLT se observó que los tres extractos tanto del grupo I como III presentaron un menor efecto con respecto al grupo II (CP) (Tabla 23 y Fig. 9).

5.3. Efecto de los tres extractos de *Lepidium peruvianum* Chacón en los órganos linfoides en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida en la evaluación de la celularidad

En RIP se observó que para timo y bazo el extracto que mayor efecto registró con respecto al grupo II (CP) fue el clorofórmico del grupo I (ECI-CP>EMe-CP>EAc-CP) pero al comparar los extractos del grupo III con respecto al grupo II (CP) el que mayor efecto presentó fue el acuoso (EAc-CP>EMe-CP>ECI-CP). En el recuento celular de médula ósea el extracto de mayor efecto al compararlo con el grupo II (CP) fue el metanólico del grupo I (EMe-CP>ECI-CP>EAc-CP), (Tabla 20 y Fig. 5).

En RIS el extracto con mayor efecto para timo y médula ósea con respecto al grupo II (CP) fue el metanólico del grupo I (EMe-CP) y dentro del grupo III el de mayor efecto fue el extracto clorofórmico (ECI) para Timo y acuoso (EAc) para médula ósea. En el recuento celular para bazo se observó que el extracto acuoso del grupo I (EAc-CP>EMe-CP>ECI-CP) presentó mayor efecto con respecto al grupo II (CP) igualmente al relacionarlo con el grupo III (EAc>ECI>EMe), (Tabla 24 y Fig. 10).

5.4. Efecto de los tres extractos de *Lepidium peruvianum Chacón* en el título de anticuerpos hemaglutinantes en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida

En RIP se observó que el extracto de mayor efecto fue el extracto acuoso tanto del grupo I (EAc-CP) como del grupo III (EAc) sobre el grupo II (CP), (Tabla 21 y Fig. 6).

En RIS el extracto metanólico fue el que presentó un título mayor dentro del grupo I (EMe-CP>EAc-CP>ECI-CP) con respecto al grupo II (CP) y dentro del grupo III fue el extracto clorofórmico el de mayor efecto (ECI>EMe>EAc), (Tabla 25).

5.5. Efecto de los tres extractos de *Lepidium peruvianum Chacón* sobre el título de anticuerpos fijadores de complemento en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida

En RIP el extracto metanólico del grupo I (EMe-CP) presentó mayor título con respecto al grupo II (CP), pero dentro del grupo III fueron los extractos acuoso y clorofórmico los que presentaron valores semejantes y superiores con respecto al grupo II (CP), (Tabla 21 y Fig 7).

En RIS el extracto de mayor efecto dentro del grupo I fue el acuoso y metanólico (EAc-CP=EMe-CP>ECI-CP) con respecto al grupo II (CP) y dentro del grupo III también fue el extracto acuoso (EMe-CP), (Tabla 25 y Fig. 8).

DISCUSIÓN

Garró *et al.*, (1993) obtuvieron cuatro fracciones de alcaloides en *Lepidium meyenii* por cromatografía de capa fina, en el presente trabajo la reacción positiva al reactivo de Dragenforff indicó la presencia de alcaloides en los extractos de maca, siendo en mayor cantidad en el extracto clorofórmico y metanólico, se encontró también saponinas en el extracto acuoso y flavonoides en los tres extractos, estos metabolitos secundarios estarían relacionados al efecto modulador de *L. peruvianum*, ya que estos metabolitos le confieren diversas propiedades como la actividad antioxidante encontrado en el extracto acuoso de *Lepidium meyenii* debido a la presencia de isotiocianatos (Sandoval *et al.*, 2002)..

Ciclofosfamida es un supresor que afecta directamente el sistema inmune, particularmente la inmunidad humoral en pacientes con largos periodos de tratamientos con CP (Zaide *et al.*, 1990) es por ello que la cantidad de inmunosupresor es importante para evaluar el efecto inmunopotenciador del extracto de una planta. Los protocolos de inmunosupresión con CP en el tratamiento con extractos de plantas utilizados en ratones van en concentraciones desde 20mg/Kg, 75mg/Kg, 100mg/Kg hasta 150mg/Kg. Bilal *et al.*, (2001) emplearon ciclofosfamida en dosis única de 50mg/Kg administrada por vía intraperitoneal para evaluar el efecto del extracto de *Cassia occidentalis* L., registraron una disminución tanto en el peso, celularidad y título de anticuerpos del grupo inmunosuprimido con respecto al grupo tratado con el extracto. En el presente trabajo se utilizó una concentración de 50mg/Kg de ciclofosfamida obteniéndose un efecto de inmunosupresión el cual se ve reflejado en la ausencia de dinamismo en los grupos inmunosuprimidos los primeros días de inoculación de CP, en los pesos corporales de los grupos inmunosuprimidos (CP) quienes presentaron un peso ligeramente inferior con respecto a los grupos tratados, estos resultados son más notorios en la respuesta primaria esto puede ser debido a que el inmunosupresor CP sólo se aplicó en dosis única el día 12° de iniciado en tratamiento, pero la respuesta inmune secundaria terminó el tratamiento el 30° día donde el efecto del inmunosupresor es mínimo logrando que el individuo reponga su sistema inmunológico.

Existen diferentes tipos de inmunomodulares sintéticos o naturales estas sustancias regulan aumentando o disminuyendo las funciones inmunológicas; diversos autores han estudiado el

efecto modulador de las plantas. Bilol *et al.*, (2001) evaluaron el efecto protector del extracto acuoso de *Cassia occidentalis* administrada vía oral en una concentración de 100mg/Kg en ratones inmunosuprimidos con 50mg/Kg de ciclofosfamida, demostrando que *C. Occidentalis* mejoraba la respuesta inmune humoral y sugirieron que el mecanismo regulador estaba mediado por enzimas. Los resultados obtenidos en el presente trabajo demostraron que los tres extractos de *Lepidium peruvianum* a dosis de 300mg/Kg presentaron efecto modulador sobre el grupo de ratones inmunosuprimidos y tratados (grupo I) en relación con la celularidad, hemograma y título de anticuerpos tanto para RIP como para RIS.

El efecto de la ciclofosfamida se reflejó en el apetito y comportamiento del grupo de ratones inmunosuprimidos, los resultados indicaron que los extractos de *Lepidium peruvianum*, Chacón contribuyeron a mantener el peso corporal, el peso del timo y bazo en los grupos de ratones tratados con extracto (grupo I y III), quienes en algunos casos presentaron pesos ligeramente superiores a diferencia de los grupos no tratados con los extractos (grupo II y IV). Estos resultados estarían demostrando el efecto modulador de los extractos de maca al reducir los efectos de ciclofosfamida sobre los grupos inmunosuprimidos y tratados (grupo I). Una explicación, podría ser que los extractos estén regulando la salida de glucosa intracelular, proceso que es retrasado de forma directa por el inmunosupresor que disminuye la oxidación del NADH, propiciando el incremento de glucógeno en las células hepáticas lo que tendría relación con la inactividad observada en los ratones del grupo I (Ex-CP). Se observó además, que en el grupo suprimido (grupo II) el peso del hígado fue mayor a comparación de los grupos tratados (grupo I) en RIS, sólo el extracto cloroformico (ECI) presentó mayor efecto sobre el grupo CP, estos resultados fueron similares a los reportados por Alzamora *et al.*, (2003).

El mayor efecto del extracto acuoso en los glóbulos blancos (WBC), linfocitos (LYM) y hemoglobina (HGB) en el grupo de ratones tratados (EAc-CP) en la respuesta inmune primaria y secundaria, sugiere que el extracto estaría actuando como un inmunoprotector en los grupos tratados. Se sabe por los estudios fotoquímicos realizados que la maca posee grandes cantidades de Fe, (Dini *et al.*, 1994; Tello *et al.*, 1992); el cual estaría incrementando los valores de hemoglobina en los grupos tratados.

El mayor número celular registrado en el timo en el grupo EMe, en RIP tiene relación con su peso y es mayor al grupo EMe-CP, podría deberse a que el grupo EMe el extracto estimula la producción de células de defensa natural macrófagos, linfocitos sin competir con CP. Asimismo se registró que el número celular del timo en el grupo EAI fue menor en RIS con respecto a la RIP, esto podría ser debido a que el timo va decreciendo conforme aumenta la edad del ratón. Con respecto a la celularidad del bazo, en RIP, los extractos metanólico y clorofórmico logran modular el efecto del inmunosupresor consiguiendo que el grupo I (EMe-CP y EI-CP) sea mayor que el grupo II (CP) y en RIS los tres extractos de maca presentan mayor número celular con respecto al grupo inmunosuprimido. Sin embargo el número celular del grupo suprimido es mayor al de los grupos no tratados (grupo IV y V), se dice que la administración de ciclofosfamida a una dosis de 100mg/kg produce un aumento, aunque no significativo, de la población de células precursoras granulocíticas del bazo (Barrios *et al.*, 2004). Este comportamiento del bazo en el grupo suprimido podría estar indicando un papel de tejido supletorio (ante el posible efecto depresor de CP sobre la mielopoyesis femoral contribuyendo de esta manera a un nuevo estado de equilibrio de los tejidos involucrados en la granulopoyesis). La celularidad de médula ósea se vió incrementada en los grupos tratados para los tres tipos de extractos.

Los resultados obtenidos de título de anticuerpos hemaglutinantes y de los fijadores de complemento indicaron que los tres extractos presentan efecto protector contra la inmunosupresión y que el extracto metanólico registró mayor efecto en RIS en ambas pruebas; en RIP los títulos obtenidos fueron menores con respecto a RIS, esto podría ser debido a que en la respuesta primaria los niveles de inmunoglobulinas se alcanzan tras un largo período de latencia después del estímulo antigénico, mientras que en la respuesta secundaria se alcanzan más rápidamente, lo cual explicaría los títulos altos en RIS.

Los trabajos realizados en *L. peruvianum* con respecto a sus efectos en el sistema inmune, en ecotipo amarillo y en extracto clorofórmico son pocos y menos aun en extracto acuoso y metanólico y en respuesta inmune secundaria.

Rosas *et al.*, (2004) llevaron a cabo un estudio en extractos de *L. peruvianum* probaron el efecto antioxidante mediante la inducción de hemólisis en eritrocitos *in vitro* y concluyeron que los extractos acuoso y metanólico poseen mayor efecto antioxidante que el extracto

clorofórmico y demostraron que los extractos de maca disminuyen la hemólisis. En el presente estudio de los tres extractos probados se pudo determinar que en la respuesta inmune humoral los que más efectos tuvieron fueron el extracto metanólico en RIP y el extracto acuoso en RIS.

