

Efecto de los polifenoles sobre la inteligencia de los ratones *Mus Musculus* en relación con su edad

Diana Gutiérrez R.¹,
Keyliz Peraza C.² y Luis A. Gutiérrez³.

¹ Unidad Educativa Colegio Francisco Lazo Martí.
dianagutierrezromero@hotmail.com. +58 412-0525620.

² Especialista en Bioquímica clínica. Unidad de Investigación -Hospital Universitario de Getafe.
Madrid- España. keylizmd@hotmail.com. +34 697112398.

³ Residente de Medicina Interna. Hospital Universitario Severo Ochoa.
Madrid-España. luisgutierrezmd@hotmail.com. +34 672106483.

Resumen

Existe un creciente consenso científico de que los antioxidantes, especialmente los polifenoles, pueden ayudar a reducir la incidencia de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y otras. Aunque una dieta rica en formas de polifenólicas parece ofrecer esperanza en el retraso de la aparición de trastornos relacionados con la edad, todavía es demasiado pronto para definir su beneficio clínico exacto. La pérdida de la capacidad cognitiva asociada a la edad es un proceso en estudio, que podría ser sino revertida, retrasada con el uso de polifenoles. Para determinar el efecto de los polifenoles sobre el desarrollo de los procesos cognitivos y su relación con la edad se diseñó un modelo experimental usando 18 ratones *Mus Musculus* y empleando el laberinto de 4 brazos, técnica establecida en análisis experimental del comportamiento. Durante la realización de este, fue tomado el tiempo transcurrido desde la casilla de inicio hasta la casilla del final en la que el individuo identificaba el alimento. Los polifenoles fueron administrados diariamente en el agua a los ratones del grupo experimental durante todo el tiempo de estudio; mientras que el grupo control no recibió ningún tratamiento. Los experimentos de cognición se realizaron dos veces por semana. Los resultados muestran que los polifenoles tienen un efecto positivo sobre las habilidades cognitivas y que aun cuando los individuos envejecen pueden hacer mejor uso de sus facultades.

Palabras clave: polifenoles, antioxidantes, edad, inteligencia, envejecimiento.

Abstract

There is a growing scientific consensus that the antioxidants, especially polyphenols, can help reduce the incidence of cardiovascular, neurodegenerative diseases and others. Although a diet rich in polyphenolic forms seems to offer hope in delaying the onset of age-related disorders, it is still too early to define its exact clinical benefit. The loss of cognition associated with aging is a process under study, but it could be reversed, using delayed polyphenols. To determine the effect of polyphenols on the development of cognitive processes and their relationship with age an experimental model using mice *Mus musculus* and 18 using the 4-arm maze, established technique in experimental analysis of behavior is designed. During the realization of this, he was taken since the start box to the end box in which the individual identified food time. The polyphenols were administered daily on the water of the experimental mice throughout the study period; while the control group received no treatment. Cognition experiments were performed twice weekly. The results show that polyphenols have a positive effect on cognitive skills and that even when individuals get older can make better use of their powers.

Keywords: polyphenols , antioxidants , age , intelligence, aging.



Preliminares teóricos: envejecimiento y pérdida de capacidades cognitivas

El envejecimiento es el conjunto de modificaciones morfológicas y fisiológicas que aparecen como consecuencia de la acción del tiempo sobre los seres vivos, que supone una disminución de la capacidad de adaptación en cada uno de los órganos, aparatos y sistemas del individuo. El envejecimiento de los organismos y particularmente el nuestro como especie humana, ha sido motivo de preocupación desde hace años, debido a que se asocia a un decremento paulatino en las funciones intelectuales.

Los mecanismos de degeneración están principalmente relacionados a la generación de especies reactivas del oxígeno y a la glicación de proteínas; ambos procesos estrechamente relacionados a factores ambientales. El proceso normal de producción de energía en nuestras células, esencial para mantener las funciones vitales, tiene lugar en el interior de las mitocondrias. De manera colateral, durante este proceso se generan especies reactivas del oxígeno, que alteran todos los componentes celulares (ácidos nucleicos, proteínas y lípidos).

