



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN DE GENES KCN EN RIÑÓN E
HIPOCAMPO DE UN MODELO MURINO CON DIABETES
INDUCIDA, ALIMENTADO CON PULPA Y CÁSCARA DE
MANGO CV. ‘ATAULFO’**

Por:

Diana Perlette Romo Robles

TESIS APROBADA POR LA

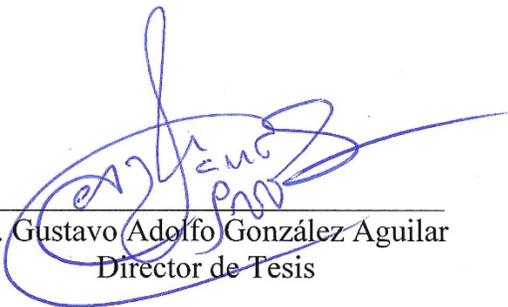
COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

Como requisito para obtener el grado de

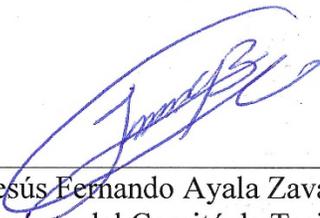
MAESTRÍA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Diana Perlette Romo Robles, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



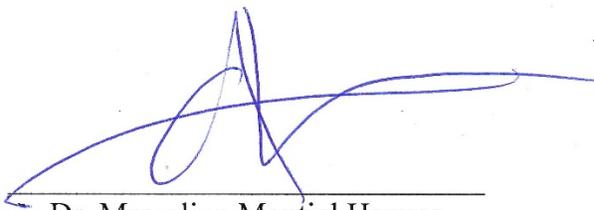
Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar
Director de Tesis



Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala
Integrante del Comité de Tesis



Dr. Humberto Astiazarán García
Integrante del Comité de Tesis



Dr. Marcelino Montiel Herrera
Integrante del Comité de Tesis

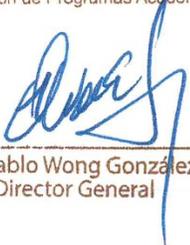
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Cambio en la Expresión de Genes KCN en Riñón e Hipocampo de un Modelo Murino con Diabetes Inducida, Alimentado con Pulpa y Cáscara de Mango cv. ‘Ataulfo’” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora Diana Perlette Romo Robles, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director(a) de tesis.

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.
Coordinación de Programas Académicos




Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico otorgado durante estos dos años del posgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. por permitirme realizar mis estudios de maestría.

A la Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal (CTAOV) por permitirme el uso de los equipos necesarios para la realización de mi proyecto.

A mi director de tesis, Dr. Gustavo A. González Aguilar, por darme la oportunidad de formar parte del equipo y por la confianza depositada en mi persona para la realización de este proyecto de tesis.

A los miembros del comité de tesis: Dr. Humberto Astiazaran por el apoyo, aportaciones, la actitud positiva que lo representa y palabras de aliento que presento en cada una de las reuniones de comité.

Especialmente quiero agradecer al Dr. Marcelino Montiel, por la paciencia que demostró durante la fase experimental y su genuino interés por el proyecto, le agradezco su amistad y apoyo incondicional. Finalmente, al Dr. Fernando Ayala Zavala, por el tiempo dedicado, sus acertadas observaciones y su inagotable disposición para enseñar e impulsarme a dar lo mejor de mí.

Al Dr. Miguel Ángel Téllez y al M.C. Emmanuel Aispuro por permitirme trabajar en su laboratorio, así como por el apoyo brindando ante cualquier duda y situación presentada a lo largo del posgrado.

Al Dr. Abraham Domínguez, por los consejos, la guía y el apoyo incondicional. A la Q.B Mónica Villegas, por su paciencia y apoyo, pero más que nada por su amistad, muchas gracias por su sinceridad y los consejos brindados tanto del área profesional como personal.

A mi novio Alonso Martínez, porque haber coincidido hizo de estos dos años algo único. Gracias por hacerme crecer como persona y por creer en mí, por el apoyo y las experiencias vividas.

A Rosario Cázares, Nill Campos, Alex Fontes, Clarisa Zepeda, Sebastián Sandoval y Ezequiel Hernández por las risas, consejos, apoyo, experiencias y su invaluable amistad.

A Stephanie Olivares, Mayra Fajardo, Gabriela González e Iliana Wong, por su incondicionalidad a pesar del tiempo y la distancia. Les agradezco una vida llena de bonitas experiencias.

A Sugey Muñoz, Francisco Vázquez, Rómulo Reyes y Pablo Gastelum por siempre estar.

DEDICATORIA

A mi familia: Maribel Robles, Rubén Romo, Palmira Romo, Rosario Sánchez.

Gracias mamá, papá, hermana y abuela, por el amor y felicidad.

Se merecen todo.

CONTENIDO

APROBACIÓN	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	5
CONTENIDO	6
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE CUADROS	8
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
1.INTRODUCCIÓN	11
2.ANTECEDENTES	13
2.1. Enfermedades Crónicas no Transmisibles: Prevalencia de Diabetes Mellitus	13
2.1.1. Daños Ocasionados por la Diabetes Mellitus y Estrés Oxidativo.....	14
2.1.2. Alteraciones sobre la Transcripción de Canales Iónicos Durante la Diabetes.....	23
2.2. Beneficios de la Dieta Sobre los Efectos de la Diabetes Mellitus y el Estrés Oxidativo.....	28
2.3. Mango cv. ‘Ataulfo’ como Fuente de Compuestos Bioactivos que Mitigan el Efecto de la Diabetes Mellitus	30
3.HIPÓTESIS	34
4.OBJETIVOS	35
4.1. Objetivo General.....	35
4.2. Objetivos Específicos.....	35
5.MATERIALES Y MÉTODOS	36
5.1. Materia Prima Utilizada para la Elaboración de la Dieta.....	36
5.2. Elaboración de las Dietas Experimentales.....	36
5.3. Inducción de Diabetes y Administración de las Dietas Experimentales a un Modelo Murino	37
5.4. Evaluación de la Expresión Génica Mediante RT-PCR y Q-PCR	38
5.5. Diseño Experimental y Análisis de Datos	42
6.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
6.1. Ganancia de Peso, Consumo de Alimento y Niveles de Glucosa en el Modelo Murino	43
6.2. Expresión de Genes KCN en Riñón e Hipocampo en los Grupos Experimentales.....	47
7. CONCLUSIONES	56
8. RECOMENDACIONES	57
9. REFERENCIAS	58

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Vías implicadas en el desarrollo de estrés oxidativo durante la hiperglucemia.....	19
2	Estrés oxidativo y nefropatía diabética.....	21
3	Estrés oxidativo en cerebro.....	22
4	Efecto de las EROs sobre canales de relacionados con enfermedades neurodegenerativas.....	24
5	Vía de señalización intracelular para la estimulación de canales K_{ATP} en cardiomiocitos.....	26
6	Función de los canales de potasio en la nefrona.....	28
7	Modelo de expresión de canales iónicos.....	29
8	Efecto de los compuestos fenólicos sobre la regulación de glucosa.....	32
9	Ganancia de peso de los grupos experimentales.....	47
10	Consumo de alimento de los grupos experimentales.....	48
11	Niveles de glucosa plasmática de los grupos experimentales al finalizar el bioensayo.....	50
12	Nivel de expresión relativa de Kir 6.2 en riñón e hipocampo.....	55

LISTA DE CUADROS

Cuadros		Página
1	Mecanismos antioxidantes de los principales componentes dietarios.....	35
2	Composición de las dietas experimentales.....	40
3	Secuencias de los oligonucleótidos experimentales.....	44
4	Expresión cualitativa de canales Kir y Kv en riñón e hipocampo en los diferentes tratamientos.....	56

RESUMEN

Los canales de potasio constituyen el grupo más numeroso de proteínas estructurales de membrana, su principal función es mantener el potencial de reposo celular. Sin embargo, su expresión y funcionalidad puede verse comprometida por factores como la diabetes que causan un estado de estrés oxidativo en el organismo. Por otro lado, la pulpa y cáscara de mango cv. ‘Ataulfo’ contienen compuestos bioactivos que pudieran ejercer un efecto positivo sobre la modulación génica de canales de potasio en tejidos afectados por la diabetes. En este contexto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de una dieta suplementada con mango sobre la expresión génica de canales de potasio (K_{ir} 1.1, K_{ir} 2.1, K_{ir} 3.3, K_{ir} 4.1, K_{ir} 5.1, K_{ir} 6.2, K_v 1.1, K_v 3.1, K_v 4.2, K_v 6.3) en riñón e hipocampo, en un modelo murino con diabetes inducida. Se trabajó con 24 ratas Wistar macho las cuales fueron divididas en los siguientes grupos: 1) control sano, 2) control diabético, 3) diabético con tratamiento de mango y, 4) grupo alimentado con mango previo a la inducción de la diabetes. El grupo alimentado con mango previo a la inducción de diabetes, presentó una ganancia de peso similar al control sano y tendió a disminuir los niveles de glucosa, en comparación con el control diabético. Los grupos alimentados con mango consumieron menos alimento en comparación con el control diabético ($p \leq 0.05$). Por otro lado, la expresión de genes K_v 3.1 y K_v 4.2 no se detectó en el hipocampo de los grupos con diabetes inducida. Además, se detectaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el nivel de expresión de K_{ir} 6.2, en los grupos alimentados con mango en ambos tejidos. Sin embargo, en los grupos control sano y control diabético no se encontraron diferencias significativas ($p \geq 0.05$). De acuerdo a los resultados obtenidos concluimos que la adición de mango en la dieta, mitiga signos propios de la diabetes como la polifagia y pérdida de peso. Adicionalmente, los genes que codifican para canales de potasio (K_v 3.1, K_v 4.2 y K_{ir} 6.2), fueron alterados en riñón e hipocampo en un modelo murino diabético alimentado con pulpa y cáscara de mango cv. ‘Ataulfo’.

Palabras clave: Mango, diabetes mellitus, canales de potasio, expresión génica

ABSTRACT

Potassium channels constitute the most numerous families of structural membrane proteins, where their main function is to maintain cellular resting potential. However, its expression and functionality can be compromised by factors such as diabetes, which causes oxidative stress in the organism. On the other side, mango cv. 'Ataulfo' pulp and peel contain bioactive compounds that could exert a positive effect on the gene modulation of potassium channels in tissues affected by diabetes. In this context, the objective of the present study was to evaluate the effect of a diet supplemented with mango, on potassium channels (K_{ir} 1.1, K_{ir} 2.1, K_{ir} 3.3, K_{ir} 4.1, K_{ir} 5.1, K_{ir} 6.2, K_v 1.1, K_v 3.1, K_v 4.2, K_v 6.3) gene expression in kidney and hippocampus in a murine model with streptozotocin-induced diabetes. Twenty-four male Wistar rats were divided in the following groups: 1) control, 2) diabetic control, 3) diabetic with mango treatment and, 4) mango fed group prior to diabetes induction. The mango-fed group prior to the induction of diabetes showed a weight gain similar to the control group and tended to decrease glucose levels compared to the diabetic control. Mango fed groups had less food consumption compared to diabetic control ($p \leq 0.05$). On the other hand, the expression of K_v 3.1 and K_v 4.2 was not detected in the hippocampus of the diabetic groups. Additionally, significant differences were detected in the expression level of K_{ir} 6.2 in the groups fed with mango in both tissues ($p \leq 0.05$); however, no significant differences were found in the control and diabetic groups ($p \geq 0.05$). Based on the results obtained, it can be concluded that the addition of mango in the diet mitigates signs of diabetes such as polyphagia and weight loss. Also the genes coding for potassium channels (K_v 3.1, K_v 4.2 and K_{ir} 6.2) were altered in the kidney and hippocampus in a diabetic murine model fed with mango cv. 'Ataulfo' peel and pulp.

Key words: Mango, diabetes mellitus, potassium channels, gene expression

1. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus conduce a un aumento en la generación de radicales libres por mecanismos como la oxidación de glucosa, glicación no enzimática de proteínas y degradación oxidativa de proteínas glicosidadas (Maritim, Sanders et al. 2003). Un tipo de proteínas de especial interés que son afectadas por el estrés oxidativo causado por la diabetes, son las que conforman a los canales de potasio. Se ha visto una disminución en la expresión de K_{ir} 4.1 en cerebro, contribuyendo a un ambiente neurotóxico, que puede conducir a una cascada de reacciones y dar pie a la apoptosis neuronal (Butt y Kalsi 2006, Rivera-Pagán, Rivera-Aponte et al. 2015). El incremento anormal de radicales libres aunado a la disminución de mecanismos de defensa antioxidante (enzimática y no enzimática), conlleva daño a células y enzimas, aumenta la lipoperoxidación y se ve implicado en el desarrollo de resistencia a insulina (Henriksen, Diamond-Stanic et al. 2011). Las consecuencias del estrés oxidativo son clave para el comienzo y desarrollo de complicaciones crónicas de la diabetes (Cruz Hernández, Licea Puig et al. 2011, Randhir Singh 2015). Como tratamiento preventivo y correctivo de la oxidación causada por esta enfermedad, se lista el uso de compuestos bioactivos como la vitamina A, vitamina C, carotenoides y cofactores de enzimas que actúan sinérgicamente entre ellos y en contra de diferentes radicales libres (Elejalde Guerra 2001, Diaz-Flores, Baiza-Gutman et al. 2004, Storino, Contreras et al. 2014). Específicamente, la vitamina C y vitamina E inhiben la formación de hidroperóxidos, la formación de complejos metálicos implicados en la lipoperoxidación, así como reacciones de Fenton, mientras que la vitamina A y E, eliminan radicales libres (Maritim, Sanders et al. 2003). Considerando la relación que existe entre la diabetes mellitus y el estrés oxidativo, es relevante considerar la búsqueda de nuevas fuentes antioxidantes, para el control de los daños ocasionados por esta enfermedad.

El mango (*Mangifera indica* L.) es uno de los frutos de mayor cultivo, consumo y exportación en México, además de ser rico en antioxidantes. De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO: Food and Agriculture Organization), 78 % de los 82 millones de toneladas de frutos tropicales producidas en 2014 fueron de mango, piña, aguacate y papaya. Las exportaciones de mango a nivel mundial alcanzaron los 27 y 38 millones de toneladas en el 2008 y 2011, respectivamente, siendo el segundo producto tropical de mayor producción y popularidad. Las variedades ‘Ataulfo’, ‘Manila’, ‘Tommy Atkins’, ‘Hayden’ y ‘Kent’

son las más importantes debido a que aportan aproximadamente el 60 % de la producción nacional (Wall-Medrano, Olivas-Aguirre et al. 2015). Esas mismas variedades son más comúnmente utilizadas para jugos, néctares y concentrados. El procesamiento industrial de estos frutos genera subproductos (cáscara, semilla, pasta) que podrían ser considerados como ingredientes bioactivos potenciales debido a sus propiedades funcionales (de Lourdes García-Magaña, García et al. 2013). El mango cv. ‘Ataulfo’ tiene un mayor contenido de compuestos fenólicos antioxidantes (406.60 mg/100 g) en comparación con otras variedades, por lo que su consumo se ha relacionado con la prevención y/o tratamiento de enfermedades como la diabetes mellitus (Robles-Sánchez, Islas-Osuna et al. 2009).