CONCLUSIONES

1. La concentración utilizada de Ciclofosfamida (50mg/Kg) fue apropiada para inducir inmunosupresión.
2. Los extractos acuoso, metanólico y clorofórmico de *Lepidium peruvianum* administrado a ratones Balb/c inmunosuprimidos con ciclofosfamida tuvieron efecto inmunomodulador incrementando el peso corporal.
3. Los extractos acuoso, metanólico y clorofórmico de *Lepidium peruvianum* administrado a ratones Balb/c estimuló el restablecimiento del peso de timo y bazo. Así mismo incrementó el número celular en dichos órganos linfoides y en médula ósea.
4. Los extractos acuoso, metanólico y clorofórmico de *Lepidium peruvianum* indujeron el incremento del nivel de anticuerpos hemaglutinantes y anticuerpos fijadores de complemento tanto en respuesta inmune primaria como en respuesta inmune secundaria.
5. Los extractos metanólico y acuoso de *Lepidium peruvianum* incrementan el nivel de hemoglobina en los ratones Balb/c tratados en función al tiempo lográndose un mayor incremento en respuesta inmune secundaria.
6. El extracto metanólico a una dosis de 300mg/Kg registró mayor efecto modulador en los grupos tratados en la respuesta inmune primaria y el extracto acuoso a la misma dosis registró mayor efecto modulador en respuesta inmune secundaria.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar mas estudio con el mismo inmunosupresor, ciclofosfamida, pero a concentraciones mayores y trabajar con el extracto acuoso, que presentó un mejor resultado para RIS.
2. Es necesario profundizar en el estudio molecular de *Lepidium peruvianum*, Chacón para determinar que metabolitos secundarios presentan esta actividad moduladora.
3. Los hallazgos obtenidos sugieren que su utilización en el campo de la nutrición farmacológica podría ser un factor importante en el mantenimiento y/o restauración de la integridad funcional del organismo, en cuanto al nivel de hemoglobina, por lo que se debe continuar profundizando en su función a nivel molecular para sustentar sus aplicaciones potenciales en la formulación de alimentos para regímenes especiales
4. Se recomienda estudiar otros ecotipos de *Lepidium peruvianum*, Chacón con el mismo protocolo para comparar los resultados obtenidos y determinar si existen diferencias en el efecto inmunomodulador.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALZAMORA, L. ; ÁVILA, G; COLONA, E. ; GARCIA, J. ; ALZAMORA, D. 2004, Inmunoestimulación con extracto acuoso de *Lepidium peruvianum* (maca) en ratones inmunosuprimidos con Ciclofosfamida. XIII Reunión Científica ICBAR, Libro de Resúmenes, 127.
- AKPORIAYE, E.T. HERSH, E. M. 1998, Immunopharmacology in basic and clinical pharmacology. (Katzung, B. G.) Appleton-Lange, pp 916-940.
- AUTTACHOAT W., CHITSOMBOON B., PEACHEE V., GUO T., WHITE K. 2004. Immunomodulation by Dok Din Daeng (*Aeginetia indica* Roxb.) extracts in female B6C3F1 mice. (I): Stimulation of T cells. Journal of ethnopharmacology 4, 1367 – 1379.
- BAQUERIZO, V. G., 1968. Estudio químico – Bromatológico del *Lepidium meyenii* Walp. (Maca) y del Aiphanes var. Deltoidea Burret (“Shica – Shica”). Tesis. Facultad de Medicina, UNMSM.
- BARRIOS, LILIAN - POLETTI, OSCAR H. - CHALLIOL, CAMILA F. - ALVAREZ, VALERIA, ABRAHAM, RAISA - ENACAN, ROSA - PIZZORNO, MARÍA J. 2004. Efecto de la administración de repetidos ciclos de Ciclofosfamida y Filgrastim sobre la población granulocítica en murinos. Departamento de Ciencias Básicas. Facultad de Medicina de la Universidad Nacional del Noreste.
- BILAL BIN-HAFEEZ, IQBAL AHMAD, RIZWANUL HAQUE Y S. RAISUDDIN, 2000. Protective effect of *Cassia occidentalis* L. On cyclophosphamide- induced suppression of humoral immunity in mice. Journal of Ethnopharmacology 75, 13 – 18.
- BILAL BIN-HAFEEZ, RIZWANUL HAQUE, SUHEL PARVEZ, SUWARNA PANDEY, IQBAL SAYEED, S. RAISUDDIN, 2002. Immunomodulatory effects of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) extract in mice. International Immunopharmacology 257 – 265.
- 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.
- CHACÓN DE POPOVICH, G. 1990. La Maca (*Lepidium peruvianum* chacón sp. Nov.) y su Habilidad. Rev. Per. Biol.. 3 (2) : 169 – 272.

- CHACÓN DE POPOVICH, G. 1997. La Importancia de *Lepidium peruvianum* (“Maca”) en la alimentación y salud del ser humano y animal 2,000 años antes y después del Cristo y en el siglo XXI. Lima: Servicios Gráficos “Romero”.
- CUI B, ZHENG BL, HE K, ZHENG QY. 2003, Imidazole alkaloids from *Lepidium meyenii*. J Nat Prod.;66:1101–1103. doi: 10.1021/np030031i.
- DOMINGUEZ XORGE, 1973, Metodos de investigación fitoquímica, Ed. Limusa, S.A., primera edición, México.
- GARCÍA FUENTES, LÁZARO. 2000. Continuación del Estudio Fitoquímico de la *Portulaca oleracea* L. con fines farmacéuticos. Tesis para optar por el grado de Licenciado en Ciencias Farmacéuticas.
- GARRO V. , LEÓN E. , JULCA B. 1993. Extracción, Separación e Identificación por Cromatografía de Alcaloides de *Lepidium meyenii* Walp (“Maca”). Instituto de Química Orgánica Aplicada a la Farmacia y Bioquímica. UNMSM. VI Congreso Peruano de Farmacia y Bioquímica.
- GENYI L.; U. AMMERMANN & C. QUIROZ. 2001., Glucosinolate contents in maca (*Lepidium peruvianum* Chacón) seeds, sprouts, mature plants and several derived commercial products. 55: 255.
- GONZALES, RUBIO, CHUNG, GAS. 2005 Effect of alcoholic extract of *Lepidium meyenii* (maca) on testicular function in male rats. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú, Dec, 5: 349 – 352.
- GENYI LI , AMMERMANN U. , QUIROS C., 2006. Glucosinolate contents in maca (*Lepidium peruvianum* Chacón) seeds, sprouts, mature plants and several derived commercial products. Department of Vegetable Crops, University of California.
- DINI, A.; G. MIGLIUOLO; L. RASTRELLI; P. SATURNINO; O. SCHETTINO, 1994. Chemical composition of *Lepidium meyenii*. Food Chemistry 49, 347-349.
- JOHNS, TIMOTHY A., 1980, Ethnobotany and phytochemistry of *tropacolum tuberosum* and *Lepidium meyenii* from Andean South America, Tesis Doctoral, University of British Columbia, Canada.
- LEEMOL D., GIRIJA K., 1998, Suppressive effect of cyclophosphamide induced toxicity by *Withania somnifera* extracts in mice. Journal of ethnopharmacology 62, 209-214.

- LEÓN, CAVIENSES, 1995. Immune – stimulant ao of *Uncaria tomentosa*.
- MANOSROI A., SARAPHANCHOTIWITTHAYA A. , MANOSROI J. , 2003. Immunomodulatory activities of *Clausena excavata* Burm. f. Wood extracts. Journal of Ethnopharmacology 89 , 155 – 160.
- MCCOLLOM M., VILLINSKI J., MCPHAIL K., CRAKER L., GAFNER S., 2004. Analysis of macamides in samples of Maca (*Lepidium meyenii*) by HPLC-UV-MS/MS. College of Pharmacy, Oregon State University, USA.
- NEELAM M., SUBHASH B., VINOD R., 2001. Immunomodulatory activity of extract of *Mangifera indica* L. in mice. Journal of ethnopharmacology 78, 133 – 137.
- QUIROS C. , ALIAGA R. 1997. Maca (*Lepidium meyenii* Walp.) Adecian roots and tubers: Ahipa, Arracha, Maca and Yacon Promoting the Conservation and use of Underutilized and Neglected crops., Institute of Plant Genetic and Crop Plant research, Gatersleben. IPGRI. Roma, Italy, pp. 173 – 197.
- QUIROS C. EPPERSON A. , HU A. Y HOLLE M. 1996. Physiological studies and Determination of Chromosome number of Maca, *Lepidium meyenii* (Brassicaceae). Economic Botany 50. (2): 216 – 223.
- RAMESH A., SHAM D., BRUSHAN, P., 1997, Studies on immunomodulatory of *Withania somnifera* (Ashwagandha) extracts in experimental immune inflammation. Journal of ethnopharmacology, 67: 27 – 35.
- REYNA J., GÓMEZ-SANCHEZ, I., HUAPAYA, C. Y GÓMEZ M., 1995. Valores de macro y micronutrientes de muestras de harinas de maca precocida. Congreso peruano de Cultivos Andinos. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú. Pag. 11 – 16.
- ROBERT W, BRADFORD D. El estudio experimental sobre el efecto del FRC001 (Líquido Tina Pian China N°1) sobre la inmunidad inespecífica de ratones. Bradford Research Institute, CA, USA.
- ROSAS P. J. , PINO F. A. J. 2004, Efecto antioxidante de *Lepidium peruvianum*, Chacón sp. (“Maca”) in vitro. Laboratorio de Investigación de productos naturales, Facultad de farmacia y Bioquímica. Universidad Católica Santa María. Arequipa.
- SÁNCHEZ SARDINAS, MISDALIS, 1994, Determinación cuantitativa de saponinas en el jugo de henequén (*Agave fockroydes* LEM) por actividad hemolítica .Trabajo de diploma .

- SANDOVAL M. OKUHAMA NN, ANGELES FM, MELCHOR VV, CONDEZO LA, LAO J, MILLER MJS. 2002. Antioxidant activity of the cruceferous vegetable Maca (*Lepidium meyenii*), Food Chem., 79, 207-13.
- SCHIAVONI G. , MATTEI F. , DI PUCCHIO D. , SANTINI S. , BRACCI L. , BELARDELLI F, AND PROIETTI E. 2000, Cyclophosphamide induces type I interferon and augments the number of CD44hi T lymphocytes in mice: implications for strategies of chemoimmunotherapy of cancer. Blood, Vol. 95 No. 6 (March 15),: pp. 2024-2030.
- SUNILA E. S., G. KUTTAN, 2004. Immunomodulatory and antitumor activity of *Piper longum* Linn. And piperine. Journal of Ethnopharmacology 90, 339 – 346.
- TAPIA H., AIDA M., LÓPEZ C., MARCELO A., AGUILAR J. L. 2000. La maca (*lepidium meyenii*) y su efecto anti-estrés en un modelo animal en ratones / The bruise (*lepidium meyenil*) and their effect anti-estrés in an animal model in mice.
- TÉLLEZ M.R., KHAN I.A., KOBASISY M., SCHARADER K., DAYAN F.E., OSBRINK W., 2002 Composition of the esencial oil of *Lepidium meyenii* (Walp). Natural products utilization research unit, USDA-ARS, Box 8048, University, MS 38677.
- TELLO J. , M. HERMANN, A. CALDERON, 1992. La Maca (*Lepidium meyenii* Walp.) Cultivo Alimenticio Potencial Para las Zonas Altoandinas. Boletín de Lima. 31: 59-66.
- TOLEDO J., DEHAL P., JARRIN F. , HU J. , HERMANN M. , AL – SHEHBAZ AD QUIROS C., 1998. Genetic variability of *Lepidium meyenii* and other Andean *Lepidium* species (Brassicaceae) Assessed by Molecular markers. Annals of Botany 82: 523-530. Article N° bo980715.
- UMESH T., BHAWNA R., PARAMJIT S., DINESH K. S., SURESH P. V., 2004. Immunomodulatory effects of aqueous extract of *Tridax procumbens* in experimental animals. Journal of ethnopharmacology 92, 113 – 119.
- VALENTOVÁ K., ULRICHOVÁ J., 2003. *Smallanthus schifolius* and *Lepidium meyenii* – Prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases, Biomed papers 147(2), 119-130.
- VALERIO G. L., GONZALES G. F., 2005. Toxicological Aspects of the South American Herbs Cat's Claw (*Uncaria tomentosa*) and Maca (*Lepidium meyenii*): A Critical Synopsis. Toxicological Reviews. 24(1):11-35.

- YOSHIKOSHI M., YOSHIKI Y., OKUBO K., SETO J., YASUYUKI. 1996. Prevention of hydrogen peroxide damage by soybean saponins to mouse fibroblast. *Planta Médica.*; 62(3): 252-256.
- ZAIDI, SINGH, K.P., RAISUDDIN, S. SAXENA, A. K. , RAY, P.K., 1990. Protein A induced abrogation of cyclophosphamide toxicity is associated with concomitant potentiation of immune function of host. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 12, 472 – 512.

TABLAS

Tabla 3: Efecto del Extracto Acuoso de maca sobre ratones Balb/c inmunosuprimidos con ciclofosfamida e inmunizados con GRC. Comparación de los pesos corporales y de los órganos linfoides de ratones.