Existen numerosas evidencias que apoyan los efectos beneficiosos para la salud de los alimentos de origen vegetal en la prevención de enfermedades crónicas relacionadas con procesos oxidativos. En este sentido se han llevado a cabo estudios epidemiológicos, como el "Estudio de Róterdam", para evaluar el efecto de la dieta en la prevención de enfermedades neurodegenerativas y la demencia senil. En este caso se han seguido a 5.395 individuos durante la década de los 90 y se ha estudiado si existe alguna relación entre la dieta y el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, especialmente siguiendo el efecto de consumo de antioxidantes como es el caso de las vitaminas C y E el beta-caroteno y los flavonoides. En este estudio, un mayor consumo de vitaminas C y E fue asociado con un menor riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer, y esta relación fue incluso más pronunciada en el caso de fumadores, y también se observó en el caso de beta-caroteno y flavonoides. Los polifenoles exhiben propiedades neuroprotectoras incluyendo su acción terapéutica en la Esclerosis y la demencia. Los extractos de té verde y blanco inhiben la acetilcolinesterasa lo que respalda su

potencial en el tratamiento de trastornos relacionados con la edad.

Según un creciente consenso científico, los polifenoles, son antioxidantes capaces de reducir, o evitar la incidencia de enfermedades tales como el Alzheimer, Parkinson, así como algunos tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares, daños en el ADN, e incluso, se cree que pueden tener ciertas propiedades anti envejecimiento, y evitar o retrasar la pérdida de las habilidades cognitivas del ser humano, las cuales son esenciales para realizar actividades que van desde las más simples y cotidianas hasta las más complicadas de realizar, ya que dichas capacidades son responsables de actividades como, la comprensión, el razonamiento, la orientación, la memoria, y la capacidad motora.

Por lo tanto, al hablar de polifenoles, Ruser, (2013) los define como sustancias químicas que están caracterizadas por la posesión de más de un grupo fenol por molécula. Estas sustancias pueden encontrarse en muchas plantas, concha de frutas, maní, vegetales entre otros, estas sustancias son ricas en antioxidantes que ayudan a la capacidad cerebral, por lo tanto sirven para el desarrollo y mantenimiento de las habilidades cognitivas del individuo.

En la idea de verificar esta información se diseñó un modelo experimental in vivo, usando ratones de la especie *Mus Musculus*, para someterles a un tratamiento antioxidante durante su crecimiento y desarrollo a fin de evidenciar sus efectos sobre la inteligencia (capacidades cognitivas).

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos de estudio

Para la investigación fueron determinados dos grupos de estudio, que conforman una población de 18 individuos, divididos en dos grupos, un grupo control (9 individuos) y un grupo tratado, o experimental (9 individuos), ambos conformados por ratones *Mus musculus* del mismo sexo (masculino), de la cepa C57BL/6, de un mes de edad, y mantenidos según las leyes de protección animal vigentes, con ciclos de sueño vigilia conservados.



Fases del estudio:

Fase I: Laboratorio

En esta fase se procede a la elaboración de la fórmula a base de polifenoles.

Instrumentos y materiales:

Polifenoles: Ácido tánico y ácido gálico, Balanza de precisión, Cuchara medidora de 10g, Recipientes de 10ml, Recipientes dispensadores de agua para ratones

Elaboración de la dosis:

Para empezar, se realizó el pesaje de los ratones, y se promedió el peso del grupo Experimental. Se calculó la dosis a 100 mg de cada uno de los polifenoles por kilogramo de peso. Resultando una dosis inicial de 0,6 g de cada polifenol por día, disueltos en 60 cc de agua. Posteriormente al ganar peso los ratones, se ajustaron las dosis hasta llegar a 0,9 g disueltos en 60 cc de agua suministrados diariamente.

Fase II: Experimentación.

El grupo control es alimentado normalmente, una vez al día con el alimento y agua en proporción adecuada; mientras que el grupo experimental es alimentado una vez al día, con las proporciones adecuadas de alimento, y con la fórmula de polifenoles diluida en el agua, también proporcional a las necesidades del grupo.

La evaluación basada en la realización del laberinto se efectuará dos veces por semana, por la noche, cuando los individuos tienen hambre, de esta manera, el estímulo será el alimento al finalizar el recorrido del laberinto. Durante el recorrido, se mide el tiempo de realización desde que el ratón está en el inicio hasta que llega al alimento depositado en la meta.