Estudios previos demostraron que compuestos fenólicos del mango (quercetina, mangiferina) y algunos derivados de su metabolismo (noratiriol), alteraron la transcripción de receptores activados por proliferadores peroxisomales (PPARS), que son factores de transcripción importantes en muchas enfermedades, incluida la diabetes (Wilkinson, Monteith et al. 2008, Kobori, Masumoto et al. 2009, Ferk, Chakraborty et al. 2011). Además, existen estudios que sugieren que los componentes bioactivos presentes en mango cv. ‘Ataulfo’ pudieran regular la transcripción génica de proteínas presentes en la membrana plasmática al verse alterada por situaciones como la diabetes mellitus. Por otro lado, el consumo de pulpa y cáscara de mango en un modelo murino diabético ejerció un efecto neuroprotector sobre el estrés oxidativo, aumentando la expresión y actividad de enzimas antioxidantes (SOD, GST), así como disminuyendo la lipoperoxidación. Sin embargo, se desconoce el efecto del consumo de este fruto sobre los canales de potasio en condiciones de diabetes mellitus. Por lo tanto, el objetivo de esta tesis fue evaluar el efecto de una dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. ‘Ataulfo’ sobre la expresión de genes KCN en riñón e hipocampo de un modelo murino con diabetes inducida.

2. ANTECEDENTES

2.1 Enfermedades Crónicas no Transmisibles: Prevalencia de Diabetes Mellitus

Las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNTs) son causa del 60 % de mortalidad y 45 % de morbilidad a nivel mundial. En las últimas décadas se ha registrado un cambio negativo en el estado de salud del mexicano debido a su incremento, constituyendo el 78 % de defunciones totales (Valdez Morales, Medina Godoy et al. 2016). Las enfermedades cardiovasculares, respiratorias, diabetes y cáncer son las de mayor importancia a nivel nacional (Valdez Morales, Medina Godoy et al. 2016). Pueden atribuirse a factores de riesgo entre los que destacan los hábitos alimenticios inadecuados, sedentarismo, tabaquismo, alcoholismo, resistencia a la insulina, obesidad, dislipidemias e hipertensión. Su desarrollo se ha visto relacionado a los patrones alimenticios adquiridos a lo largo del tiempo (Marchionni, Conconi et al. 2011, Valdez Morales, Medina Godoy et al. 2016). Por ejemplo, la base de la alimentación mexicana prehispánica era el maíz, frijol, calabaza y chile, los cuales son una buena fuente de hidratos de carbono complejos, fibra, calcio y proteína vegetal. Sin embargo, actualmente hay preferencia hacia productos industrializados como el refresco, pan dulce, carnes rojas y embutidos (Cruz-Castellanos, Sánchez-Mendoza et al. 2017). Aunado a esto la genética propia del mexicano promueve la rápida acumulación de tejido adiposo, por lo que se ha observado un aumento en obesidad y patologías derivadas de tipo metabólicas, cardiovasculares y neurológicas (Valdez Morales, Medina Godoy et al. 2016).

Entre las ECNTs más comunes se encuentra la diabetes mellitus. Esta enfermedad se desencadena cuando el páncreas no produce suficiente insulina o cuando los tejidos no pueden utilizarla adecuadamente (Domingueti, Dusse et al. 2016). La diabetes tipo 1 (DM1) y tipo 2 (DM2) son más comunes en la población juvenil y adulta, respectivamente. La DM1 se caracteriza por la ausencia de insulina, mientras que en la DM2 hay una resistencia o disminución en la secreción de esta hormona. Existen otros tipos, como la diabetes gestacional, la cual se desarrolla durante el embarazo y, finalmente donde se ven involucrados otros factores como infecciones, endocrinopatías y defectos genéticos (Solis-Herrera, Triplitt et al. 2018). La incidencia de diabetes mellitus es tal, que es considerada un problema prioritario de salud nacional. Según la Federación

Mexicana de Diabetes la prevalencia de esta enfermedad aumentó de un 9.67 a 10.3 % en mujeres, en el periodo comprendido entre 2012 y 2016, mientras que en hombres disminuyó de un 8.6 a 8.4 %. En la última década, dicha prevalencia ha aumentado exponencialmente, siendo este aumento mayor en los países de ingresos bajos y medianos en comparación con los de ingresos altos (OMS 2013).

México se encuentra entre los 10 países con mayor número de individuos que padecen diabetes mellitus, ocupando el 6to y 1er lugar en mortalidad a nivel mundial y en América Latina, respectivamente (Rojas-Martínez, Basto-Abreu et al. 2018). La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2012 identificó a 6.4 millones de adultos mexicanos con diabetes, sin embargo la cifra pudiera ser mayor considerando los casos no diagnosticados (Hernández-Ávila, Gutiérrez et al. 2013). Entre los años 2000 y 2016 hubo un aumento en el diagnóstico previo de la enfermedad de 5.8 a 9.4 %, el cual pudiera deberse a factores como el envejecimiento y/o incremento en la prevalencia de obesidad, la cual se asocia con el desarrollo de diabetes mellitus, dando pie a otras complicaciones (Rojas-Martínez, Basto-Abreu et al. 2018).

2.1.1 Daños Ocasionados por la Diabetes Mellitus y Estrés Oxidativo

La diabetes mellitus se ve implicada en el desarrollo de complicaciones como la pérdida de visión, insuficiencia renal, ataques cardiacos, accidentes cerebrovasculares, amputación y daños neurológicos, las cuales aumentan el riesgo de muerte prematura (OMS 2013). La neuropatía diabética, caracterizada por lesiones nerviosas, puede llegar a afectar al 50 % de los pacientes, por ello es importante identificar a los pacientes con dicha complicación en sus estadios iniciales ya que es el principal factor para desarrollar pie diabético y amputarlo. Por otro lado, entre el 25 y 40 % de los individuos con diabetes tipo 1 o 2, desarrollan nefropatía diabética entre los 20 y 25 años posteriores al inicio de la enfermedad (Yamagishi y Matsui 2010). Asimismo, el riesgo de muerte es al menos dos veces menor en quienes no la padecen, por lo que se ha estimado que la esperanza de vida del paciente diabético se reduce entre 5 y 10 años (FDI, 2013). La diabetes mellitus mal controlada eventualmente deriva en daño a los riñones, retinas, nervios o problemas

microvasculares, los cuales se deben a elevados niveles de glucosa en sangre, llevando al organismo a un estado de estrés oxidativo (Díaz Arce 2006).

El estrés oxidativo se presenta cuando existe un desbalance caracterizado por una disminución en la actividad de los mecanismos de defensa antioxidante y/o una mayor generación de especies reactivas de oxígeno (EROs) (Poljsak, Šuput et al. 2013). Las EROs se definen como metabolitos derivados del oxígeno con un gran potencial oxidante, el cual se debe a su capacidad para secuestrar electrones de moléculas biológicas y son consecuencia del metabolismo fisiológico regular. En altas concentraciones, las EROs son perjudiciales ya que oxidan proteínas, lípidos de membrana y dañan al ADN, mientras que en bajas concentraciones cumplen con funciones de señalización que regulan el crecimiento, diferenciación y apoptosis (Tangvarasittichai 2015). El desbalance existente entre EROs y la defensa antioxidante en organismos diabéticos se ve relacionado con el desarrollo y progresión de las complicaciones de la diabetes mellitus, representando un factor importante entre la enfermedad y daños celulares y tisulares específicos (Cruz Hernández, Licea Puig et al. 2011). Los mecanismos de defensa antioxidante se dividen en el sistema antioxidante endógeno, conformado por las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx). Estas enzimas dependen de la presencia de cofactores metálicos como selenio, cobre, zinc y magnesio, los cuales pueden obtenerse a partir de la dieta (Montier Iglesias, Ramos Arencibia et al. 2015). La vitamina C, carotenos, vitamina E, polifenoles y flavonoides, entre otras moléculas, forman parte del sistema antioxidante exógeno. Ambos sistemas interactúan entre sí, teniendo efectos sinérgicos e interdependientes unos de otros (Viada Pupo, Gómez Robles et al. 2017).

La exposición crónica a estrés oxidativo puede interferir en las funciones fisiológicas normales de los diversos tejidos afectados, ya sea incrementando el flujo sanguíneo, alterando la hemodinámica en la retina, la contractibilidad de las células del músculo liso vascular y disminuyendo la conductividad neuronal en nervios periféricos. Durante estas complicaciones los efectos no son determinantes para la destrucción completa del tejido, sin embargo el daño oxidativo a células individuales puede ser suficiente para causar rupturas cromosómicas que inducen a la muerte celular, perjudicando la integridad y funcionalidad tisular (King y Loeken 2004). Existen varios mecanismos por los cuales se genera un estado de estrés oxidativo debido a hiperglucemia, tales como la vía de los polioles y la glicación no enzimática de proteínas (**Figura 1**). En la vía de los polioles se ven implicadas la enzima aldosa reductasa (AR) que se encarga de reducir la glucosa a sorbitol con la ayuda del cofactor NADPH, el cual es necesario para la regeneración del glutatión

reducido (GSH) y la enzima sorbitol deshidrogenasa (SDH) que con ayuda del cofactor NAD convierten el sorbitol en fructosa. En condiciones de hiperglucemia el 30 % de la glucosa se canaliza hacia esta vía, reduciendo los niveles de NADPH y consecuentemente del GSH contribuyendo a la disminución de la capacidad antioxidante celular. La oxidación de sorbitol a fructosa se relaciona con el estrés oxidativo debido a que el cofactor NAD se convierte en NADH, el cual es el sustrato utilizado por la NADH oxidasa para la generación de EROs. En este sentido, los metabolitos de la fructosa generados (fructosa-3-fosfato y 3-desoxiglucosona) son agentes de glicación no enzimáticos más potentes que la glucosa, provocando un incremento en la formación de productos finales de glicación avanzada (PFGA), así como su unión con receptores específicos, lo que también es causa de estrés oxidativo (Chung, Ho et al. 2003).

Los PFGA se definen como compuestos generados a través de la glicación no enzimática de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, alterando a las proteínas de la matriz extracelular, mielina, cartílago y proteínas del cristalino. La unión de estos productos con sus receptores inicia la transcripción de genes que favorecen el desarrollo y progresión de las complicaciones vasculares de la diabetes. Esta unión se relaciona con el estrés oxidativo debido a que se activa la NADPH oxidasa provocando un aumento en la generación de radicales libres, y consecuentemente oxidación de macromoléculas. Otra manera en que se favorece el estrés oxidativo es debido al proceso de glicación de enzimas antioxidantes, como la SOD1 (Díaz Casasola & Luna Pichardo, 2016; Stitt, 2010, Yan, 2014; Barlovic et al., 2011). Los mecanismos antes mencionados dan pie a la patogénesis de las complicaciones de la diabetes mellitus, tales como la nefropatía y neuropatía diabética, al inducir cascadas de señalización que a su vez alteran la transcripción de genes (N. Kashihara 2010)

El riñón es uno de los órganos más afectados estructural y funcionalmente en los pacientes diabéticos debido al estrés oxidativo, siendo la nefropatía diabética una de las complicaciones más comunes y la principal causa de insuficiencia renal terminal (Pal, Sinha et al. 2014, Bello-Chavolla, Rojas-Martinez et al. 2017). La **Figura 2** muestra de manera general como la hiperglucemia causa estrés oxidativo en el riñón contribuyendo al desarrollo de nefropatía diabética.

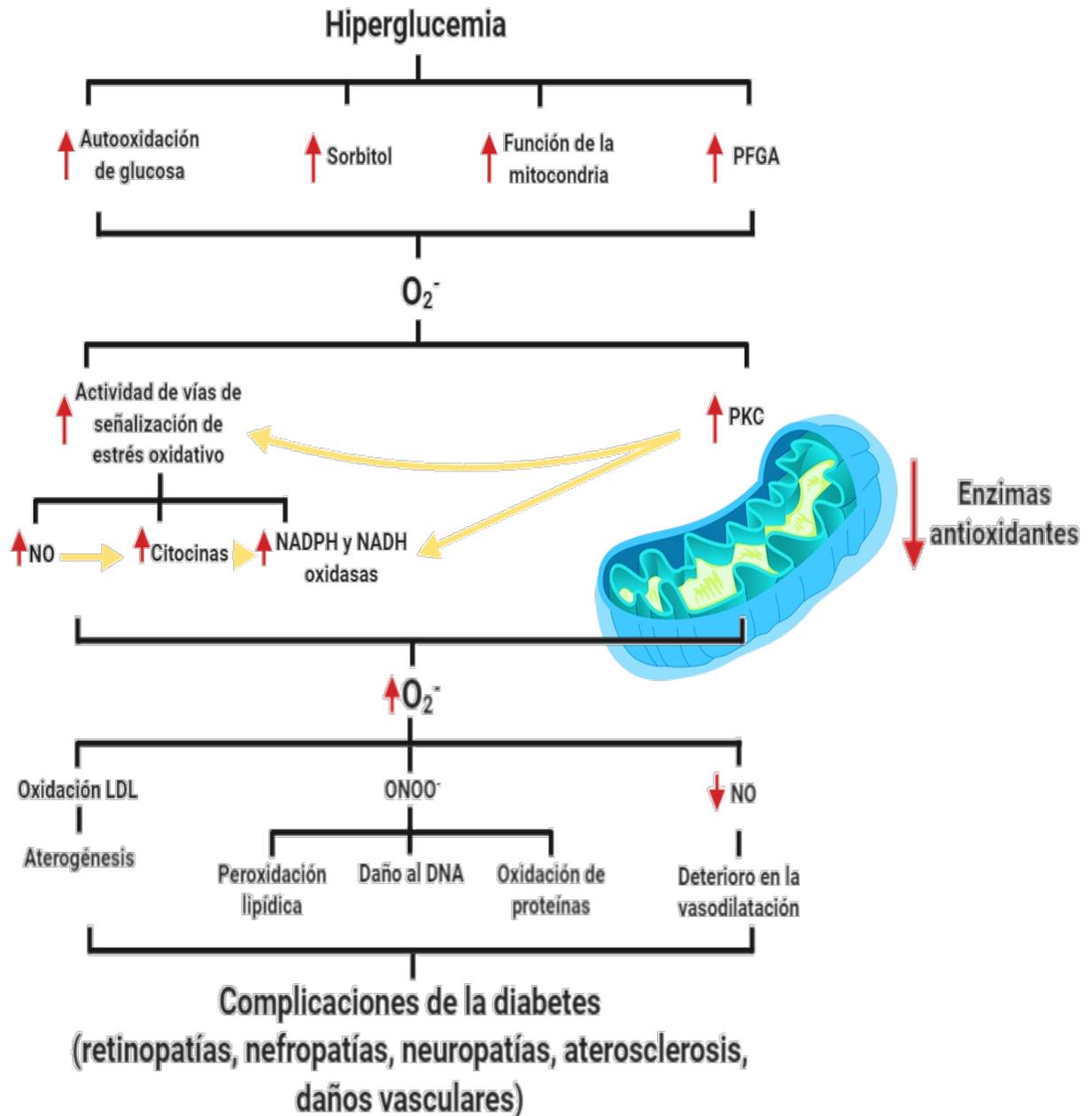


Figura 1. Vías implicadas en el desarrollo de estrés oxidativo y generación de EROs durante la hiperglucemia y su relación con las complicaciones propias de la diabetes mellitus.