Grupos	PESO CORPORAL (g)		TIMO (mg)		BAZO (mg)	
	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS
I (EAc - CP)	30,25 ± 2,4	34,62 ± 1,9	33,3 ± 9,8	^b 52,5 ± 12,94	154,2 ± 85,4	^c 205 ± 32,2
II (CP)	29,6 ± 3,5	33,72 ± 2,3	^a 25,8 ± 9,7	50 ± 12,25	185,8 ± 52,2	123,3 ± 64,8
III (EAc)	34,03 ± 2,2	32,5 ± 2,7	64,2 ± 18,8	30 ± 10,00	136,6 ± 27,6	128,3 ± 49,3
IV (sin EAc)	31,48 ± 3,7	34,43 ± 2,7	56,7 ± 15,4	31,67 ± 13,66	132,5 ± 51,9	131,6 ± 38,4
V (N)	31,68 ± 1,8	33,67 ± 2,9	40 ± 10,5	33,33 ± 11,26	97,5 ± 36,4	120,8 ± 37,8

^a $p = 0.004$ cuando se compara con los grupos III y IV.

^b $p = 0,007$ cuando se compara con el Grupo III.

^c $p < 0,020$ cuando se compara con el Grupo II y III.

RIP: respuesta inmune primaria

EAc: grupo tratado con extracto acuoso

sin EAc: grupo sin tratamiento con extracto acuoso

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno)..

RIS: respuesta inmune secundaria

CP: grupo inmunosuprimido

CP: ciclofosfamida.

GRC: glóbulos rojos de carnero

Tabla 4. Efecto del extracto acuoso de maca sobre la respuesta inmune humoral en el peso de órganos linfoides y otros.

ÓRGANOS	Peso de Órganos (GMT ± D.E.)							
	HÍGADO (g)		RIÑÓN (mg)		TESTÍCULO (mg)		VESÍCULA SEMINAL (mg)	
Grupos	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS
I (EAc - CP)	^a 1,47 ± 14,4	1,67 ± 14,2	423,3 ± 46,3	506,6 ± 45,4	202,5 ± 22,7	^d 202,5 ± 10,4	138,3 ± 69	233,3 ± 43,6
II (CP)	^b 1,26 ± 11,2	1,84 ± 23,9	^c 397,5 ± 51,2	464,2 ± 50,4	210,8 ± 7,4	200,8 ± 48,3	144,1 ± 72,2	^f 194,2 ± 55,2
III (EAc)	1,95 ± 23,9	1,62 ± 23,3	494,6 ± 46,3	490,8 ± 46,7	195 ± 16,7	221,6 ± 14,7	^e 296,6 ± 24,6	211,6 ± 40,9
IV (sin EAc)	1,60 ± 11	1,67 ± 8,3	485,8 ± 31,1	502,5 ± 50,2	235,8 ± 44,6	223,3 ± 68,7	218,3 ± 46,3	256,6 ± 31,7
V (N)	1,49 ± 14,4	2,67 ± 39	468,3 ± 38	419,1 ± 64,5	180,1 ± 29,1	190,8 ± 45,1	216,3 ± 52,7	124,8 ± 55,1

^a $p < 0,005$ cuando se compara con el Grupo III.

^b $p = 0,001$ cuando se compara con el Grupo III.

^c $p = 0,029$ cuando se compara con los Grupos III.

^d $p = 0,0261$ cuando se compara con el Grupo III.

^e $p = 0,001$ cuando se compara con el Grupo I y II.

^f $p = 0,002$ cuando se compara con los grupos I y IV

RIP: respuesta inmune primaria

EAc: grupo tratado con extracto acuoso

sin EAc: grupo sin tratamiento con extracto acuoso

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

RIS: respuesta inmune secundaria

CP: grupo inmunosuprimido

CP: ciclofosfamida.

GRC: glóbulos rojos de carnero

TABLA 5.- Efecto del extracto acuoso de maca sobre la respuesta inmune humoral en hemograma.

Grupos	HEMOGRAMA(GMT ± D.E.)									
	WBC (K/mL)		LYM (%L)		HGB (g/dL)		HCT (%)		PLT (K/mL)	
	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS
I (EAc - CP)	4 ± 1,55	^a 3,72 ± 0,9	2,65 ± 1,0	2,58 ± 0,6	8,3 ± 1,26	10,62 ± 1,2	26,4 ± 3,4	29,64 ± 4,0	195,5 ± 105,4	^c 255,6 ± 93,5
II (CP)	^a 2,85 ± 1,11	3,3 ± 2,1	2,01 ± 0,3	2,62 ± 1,4	7,6 ± 3,3	^b 8,7 ± 1,9	^a 25,35 ± 9,39	30,48 ± 4,9	242,8 ± 139,1	385,8 ± 40,6
III (EAc)	6,17 ± 4,18	^b 2,7 ± 0,3	4,65 ± 2,9	2,16 ± 0,5	12,8 ± 3,7	9,532 ± 0,7	42,9 ± 18	27,54 ± 3,8	416 ± 144,4	257,2 ± 71,4
IV (sin EAc)	3,5 ± 1,0	3 ± 0,7	2,6 ± 0,7	2,22 ± 0,7	11,55 ± 2,6	11,4 ± 0,6	33,7 ± 6,6	30,42 ± 1,9	381,6 ± 180	304,6 ± 92,0
V (N)	3,05 ± 1,23	5,22 ± 1,6	2,36 ± 0,7	3,84 ± 1,1	7,8 ± 1,8	10,8 ± 1,1	20,5 ± 5,4	30,18 ± 3,4	232,5 ± 122,6	150 ± 68,6

^a $p < 0,05$ cuando se compara con el Grupo III.

^b $p < 0,05$ cuando se compara con el Grupo IV.

^c $p = 0,021$ cuando se compara con el Grupo II.

RIP: respuesta inmune primaria

EAc: grupo tratado con extracto acuoso

sin EAc: grupo sin tratamiento con extracto acuoso

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

WBC: conteo de células blancas

HGB: hemoglobina

PLT: plaquetas

RIS: respuesta inmune secundaria

CP: grupo inmunosuprimido con ciclofosfamida

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

GRC: glóbulos rojos de carnero

LYM: linfocitos

HCT: hematocrito

TABLA 6. Efecto del extracto acuoso sobre la respuesta inmune humoral a GRC en ratones Balb/c inmunosuprimidos con ciclofosfamida. Comparación de la celularidad del bazo, timo y médula ósea.

Grupo	Celularidad ($\times 10^7$)					
	Timo		Bazo		Médula ósea	
	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS
I (EAc - CP)	7,6 ± 3,1	^b 25.73 ± 5,07	50,6 ± 10,8	^c 85.47 ± 29.55	3,5 ± 1,3	2,73 ± 0,61
II (CP)	7,7 ± 4,2	^b 24.05 ± 7,55	57,4 ± 16,9	50,27 ± 25,17	2,8 ± 0,6	2.36 ± 1.23
III (EAc)	^a 23,1 ± 7,0	7,76 ± 6,05	59,3 ± 13,2	52,09 ± 14,85	4,1 ± 0,4	^d 3,43 ± 0,92
IV (sin EAc)	14,5 ± 4,2	9,96 ± 3,97	52,9 ± 15,7	55,94 ± 26,95	4,2 ± 1,8	1,88 ± 0,48
V (N)	19,6 ± 7,6	14,53 ± 5,03	54,5 ± 18,6	44,61 ± 14,16	2,6 ± 0,5	2,29 ± 0,52

^a $p = 0,001$, cuando se compara con los grupos I y II

^b $p < 0,02$, cuando se compara con los grupos III y IV

^c $p < 0,05$, cuando se compara con los grupos II y III.

^d $p = 0,020$, cuando se compara con el Grupo IV.

RIP: respuesta inmune primaria

EAc: grupo tratado con extracto acuoso

sin EAc: grupo sin tratamiento con extracto acuoso

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

RIS: respuesta inmune secundaria

CP: grupo inmunosuprimido con ciclofosfamida

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

GRC: glóbulos rojos de carnero

TABLA 7. Efecto del extracto acuoso de *Lepidium peruvianum* en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida sobre el título de anticuerpos hemaglutinantes y anticuerpos fijadores de complemento.

GRUPO	Título de anticuerpos hemaglutinantes		Título de anticuerpos fijadores de complemento	
	RIP	RIS	RIP	RIS
I (EAc - CP)	344 ± 300	512 ± 396,6	43 520 ± 4206	^b 81920 ± 0,001
II (CP)	^a 28 ± 10	^a 192 ± 99,1	^b 4 480 ± 1540	12800 ± 8413
III (EAc)	480 ± 301	352 ± 338,1	61 440 ± 3172	^c 4320 ± 1959
IV (sin EAc)	384 ± 270	768 ± 396,6	38 400 ± 3423	81920 ± 0,01

^a $p = 0,0032$, cuando se compara con el Grupo IV.

^b $p = 0,001$ cuando se compara con el Grupo II y III.

^c $p = 0,001$ cuando se compara con el Grupo IV

RIP: respuesta inmune primaria
RIS: respuesta inmune secundaria
Grupo del I al IV: inmunizados con
GRC: glóbulo rojo de carnero **sin**

EAc: Grupo tratado con extracto Acuoso
CP: grupo inmunosuprimido
 GRC (antígeno) vía ip.
EAc: grupo sin tratamiento con extracto acuoso

Tabla 8. Efecto del extracto metanólico de maca sobre ratones Balb/c inmunosuprimidos con ciclofosfamida e inmunizados con GRC. Comparación de los pesos corporales y de los órganos linfoides de ratones.

Grupos	PESO CORPORAL (g)		TIMO (mg)		BAZO (mg)	
	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS
I (EMe - CP)	32,18 ± 2,4	34,98 ± 2,2	46,6 ± 14,0	^c 48,0 ± 7,2	172,5 ± 44,1	156,7 ± 14,3
II (CP)	^a 29,63 ± 3,5	33,71 ± 2,3	25,8 ± 9,7	^d 50 ± 12,25	185,8 ± 52,2	123,3 ± 64,8
III (EMe)	34,95 ± 3,1	34,12 ± 3,1	^b 83,3 ± 16,6	22,5 ± 6,8	175,8 ± 27,8	110 ± 46,3
IV (sin EMe)	31,48 ± 3,7	34,43 ± 2,7	56,7 ± 15,4	31,67 ± 13,66	132,5 ± 51,9	131,6 ± 38,4
V (N)	31,68 ± 1,8	33,67 ± 2,8	40 ± 10,5	33,33 ± 11,26	97,5 ± 36,4	120,8 ± 37,8

^a $p = 0.035$ cuando se compara con el Grupo III

^b $p = 0.001$ cuando se compara con los grupos I y II

^c $p = 0.003$ cuando se compara con el grupo III.

^d $p = 0.001$ cuando se compara con el grupo III.

RIP: respuesta inmune primaria

EMe: grupo tratado con extracto metanólico

sin EMe: grupo sin tratamiento con extracto metanólico

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

RIS: respuesta inmune secundaria

CP: grupo inmunosuprimido

sin CP: grupo sin ciclofosfamida.

GRC: glóbulos rojos de carnero

Tabla 9. Efecto del extracto metanólico sobre la respuesta inmune humoral en el peso de órganos linfoides y otros en ratones inmunosuprimidos.

Peso de Órganos (GMT ± D.E.)								
ÓRGANOS	HÍGADO (g)		RIÑONES (mg)		TESTÍCULOS (mg)		VESÍCULAS SEMINALES (mg)	
Grupos	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS
I (EMe – CP)	1,66 ± 21,0	1,73 ± 16,8	417,5 ± 37,6	545,8 ± 62,5	225 ± 0,1	217,5 ± 24,1	168,3 ± 26,0	213,3 ± 73,2
II (CP)	^a 1,26 ± 11,2	1,84 ± 23,9	397,5 ± 51,2	464,2 ± 50,4	210,8 ± 7,4	200,8 ± 48,3	144,1 ± 72,2	194,2 ± 55,2
III (EMe)	^b 2,14 ± 40,1	1,71 ± 31,6	^c 519,2 ± 63,9	486,6 ± 60,2	220,8 ± 21,3	242,5 ± 58,2	218,3 ± 50,7	193,4 ± 59,8
IV (sin EMe)	1,60 ± 11	1,67 ± 8,3	485,8 ± 31,1	502,5 ± 50,2	235,8 ± 44,6	230 ± 68,7	218,3 ± 46,3	256,6 ± 31,7
V (N)	1,49 ± 14,4	2,67 ± 39	468,3 ± 38	419,1 ± 64,5	180,1 ± 29,1	170,8 ± 45,1	216,3 ± 52,7	124,8 ± 55,1

^a $p = 0.001$ cuando se compara con el Grupo III.