Además de la prueba descrita anteriormente, se realizó una prueba para analizar el nivel de exploración de los individuos, comparando los resultados obtenidos por los ratones del grupo Control con los del grupo Experimental. La prueba consistió en colocar a cada individuo en una plataforma constituida por cuatro brazos, dos de los cuales tenían paredes, mientras los otros dos no. Al colocar al individuo en

el centro de esta, se midió el tiempo que tardaba en conseguir el alimento. Además de contabilizar las veces que el individuo fue a cada brazo de la plataforma. Es decir, cuántas veces estuvo en los brazos cerrados (C), y en los abiertos(A), obteniendo los siguientes resultados:

EXPERIMENTAL		CONTROL	
C	A	C	A
9	7	4	1
9	7	5	4
7	8	1	2
6	6	4	4
11	6	4	5
9	6	9	1
11	10	4	1
7	7	4	2
8	7	5	2

En la tabla con los resultados se puede ver reflejada la diferencia, que sugiere que los ratones del grupo experimental tuvieron más movimiento, es decir, más exploración. Estos, cruzaron el laberinto un promedio total de 8 veces, mientras que al promediar los resultados de los ratones del grupo control, se obtiene un total de 4 veces, siendo este el promedio de veces que cada individuo fue de un brazo de la cruz a otro. Esto refleja claramente que los ratones del grupo experimental tuvieron una tendencia mucho mayor a explorar.

La prueba de exploración puede relacionarse con la investigación desde el punto de vista de las habilidades de ambos grupos. Los ratones tratados con los polifenoles, tuvieron un mayor nivel de exploración. Esto sugiere mejor uso de sus habilidades, desde las praxias, hasta la curiosidad.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos, correspondientes a las dimensiones e indicadores de la variable tiempo, fueron analizados e interpretados tomando en consideración el tiempo empleado en cada uno de los grupos. Asimismo se presentan los gráficos, para lo cual se tomó como criterio el tiempo promedio respecto a la cantidad de pruebas realizadas.



Número de Prueba	Fecha	Tiempo promedio	
		Control	Experimental
1	14/12/13	182,7s	163,6s
2	18/12/13	108s	95,8s
3	25/12/13	116s	156s
4	28/12/13	170,1s	144,5s
5	01/01/14	176s	150s
6	06/01/14	100s	138,3s
7	09/01/14	140,6s	111,5s
8	12/01/14	183,1s	198s
9	16/01/14	141,7s	114s
10	20/01/14	96s	117s
11	23/01/14	148,2s	130,1s
12	27/01/14	160,1s	76,2s
13	30/01/14	127,5s	86,2s
14	03/02/14	144s	97,2s
15	06/02/14	116,5s	69,9s
16	10/02/14	73,2s	49,1s
17	13/02/14	120,8s	76,4s
18	18/02/14	107,6s	45,3s
19	21/02/14	120,6s	85,8s
20	25/02/14	168,5s	44,6s
21	28/02/14	146,7s	62,1s
22	05/03/14	186,3s	65,2s
23	09/03/14	195,1s	65,2s
24	12/03/14	173,2s	39,6s
25	18/03/14	109s	57,5s
26	22/03/14	117s	47,4s
27	28/03/14	114,7s	47,2s
28	25/03/14	213,5	73,4 s
29	29/03/14	214,1	66,4 s
30	03/04/14	250,8	69,7 s
31	07/04/14	149,5	63,3 s
32	11/04/14	270,4 s	61,9 s
33	15/04/14	255 s	72 s
34	19/04/14	305,1 s	64 s
35	25/04/14	127,1 s	41 s
36	30/05/14	125,1 s	80,9 s
37	04/05/14	104,7 s	64,9
38	08/05/14	233,4 s	97,4 s
39	12/05/14	259,2	101,6

Cuadro 1. Tiempo promedio durante el recorrido por los sujetos de estudios del grupo experimental y control.

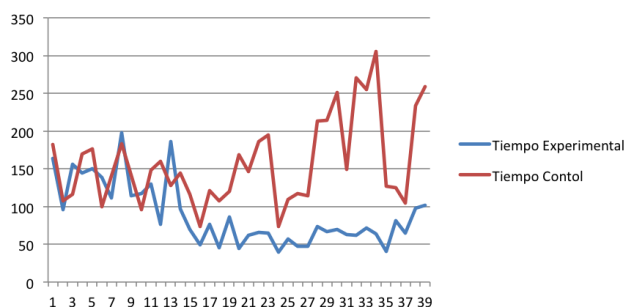


Gráfico 1. Representación del tiempo empleado durante el recorrido en el grupo control y experimental respectivamente.