Las células endoteliales que conforman los capilares glomerulares y los podocitos que los rodean, forman la membrana de filtración en la nefrona. La ubicación de estas células, aunado a que no son insulino-dependientes, las hace particularmente vulnerables a la exposición crónica de la

hiperglucemia. Los altos niveles de glucosa inducen la activación de PKC (por sus siglas en inglés: protein Kinase C) y la activación de MAPK (por sus siglas en inglés: mitogen activated protein kinases) contribuyendo al aumento de estrés oxidativo en el riñón dado a la generación de radicales libres. Las altas concentraciones de EROs en la microcirculación glomerular reducen la biodisponibilidad de óxido nítrico (vasodilatador) dando como resultado una desregulación de la concentración mesangial, tono arteriolar y un estado de estrés oxidativo persistente lo que provoca disfunción endotelial, adherencia leucocitaria y apoptosis glomerular (Singh, Winocour et al. 2011). Los PFGA generados durante la hiperglucemia se filtran por el riñón y son reabsorbidos por células tubulares proximales promoviendo su acumulación y contribuyendo a la hiperfiltración glomerular. Por otro lado, el daño oxidativo causado y la producción de factor de crecimiento transformante β son causantes de las lesiones características de la nefropatía diabética dando pie a la hipertrofia glomerular y renal y a la expansión de la matriz extracelular.

La neuropatía diabética es una de las complicaciones crónicas más frecuentes en individuos con diabetes mellitus afectando al sistema nervioso central y periférico, provocando alteraciones estructurales y funcionales en el cerebro, las cuales pueden causar enfermedades mentales (Pop-Busui, Boulton et al. 2017). Los mecanismos implicados en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas a causa del estrés oxidativo derivado de la hiperglucemia se muestran en la **Figura 3**. Las neuronas son propensas al daño oxidativo ya que al no ser insulino dependientes la captación de glucosa depende de la concentración extracelular. La resistencia a la insulina en neuronas causa que las células no respondan adecuadamente a señales por factores de crecimiento, contribuyendo a la neurodegeneración y posteriormente a neuropatía diabética, por lo que la exposición crónica a altas concentraciones de glucosa tiene repercusiones a nivel estructural, neurofisiológico y neuropsicológico. Además, el cerebro es un tejido vulnerable al estrés oxidativo debido a su alto consumo de oxígeno, alto contenido de lípidos y al poco contenido de enzimas antioxidantes (Muriach, Flores-Bellver et al. 2014).

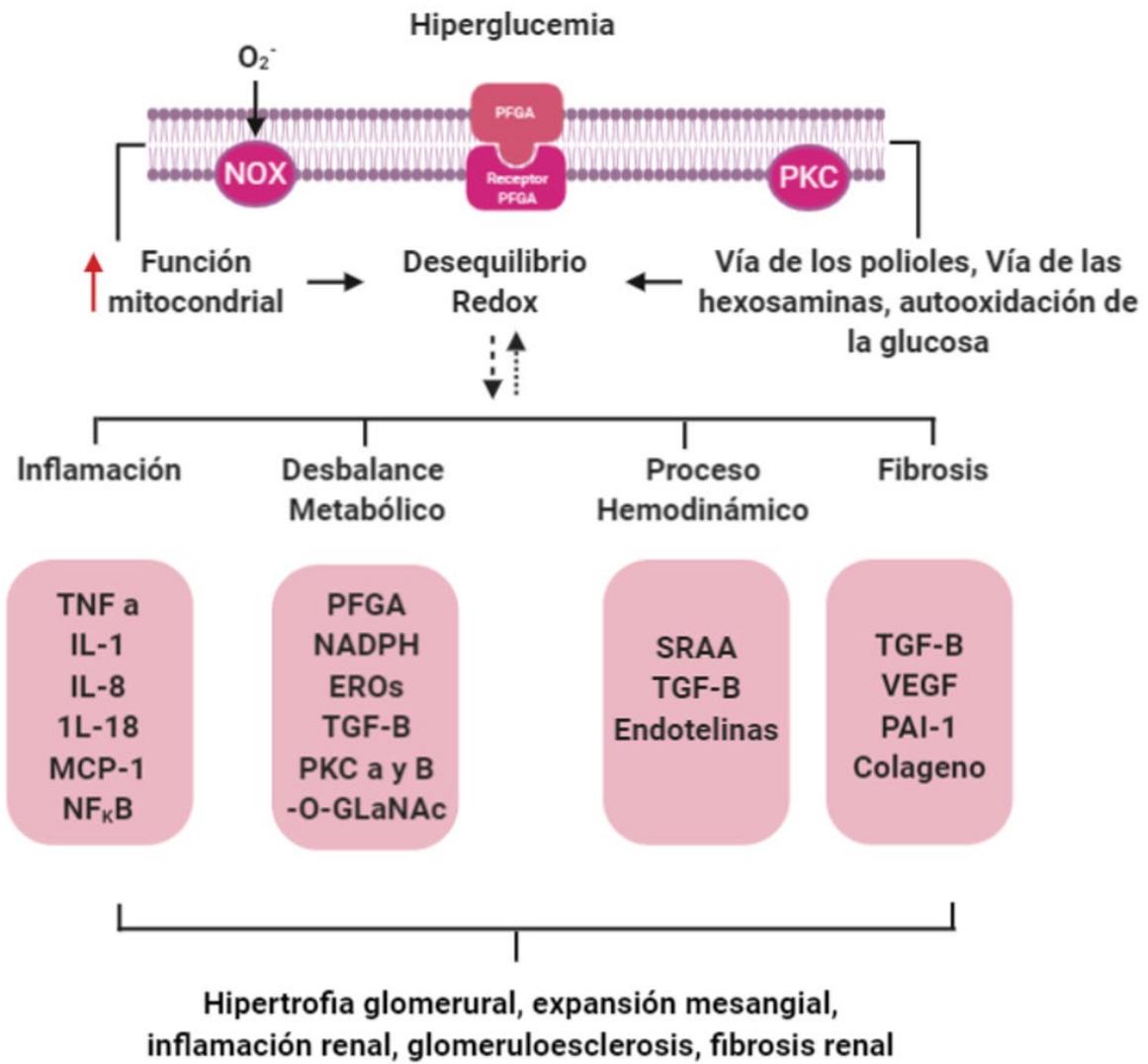


Figura 2. Estrés oxidativo generado por hiperglucemia en riñón y su contribución a la nefropatía diabética.

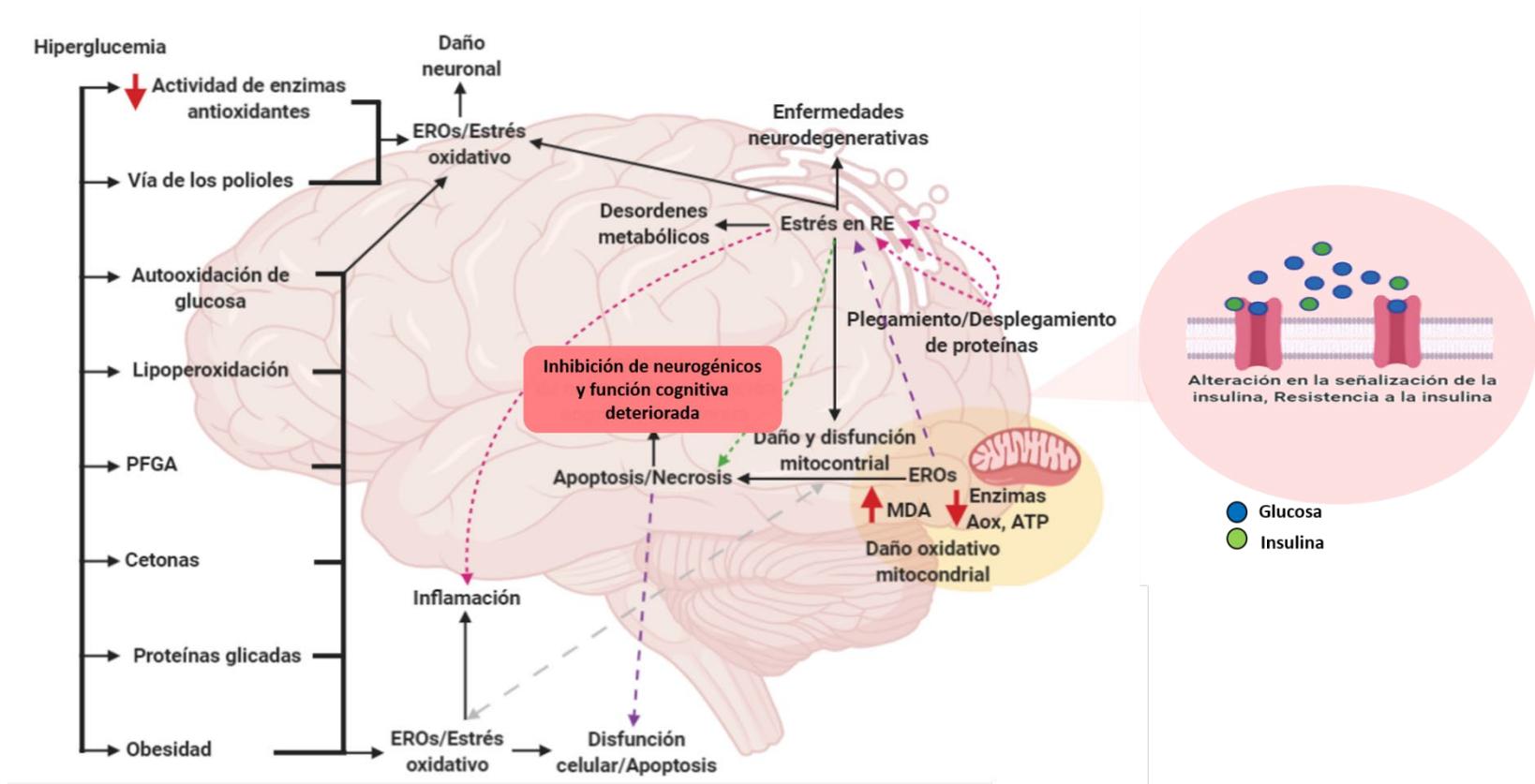


Figura 3. Estrés oxidativo generado por hiperglucemia en el cerebro y su relación con daños neuronales y enfermedades neurodegenerativas.

El estrés oxidativo derivado de la hiperglucemia puede también afectar la actividad de canales iónicos presentes en la membrana celular de tejidos afectados por la diabetes mellitus. Las EROs generadas por la hiperglucemia ejercen un efecto sobre la excitabilidad neuronal actuando sobre canales de potasio dependientes de voltaje (K_v) los que nos indica que estos representan un substrato importante para las EROs (Serrano y Klann 2004). Los residuos de metionina y cisteína de canales BK pueden ser oxidados por EROs aumentando o inhibiendo la actividad del canal. El aumento de la actividad pudiera causar una disminución en la frecuencia de disparo en neuronas de hipocampo lo que afectaría ciertas funciones cognitivas (Santarelli, Wassef et al. 2006, Zhang, Xu et al. 2006). Los efectos de las EROs sobre la actividad de los canales de potasio dan pie a enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson y Alzheimer. A nivel celular el Alzheimer se caracteriza por la formación de placas β -amiloides sobre las cuales el estrés oxidativo ejerce un papel primordial. Este proceso incrementa excesivamente los niveles de EROs alterando la funcionalidad de canales BK promoviendo el aumento de su expresión, a través de interacciones con péptidos amiloides y la sobreproducción de EROs, lo que conlleva a la reducción en la excitabilidad neuronal y por lo tanto problemas de aprendizaje y memoria (**Figura 4 a**).

Por otro lado, la enfermedad de Parkinson se relaciona con la interacción de las EROs con canales K_{ATP} . De manera normal el H_2O_2 actúa como molécula de señalización para la liberación de dopamina a través de la apertura de canales K_{ATP} . Sin embargo, durante la enfermedad existe una interacción entre otras EROs y el canal K_{ATP} provocando su apertura crónica, hiperpolarizando la sinapsis y bloqueando la liberación de dopamina. De la misma forma que el estrés oxidativo derivado de la diabetes afecta la funcionalidad de los tejidos, induce cambios en la transcripción de genes en células neuronales y renales, lo cual genera una respuesta que puede conducir a la patogénesis y daño orgánico a largo plazo (Hains, Klein et al. 2003) (**Figura 4 b**).

Además de relacionarse con el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas, las EROs participan en cascadas de señalización relacionadas con la función de canales iónicos. Un ejemplo muy claro es el efecto del H_2O_2 sobre la funcionalidad de canales K_{ATP} en cardiomiocitos (Zhang, Chai et al. 2014) El exceso de O^{2-} generado durante la hiperglucemia se acompaña de un exceso en la producción de óxido nítrico, el cual es una molécula que en altas concentraciones reaccionan con el O^{2-} generando el radical peroxinitrito ($ONOO^{\cdot}$). Este radical se une a proteínas y altera su funcionalidad (Ceriello y Motz 2004, Pacher, Beckman et al. 2007, Ayub, Khan et al. 2011).

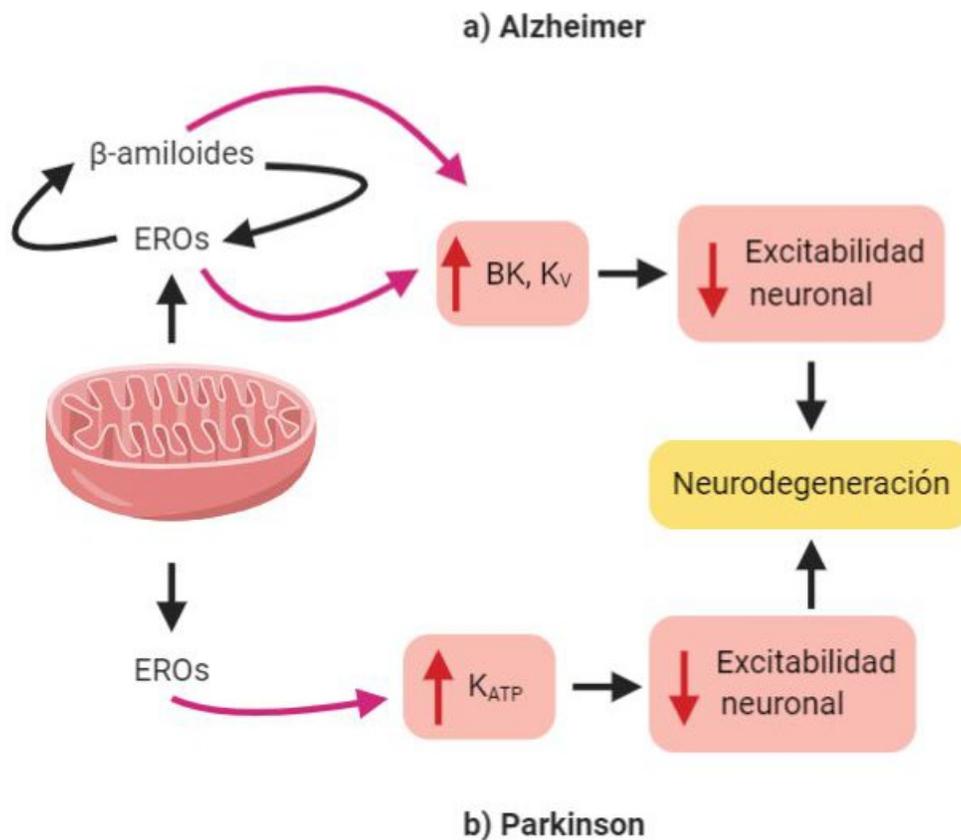


Figura 4. Efecto de las especies reactivas de oxígeno sobre canales de potasio. Al ser proteínas los canales de potasio representan un sustrato para las EROs. Su oxidación conlleva a una inadecuada función de canal, aumentando su actividad y conduciendo a una disminución en la excitabilidad neuronal, lo que finalmente conduce a una neurodegeneración y con ello, a disfunciones cognitivas propias de cada enfermedad.