^b $p < 0.01$ cuando se compara con el Grupo I y II.

^c $p < 0.05$ cuando se compara con los grupos I y II.

RIP: respuesta inmune primaria

RIS: respuesta inmune secundaria

EMe: grupo tratado con extracto metanólico

CP: grupo inmunosuprimido

sin EMe: grupo sin tratamiento con extracto metanólico CP: ciclofosfamida.

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

GRC: glóbulos rojos de carnero

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

Tabla 10. Efecto del extracto metanólico de maca sobre la respuesta inmune humoral en hemograma.

HEMOGRAMA										
	WBC (K/mL)		LYM (%L)		HGB (g/dL)		HCT (%)		PLT (K/mL)	
Grupos	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS
I (EMe - CP)	3,4 ± 1,11	3,1 ± 0,92	2,35 ± 0,58	2,35 ± 0,76	9,4 ± 1,2	9,25 ± 1,73	27,5 ± 4,3	24,7 ± 5,07	206 ± 80	215,5 ± 93,5
II (CP)	^a 2,85 ± 1,11	2,95 ± 2,05	^a 2,01 ± 0,3	2,35 ± 1,38	7,6 ± 3,3	8,3 ± 1,9	25,35 ± 9,3	29,1 ± 5,53	242,8 ± 139,1	^d 379,8 ± 39,1
III (EMe)	5,1 ± 1,7	2,11 ± 0,73	^b 5,7 ± 1,24	1,56 ± 0,48	^c 14,01 ± 2,89	10,45 ± 0,91	32,7 ± 4,2	28,6 ± 4,07	252 ± 70,2	193,7 ± 96,1
IV (sin EMe)	3,5 ± 1,0	3 ± 0,7	2,6 ± 0,7	2,1 ± 0,75	11,55 ± 2,6	11,3 ± 0,6	33,7 ± 6,6	30,1 ± 1,93	381,6 ± 180	316 ± 86,9
V (N)	3,05 ± 1,23	5,22 ± 1,6	2,36 ± 0,7	3,84 ± 1,1	7,8 ± 1,8	10,8 ± 1,1	20,5 ± 5,4	30,18 ± 3,4	232,5 ± 122,6	150 ± 68,6

^a $P < 0.05$ cuando se compara con el Grupo III.

^b $P < 0.05$ cuando se compara con todos los grupos.

^c $P < 0.05$ cuando se compara con los grupos I y II.

^d $P < 0.05$ cuando se compara con los grupos I y III.

RIP: respuesta inmune primaria

EMe: grupo tratado con extracto metanólico

sin EMe: grupo sin tratamiento con extracto metanólico Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

GRC: glóbulos rojos de carnero

WBC: conteo de células blancas

HGB: hemoglobina

PLT: plaquetas

RIS: respuesta inmune secundaria

CP: grupo inmunosuprimido con ciclofosfamida

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

LYM: linfocitos

HCT: hematocrito

Tabla 11. Efecto del extracto metanólico sobre la respuesta inmune humoral a GRC en ratones Balb/c inmunosuprimidos con ciclofosfamida. Comparación de la celularidad del bazo, timo y médula ósea.

Celularidad (x10 ⁷)						
	Timo		Bazo		Médula ósea	
Grupo	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS
I (EMe - CP)	9,45 ± 3,05	27,84 ± 5,07	62,6 ± 17,9	58,9 ± 19,82	5,7 ± 1,3	3,17 ± 1,68
II (CP)	7,7 ± 4,2	24,04 ± 7,49	57,4 ± 16,9	50,27 ± 25,17	2,8 ± 0,6	2,36 ± 1,23
III (EMe)	25,1 ± 5,6	8,7 ± 2,27	58,0 ± 17,2	34,6 ± 13,92	2,02 ± 0,5	2,43 ± 0,55
IV (sin EMe)	14,5 ± 4,2	9,96 ± 3,97	52,9 ± 15,7	55,94 ± 26,95	4,2 ± 1,8	1,88 ± 0,48
V (N)	19,6 ± 7,6	14,53 ± 5,03	54,5 ± 18,6	44,61 ± 14,16	2,6 ± 0,5	2,29 ± 0,52

RIP: respuesta inmune primaria

EMe: grupo tratado con extracto metanólico

sin EMe: grupo sin tratamiento con extracto metanólico Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

GRC: glóbulos rojos de carnero

RIS: respuesta inmune secundaria

CP: grupo inmunosuprimido con ciclofosfamida

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

TABLA 12. Efecto del extracto metanólico de *Lepidium peruvianum* en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida sobre el título de anticuerpos hemaglutinantes y anticuerpos fijadores de complemento.

GRUPO	Título de anticuerpos hemaglutinantes		Título de anticuerpos fijadores de complemento	
	RIP	RIS	RIP	RIS
I (EMe - CP)	40 ± 18	640 ± 392,1 ^c	58 880 ± 3602 ^c	81 920 ± 0,1 ^c
II (CP)	28 ± 17	^b 192 ± 99,1	4 480 ± 1540 ^d	12 800 ± 6420 ^d
III (EMe)	160 ± 80	608 ± 401,1	5 120 ± 0,1	1 920 ± 952
IV (sin EMe)	^a 384 ± 201	768 ± 396,6	26 720 ± 3306	81 920 ± 8491

^a $P < 0.05$ cuando se compara con el Grupo I y II.

^b $P < 0.05$ cuando se compara con el Grupo I.

^c $P < 0.007$ cuando se compara con el Grupo II y III.

^d $P < 0.001$ cuando se compara con el Grupo III.

RIP: respuesta inmune primaria
 RIS: respuesta inmune secundaria
 Grupo del I al IV: inmunizados con
 GRC: glóbulo rojo de carnero

EMe: grupo tratado con extracto Metanólico
 CP: grupo inmunosuprimido
 GRC (antígeno) vía ip.
 sin EMe: grupo sin tratamiento con extracto metanólico

Tabla 13. Efecto del Extracto clorofómico de maca sobre ratones Balb/c inmunosuprimidos con ciclofosfamida e inmunizados con GRC. Comparación de los pesos corporales y de los órganos linfoides de ratones

GRUPO	PESO CORPORAL (g)		TIMO (mg)		BAZO (mg)	
	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS
I (ECI-CP)	31,52 ± 3,9	^a 37,13 ± 2,4	28,3 ± 7,5	35,8 ± 11,5	190 ± 66,0	190,8 ± 55,01
II (CP)	29,63 ± 3,5	33,71 ± 2,3	^b 25,8 ± 9,7	50 ± 12,25	185,8 ± 52,2	123,3 ± 64,8
III (ECI)	31,68 ± 1,95	37,06 ± 3,14	47,5 ± 14,4	31,6 ± 7,5	129,2 ± 40,9	146,7 ± 38,5
IV (sin CI)	31,48 ± 3,7	34,43 ± 2,7	56,7 ± 15,4	31,67 ± 13,66	132,5 ± 51,9	131,6 ± 38,4
V (N)	31,68 ± 1,84	33,67 ± 2,8	40 ± 10,5	33,33 ± 11,26	^c 97,5 ± 36,4	120,8 ± 37,8

^a $p = 0.016$ cuando se compara con el grupo II.

^b $p < 0.05$ cuando se compara con los grupos III y IV.

^c $p < 0.05$ cuando se compara con los grupo I y II.

RIP: respuesta inmune primaria

ECI: grupo tratado con extracto clorofómico

sin ECI: grupo sin tratamiento con extracto clorofómico

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

RIS: respuesta inmune secundaria

CP: grupo inmunosuprimido

CP: ciclofosfamida

GRC: glóbulos rojos de carnero

TABLA 14. Efecto del extracto clorofórmico sobre la respuesta inmune humoral en el peso de órganos linfoides y otros en ratones inmunosuprimidos.

Peso de Órganos (GMT ± D.E.)								
ÓRGANOS	HÍGADO (g)		RIÑÓN (mg)		TESTÍCULO (mg)		VESÍCULA SEMINAL (mg)	
Grupos	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS
I (ECI-CP) ^a	1,92 ± 0,37	1,82 ± 0,19	^a 500 ± 37,2	468,3 ± 75,3	221,7 ± 27,1	20,83 ± 49,9	131,7 ± 17,8	235 ± 32,8
II (CP)	1,26 ± 0,11	1,84 ± 0,23	397,5 ± 51,2 ^c	464,2 ± 50,4	210,8 ± 7,4	200,8 ± 48,3	144,1 ± 72,2	194,2 ± 55,2
III (ECI)	1,58 ± 0,13	1,96 ± 0,31 ^b	382,5 ± 42,2	532,5 ± 66,8	217,5 ± 16	241,7 ± 33,7	155,8 ± 38,3	235,8 ± 16,55
IV (sin CI)	1,60 ± 0,11	1,67 ± 0,08	485,8 ± 31,1	502,5 ± 50,2	235,8 ± 44,6	230 ± 68,7	218,3 ± 46,3	256,6 ± 31,7
V (N)	1,49 ± 14,4	2,67 ± 39	468,3 ± 38	419,1 ± 64,5	180,1 ± 29,1	170,8 ± 45,1	216,3 ± 52,7	124,8 ± 55,1

^a $p < 0,05$ cuando se compara con los grupos II y III.

^b $p = 0,001$ cuando se compara con el grupo IV.

^c $p < 0,05$ cuando se compara con el grupo IV.

RIP: respuesta inmune primaria

ECI: grupo tratado con extracto clorofórmico

sin ECI: grupo sin tratamiento con extracto clorofórmico

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

RIS: respuesta inmune secundaria

CP: grupo inmunosuprimido

CP: ciclofosfamida

GRC: glóbulos rojos de carnero

Tabla 15 . Efecto del extracto clorofórmico de maca sobre la respuesta inmune humoral en hemograma.

HEMOGRAMA										
Grupos	WBC (K/mL)		LYM (%L)		HGB (g/dL)		HCT (%)		PLT (K/mL)	
	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS
I (ECI-CP)	3,35±1,7	^b 1,95 ± 0,8	2,05 ± 1,08	^b 1,84 ±0,38	7,9 ± 2,1	9,9 ± 0,8	23,3 ± 6,06	29 ± 2,4	262 ± 84,6	308,7 ± 96,5
II (CP)	^a 2,85 ± 1,1	2,95 ± 2,05	2,01 ± 0,3	2,35 ± 1,38	7,6 ± 3,3	8,3 ± 1,9	25,35 ± 9,3	29,1 ± 5,53	242,8 ± 139,1	^b 379,8 ± 39,1
III (ECI)	3,9±1,5	5,61 ± 4,2	2,75 ± 1,2	3,9 ± 1,1	9,7 ± 1,9	9,9 ± 1,5	26,3 ± 12,6	27,2 ± 5,2	272 ± 89,1	225,8 ± 20,5
IV (sin CI)	3,5 ± 1,0	3 ± 0,7	2,6 ± 0,7	2,1 ± 0,75	11,55 ± 2,6	11,3 ± 0,6	33,7± 6,6	30,1 ± 1,93	381,6 ± 180	316 ± 86,9
V (N)	3,05 ± 1,23	5,22 ± 1,6	2,36 ± 0,7	3,84 ± 1,1	7,8 ± 1,8	10,8 ± 1,1	20,5 ± 5,4	30,18 ± 3,4	232,5 ± 122,6	150 ± 68,6

^a $p < 0.05$ cuando se compara con el grupo III.

^b $p < 0.05$ cuando se compara con el grupo III.

RIP: respuesta inmune primaria
 ECI: grupo tratado con extracto clorofórmico
 sin ECI: grupo sin tratamiento con extracto clorofórmico
 Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.
 N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).
 WBC: conteo de células blancas
 HGB: hemoglobina

RIS: respuesta inmune secundaria
 CP: grupo inmunosuprimido
 CP: ciclofosfamida
 GRC: glóbulos rojos de carnero
 PLT: plaquetas
 LYM: linfocitos
 HCT: hematocrito

Tabla 16. Efecto del extracto clorofórmico sobre la respuesta inmune humoral a GRC en ratones Balb/c inmunosuprimidos con ciclofosfamida. Celularidad de la celularidad del bazo, timo y médula ósea.