En el Cuadro 1 y Gráfico 1. Se presenta la distribución por frecuencia y promedios de las pruebas correspondientes al tratamiento aplicado, estos fueron medidos a través del tiempo registrado en cada evento. Los resultados obtenidos reflejan una diferencia significativa del grupo control con resto al grupo tratado, por cuanto se observa de manera directa mediante los datos la rapidez de los sujetos pertenecientes al grupo experimental con respecto al grupo control.

Por otra parte, se evidencia que a medida que avanza el número de pruebas el grupo control disminuye la rapidez del tiempo empleado y el grupo tratado aumenta su rapidez para desarrollar su actividad experimental. El estadístico descriptivo deja claro a través de sus gráficas el efecto que ocasiona el tratamiento empleado en el experimento. Posteriormente se realizó el análisis estadístico mediante el test Mann Whitney usando el paquete estadístico GraphPad Prisma encontrando diferencias estadísticamente significativas entre los grupos que se muestran en el gráfico 2.

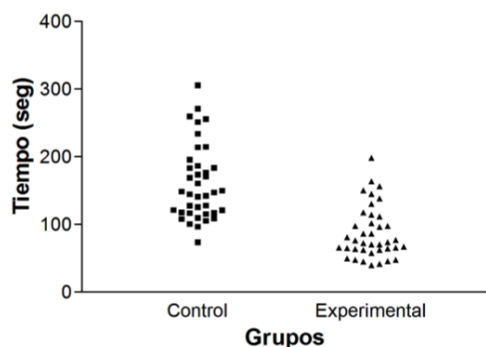


Gráfico 2: Los polifenoles administrados al grupo experimental a dosis de 100mg/kg/día disminuyen el tiempo en segundos que tardan los ratones *Mus Musculus* en recorrer el laberinto para encontrar el alimento. Los datos representan el tiempo promedio expresado en segundos, empleado por prueba de cognición por cada grupo. $p < 0.001$.

CONCLUSIÓN

Se evidenció un efecto positivo en el logro y mantenimiento de los procesos cognitivos de los sujetos de estudio (ratones *Mus musculus*) al aplicar el tratamiento con polifenoles, debido a que éstos consiguieron mejores tiempos de respuesta en el recorrido del laberinto, aun cuando envejecieron.

BIBLIOGRAFÍA

1. [http://www.who.int/topics/ageing/es/ Envejecimiento - Organización Mundial de la Salud
2. Gardes-Albert, Monique; Bonnefont-Rousselot, Dominique; Abedinzadeh, Zohreh; JORE D. Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique?. *L'Actual Chim.* 2003;91-6.
3. Doll R. An overview of the epidemiological evidence linking diet and cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 49: 119-31.
4. Ori- SYBDEADE, Vegetal GEN. Los polifenoles de los alimentos y la salud. 2003;10:41-53.
5. Bhullar, K. S., & Rupasinghe, HPV. Polyphenols: multipotent therapeutic agents in neurodegenerative diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 891748. doi:10.1155/2013/891748
6. Mandel S a, Amit T, Weinreb O, Reznichenko L, Youdim MBH. Simultaneous manipulation of multiple brain targets by green tea catechins: a potential neuroprotective strategy for Alzheimer and Par-

kinson diseases. *CNS Neurosci Ther* [Internet]. 2008 Jan [cited 2014 Sep 18];14(4):352-65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19040558>

7. Li H, Wu X, Wu Q, Gong D, Shi M, Guan L, et al. Green tea polyphenols protect against okadaic acid-induced acute learning and memory impairments in rats. *Nutrition* [Internet]. Elsevier Inc.; 2014 Mar [cited 2014 Sep 11];30(3):337-42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24484683>
8. Ruser L. Importancia de los polifenoles. [Documento en línea]. Disponible: <http://www.agenciasinc.es/Noticias/Los-polifenoles-y-los-acidos-grasos-poliinsaturados-potencian-el-nacimiento-de-nuevas-neuronas> [Consulta: 2014, abril 21].