Se ha propuesto que el óxido nítrico genera una cascada de señalización (NO-cGMP-sGC-cGMP-PKG-EROs-ERK1/2-calmodulina-CAMKII) la cual estimula la actividad del canal. Sin embargo, al degradar el H_2O_2 por catalasa la actividad del canal K_{ATP} disminuye lo que afecta a ERK1/2 ya que se activan por H_2O_2 de manera dosis dependiente (Chai, Zhang et al. 2011). La unión de Ca^{2+} /calmodulina activan CaMKII el cual media el efecto estimulante del H_2O_2 sobre el canal K_{ATP} (Hudmon y Schulman 2002). Al inhibirse CaMKII, el aumento en la actividad del canal K_{ATP} producido por H_2O_2 se ve revertido (**Figura 5**). Bajo el mecanismo propuesto por Zhang, Chai et al. (2014), los compuestos antioxidantes pudieran intervenir en la cascada de señalización actuando sobre el H_2O_2 contribuyendo al funcionamiento adecuado de los canales K_{ATP} .

2.1.2 Alteraciones sobre la Transcripción de Canales Iónicos Durante la Diabetes

En el riñón y cerebro se expresan una gran cantidad de canales iónicos. Evidencia previa han demostrado que la expresión de canales de sodio (Nav1.2 y Nav1.6) en neuronas del hipocampo se ve alterada debido a la hiperglucemia, lo cual reduce el umbral de disparo neuronal y causa que las neuronas, incluidas las células hipotalámicas neurosecretoras magnocelulares, disparen espontáneamente y en ráfaga (Klein y Waxman 2003). Yusaf, Goodman et al. (2001) demostraron que en ratas con diabetes inducida por estreptozotocina, se aumentó la expresión de RNAm de canales de calcio tipo Cav 3 en neuronas de los ganglios de la raíz dorsal (DRG) grandes y medianas y de Cav 3.3, en neuronas pequeñas y medianas. Además de la presencia de canales de sodio y calcio, en la membrana celular podemos encontrar canales de potasio. El potasio constituye el principal catión intracelular y participa en la polaridad de carga eléctrica de las membranas celulares y excitabilidad neuromuscular, es un determinante del volumen celular y mitocondrial e interviene en las respuestas adaptativas a los cambios de tonicidad en los espacios extra e intracelular (Peralta 2009). En humanos se han identificado más de 90 genes que codifican para canales de potasio, y algunos han demostrado estar relacionados con ciertas enfermedades como epilepsia, neuropatía, sordera, desórdenes mentales, entre otras (Wang y Li 2016, Alexander, Striessnig et al. 2017, Zhang, Wan et al. 2018).

regulados por voltaje (K_v), siendo los dos últimos de interés para el presente trabajo.

Los canales K_{ir} (KCNJ) generan corrientes rectificadores rápidas de entrada de potasio. Se les llama de esta manera porque ante potenciales electroquímicos iguales en magnitud, pero opuestos en carga, dejan pasar más corriente hacia el espacio intracelular (Aiello, Walsh et al. 1995). Mientras que los canales de potasio regulados por voltaje o de rectificación tardía (K_v), son conocidos por su papel en el aumento del umbral para la activación del potencial de acción y la estabilización del voltaje de la membrana en reposo en las células excitables (Nirakar Sahoo 2013). En el riñón, los canales de potasio cumplen con diversas funciones además de mantener el potencial de membrana negativo en la célula y el volumen celular (**Figura 2**) (Hebert, Desir et al. 2005). La expresión de K_{ir} 6.2 (KCNJ11) disminuye significativamente en grupos diabéticos que presentan nefropatía en comparación con los que no, asimismo la expresión de K_{ir} 6.1 también se ha visto disminuida en condiciones de hiperglucemia (Sharaf, Kantoush et al. 2018, Zhang, Wan et al. 2018). K_{ir} 6.1 y K_{ir} 6.2 son subunidades del canal K_{ATP} , el cual tiene un papel primordial en la regulación del metabolismo de la glucosa en páncreas; por lo que la regulación negativa de estas subunidades interfiere en la secreción de insulina reduciendo la habilidad de ATP para inhibir la actividad del canal K_{ATP} . En otros tejidos como el riñón, la hiperglucemia inhibe la funcionalidad del canal K_{ATP} , lo que pudiera verse involucrado en el desarrollo de nefropatía diabética y el consecuente aumento de estrés oxidativo (Zhang, Shi et al. 2017) El estrés oxidativo es un factor principal en el inicio y progresión de la nefropatía diabética, ya que puede activar mecanismos patogénicos de la enfermedad, como causar daño directamente y volver perjudiciales otras vías. Por lo que alternativas que mitiguen el estrés oxidativo en el organismo constituye un punto central para múltiples sinergias terapéuticas (Tavafi 2013).

Los astrocitos son las células más abundantes del sistema nervioso central (SNC) en donde además de fungir como células de apoyo para las neuronas, también se encargan de mantener la homeostasis extracelular de sustancias neuroactivas como K^+ , H^+ , GABA y glutamato. Sin embargo, su función se ve comprometida por el estrés oxidativo derivado de altas concentraciones de glucosa. En un estudio realizado en ratas se evaluó el efecto de la hiperglucemia sobre la expresión de K_{ir} 4.1 (KCNJ10) reportándose que bajo esta condición se disminuye su expresión en astrocitos, sin embargo se puede normalizar una vez que la glucemia vuelve a la normalidad (Butt y Kalsi 2006, Rivera-Pagán, Rivera-Aponte et al. 2015). La alteración sobre la función de estas células provee un ambiente neurotóxico el cual puede conducir a una cascada de reacciones que

podieran dar pie a la apoptosis neuronal. Los cambios extracelulares de la concentración de glucosa tienen un gran impacto sobre la funcionalidad y reactividad vascular de estos canales. El efecto inhibitorio de los K_v por glucosa promueve la vasoconstricción y altera el acoplamiento neurovascular, además, su función se ve reducida en el musculo liso vascular de pequeñas arterias coronarias y cerebrales. Sin embargo, los efectos agudos y crónicos del aumento de glucosa extracelular sobre la función de los K_v requieren de estudios adicionales, ya que existen múltiples mecanismos que se pudieran considerar para explicar la reducción de su funcionalidad y actividad vascular, lo que pudiera implicarlos en las complicaciones vasculares de la diabetes (Nystoriak, Nieves-Cintrón et al. 2017).

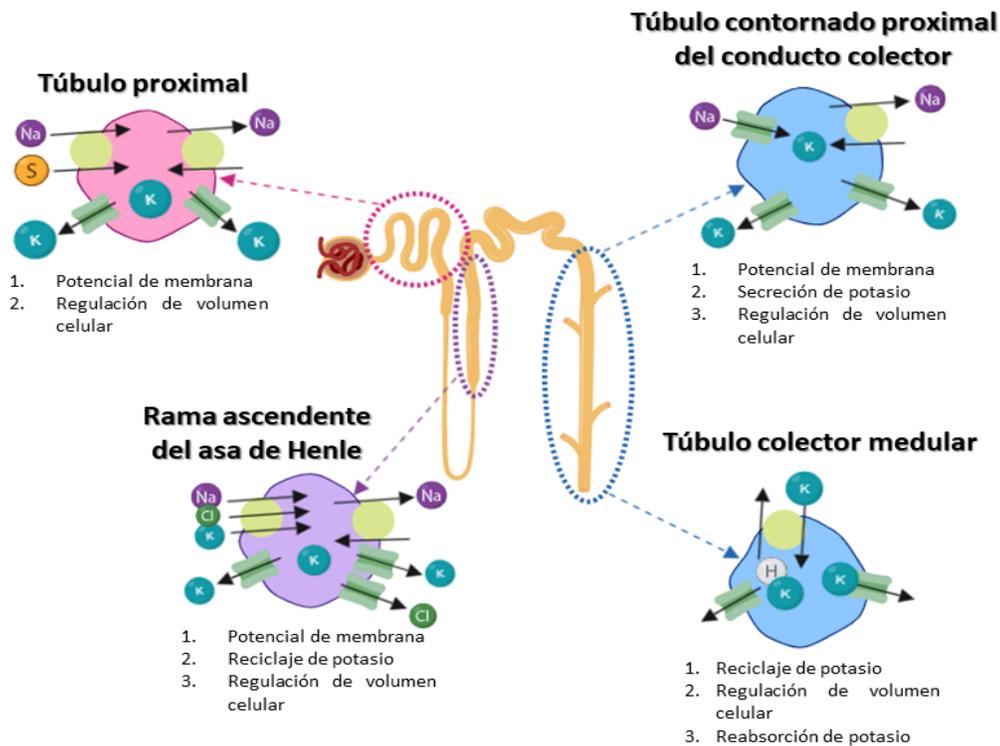


Figura 6. Función de los canales de potasio en diferentes secciones de una nefrona: túbulos proximales, rama ascendente del asa de Henle y túbulo colector medular (Hebert, Desir et al. 2005)

En la cascada de señalización propuesta por Zhang, Chai et al. (2014) (**Figura 5**) se menciona que a través de una cascada de señalización iniciada por el ON, las EROs (H_2O_2) pueden activar CaMPKII lo que estimula la actividad del canal K_{ATP} , sin embargo, existe un efecto directo entre

el H_2O_2 y CaMPKII lo que promueve la endocitosis de los canales reduciendo su expresión superficial (Sierra, Zhu et al. 2013). Este comportamiento se ha observado en canales K_{IR} y en otras células, como las dendríticas.

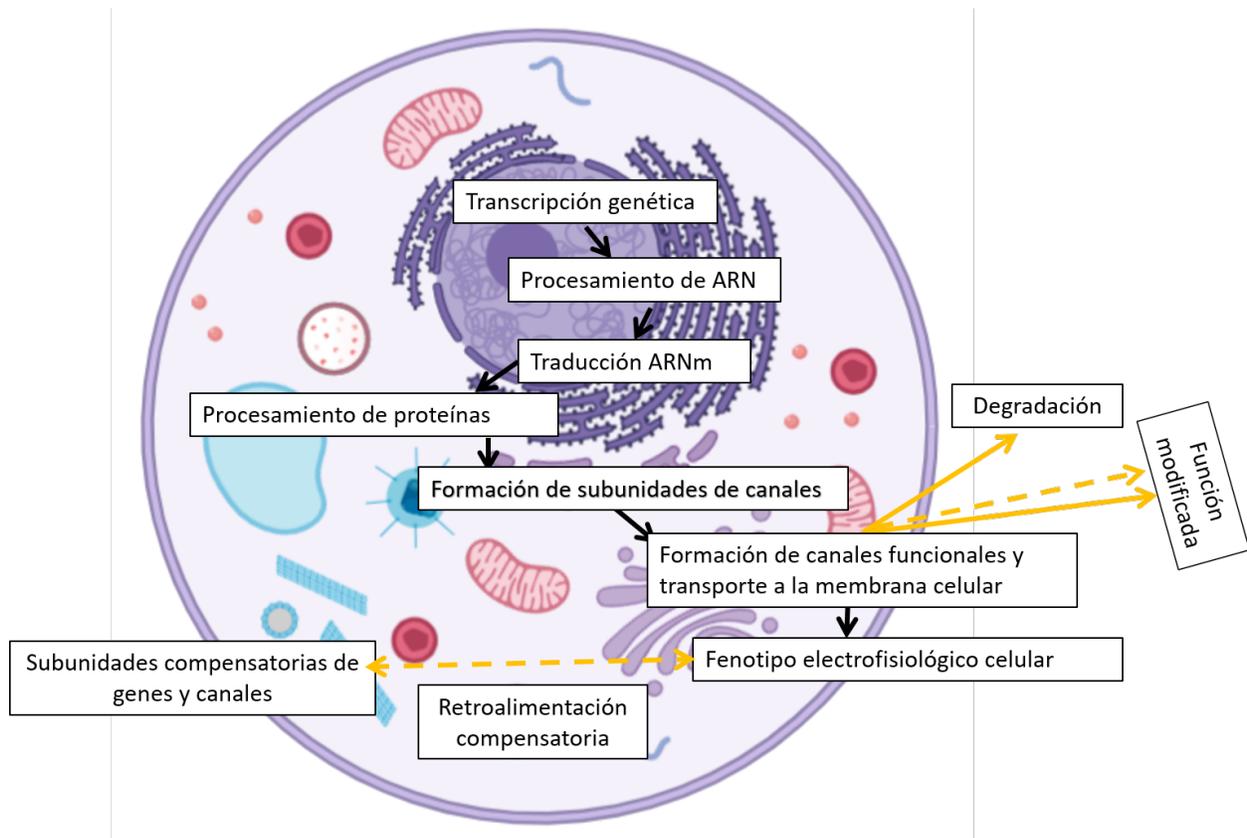


Figura 7. Modelo de regulación de la expresión de canales iónicos. Las líneas negras representan la ruta biosintética del modelo de regulación. En cada una de los niveles, a través de la vía de retroalimentación, se regula la expresión de un solo gen. La vía de regulación compensatoria (Fenotipo electrofisiológico celular → subunidades compensatorias de genes y canales) regula la expresión de genes complementarios o antagonistas. La degradación y modificación funcional son las formas en que moléculas pueden producir modificaciones covalentes o alostericas de la función del canal. Estos cambios pueden ser reversibles, dando como resultado cambios transitorios en el nivel de expresión del canal funcional (Rosati y McKinnon 2004).

Con base al sistema propuesto anteriormente (**Figura 7**) se ha descrito que la expresión de canales se puede ver modificada en cualquiera de los niveles. Si existe un error en los primeros, puede haber cambios en las tasas de biosíntesis en niveles posteriores para mantener el fenotipo final y conservar las funciones y propiedades fisiológicas de una célula en específico. Los cambios, que pueden ser inducidos por condiciones fisiológicas anormales, como la diabetes, activan

mecanismos neurohumorales, sin embargo, pueden verse implicadas respuestas en la reactivación de vías de desarrollo y de remodelación de tejidos (Chen, Chen et al. 2001, Akazawa y Komuro 2003, Pandit, Giles et al. 2003). Asimismo, puede darse un aumento en la generación de proteínas funcionales a partir de un bajo nivel de ARNm a nivel transcripcional, o a nivel postranscripcional pudiera haber un aumento en la síntesis de subunidades, transporte de canales ensamblados a la superficie celular o una disminución en las tasas de degradación. Cualquiera de estos mecanismos puede activarse como vía de retroalimentación, para que el producto final no se vea afectado, manteniendo un nivel constante en la expresión de canales y el fenotipo electrofisiológico adecuado (Rosati y McKinnon 2004). Particularmente en el caso de los canales de potasio, existen mecanismos compensatorios donde la regulación positiva de otros canales, se activa como medida para eliminar el impacto funcional de alguna mutación. Sin embargo, aunque es posible compensar cierto nivel de variabilidad genética, también existen límites, ya que si los mecanismos de compensación se vuelven demasiado efectivos, existe una mayor carga de genes defectuosos lo que puede provocar consecuencias irreversibles a largo plazo (Rosati y McKinnon 2004).

Para perpetuar los efectos que la diabetes y el estrés oxidativo ejercen sobre la funcionalidad de los tejidos y la expresión de genes, existen estudios en donde se ha demostrado como una alimentación con alto contenido de alimentos de origen vegetal, a través de múltiples mecanismos generan diversos cambios fisiológicos y metabólicos que determinan un menor riesgo de desarrollar complicaciones asociadas promoviendo una mayor longevidad y mejor calidad de vida (Rangel-Huerta, Pastor-Villaescusa et al. 2015, Wall-Medrano, Olivas-Aguirre et al. 2015, Olaiya, Soetan et al. 2016, Urquiaga, Echeverría et al. 2017).