Grupo	Celularidad ($\times 10^7$)					
	Timo		Bazo		Médula ósea	
	RIP	RIS	RIP	RIS	RIP	RIS
I (ECI-CP)	15,7 ± 4,5	22,2 ± 9,5	72,4 ± 24,7	66,7 ± 11,8	3,7 ± 1,6	2,9 ± 0,7
II (CP)	7,7 ± 4,2	24,04 ± 7,49	57,4 ± 16,9	50,27 ± 25,17	2,8 ± 0,6	2,36 ± 1,23
III (ECI)	13,7 ± 2,4	13,06 ± 5,07	55,7 ± 55,7	52,1 ± 14,1	4,61 ± 1,9	2,3 ± 0,55
IV (sin CI)	14,5 ± 4,2	^a 9,96 ± 3,97	52,9 ± 15,7	55,94 ± 26,95	4,2 ± 1,8	1,88 ± 0,48
V (N)	19,6 ± 7,6	14,53 ± 5,03	54,5 ± 18,6	44,61 ± 14,16	2,6 ± 0,5	2,29 ± 0,52

^a $p < 0.05$ cuando se compara con los Grupos I y II .

RIP: respuesta inmune primaria
 ECI: grupo tratado con extracto clorofórmico
 sin ECI: grupo sin tratamiento con extracto clorofórmico
 Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.
 N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

RIS: respuesta inmune secundaria
 CP: grupo inmunosuprimido
 CP: ciclofosfamida
 GRC: glóbulos rojos de carnero

TABLA 17. Efecto del extracto clorofórmico de *Lepidium peruvianum* en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida sobre el título de anticuerpos hemaglutinantes y anticuerpos fijadores de complemento.

GRUPO	Título de anticuerpos hemaglutinantes		Título de anticuerpos fijadores de complemento	
	RIP	RIS	RIP	RIS
I (ECI-CP)	40 ± 22,2	192 ± 99	43 520 ± 4206	61 440 ± 3172
II (CP)	28 ± 17	192 ± 99,1	^c 4 480 ± 1540	^d 12 800 ± 6420
III (ECI)	^a 256 ± 0,1	^a 420 ± 102,3	61 440 ± 3172	55 680 ± 4066
IV (sin CI)	^b 384 ± 201	^b 768 ± 396,6	38 400 ± 3423	81 920 ± 8491

^a $p < 0.05$ cuando se comparan con los grupos I y II.

^b $p < 0.05$ cuando se comparan con los grupos I y II.

^c $p = 0.024$ cuando se compara con el grupo III.

^d $p < 0.05$ cuando se compara con los grupos I, III y IV.

RIP: respuesta inmune primaria

ECI: grupo tratado con extracto clorofórmico

sin ECI: grupo sin tratamiento con extracto clorofórmico

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

RIS: respuesta inmune secundaria

CP: grupo inmunosuprimido

CP: ciclofosfamida

GRC: glóbulos rojos de carnero

Tabla 18. Efecto de los tres extractos de *L. peruvianum* sobre la respuesta inmune humoral en el peso de órganos linfoides y otros en ratones inmunosuprimidos para la respuesta inmune primaria.

Peso de Órganos (GMT ± D.E.)							
ÓRGANOS	PESO C. (g)	TIMO (mg)	BAZO (mg)	HÍGADO (g)	RIÑÓN (mg)	TESTÍC. (mg)	VESÍ. SEM. (mg)
I (EAc - CP)	30,25 ± 2,4	33,3 ± 9,8	154,2 ± 85,4	1,47 ± 14,4	423,3 ± 46,3	202,5 ± 22,7	138,3 ± 69
I (EMe - CP)	32,18 ± 2,4	46,6 ± 14,0	172,5 ± 44,1	1,66 ± 21,0	417,5 ± 37,6	225 ± 0,1	168,3 ± 26,0
I (ECI - CP)	31,52 ± 3,9	28,3 ± 7,5	190 ± 66,0	1,92 ± 0,37	500 ± 37,2	221,7 ± 27,1	131,7 ± 17,8
II (CP)	29,63 ± 3,5	25,8 ± 9,7	185,8 ± 52,2	1,26 ± 0,11	397,5 ± 51,2	210,8 ± 7,4	144,1 ± 72,2
III (EAc)	34,03 ± 2,2	64,2 ± 18,8	136,6 ± 27,6	1,95 ± 23,9	494,6 ± 46,3	195 ± 16,7	296,6 ± 24,6
III (EMe)	34,95 ± 3,1	83,3 ± 16,6	175,8 ± 27,8	2,14 ± 40,1	519,2 ± 63,9	220,8 ± 21,3	218,3 ± 50,7
III (ECI)	31,68 ± 1,9	47,5 ± 14,4	129,2 ± 40,9	1,58 ± 0,13	382,5 ± 42,2	217,5 ± 16,0	155,8 ± 38,3
IV (sin Ex)	31,48 ± 3,7	56,7 ± 15,4	132,5 ± 51,9	1,60 ± 0,11	485,8 ± 31,1	235,8 ± 44,6	218,3 ± 46,3
V (N)	31,68 ± 1,84	40 ± 10,5	97,5 ± 36,4	1,49 ± 14,4	468,3 ± 38	180,1 ± 29,1	216,3 ± 52,7

RIP: respuesta inmune primaria

EMe: tratado con extracto Metanólico

CP: inmunosuprimido con ciclofosfamida

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

EAc: tratado con extracto Acuoso

ECI: tratado con extracto clorofórmico

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

GRC: glóbulos rojos de carnero

Tabla 19. Efecto de los tres extractos de *L. peruvianum* sobre la respuesta inmune humoral en el hemograma de ratones inmunosuprimidos para la respuesta inmune primaria.

ÓRGANOS	WBC (K/mL)	LYM (%L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	PLT (K/mL)
I (EAc - CP)	4 ± 1,55	2,65 ± 1,0	8,3 ± 1,26	26,4 ± 3,4	195,5 ± 105,4
I (EMe - CP)	3,4± 1,11	2,35 ± 0,58	9,4 ± 1,2	27,5 ± 4,3	206 ± 80
I (ECI - CP)	3,35± 1,7	2,05 ± 1,08	7,9 ± 2,1	23,3 ± 6,06	262 ± 84,6
II (CP)	2,85 ± 1,1	2,01 ± 0,3	7,6 ± 3,3	25,35 ± 9,3	242,8 ± 139,1
III (EAc)	6,17 ± 4,18	4,65 ± 2,9	12,8 ± 3,7	42,9 ± 18	416 ± 144,4
III (EMe)	5,1 ± 1,7	5,7 ± 1,24	14,01 ± 2,89	32,7 ± 4,2	252 ± 70,2
III (ECI)	3,9± 1,5	2,75 ± 1,2	9,7 ± 1,9	26,3 ± 12,6	272 ± 89,1
IV (sin Ex)	3,5 ± 1,0	2,6 ± 0,7	11,55 ± 2,	33,7± 6,6	381,6 ± 180
V (N)	3,05 ± 1,23	2,36 ± 0,7	7,8 ± 1,8	20,5 ± 5,4	232,5 ± 122,6

RIP: respuesta inmune primaria

EMe: tratado con extracto Metanólico

CP: inmunosuprimido con ciclofosfamida

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

WBC: conteo de células blancas

HGB: hemoglobina

PLT: plaquetas

EAc: tratado con extracto Acuoso

ECI: tratado con extracto clorofórmico

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

GRC: glóbulos rojos de carnero

LYM: linfocitos

HCT: hematocrito

Tabla 20. Efecto de los tres extractos de *L peruvianum* sobre la respuesta inmune humoral en la celularidad de órganos linfoides de ratones inmunosuprimidos para la respuesta inmune primaria.

Grupo	Celularidad (x10 ⁷)		
	Timo	Bazo	M.O.
I (EAc - CP)	7,57 ± 3,14	50,6 ± 10,9	3,6 ± 1,36
I (EMe - CP)	9,46 ± 3,05	62,63 ± 17,9	5,67 ± 1,14
I (ECI - CP)	15,72 ± 4,58	72,46 ± 24,77	3,7 ± 1,63
II (CP)	7.76 ± 8,91	57.42 ± 8,48	2,82 ± 0,75
III (EAc)	23,2 ± 7,08	59,32 ± 13,22	4,15 ± 0,4
III (EMe)	25,2 ± 5,6	58 ± 18,7	2,02 ± 0,56
III (ECI)	13,8 ± 2,45	55,77 ± 16,16	4,62 ± 1,9
IV (sin Ex)	14,53 ± 4,22	52,87 ± 15,78	4,14 ± 1,21
V (N)	19,6 ± 7,6	54,5 ± 18,6	2,6 ± 0,5

RIP: respuesta inmune primaria

EMe: tratado con extracto Metanólico

CP: inmunosuprimido con ciclofosfamida

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

M.O. : médula ósea

EAc: tratado con extracto Acuoso

ECI: tratado con extracto cloroformico

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

GRC: glóbulos rojos de carnero

Tabla 21. Efecto de los tres extractos de *Lepidium peruvianum* en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida sobre el título de anticuerpos hemaglutinantes y anticuerpos fijadores de complemento. RIP.

GRUPO	Título	
	Título de anticuerpos hemaglutinantes	Título de anticuerpos fijadores de complemento
I (EAc - CP)	344 ± 300	43 520 ± 4206
I (EMe - CP)	40 ± 18	58 880 ± 3602
I (ECI - CP)	40 ± 22,2	43 520 ± 4206
II (CP)	28 ± 17	4 480 ± 1540
III (EAc)	480 ± 301	61 440 ± 3172
III (EMe)	160 ± 80	5 120 ± 0,1
III (ECI)	256 ± 0,1	61 440 ± 3172
IV (sin Ex)	384 ± 201	38 400 ± 3423

RIP: respuesta inmune primaria

EMe: tratado con extracto Metanólico

CP: inmunosuprimido con ciclofosfamida

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

EAc: tratado con extracto Acuoso

ECI: tratado con extracto clorofórmico

GRC: glóbulos rojos de carnero

Tabla 22. Efecto de los tres extractos de *L. peruvianum* sobre la respuesta inmune humoral en el peso de órganos linfoides y otros en ratones inmunosuprimidos para la respuesta inmune secundaria.

Peso de Órganos (GMT ± D.E.)							
Grupo	PESO C. (g)	Timo (mg)	Bazo (mg)	Hígado (g)	Riñones (mg)	Testículos (mg)	V. seminales (mg)
I (EAc - CP)	34,62± 1,9	50.83 ± 13.93	208.33± 32.66	1.67 ± 0.14	508.33 ± 43.55	200.83 ± 9.70	230.83 ± 45.10
I (EMe - CP)	32,18 ± 2,4	48.00 ± 7.21	156.67 ± 14.37	1.73 ± 0.17	545.83 ± 82.55	217.5 ± 24.03	213.33 ± 93.15
I (ECI - CP)	37,13 ± 2,4	35.83 ± 11.58	190.83 ± 55.08	1.82 ± 0.19	468.33 ± 75.34	208.33 ± 49.97	235.00 ± 38.21
II (CP)	33,71 ± 2,3	50.00 ± 12,25	123,33 ± 64,86	1,84 ± 0,24	464,17 ± 50,44	200,83 ± 48,31	194,17 ± 55,27
III (EAc)	32,5± 2,7	30.00 ± 10.00	128.33 ± 49.36	1.62 ± 0.22	490.83 ± 46.73	221.67 ± 14.72	211.67 ± 40.95
III (EMe)	34,43 ±2,7	22.50 ± 6.89	110.00 ± 46.37	1.71 ± 0.31	486.67 ± 80.67	242.50 ± 58.29	193.33 ± 59.89
III (ECI)	37,06 ± 3,14	33.33 ± 8.16	143.33 ±38.03	1.93 ± 0.19	529.17 ± 69.23	233.33 ± 37.23	238.33 ± 18.35
IV (sin Ex)	34,43 ±2,7	31,67 ± 13,66	131,67 ± 38,43	1,67 ± 0,08	502,5 ± 50,18	230 ± 68,70	256,67 ± 31,73
V (N)	33,67 ± 2,8	33,33 ± 11,26	120,8 ± 37,8	2,67 ± 39	468,3 ± 38	170,8 ± 45,1	124,8 ± 55,1

RIS: respuesta inmune secundaria

EMe: tratado con extracto Metanólico

CP: inmunosuprimido con ciclofosfamida

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

EAc: tratado con extracto Acuoso

ECI: tratado con extracto clorofórmico

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

GRC: glóbulos rojos de carner

Tabla 23. Efecto de los tres extractos de *L. peruvianum* sobre la respuesta inmune humoral en el Hemograma de ratones inmunosuprimidos para la respuesta inmune secundaria.

Grupo	WBC (K/mL)	LYM (%L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	PLT (K/mL)
I (EAc - CP)	3.72 ± 0.87	2.58 ± 0.57	10.62 ± 1.11	29.64 ± 4.09	255.67 ± 83.69
I (EMe - CP)	3.10 ± 0.92	2.35 ± 0.77	9.25 ± 1.73	24.7 ± 5.08	215.50 ± 112.44
I (ECI - CP)	1.95 ± 0.82	1.84 ± 0.42	9.90 ± 0.80	29.00 ± 2.46	308.67 ± 115.62
II (CP)	2.95 ± 2.05	2.35 ± 1.28	8.3 ± 1.97	29.1 ± 5.53	379.83 ± 39.19
III (EAc)	2.7 ± 0.64	2.16 ± 0.44	9.53 ± 0.70	27.54 ± 3.46	257.27 ± 95.63
III (EMe)	2.11 ± 0.73	1.56 ± 0.48	10.45 ± 0.91	28.60 ± 4.08	193.7 ± 96.17
III (ECI)	5.61 ± 1.29	3.92 ± 2.22	9.9 ± 1.75	27.2 ± 5.16	225.87 ± 22.41
IV (sin Ex)	3 ± 0,7	2,1 ± 0,75	11,55 ± 2,6	30,42 ± 1,9	316 ± 86,9
V (N)	5,22 ± 1,6	3,84 ± 1,1	10,8 ± 1,1	30,18 ± 3,4	150 ± 68,6

RIS: respuesta inmune secundaria
 EMe: tratado con extracto Metanólico
 CP: inmunosuprimido con ciclofosfamida
 Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.
 WBC: conteo de células blancas
 HGB: hemoglobina
 PLT: plaqueta

EAc: tratado con extracto Acuoso
 ECI: tratado con extracto cloroformico
 N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).
 GRC: glóbulos rojos de carnero
 LYM: linfocitos
 HCT: hematocrito

Tabla 24. Efecto de los tres extractos de *L. peruvianum* sobre la respuesta inmune humoral en la celularidad de órganos linfoides de ratones inmunosuprimidos para la respuesta inmune secundaria

Grupo	Celularidad ($\times 10^7$)		
	Timo	Bazo	Médula ósea
I (EAc - CP)	25.73 \pm 5.07	85.47 \pm 29.55	2.73 \pm 0.61
I (EMe - CP)	27.84 \pm 12.58	59.0 \pm 19.8	3.18 \pm 1.68
I (ECI - CP)	22.22 \pm 9.50	66.7 \pm 11.86	2.86 \pm 0.71
II (CP)	24.04 \pm 7.55	50.27 \pm 25.17	2.36 \pm 1.23
III (EAc)	7.76 \pm 6.05	52.09 \pm 14.85	3.43 \pm 0.92
III (EMe)	8.70 \pm 2.27	34.57 \pm 14.0	2.43 \pm 0.56
III (ECI)	13.06 \pm 5.07	52.10 \pm 14.11	2.30 \pm 0.55
IV (sin Ex)	9.96 \pm 3.97	55.94 \pm 26.95	1.88 \pm 0.48
V (N)	14,53 \pm 5,03	44,61 \pm 14,16	2,29 \pm 0,52

RIS: respuesta inmune secundaria

EMe: tratado con extracto Metanólico

CP: inmunosuprimido con ciclofosfamida

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip.

EAc: tratado con extracto Acuoso

ECI: tratado con extracto clorofórmico

N: grupo sin extracto, sin CP, sin GRC (antígeno).

GRC: glóbulos rojos de carnero

Tabla 25. Efecto de los tres extractos de *Lepidium peruvianum* en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida sobre el título de anticuerpos hemaglutinantes y anticuerpos fijadores de complemento. RIS.

GRUPO	Título	
	Título de anticuerpos hemaglutinantes	Título de anticuerpos fijadores de complemento
I (EAc - CP)	578 ± 377.90	81920 ± 0.1
I (EMe - CP)	640 ± 420.65	81920 ± 0.1
I (ECI - CP)	192 ± 99.15	61440 ± 31.7
II (CP)	192 ± 99.15	12800 ± 8413
III (EAc)	384 ± 313.53	81920 ± 0.1
III (EMe)	608 ± 461.07	1920 ± 156.7
III (ECI)	706 ± 377.23	55680 ± 406.9
IV (sin Ex)	768 ± 396,6	81 920 ± 8491

RIS: respuesta inmune secundaria.

EMe: tratado con extracto Metanólico

CP: inmunosuprimido con ciclofosfamida

Grupo del I al IV: inmunizados con GRC (antígeno) vía ip

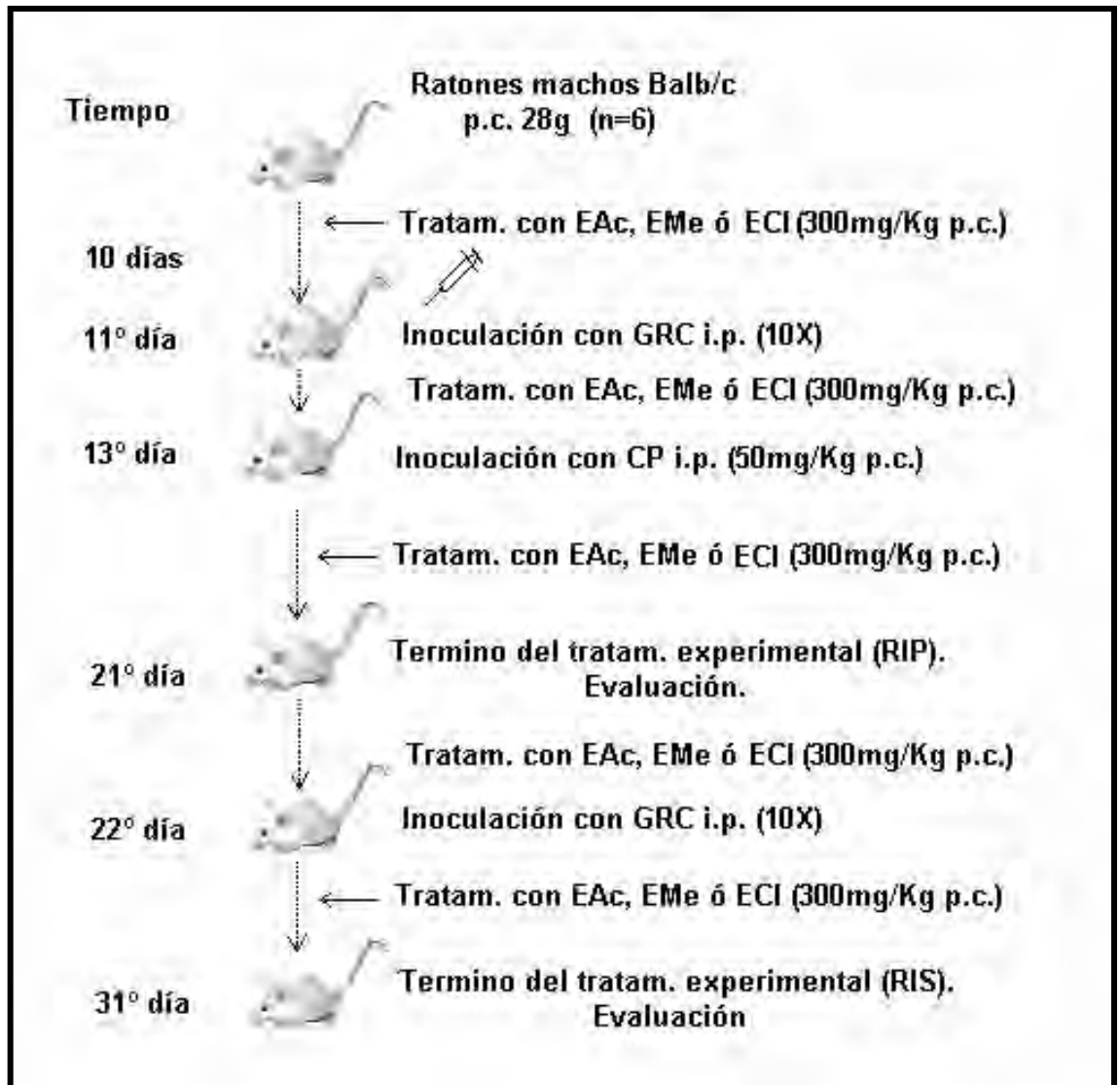
EAc: tratado con extracto Acuoso

ECII: tratado con extracto clorofórmico

GRC: glóbulos rojos de carnero

FIGURAS

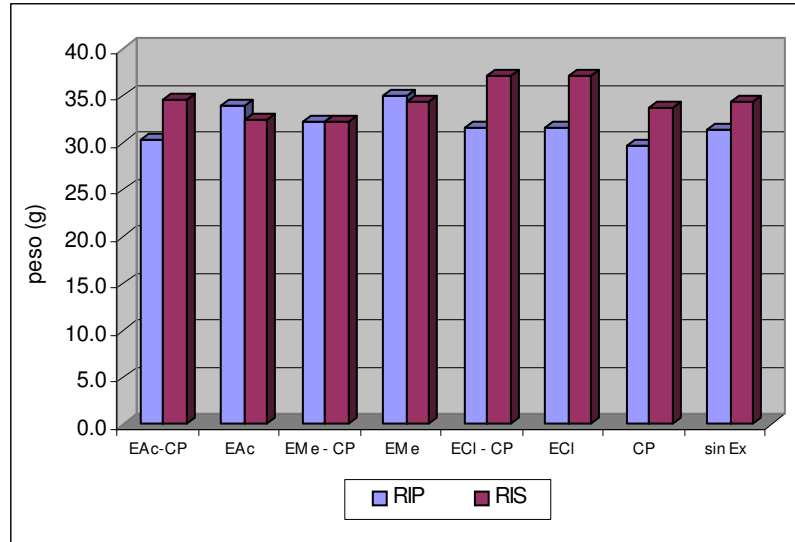
FIGURA 1. Protocolo de inmunosupresión y tratamiento con extractos de maca para la evaluación de la respuesta inmune humoral.



EAc: extracto acuoso
 EMe: extracto metanólico
 ECI: extracto clorofórmico
 CP: ciclofosfamida
 RIS: respuesta inmune secundaria

GRC: glóbulos rojos de carnero
 i.p. : vía intraperitoneal
 p.c. : peso corporal
 RIP: respuesta inmune primaria

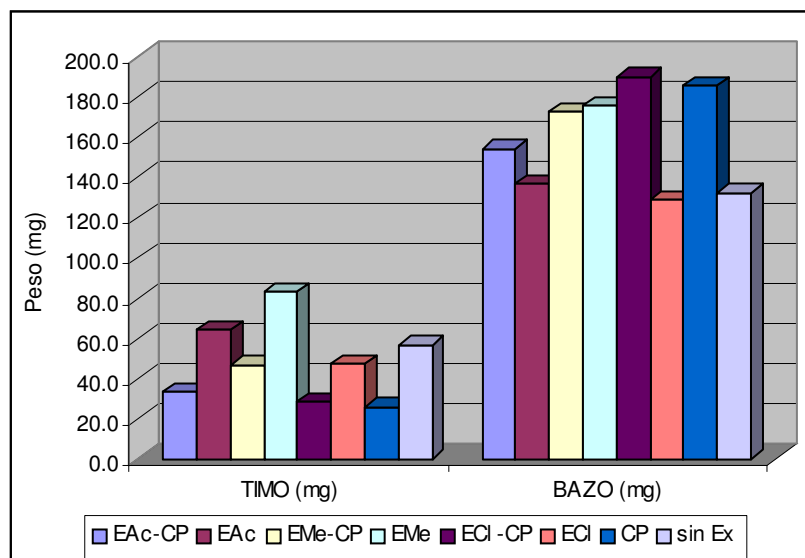
FIGURA 2. Efecto de los tres extractos de *L. peruvianum* sobre la respuesta inmune humoral en el peso corporal de ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida.