2.2 Beneficios de la Dieta Sobre los Efectos de la Diabetes Mellitus y el Estrés Oxidativo

Una dieta alta en alimentos derivados de plantas juega un papel importante en la prevención y tratamiento de la diabetes mellitus (Liu 2013). La dieta mediterránea es un ejemplo de ello, ya que al caracterizarse por un alto consumo de frutas, vegetales, leguminosas, nueces, cereales, aceite de oliva y una disminución en el consumo de carne y embutidos, le confiere un gran contenido de compuestos antioxidantes a los cuales se les atribuye su efecto benéfico a la salud (Schröder 2007).

El consumo de vegetales, vitaminas y carotenoides, se han asociado a la protección del organismo frente al estrés oxidativo, así como a una mejora sobre la homeostasis de la glucosa y la resistencia a la insulina (Sánchez-Moreno, Cano et al. 2006). Los mecanismos involucrados en el control de la glucosa plasmática por efecto de compuestos fenólicos presentes en frutos y vegetales se resumen en la **Figura 6** (Matsui, Ebuchi et al. 2002, Johnston, Sharp et al. 2005, Prabhakar y Doble 2009).

Los frutos y vegetales también contienen compuestos con función antioxidante, esto significa que, a bajas concentraciones comparado con el sustrato oxidable, retarda o previene significativamente su oxidación, contribuyendo a la prevención o disminución de estrés oxidativo en el organismo. Entre los principales compuestos antioxidantes provenientes de la dieta se encuentran la vitamina E, vitamina C, vitamina A, β -carotenos y compuestos fenólicos (Pedraza Chaverri y Cárdenas Rodríguez 2006)

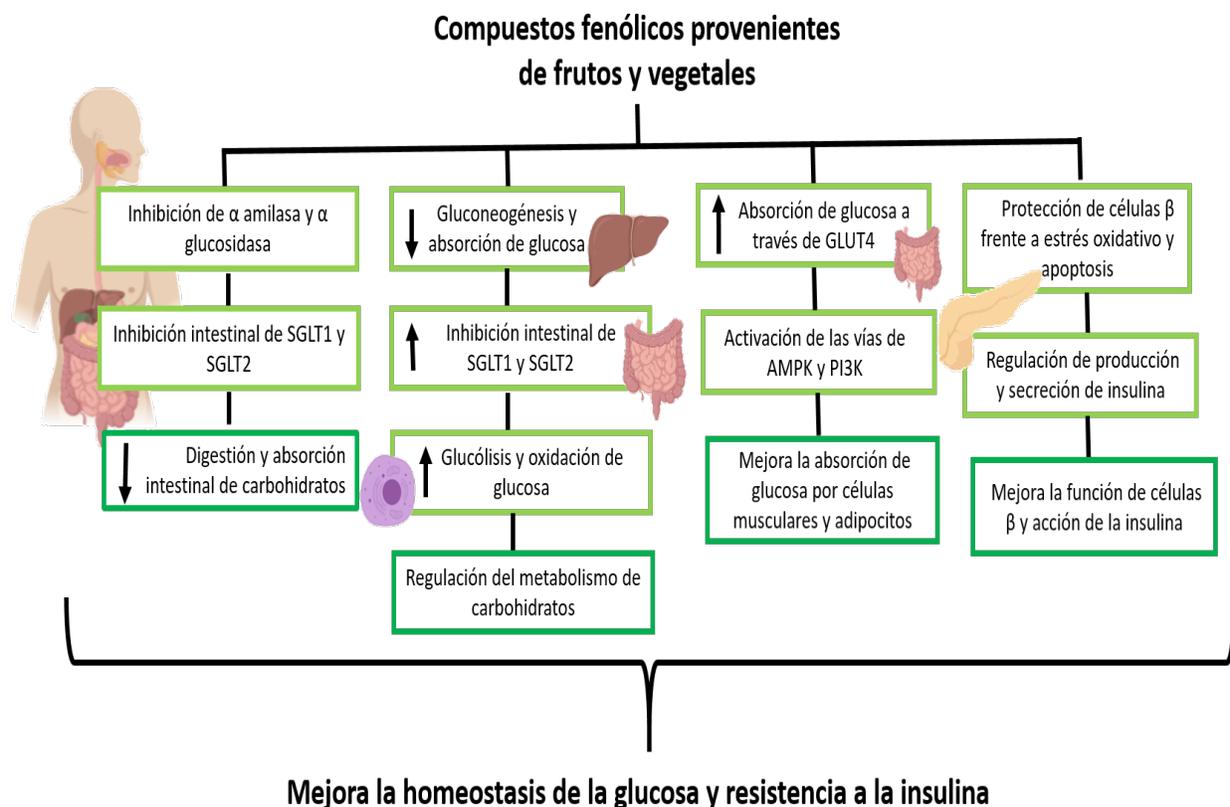


Figura 8. Efecto de los compuestos fenólicos sobre la regulación de la glucosa. Los mecanismos propuestos sugieren que el efecto hipoglucemiante se debe a la disminución en la absorción intestinal de carbohidratos y a la regulación de su metabolismo, así como a la mejora de absorción de glucosa por músculo y adipocitos y su efecto sobre la función de las células β del páncreas y acción de la insulina (Bahadoran, Mirmiran et al. 2013)

En cuanto a canales iónicos, los compuestos fenólicos de distintos frutos actúan sobre ellos ya sea bloqueando el flujo de iones, como la quercetina, catequina y resveratrol o activándolos, como la naringenina sobre la familia de canales $K_{ir}3$. Estos compuestos se presentan en frutos como la uva y la toronja, sin embargo, uno de los frutos de mayor consumo en México es el mango cv. ‘Ataulfo’, al cual se le han atribuido efectos positivos en salud debido a su alto contenido de compuestos bioactivos. (Ma, Zerangue et al. 2002, Wallace, Baczko et al. 2006, Yao, Han et al. 2010)

2.3 Mango cv. ‘Ataulfo’ como Fuente de Compuestos Bioactivos que Mitigan el Efecto de la Diabetes Mellitus

El mango pertenece a la familia *Anarcadiaceae* que comprende más de 70 géneros. De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO: Food and Agriculture Organization), 78 % de los 82 millones de toneladas de frutos tropicales producidas en 2014 son de mango, piña, aguacate y papaya. Las exportaciones de mango a nivel mundial alcanzaron los 27 y 38 millones de toneladas en el 2008 y 2011 respectivamente, siendo el segundo producto tropical de mayor producción y popularidad. En México es uno de los frutos de mayor cultivo, consumo, y exportación. Las variedades más importantes son ‘Ataulfo’, ‘Manila’, ‘Tommy Atkins’, ‘Hayden’ y ‘Kent’, los cuales aportan aproximadamente el 60 % de la producción nacional (Wall-Medrano, Olivas-Aguirre et al. 2015). La demanda de mango mínimamente procesado ha tenido un crecimiento exponencial, y por ello se genera alrededor de un 32 % de residuos agroindustriales provenientes de cáscara y semilla (Wall-Medrano, Olivas-Aguirre et al. 2015). Las variedades, ‘Kent’, ‘Hayden’, ‘Tommy Atkins’ y ‘Ataulfo’ son las más comúnmente utilizadas para jugos, néctares y concentrados. Los subproductos de este procesamiento industrial pudieran ser utilizados como ingredientes bioactivos potenciales debido a la presencia de compuestos que le confieren sus propiedades funcionales y antioxidantes (de Lourdes García-Magaña, García et al. 2013). Recientemente, se ha reportado que la variedad ‘Ataulfo’, tiene un mayor contenido de compuesto fenólicos y, por ende mayor capacidad antioxidante en comparación con las otras variedades (Palafox-Carlos, Gil-Chávez et al. 2012), por lo que su consumo diario se ha relacionado con la prevención de procesos degenerativos (Robles-Sánchez, Islas-Osuna et al.

2009).

La composición de la pulpa varía de acuerdo con factores como variedad, localidad, clima y estado de madurez, lo cual impacta sobre su funcionalidad. Los principales compuestos fenólicos presentes en la pulpa de mango cv. 'Ataulfo', incluyen al ácido clorogénico, gálico y protocatéico. Se estima que contiene alrededor de 1.8 g de fibra, 27.7 mg de vitamina C y 3894 UI de vitamina A por 100 g de pulpa. Además, subproductos del mango como la cáscara y la semilla también son una gran fuente de compuestos bioactivos que pudieran utilizarse como nutraceuticos o ingredientes activos en otra matriz alimentaria. La cáscara es un subproducto que se genera durante el procesamiento del fruto contiene entre un 45 – 78 % de fibra dietaria y su contenido fenólico es de aproximadamente 406.60 mg/100 g en donde se encuentra principalmente ácido gálico, en su mayoría taninos hidrolizables y mangiferina (Ribeiro y Schieber 2010, Wall-Medrano, Olivas-Aguirre et al. 2015). En los últimos años se han reportado varios efectos relacionados directamente con los compuestos fenólicos y actividad antioxidante del mango. Estos incluyen regulación del metabolismo de nutrientes, disminución en mediadores de inflamación y riesgo cardiovascular y protección frente al daño de DNA (Wall-Medrano, Olivas-Aguirre et al. 2015). Además de compuestos fenólicos el mango también contiene carotenoides los cuales actúan contra enfermedades degenerativas y neurológicas debido a su alta actividad antioxidante. En la pulpa de mango se encuentra una gran cantidad de carotenoides incluyendo β -caroteno, violaxantina, criptoxantina, neoxantina, luteoxantina y zeaxantina. Estos compuestos son eficientes neutralizando radicales libres, lo cual explica su efecto protector sobre enfermedades relacionadas con estrés oxidativo (Masibo y He 2008, Ribeiro y Schieber 2010).

A los diversos compuestos presentes en el mango se les han atribuido propiedades antioxidantes e hipoglucemiantes, lo que contribuye a una mejora en el estado de salud del organismo. En una investigación reciente se demostró cómo el consumo de una dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. 'Ataulfo', aumentó de manera significativa la expresión y actividad de enzimas antioxidantes (SOD, SOD1, GST) y a la vez, disminuyó los productos de lipoperoxidación en el cerebro de ratas con diabetes inducida por estreptozotocina. En un modelo similar se evaluó el efecto del consumo de una dieta suplementada con diferentes porcentajes de harina de cáscara de mango, sobre síntomas propios de la diabetes, y se observó que atenúa la poliuria, polidipsia, polifagia, glucosa en orina y contribuye a mantener el peso corporal. La tasa de filtración glomerular y microalbuminuria son signos de daño renal, los cuales se ven disminuidos con una

suplementación de 5 y 10 % de cáscara de mango a una dieta estándar (Gondi, Basha et al. 2015). Los efectos positivos sobre los signos y síntomas de la diabetes mellitus, se debe a la presencia de compuestos en el mango como vitamina C, quercetina, mangiferina, ácido gálico y ácido clorogénico, los cuales a través de mecanismos como la inhibición de enzimas, interacción sobre transportadores SGLT1, SGLT2 y GLUT 4 y la activación de la AMPK, logran disminuir o controlar los niveles de glucosa en sangre. Entre los mecanismos antioxidantes de estos compuestos se encuentra la eliminación de radicales libres, reducen la formación de hidroperóxido y atenúan la producción de EROs, a través de la modulación de enzimas involucradas en su generación (**Cuadro 1**). Sin embargo, los compuestos y sus efectos sobre la salud han sido más ampliamente estudiados como extractos puros.

Cuadro 1. Mecanismos de acción de los principales antioxidantes dietarios.

Antioxidante	Mecanismo	Referencia
Vitamina E	Interrumpe la lipoperoxidación en la fase de propagación mediante su capacidad de donar un protón al radical ROO.	Nimse y Pal (2015)
Vitamina C	Acepta electrones y reacciona directamente con el O ₂ ⁻ y el OH Acción reductora y regenerador de otros antioxidantes endógenos y/o exógenos.	Pedraza Chaverri y Cárdenas Rodríguez (2006)
β - carotenos	Desactivación del oxígeno singulete (¹ O ₂) y neutralización de radicales libres	Monego, da Rosa et al. (2017)
Compuestos fenólicos	Bloqueo de reacciones de peroxidación lipídica mediante la actividad quelante de metales Regeneración de moléculas antioxidantes	Zhang y Tsao (2016)

Al pretratamiento con quercetina se le han atribuido beneficios en tejidos afectados por la diabetes mellitus. Investigaciones previas han demostrado su efecto protector contra la apoptosis inducida por peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en células mesangiales, así como estudios *in vitro* han reportado que inhibe la actividad de la MAPK inducida por angiotensina II y reduce significativamente la

activación de la PKC, ejerciendo así su posible acción renoprotectora (Wilmer, Dixon et al. 2001, Yoshizumi, Tsuchiya et al. 2001, Anjaneyulu y Chopra 2004). Sin embargo, en cultivos de hipocampo disminuye la oxidación proteica, lipoperoxidación y apoptosis, por lo que se propone como un tratamiento contra enfermedades neurodegenerativas (Ossola, Kääriäinen et al. 2009). Por otro lado, la mangiferina ejerce un efecto protector frente al estrés oxidativo en corazón y riñón y sobre la modulación génica relacionada con la respuesta inflamatoria. La quelación de metales es otra de sus propiedades, la cual la convierte en una opción viable como tratamiento para enfermedades como el Parkinson (Masibo y He 2008). En cuanto a la mejora de los niveles de glucosa plasmática actúa promoviendo procesos glucolíticos y glucogénicos, y estimulando tejidos periféricos para la utilización de glucosa por tejidos periféricos (Saxena y Vikram 2004).

Finalmente, se ha evaluado el efecto de compuestos como el ácido clorogénico y la quercetina, sobre la funcionalidad de canales iónicos y su impacto positivo durante condiciones adversas. El ácido clorogénico impide la neurotoxicidad por glutamato regulando la entrada de Ca^{2+} en las neuronas y también promueve la actividad de canales K_v durante condiciones inflamatorias, contribuyendo a disminuir el dolor causado por inflamación (Liu, Lu et al. 2016). Por otro lado, la quercetina inhibe las corrientes generadas por canales de sodio dependientes de voltaje en neuronas de hipocampo, lo que ejerce un efecto neuroprotector en situaciones de isquemia cerebral y demencia (Yao, Han et al. 2010). Debido a la relación que existe entre hiperglucemia y estrés oxidativo, así como a la participación de las EROs sobre el daño a tejidos como el riñón y cerebro y más específicamente a la actividad de canales iónicos presentes en la membrana celular se ha dado paso al interés por conocer el efecto de una dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango sobre la expresión de canales de potasio en riñón e hipocampo, ya que los compuestos presentes en ambas fracciones tienen la capacidad de modular diversos procesos celulares derivados de su interacción con sistemas biológicos (Soobrattee, Neergheen et al. 2005)

3. HIPÓTESIS

La suplementación de una dieta con cáscara y pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) cv. ‘Ataulfo’ a un modelo murino con diabetes inducida, disminuye los niveles de expresión de canales de potasio en riñón e hipocampo.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de una dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. 'Ataulfo', sobre los niveles de expresión de canales de potasio en riñón e hipocampo, en un modelo murino con diabetes inducida.