RIP: respuesta inmune primaria
 RIS: respuesta inmune secundaria
 sin Ex: grupo sin tratamiento con extracto
 CP: grupo inmunosuprimido

EAc: Grupo tratado con extracto Acuoso
 EMe: Grupo tratado con extracto Metanólico
 ECI: Grupo tratado con extracto clorofórmico

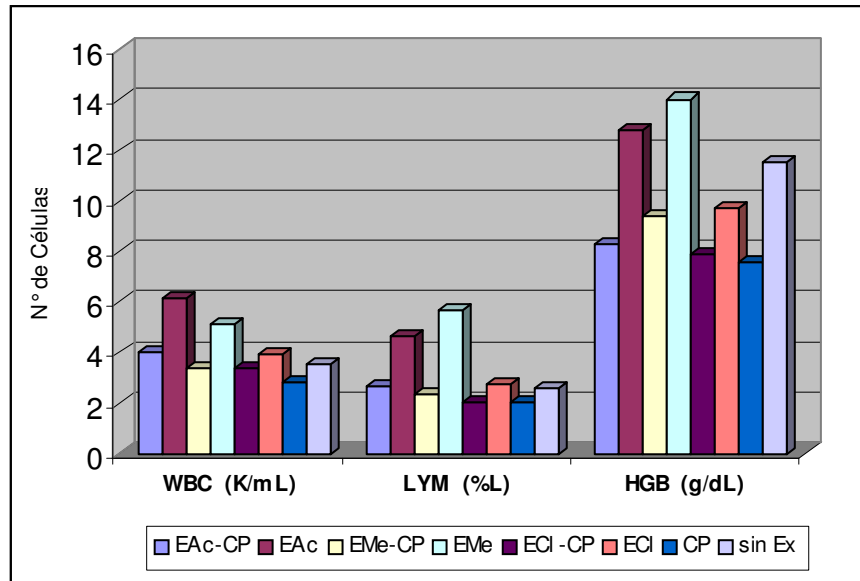
FIGURA 3. . Efecto de los tres extractos de *L. peruvianum* sobre la respuesta inmune humoral en el peso de órganos linfoides para la respuesta inmune primaria.



EAc: Grupo tratado con extracto Acuoso
 CP: grupo inmunosuprimido
 sin Ex: grupo sin tratamiento con extracto

EMe: Grupo tratado con extracto Metanólico
 ECI: Grupo tratado con extracto Clorofórmico

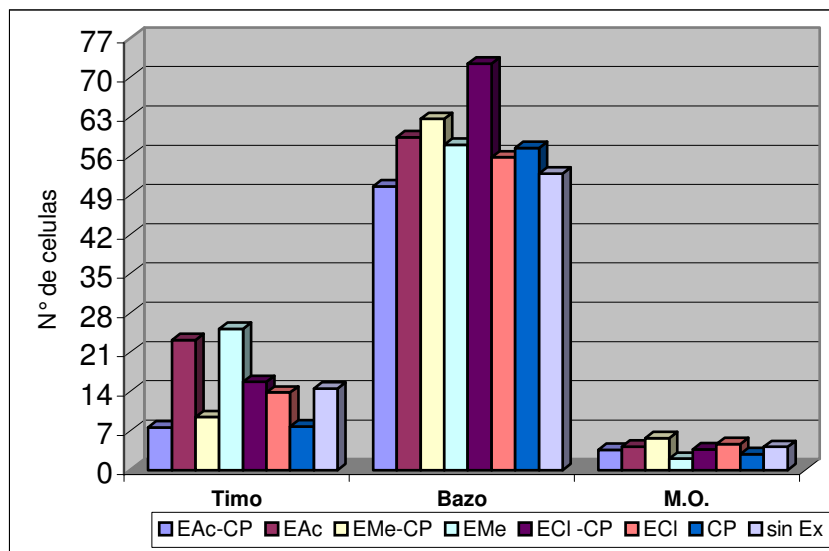
FIGURA 4. Efecto de los tres extractos de *L. peruvianum* sobre la respuesta inmune humoral en el hemograma de ratones inmunosuprimidos para la respuesta inmune primaria.



WBC: recuento de glóbulos blancos
 HGB: hemoglobina
 CP: grupo inmunosuprimido
 sin Ex: grupo sin tratamiento con extracto

LYM: linfocitos
 EAc: Grupo tratado con extracto Acuoso
 EMe: Grupo tratado con extracto Metanólico
 ECI: Grupo tratado con extracto clorofórmico

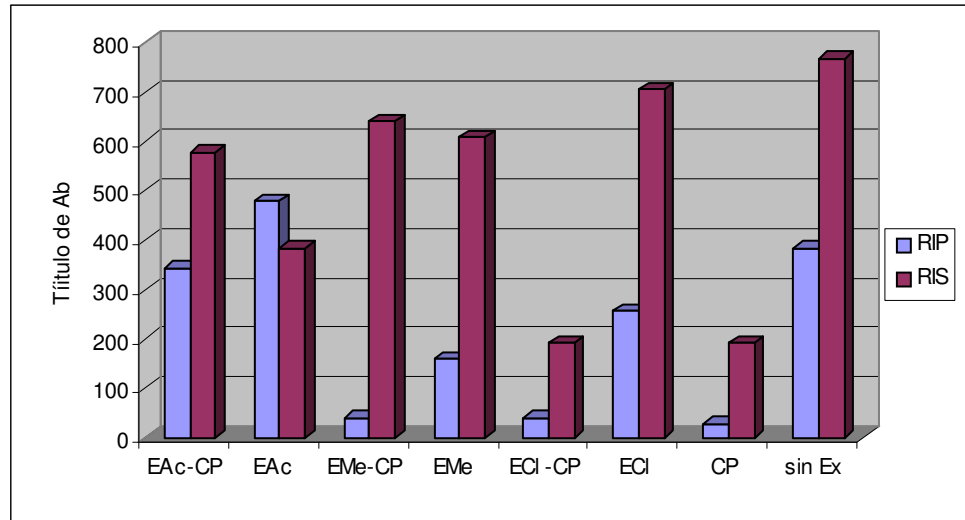
FIGURA 5. Efecto de los tres extractos de *L. peruvianum* sobre la respuesta inmune humoral en la celularidad de órganos linfoides de ratones inmunosuprimidos para la respuesta inmune primaria.



EAc: Grupo tratado con extracto Acuoso
 CP: grupo inmunosuprimido
 sin Ex: grupo sin tratamiento con extracto

EMe: Grupo tratado con extracto Metanólico
 ECI: Grupo tratado con extracto clorofórmico
 M.O. : médula ósea

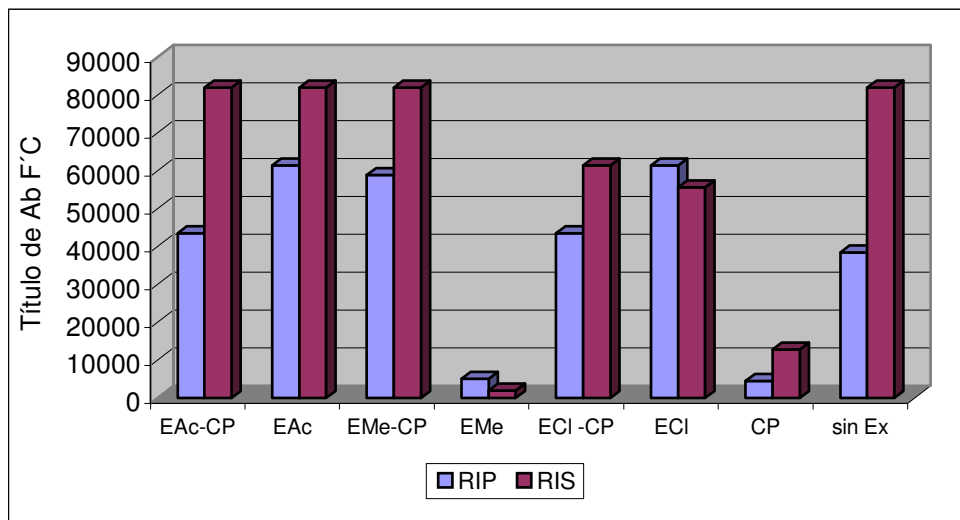
FIGURA 6. Efecto de los tres extractos de *Lepidium peruvianum* en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida sobre el título de anticuerpos hemaglutinantes.



RIP: respuesta inmune primaria
 RIS: respuesta inmune secundaria
 sin Ex: grupo sin tratamiento con extracto
 CP: grupo inmunosuprimido

EAc: Grupo tratado con extracto Acuoso
 EMe: Grupo tratado con extracto Metanólico
 ECI: Grupo tratado con extracto clorofórmico
 Ab: anticuerpo

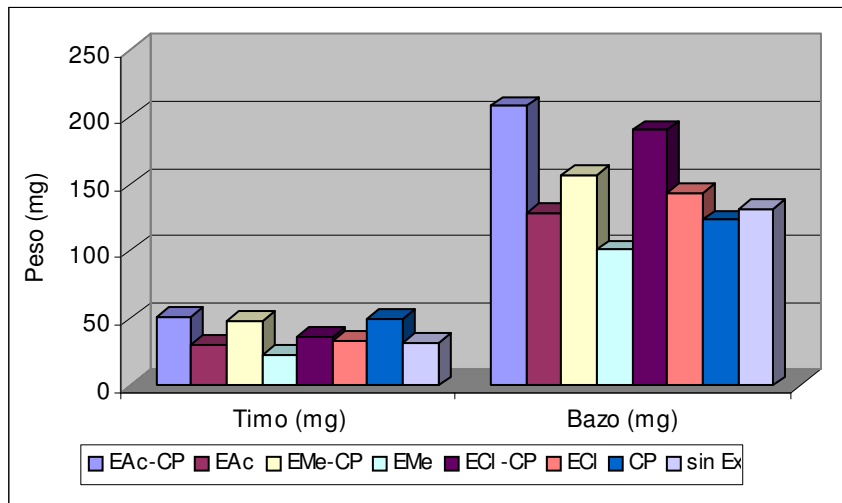
FIGURA 7. Efecto de los extractos de *L. peruvianum* en ratones inmunosuprimidos con ciclofosfamida para la inmunidad humoral . Prueba de cuantificación de anticuerpos fijadores de complemento (CH50).



RIP: respuesta inmune primaria
 RIS: respuesta inmune secundaria
 sin Ex: grupo sin tratamiento con extracto
 CP: grupo inmunosuprimido
 FC: fijación de complemento

EAc: Grupo tratado con extracto Acuoso
 EMe: Grupo tratado con extracto Metanólico
 ECI: Grupo tratado con extracto clorofórmico
 Ab: anticuerpo

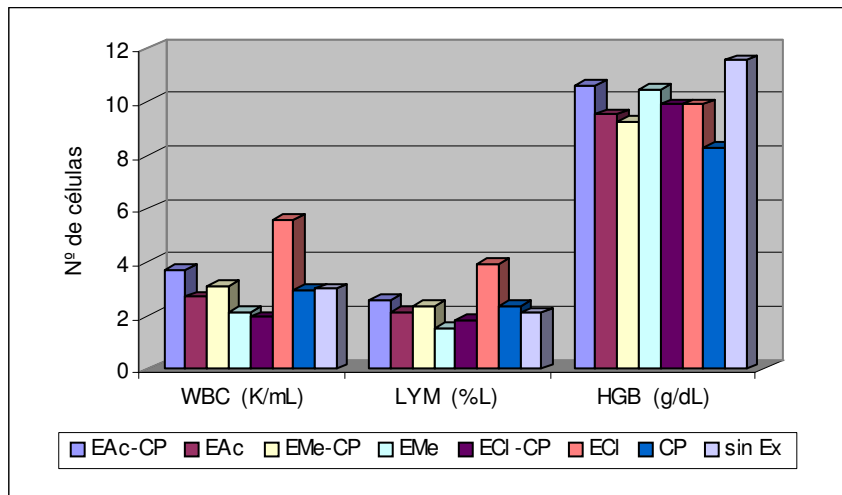
FIGURA 8. Efecto de los tres extractos de *L. peruvianum* sobre la respuesta inmune humoral en el peso de órganos linfoides para la respuesta inmune secundaria.