4.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar el efecto de una dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. 'Ataulfo' sobre la ganancia de peso, consumo de alimento y niveles de glucosa, en un modelo murino con diabetes inducida.
2. Evaluar el efecto de una dieta suplementada con cáscara y pulpa de mango cv. 'Ataulfo', sobre la expresión cualitativa de canales de potasio K_{ir} (1.1, 2.1, 3.3, 4.1, 5.1, 6.2) y K_v (1.1, 3.1, 4.2, 6.3) en riñón e hipocampo, en un modelo murino con diabetes inducida.
3. Evaluar los niveles de expresión de K_{ir} 6.2 en riñón e hipocampo en un modelo murino con diabetes inducida alimentado con una dieta suplementada con cáscara y pulpa de mango cv. 'Ataulfo'.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El proyecto se realizó en el Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales de la Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) unidad Hermosillo, en colaboración con el Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad de Sonora. El bioensayo se llevó a cabo de acuerdo con las políticas éticas para el cuidado y manejo de animales y fue aprobado por el comité de ética de CIAD (Protocolo CE/013/2018).

5.1 Materia Prima Utilizada para la Elaboración de la Dieta

El mango se obtuvo en un centro comercial en la ciudad de Hermosillo, Sonora, tomando en consideración el grado de madurez, tamaño, color y apariencia. Una vez en el Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales, se procedió a su desinfección (300 ppm hipoclorito de sodio) durante 3 min y posteriormente se secaron a temperatura ambiente (23 – 26 °C) durante 15 min. La cáscara fue separada de la pulpa con un cuchillo afilado, y ambas partes se congelaron a -35°C durante al menos 24 h. Las muestras congeladas se liofilizaron durante 96 h y se almacenaron a -30 °C hasta su uso. Las muestras liofilizadas se molieron (< 0.05 mm) en una licuadora comercial (Osterizer Clásica, 450-10, 0451-13).

5.2 Elaboración de las Dietas Experimentales

Se utilizó la dieta LabDiet Rodent 5001 (Circulo ADN) como base para la elaboración de la dieta experimental, la cual consistió en sustituir la sacarosa por pulpa y la celulosa por cáscara de mango cv. ‘Ataulfo’ en un 10 y 5 %, respectivamente. Ambas previamente liofilizadas y trituradas, para obtener una dieta experimental final en forma de harina. Esta sustitución permitió conservar los

porcentajes de macronutrientes adecuados (57 % carbohidratos, 28 % proteína, 14 % lípidos). El almidón, caseína, vitaminas, minerales, colina y celulosa fueron adquiridos con el proveedor Bioserv. El azúcar, grasa animal y grasa vegetal se obtuvieron en un centro comercial local. El **cuadro 2** muestran los ingredientes para elaborar un kg de las dietas experimentales.

Cuadro 2. Composición nutrimental de las dietas experimentales (g/kg)

Ingrediente	CS	CD	TDM	PDM
Almidón	414	414	410	410
Sacarosa	100	100	-	-
Celulosa	50	50	30	30
Ceseína	320	320	315	315
Aceite de maíz	27	27	25	25
Grasa animal	27	27	25	25
Mix de vitaminas	10	10	10	10
Mix de minerales	30	30	28	28
Colina	2	2	2	2
Agua	20	20	5	5
Cáscara de mango	-	-	50	50
Pulpa de mango	-	-	100	100

En las dietas para los grupos TDM y PDM la sacarosa se sustituyó 100 % por pulpa de mango y la celulosa fue sustituida en un 20 % por cáscara de mango. Los macronutrientes fueron ajustados para brindar la misma cantidad de energía en la dieta para los cuatro grupos experimentales.

5.3 Inducción de Diabetes y Administración de las Dietas Experimentales a un Modelo Murino

Veinticuatro ratas macho Wistar de entre 150 – 300 g de peso se dividieron en 4 grupos de 6 ratas cada uno, denominados control sano (CS), control diabético (CD), diabético con tratamiento de mango (TDM) y diabético con pretratamiento de mango (PDM). La inducción de los grupos diabéticos se realizó con una única inyección vía intraperitoneal de estreptozotocina (60 mg/kg).

Tres días después de la inyección se tomó una muestra de sangre de la cola de la rata para evaluar la glucosa plasmática. Al encontrarse niveles de glucosa por encima de 300 mg/dL se consideraron diabéticas.

Cada grupo fue alimentado de la siguiente manera: Control sano (CS): fue alimentado con una dieta estándar, Control diabético (CD): posterior a la inducción continuó alimentándose con la dieta estándar, Diabético con tratamiento de mango (TDM): tras ser inducido a diabetes y confirmar la hiperglucemia, se alimentó con la dieta experimental, Diabético con pretratamiento con mango (PDM): se alimentó con la dieta experimental dos semanas previas a la inducción y tras confirmar la diabetes se continuó alimentado con la dieta experimental durante cuatro semanas más. El bioensayo tuvo una duración de 28 días, durante los cuales se registró el peso de las ratas dos veces por semana utilizando una balanza granataria. El consumo de alimento se evaluó diariamente, por medio de la diferencia entre la cantidad de alimento dado y el sobrante, esto se realizó con una balanza analítica.

Al término del experimento se midió la glucosa plasmática y posteriormente las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital (120 mg/kg) mediante una única inyección vía intraperitoneal; tras confirmar la ausencia de reflejos presionando la punta de la cola y no haber reacción por parte del animal, se practicó la eutanasia por decapitación con guillotina. Inmediatamente se obtuvo el riñón e hipocampo, de los cuales se tomó una muestra que se congeló (-80°C) en un tubo Eppendorf estéril con 150 µL del reactivo TRIzol hasta su análisis.

5.4. Evaluación de la Expresión Génica Mediante RT-PCR y Q-PCR

La extracción de RNA total de riñón e hipocampo se realizó de acuerdo con la metodología descrita por el proveedor Direct-zol RNA MiniPrep (Zymo Research). Los tejidos previamente congelados, se lisaron con succiones repetidas de TRIzol con ayuda de una micropipeta (OHRUS). La solución obtenida se centrifugó (Micromax Fr) a 14,000 \times g durante 60 s, después se transfirió a un tubo Eppendorf estéril al cual se le agregaron 150 µL de etanol y se agitó en un vórtex (Vórtex Gene 2). Posteriormente, se transfirió a una columna Zymo – Spin II C previamente colocada en un tubo colector, donde se centrifugó nuevamente bajo las condiciones descritas anteriormente. El residuo

obtenido en el tubo colector, se descartó y se agregaron 400 μL de Direct-zol RNA PreWash a la columna, la cual se centrifugó nuevamente. Este procedimiento se realizó por duplicado. A la columna se le agregaron 700 μL de RNA Wash Buffer y se centrifugó a 14,000 $\times g$ durante 2 min. La columna se transfirió a un tubo Eppendorf donde el RNA se eluyó con 50 μL de agua libre de nucleasas y se centrifugó bajo las mismas condiciones. Finalmente, el RNA total se cuantificó en un Nanodrop (2000, Thermo Fisher) a 260 nm y se almacenó a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Para la retrotranscripción de cada una de las muestras se preparó, en un tubo Eppendorf estéril de 200 μL una mezcla con 5.5 μL de agua libre de nucleasas, 1 μL de oligonucleótidos aleatorios [500 $\mu\text{g}/\text{ml}$] (Promega) y 2 μL de RNA total (concentración promedio). Esta solución se agitó en un vórtex durante 5 s. En otro tubo estéril se preparó un concentrado, el cual contenía 4 μL de buffer-5x retrotranscriptasa del virus de leucemia murina (MMLV), 2 μL de ditiotreitól [0.1 mM], 1 μL de desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTPs Mix) [10mM] y 0.5 μL RNAsina [40 u/ml] (Promega). Una vez preparadas ambas soluciones, la muestra se incubó a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 3 min en un termociclador C1000 (Bio Rad). Posteriormente, al disminuir la temperatura hasta $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, se agregó el concentrado y se incubó a $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 min y se agregó 1 μL de la enzima RT [500 $\mu\text{g}/\text{ml}$]. La reacción se dejó correr a dicha temperatura durante 2 h. Al término de ese periodo, se incubó a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 25 min más para finalmente enfriarse a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ y almacenarse a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso. El cDNA obtenido se cuantificó en un Nanodrop.

Con el objetivo de identificar la presencia de amplicones, se realizaron PCRs, con el cDNA generado de cada una de las muestras en la RT y utilizando β -actina como control positivo, la cual se amplificó a partir del mismo conjunto de muestras mediante el uso de cebadores específicos (sentido y antisentido) diseñados previamente mediante la herramienta BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) (**Cuadro 3**). También se corrió un control negativo, el cual consistió en una mezcla del concentrado con todos los cebadores utilizados sin cDNA.

En tubos Eppendorf de 200 μL se preparó un concentrado el cual contenía 14.1 μL de agua libre de nucleasas, 2 μL buffer – 5X Green Taq, 1.2 μL MgCl_2 , 0.2 μL dNTPs [10 mM] y 0.1 μL Taq polimerasa [5 U/ μL] (Promega). La solución se centrifugó y homogenizó con succiones repetidas mediante una micropipeta. Posteriormente, se agregó 0.5 μL del cDNA de interés y 0.2 μL de los cebadores específicos (K_v 1.1, K_v 3.1, K_v 4.2, K_v 6.3, K_{ir} 1.1, K_{ir} 2.1, K_{ir} 3.3, K_{ir} 4.1, K_{ir} 5.2 o K_{ir} 6.2). Las mezclas de reacción se colocaron en un termociclador durante 35 ciclos bajo las

siguientes condiciones: 94 °C por 2 min, 94 °C durante 40 s, 60 °C por 1 min y 72 °C por 40 s. Finalmente, las reacciones se incubaron a 72 °C por 15 s.

Los productos de PCR se visualizaron en un gel de agarosa al 2 % preparado de la siguiente manera: se pesaron 300 mg de agarosa en una balanza analítica (AE, AAA 250L) y se colocaron en un vial ambar de 20 mL. Se le añadieron 1.5 µL de solución TBE10x (Tris-Borato- EDTA) y 13.5 µL de agua MQ, para obtener un volumen final de 15 mL. La mezcla se calentó en una placa caliente (Fisher Scientific) a 300 rpm a 300 °C hasta ebullición. A la solución se le agregaron 4.5 µL de SYBR SAFE DNA Gel Stain (0.3 µL/mL) (Invitrogen). Se homogenizó y se vació en un molde, posteriormente se colocó un peine para dar forma a los pozos, y ahí permaneció hasta su gelificación. Una vez gelificado, se retiró el peine y el gel se colocó en la cámara de electroforesis, en la cual se vertió una solución de corrida TBE1X. La presencia del amplicón se determinó comparando los resultados de las reacciones con un marcador de tamaño molecular de 100 pb, la cual se preparó homogenizando 3 µL de buffer de carga (TrackIt Cyan/Orange Loading Buffer, Invitrogen) con 5 µL del marcador [0.1µg/µL] (TrackIt 100 pb DNA Ladder, Invitrogen), los 8 µL finales se colocaron en el primer pocillo, seguido de 8 µL de las PCRs de interés. En los últimos dos pocillos, se colocaron la β -actina y el control negativo

Cuadro 3. Secuencias de oligonucleótidos experimentales.

Gen	Secuencias (5'-3') (Sentido, antisentido)	Producto esperado	ID
K _v 1.1 (KCNA1)	GTAGACCTCTGAACCTTCTGG, AGAGTCTTGAGCTGCGTCTC	326 pb	XI2589.1
K _v 3.1 (KCNC1)	ACAGCCACTTCGACTATGA CTGAGCGCCAATCTCTTG	346 pb	NM_012856.1
K _v 4.2 (KCND2)	CTCTGCCACCATGACTGCTA, CCACTGCATACCTTTCCCCACAA	201 pb	NM_031730.2
K _v 6.3 (KCNG3)	GCATCGTGCGGTTTCATCGTC, CATGTCTCCATAGCCCACTG	431 pb	NM_133426.2
K _{ir} 1.1 (KCNI1)	CAGAAGTTGATGAAACGGACG, GTGCTAGCAGATTTTCGCATG	148 pb	NM_017023.2
K _{ir} 2.1	CAATGCAGACTTTGAAATCG,	326 pb	NM_017296.1

(KCNJ2)	TGAGAACGGAGTTCCAGAGA		
K _{ir} 3.3	AGAGGGGACCTAGGGTATTG,	152 pb	NM_053834.1
(KCNJ9)	AAAATCTTCCCGGAGAGACGG		
K _{ir} 4.1	GTGACAGGCAAACCTGCTTCA,	104 pb	NM_031602.2
(KCNJ10)	GGGCTATCAGAGGCTGTGTC		
K _{ir} 5.1	GCTTCAGCTATTTTGCCCTCAT,	100 pb	NM_001252207.1
(KCNJ16)	ACCGTGCCCTCTACCACATG		
K _{ir} 6.2	ATATCAGTCCAGAGGTTGGTG,	157 pb	NM_031358.3
(KCNJ11)	AGGGATAATGCCCTTTCGG		
β-actina	TCGTGCGTGACATTAAGAG, TGCCACAGGATTCCATAC	198 pb	NM_031144.3

Los resultados cualitativos de expresión de los K_{ir} y K_v se visualizaron bajo el sistema de transiluminación con luz ultravioleta (WiseDoc, Gel Documentation system, 30S) y fueron fotodocumentados.

La cuantificación del producto de amplificación se realizó mediante PCRs tiempo real. La solución que se utilizó contenía 5 µL de SYBR Green master mix (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific), 1 µL de cebadores [1 µM] _{final}, 1 µL cDNA [10 µL/ng] [1 ng/ml] _{final} cDNA por reacción y 3 µL agua libre de nucleasas para obtener un volumen final de 10 µL. Se utilizó un termociclador StepOne para llevar a cabo las reacciones mediante el siguiente protocolo durante 40 ciclos: 95 °C por 15 s seguidos de 60 °C durante 1 min. Finalmente se realizó una curva de fusión utilizando β-actina como gen de referencia con aumentos graduales de 3 °C (65 °C a 90 °C), con el objetivo de identificar fragmentos amplificados de ADN específicos a partir de su temperatura de fusión. El análisis de expresión relativa se realizó siguiendo la metodología de $2^{-(\Delta\Delta C_t)}$ (Livak y Schmittgen, 2001), donde los resultados se reportaron como expresión relativa del gen de interés en base al gen de referencia.

5.5 Diseño Experimental y Análisis de Datos

Para el análisis de los resultados de ganancia de peso y consumo de alimento se utilizó un diseño

de bloques aleatorizado, donde el factor experimental fue la dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. 'Ataulfo' y el factor bloqueado fue el tiempo (semanas). Para los niveles de glucosa y la expresión relativa de K_{ir} 6.2, se utilizó un diseño completamente al azar unifactorial (ANOVA). Al presentarse diferencias significativas se realizó una comparación de medias por la prueba de Duncan y en datos no normales la prueba de Kruskal-Wallis ($p \leq 0.05$). El factor experimental fue la dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. 'Ataulfo' y las variables respuesta fueron: la ganancia de peso, consumo de alimento, niveles de glucosa y la expresión relativa del gen K_{ir} 6.2 en hipocampo y riñón del modelo murino con diabetes inducida.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Ganancia de Peso, Consumo de Alimento y Niveles de Glucosa en el Modelo Murino

La **Figura 7** muestra la ganancia de peso durante el bioensayo de los cuatro grupos experimentales. Los grupos CD y TDM presentaron una menor ganancia de peso en comparación con el CS y PDM. Por otro lado, los grupos CS y PDM no presentaron diferencias significativas entre el inicio y final del bioensayo, aumentando entre 60 y 100 g. En un organismo diabético, la glucosa no se internaliza en las células debido a la falta de insulina o su mala utilización, por lo que el metabolismo se adapta para obtener energía de otros sustratos, como proteínas musculares o ácidos grasos del tejido adiposo, a través del proceso de gluconeogénesis. Esto conlleva a una pérdida de masa muscular y tejido adiposo y consecuentemente una menor ganancia de peso. En un estudio realizado por Gondi y Rao (2015) en donde se alimentó a un grupo de ratas diabéticas con una dieta suplementada con 5 y 10 % de extracto etanólico de cáscara de mango cv. 'Badami', se observó un comportamiento similar en cuanto a la ganancia de peso del control sano (≈ 200 g/16 semanas) y diabético (≈ 30 g/16 semanas).