EAc: Grupo tratado con extracto Acuoso
 CP: grupo inmunosuprimido
 sin Ex: grupo sin tratamiento con extracto

EMe: Grupo tratado con extracto Metanólico
 ECI: Grupo tratado con extracto clorofórmico

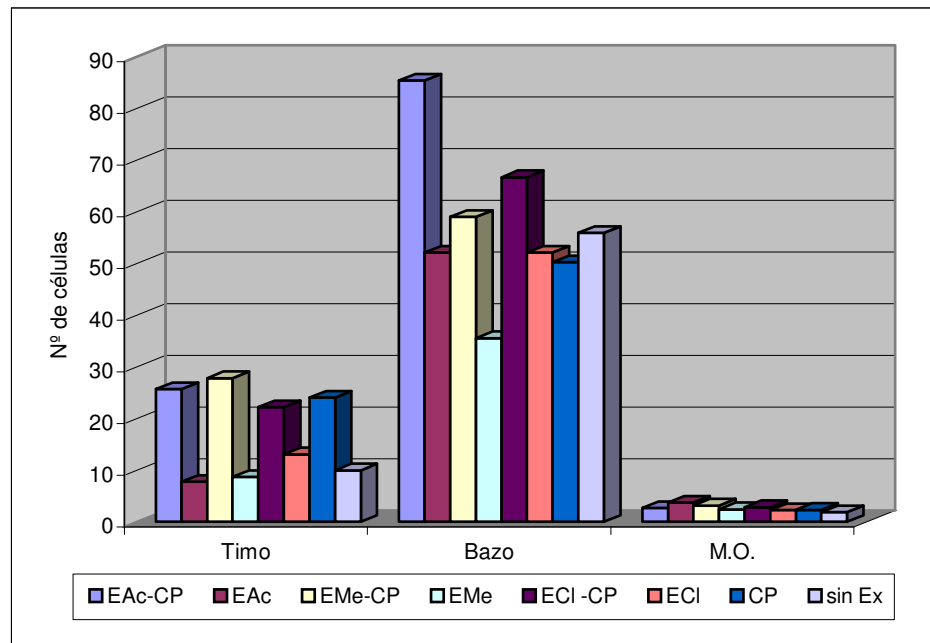
FIGURA 9. Efecto de los tres extractos de *L. peruvianum* sobre la respuesta inmune humoral en el hemograma de ratones inmunosuprimidos para la respuesta inmune secundaria.



WBC: recuento de glóbulos blancos
 EAc: Grupo tratado con extracto Acuoso
 EMe: Grupo tratado con extracto Metanólico
 ECI: Grupo tratado con extracto clorofórmico

LYM: linfocitos
 HGB: hemoglobina
sin Ex: grupo sin tratamiento con extracto
CP: grupo inmunosuprimido

FIGURA 10. Efecto de los tres extractos de *L. peruvianum* sobre la respuesta inmune humoral en la celularidad de órganos linfoides de ratones inmuno- suprimidos para la respuesta inmune secundaria.



EAc: Grupo tratado con extracto Acuoso
 CP: grupo inmunosuprimido
 sin Ex: grupo sin tratamiento con extracto

EMe: Grupo tratado con extracto Metanólico
ECI: Grupo tratado con extracto clorofórmico
 M.O. : médula ósea

ANEXOS

IMPORTANCIA NUTRICIONAL DE LA MACA

Composición analítica de la maca

Componentes	%
agua	10.4
proteínas	10.2
lípidos	2.2
carbohidratos	59
fibra	8.5
ceniza	4.9

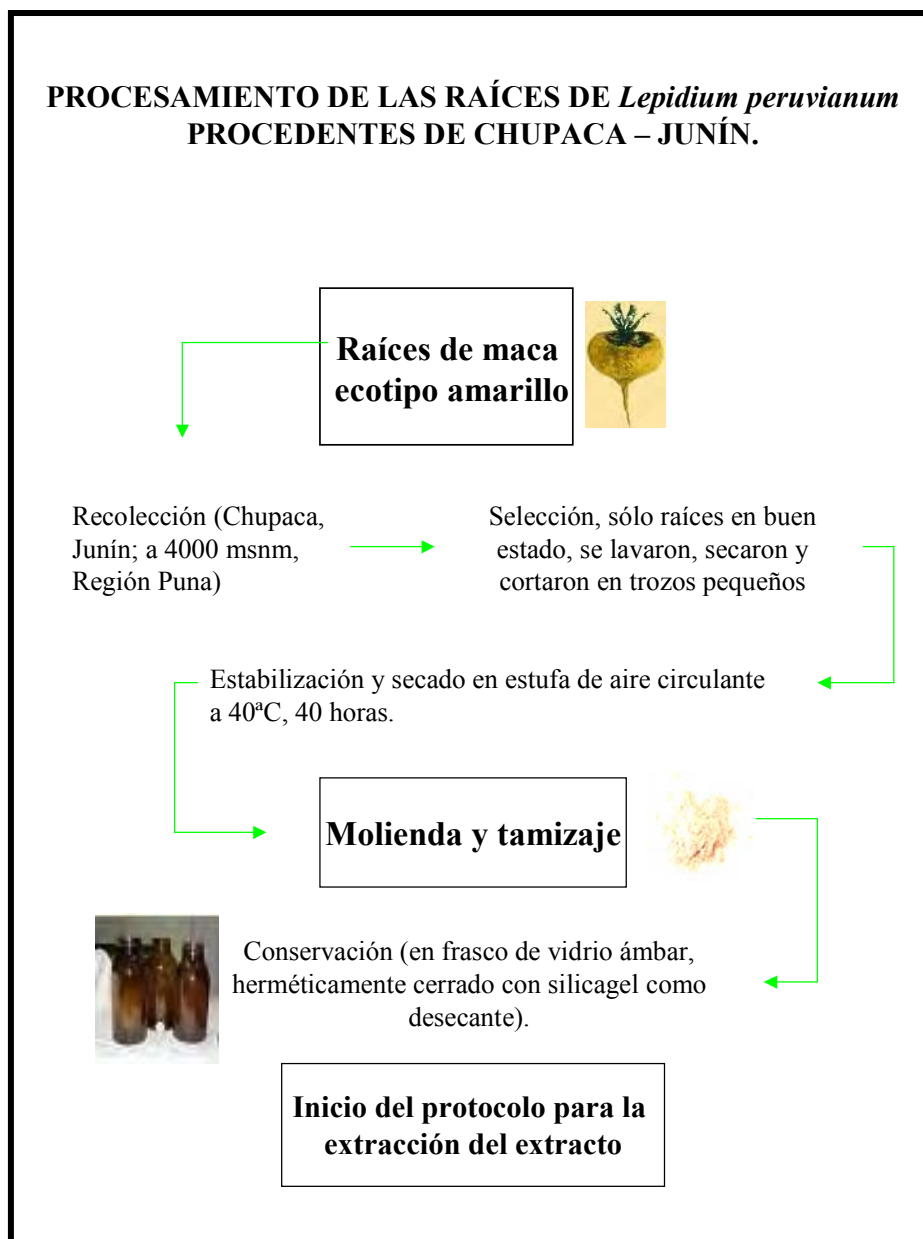
FUENTE: DE SIMONE, F; y RASTRELLI L., 1998 ITA 'NUTRICIONALI DEL TUBERI ANDINI en la maca "II ginseng delli Ande" e Altre Radici e Tuberi Andini. Cuaderni IILA. Serie Scienza 10. Roma.

Composición Mineral de la Maca (Mg/ de materia seca)

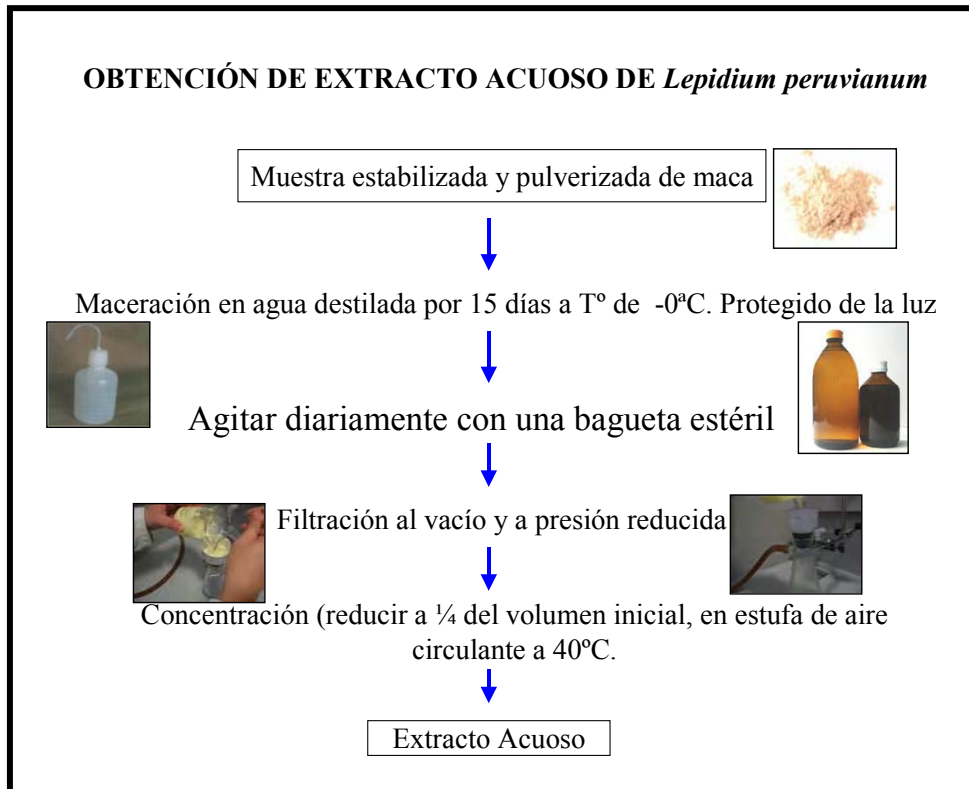
Minerales	Mg/100g
Fe	10.6
Mn	0.8
Cu	5.9
Zn	3.8
Na	18.7
K	2050
Ca	150

FUENTE: DE SIMONE, F; y RASTRELLI L., 1998 ITA 'NUTRICIONALI DEL TUBERI ANDINI en la maca "II ginseng delli Ande" e Altre Radici e Tuberi Andini. Cuaderni IILA. Serie Scienza 10. Roma.

**PROCESAMIENTO DE LAS RAÍCES DE *Lepidium peruvianum*
PROCEDENTES DE CHUPACA – JUNÍN.**



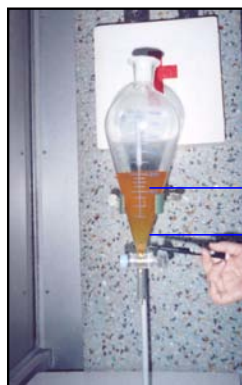
OBTENCIÓN DE EXTRACTO ACUOSO DE *Lepidium peruvianum*



OBTENCIÓN DE EXTRACTO METANÓLICO DE *Lepidium peruvianum*



OBTENCIÓN DE EXTRACTO CLOROFORMICO DE *Lepidium peruvianum*

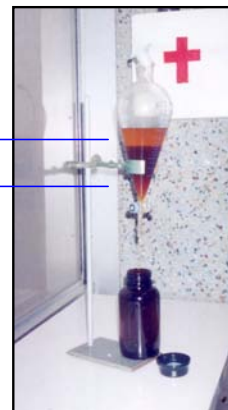


Fase bencénica (resinas, pigmentos)

Fase orgánica

Fase orgánica

Fase clorofórmica



Obtención de extracto Clorofórmico, formación de fases