El consumo de frutas y vegetales se asocia indirectamente con un menor riesgo de padecer diabetes, debido al efecto que tiene su consumo sobre el peso corporal. El consumo de mango se ha asociado con una mejora en la tolerancia a la glucosa y perfil lipídico, así como a la disminución de adiposidad en un modelo murino alimentado con una dieta alta en grasa (Lucas, Li et al. 2011, Boeing, Bechthold et al. 2012, Evans, Meister et al. 2014). La administración crónica vía intraperitoneal de mangiferina (10 – 20 mg/kg) durante 28 días mostro propiedades antidiabéticas, antihiperlipidémicas y antiaterogénicas. Este mismo tratamiento restableció la pérdida de peso corporal en controles diabéticos. Estos resultados concuerdan con lo obtenido, ya que el consumo de mango previo a la inducción de diabetes pudiera estar interviniendo en el control de peso una vez que se presenta la enfermedad (Muruganandan, Srinivasan et al. 2005).

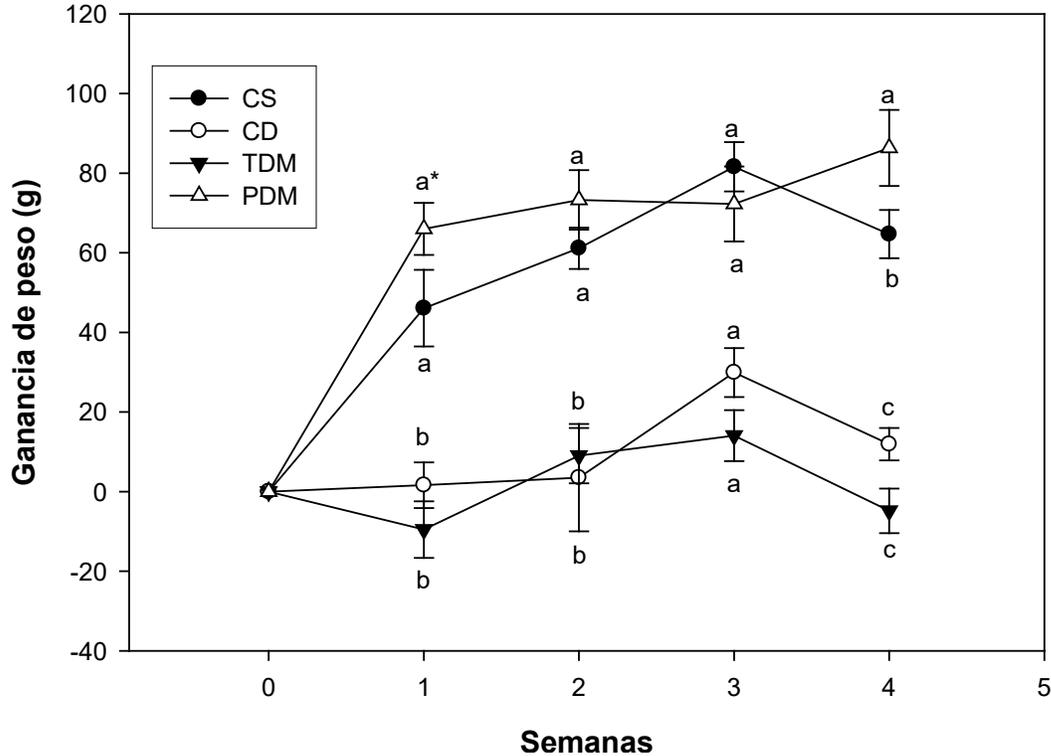


Figura 9. Ganancia de peso semanal en los cuatro grupos experimentales. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético con tratamiento de mango; PDM: diabético con pretratamiento de mango. Los resultados se presentan como la media \pm error estándar (E.E) de dos mediciones del cambio de peso por semana en comparación con el peso inicial. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre grupos ($n=6$) cada semana.

Los resultados para el consumo de alimento diario se muestran en la **Figura 8**. El control sano es el grupo que consumió menos alimento ($29.72 \text{ g} \pm 0.74$). El consumo normal reportado varía entre 15 - 40 g por día dependiendo de la etapa de crecimiento en la que se encuentre el animal (Warner y Breuer Jr 1972). Los grupos de animales con diabetes consumieron más alimento lo cual indica uno de los principales signos de la diabetes mellitus, la polifagia. Este signo se debe a que la ineficiente utilización de la glucosa en el núcleo ventromedial del hipotálamo despierta el apetito en los pacientes, lo cual provoca un aumento en la cantidad y frecuencia de las comidas (Baile, Herrera et al. 1970). Otro de los mecanismos implicados, es que durante una restricción energética existe un aumento en la señalización hipotalámica del neuropéptido Y (NPY). El exceso de este neurotransmisor se asocia con una elevada ingesta de alimento en presencia de diabetes (Sindelar, Mystkowski et al. 2002). La proteína quinasa activada por AMP (AMPK) actúa como un sensor de energía celular y se activa bajo situaciones de restricción energética y participa en la regulación de

la ingesta de alimentos. En ratas con diabetes inducida por estreptozotocina se observó que la fosforilación de esta proteína en neuronas hipotalámicas, se ve aumentada durante la diabetes, lo cual se ve reflejado en el aumento de consumo de alimento (Namkoong, Kim et al. 2005)

Sin embargo, comparando la gráfica de ganancia de peso y consumo de alimento, se muestra un comportamiento no lineal, ya que el CS es uno de los grupos con mayor ganancia de peso y menor consumo de alimento.

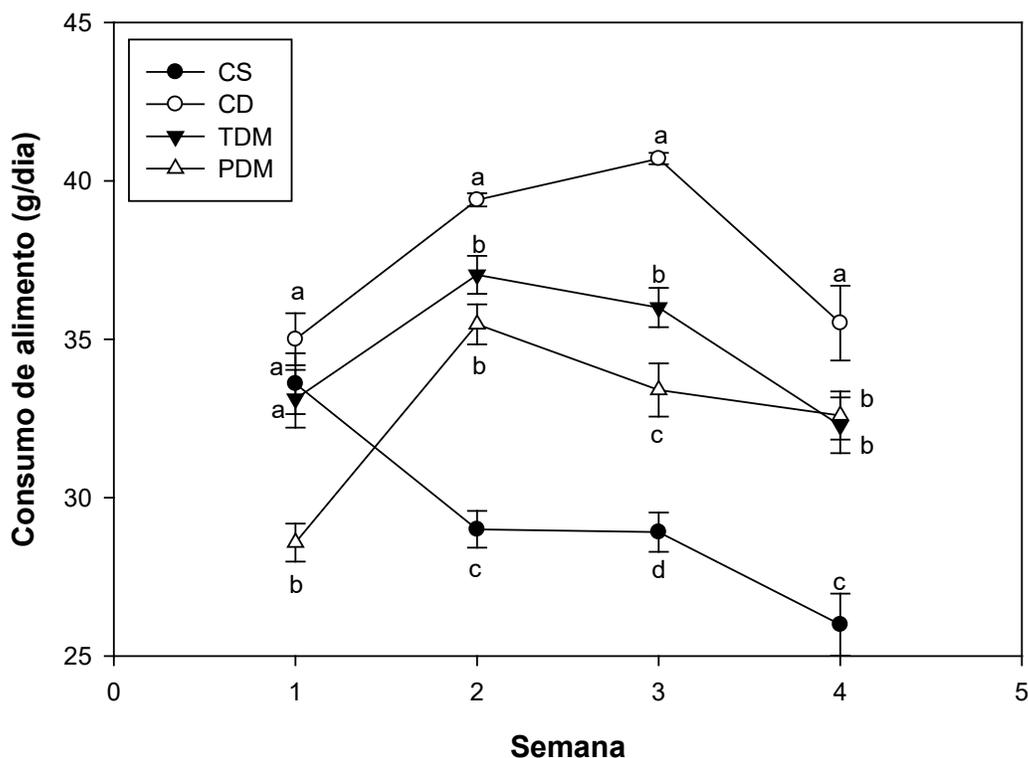


Figura 10. Consumo de alimento diario para los cuatro grupos experimentales. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético con tratamiento de mango; PDM: diabético con pretratamiento de mango. Los resultados se presentan como la media \pm error estándar (E.E) de alimento consumido por semana. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre grupos ($n=6$) cada semana.

La glicemia de los grupos experimentales al final del bioensayo se muestra en la figura 9. El control sano mantuvo los niveles de glucosa entre 78.94 y 89.71 mg/dL después de 4 semanas. Según Johnson-Delaney (1996) el nivel normal de glucosa se encuentra entre 50 y 125 mg/dL. En este contexto, los valores obtenidos se encuentran dentro de lo normal. El grupo control diabético y con tratamiento obtuvieron niveles significativamente más altos en comparación con el grupo sano (>

400 mg/dL). Sin embargo, el grupo con pretratamiento mantuvo niveles de glucosa menores tanto al inicio como al final del bioensayo, no sobrepasando los 400 mg/dL.

A compuestos fenólicos como ácido gálico, protocateico y quercetina se le han atribuido propiedades hipoglucemiantes ya que han demostrado tener actividad inhibidora de glucosidasas así como una disminución en la actividad de α amilasas (Ani y Naidu 2008). Por otra parte, la disminución o mantenimiento de los niveles de glucosa puede deberse a la fibra dietaria proveniente de la cáscara de mango, ya que la fibra retarda el vaciamiento gástrico promoviendo una lenta absorción de glucosa por el intestino delgado (Jenkins y Wolever 1981). La fermentación de ácidos grasos de cadena corta como acetato, butirato y propionato, los cuales se forman en el intestino grueso a partir de la fibra, juegan un papel importante en la disminución de glucosa, ya que aumentan la sensibilidad a insulina y reducen la gluconeogénesis hepática (Fukagawa, Anderson et al. 1990, Roberfroid 1993).

El consumo de una dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. 'Ataulfo' previo a la enfermedad, presentó una mejora en signos propios de la diabetes como la ganancia de peso, el consumo de alimento y los niveles finales de glucosa

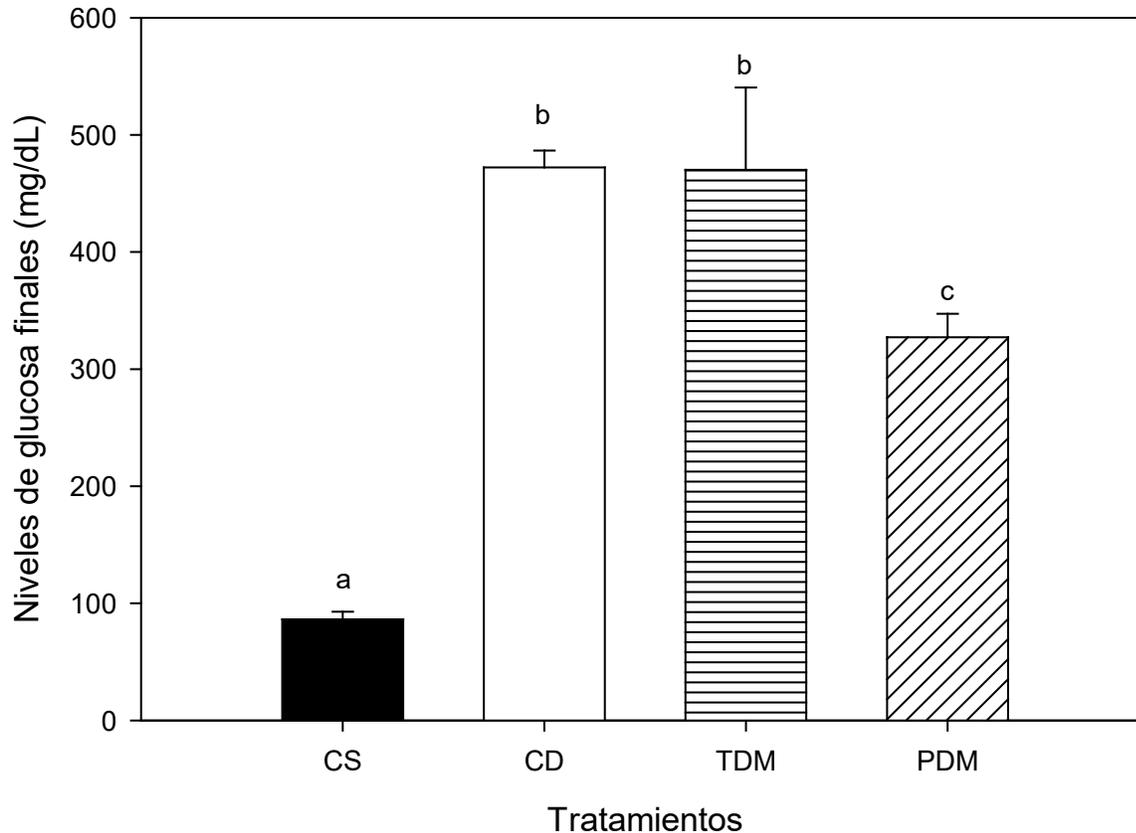


Figura 11. Efecto del consumo de una dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. ‘Ataulfo’ sobre los niveles de glucosa en los grupos experimentales al final del bioensayo. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético con tratamiento de mango; PDM: diabético con pretratamiento de mango. Los resultados se presentan como la media \pm error estándar (E.E) de los niveles de glucosa obtenidos al final de 28 días. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre grupos ($n=5$). La media de glucosa inicial en cada grupo fue CS: $81.33^a \pm 5.33$ mg/dL; CD: $346.2^b \pm 11.86$ mg/dL; TDM: $360.8^b \pm 23.34$ mg/dL; PDM: $309.6^c \pm 25.03$ mg/

6.2 Expresión de Genes KCN en Riñón e Hipocampo en los Grupos Experimentales

Para el análisis cualitativo de la expresión de los genes que codifican para las proteínas K_{ir} y K_v de los canales de potasio, se realizó PCR tiempo final y electroforesis en gel de agarosa (**Figura 9**). Los resultados mostraron que la diabetes por si sola, provocó cambios en la expresión de $K_v 3.1$ y $K_v 4.2$ en hipocampo. Sin embargo, estos cambios se mantuvieron en los grupos suplementados con pulpa y cáscara de mango cv. ‘Ataulfo’, por lo que utilizando esta técnica cualitativa el consumo de la dieta suplementada con mango antes o después de presentarse la enfermedad, no presentó efecto aparente sobre la expresión de dichos genes. Esta técnica presenta algunas

limitaciones como la falta de sensibilidad para detectar cambios en los niveles de expresión génica, por lo que se procedió a valorar los cambios en los niveles de expresión relativa del gen que codifica para la proteína de K_{ir} 6.2, el cual se seleccionó por su participación en la liberación de insulina en células pancreáticas. En la **Figura 10** se observa un efecto significativo ($p \leq 0.05$) de la dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. ‘Ataulfo’ sobre la expresión del gen K_{ir} 6.2 en el riñón, sin ser estadísticamente significativos entre ambos grupos (TDM y PDM). Sin embargo, no se presentaron diferencias significativas entre el CS y CD ($p \geq 0.05$). Por otro lado, en el hipocampo el nivel de expresión fue mayor en el grupo TDM mientras que el grupo PDM presentó los niveles más bajos ($p \leq 0.05$). No se encontraron diferencias significativas entre el CS y CD, por lo que una dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. ‘Ataulfo’ tiene un efecto sobre la expresión del gen que codifica para la proteína K_{ir} 6.2 en ambos tejidos.

Dado que la glucosa juega un papel importante en las funciones cerebrales, de manera normal los canales K_{ATP} están presentes en diversas secciones del cerebro como hipocampo, neocorteza e hipotálamo (Dunn-Meynell, Rawson et al. 1998, Gispen y Biessels 2000). En neuronas hipotalámicas basales hay una disminución significativa en la expresión de las subunidades K_{ir} 6.2 durante un estado de hiperglucemia (Acosta-Martínez y Levine 2007). La reducción en la expresión de estos canales en el cerebro pudiera afectar la capacidad de la señalización de la insulina para controlar la homeostasis de la glucosa en la periferia. En otros tejidos, como el páncreas también se ha observado una reducción en la expresión, lo que conlleva una disminución en la actividad del canal (Moritz, Leech et al. 2001, Acosta-Martínez y Levine 2007).

El aumento en la expresión de K_{ir} 6.2 en los grupos tratados con la dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. ‘Ataulfo’ puede deberse al efecto negativo de la glucosa sobre la actividad de los canales K_{ATP} , dando como consecuencia un aumento en la expresión como mecanismo compensatorio. No existen muchos estudios sobre la relación entre compuestos fenólicos presentes en mango cv. ‘Ataulfo’ y la expresión de canales de potasio, sin embargo, se ha demostrado cómo la dieta y/o sus componentes pueden alterar los niveles de mRNA o proteína de canales iónicos.

Frindt y Palmer (2010) realizaron un estudio donde adicionaron diferentes concentraciones de potasio a una dieta basal de ratas, para ver si había algún cambio en la expresión de canales iónicos de sodio y potasio en diferentes segmentos del riñón. Los resultados que obtuvieron no demostraron cambios significativos en el ARNm de K_{ir} 1.1 en el túbulo colector cortical en respuesta a las concentraciones de potasio, sin embargo, se observó un cambio a nivel proteína proporcional a las

cantidades de potasio en la dieta. Estos resultados pueden deberse a una mayor eficiencia de síntesis de proteína por un pool de ARNm o a una disminución en la tasa de degradación de proteínas. Es importante mencionar que el mango cv. 'Ataulfo' aporta aproximadamente 156 mg de potasio/100 g (Rodríguez, Ordaz et al.). El cambio a nivel proteína observado en el estudio antes mencionado, nos demuestra que la concentración de potasio en la dieta puede provocar cambios a nivel de expresión. La concentración control de potasio utilizada en el estudio de Frindt y Palmer (2010) fue de 5.2 g/kg, la cual se asemeja a la utilizada en nuestra dieta experimental (3.05 g/kg) y en donde se mostró un aumento en la expresión a nivel proteína en comparación con la dieta baja en potasio (0.52 g/kg). Sin embargo, en otras investigaciones realizadas en riñón se han demostrado un aumento en la densidad de canales de baja conductividad, el doble de parches en la membrana apical y un aumento de hasta tres veces más en el número de canales conductores después del consumo de una dieta alta en potasio durante 10 días o más. Se hipotétiza que estos efectos pudieran ser resultado de la activación del gen que codifica para los canales de baja conductividad ($K_{ir} 1.1$), resultando en mayores niveles de ARNm y proteína (Wang, Schwab et al. 1990, Palmer, Antonian et al. 1994, Frindt, Zhou et al. 1998).

Por otra parte, la interacción de compuestos presentes en la pulpa y cáscara de mango con factores de transcripción pudiera estar interviniendo en el aumento observado en nuestra investigación. Las proteínas FOX (FOXO1, FOXO3, FOXF2), modulan la expresión de subunidades de canales K_{ATP} , así como de genes involucrados en la glucólisis y la β -oxidación (Philip-Couderc, Tavares et al. 2008). El peróxido de hidrógeno generado por el estrés oxidativo provocado por hiperglucemia puede inducir la fosforilación de FOXO1 mediante la PI3K/AKT y reducir así su expresión en riñón de rata diabética (Min, Lim et al. 2010). Kato, Yuan et al. (2006) reportaron este mismo efecto en tejido cortical de ratas inducidas a diabetes con estreptozotocina. Sin embargo, en otro estudio se demostró que el resveratrol puede regular la expresión de genes modulados por proteínas FOX en riñón diabético mediante la desacetilación por SIRT1 dependiente de NAD^+ , entre los cuales pudieran verse afectado el $K_{ir} 6.2$. (Wu, Zhang et al. 2012). El resveratrol es un compuesto natural de la familia de los fenoles, aunque no se encuentra presente en mango, su estructura contiene anillos fenólicos los cuales están presentes en otros compuestos del mango, como el ácido gálico. Además, el contenido total de compuestos fenólicos en pulpa y cáscara de mango es de aproximadamente 4334 mg/100 g (Sogi, Siddiq et al. 2015).

La epigallocatequina (EGCG) es un polifenol presente en el té verde. En cultivos de neuronas de

hipocampo de ratas se ha evaluado el efecto EGCG sobre receptores AMPA. Un impulso eléctrico en la neurona produce una entrada de calcio seguido de una liberación de glutamato el cual se fija en los receptores AMPA los cuales funcionan como canales, abriéndose y permitiendo el flujo de sodio o calcio. En este mecanismo, el calcio actúa como segundo mensajero para regular la liberación de neurotransmisores, plasticidad sináptica y expresión de genes, sin embargo, un exceso en la activación de receptores AMPA puede provocar excitotoxicidad (Mattson, Lovell et al. 1995, Berridge, Lipp et al. 2000, Lu y Mattson 2001). Esta excitotoxicidad puede deberse a altas concentraciones de calcio intracelular debido a la activación de canales de calcio dependientes de voltaje o al aumento de EROs (Gruol, Netzeband et al. 1996). En un estudio realizado por Bae, Mun et al. (2002) se demostró que la EGCG actúa directamente contra los receptores AMPA disminuyendo la concentración de calcio de manera dosis dependiente sugiriendo su efecto protector hacia las células neuronales. Cabe destacar que los receptores AMPA actúan sobre corrientes de potasio generadas por canales K_{ir} en hipocampo, por lo que la EGCG pudiera ejercer algún efecto sobre los canales de potasio. Esta evidencia nos sugiere que otra de las vías que pudieran estar implicadas en el aumento de expresión de K_{ir} 6.2 en hipocampo va en relación con la activación o expresión de receptores.

Se han investigado mecanismos por los cuales los canales K_{ATP} se activan o inactivan dependiendo del ambiente celular, enfocándose principalmente en los efectos que pudieran tener las variaciones en el metabolismo de la glucosa. Dada la generación de radicales libres producidos durante el estrés oxidativo la duración del potencial de acción de los canales K_{ATP} presentes en miocitos, se ha visto disminuida a través de su apertura. Mientras que en vasculatura cerebral, el efecto de los radicales libres sobre los canales es que retardan su apertura al verse expuestos a agentes reductivos como el O_2^- (Liu y Gutterman 2002). Las EROs pueden actuar directamente sobre los canales de potasio dependientes de voltaje en el cerebro, trayendo como consecuencia una alteración en la excitabilidad neuronal, mientras que la susceptibilidad que sufren los canales BK (canales de K^+ dependientes de Ca^{+2} de gran conductancia) a la oxidación de metioninas y cisteínas, conlleva un aumento o disminución en la actividad del canal, lo que da como resultado una disminución en la frecuencia de activación de neuronas del hipocampo y consecuentemente alterando algunas funciones cognitivas (Gong, Gao et al. 2000, Tang, Garcia et al. 2004, Santarelli, Wassef et al. 2006, Zhang, Xu et al. 2006). Los canales K_{ATP} , específicamente la subunidad K_{ir} 6.2 se ve implicada en la progresión o desarrollo de Parkinson ya que estos canales responden a receptores

AMPA, lo que ocasiona la apertura del canal e hiperpolarizan la sinapsis, inhibiendo la liberación de dopamina (Avshalumov, Chen et al. 2003, Avshalumov y Rice 2003). Estos receptores pudieran estar ejerciendo un papel clave en nuestro estudio ya que la administración de estreptozotocina se asocia con respuestas fisiológicas provocadas por una disminución en la afinidad de estos receptores representando un paso crítico en la regulación sináptica glutamatérgica (Joël, Milot et al. 1997). En el estudio realizado por Chabot, Massicotte et al. (1997) se concluyó que la regulación inapropiada de estos receptores por procesos dependientes de calcio en ratas tratadas con estreptozotocina pudiera ser responsable de la pérdida del potencial a largo plazo observado en animales diabéticos.

Los astrocitos presentes en el hipocampo expresan tanto canales de potasio (K_{ir}) como receptores AMPA (Kressin, Kuprijanova et al. 1995), los cuales al ser activados bloquean corrientes generadas por K_{irs} de manera dosis dependiente. Schröder, Seifert et al. (2002) demostraron que una de las causas de bloqueo de corrientes generadas por canales K_{ir} en astrocitos de hipocampo se debe al efecto de estos receptores sobre la apertura del canal. Los receptores AMPA son permeables a Ca^{2+} , sin embargo, contrario a lo que pasa en células de Müller y ventriculares, la inhibición de estas corrientes depende del flujo de Na (Matsuda y Cruz 1993, Kressin, Kuprijanova et al. 1995, Puro, Yuan et al. 1996) Asimismo, en condiciones *in vivo* factores como el pH, el cual puede verse modificado por la formación de canales heterómeros, pudiera contribuir a la inhibición de corrientes K_{ir} a través de la activación de los receptores antes mencionados (Xu, Cui et al. 2000).

En el riñón, los canales K_{ATP} se encuentran en el sistema tubular renal, asa gruesa ascendente de Henle y el conducto colector cortical. Bajo situaciones fisiológicas normales, estos canales tienen una alta probabilidad de abrirse ejerciendo un papel primordial en la reabsorción de electrolitos, solutos y sobre el mantenimiento de potasio. Una de las consecuencias que se presenta es que su actividad esta acoplada a la actividad de la bomba sodio-potasio. Sin embargo, en situaciones en donde la razón ATP/ADP es menor, hay una mayor probabilidad de apertura del canal independientemente de la actividad de la bomba lo que es perjudicial en el túbulo proximal, donde se reabsorbe del 60 al 70 % del filtrado glomerular (Quast 1996).

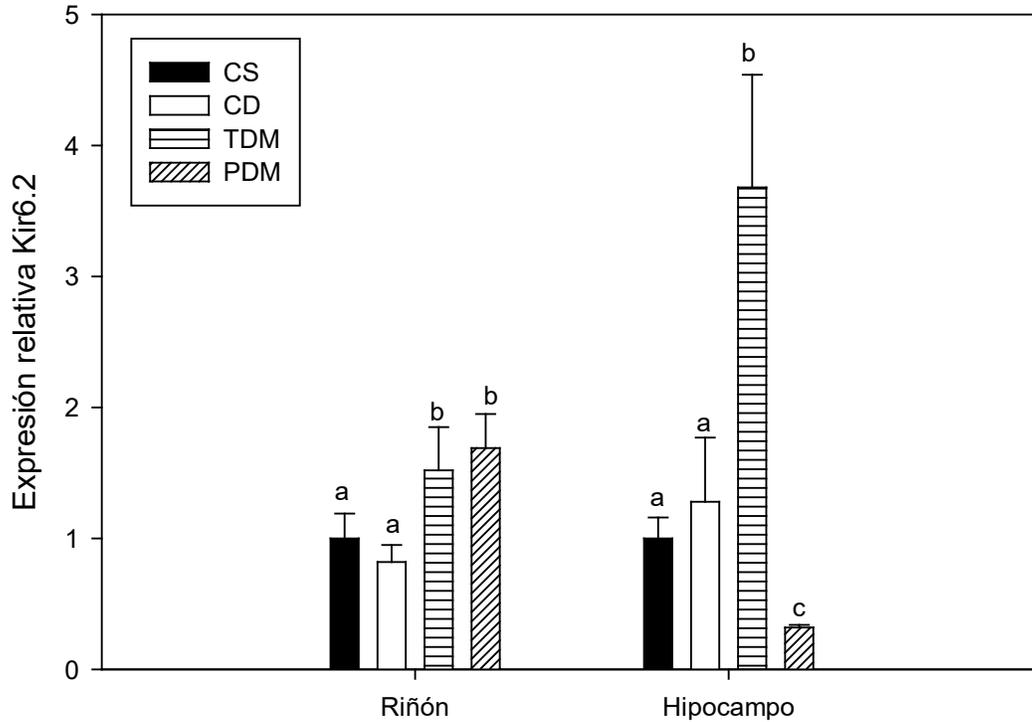


Figura 12. Niveles de expresión relativa de $K_{ir} 6.2$ en riñón e hipocampo. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético con tratamiento de mango; PDM: diabético con pretratamiento de mango. Los datos fueron normalizados con B-actina como gen de referencia endógeno y calibrados con el grupo control sano (CS). Los resultados se representan como la media \pm error estándar (E.E) de una medición realizada por triplicado de 6 animales por grupo. La comparación entre grupos se realizó por la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos. Literales diferentes indican diferencias significativas entre grupos experimentales para cada tejido ($p \leq 0.05$).

Cuadro 4. Expresión cualitativa de canales de potasio K_{ir} y K_v en riñón e hipocampo en los diferentes grupos experimentales.

	Riñón				Hipocampo			
	CS	CD	TDM	PDM	CS	CD	TDM	PDM
K_{IR} 1.1								
K_{IR} 2.1	-	-	-	-	-	-	-	-
K_{IR} 3.3								
K_{IR} 4.1								
K_{IR} 5.1					-	-	-	-
K_{IR} 6.2								
β Actina								
K_v 1.1					-	-	-	-
K_v 3.1						-	-	-
K_v 4.2						-	-	-
K_v 6.3					-	-	-	-
β Actina								

Los resultados muestran la presencia de amplicones en riñón e hipocampo en los grupos experimentales. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético con tratamiento de mango; PDM: diabético con pretratamiento de mango (n=3). * Indican que hubo diferencias en la expresión cualitativa de canales KCN entre grupos experimentales en hipocampo

De manera visual, existe un efecto de la diabetes sobre los canales K_v 3.1 y K_v 4.2 en hipocampo. Específicamente el K_v 4.2 juega un papel importante en la plasticidad sináptica del hipocampo, sección del cerebro responsable del aprendizaje y la memoria. Alteraciones en la función o actividad de este canal afectan las subunidades del receptor NMDA (N-metil-D-aspartato) provocando una alteración sobre las funciones del hipocampo (Jung, Kim et al. 2008)

Yan, Zhang et al. (2019) reportaron que en ratones con diabetes inducida con estreptozotocina se observó una mayor expresión proteica de K_v 4.2 lo cual se asocia con disfunciones cognitivas, sin embargo la inhibición de la actividad del canal con bloqueadores específicos través de la vía P13K/AKT disminuye los efectos negativos generados en el cerebro. Aunque en nuestro estudio se vio un comportamiento diferente en cuanto a la expresión de K_v 4.2 en hipocampo, es importante mencionar que existen diferencias entre estudios en cuanto al modelo utilizado y las técnicas para evaluar la expresión, sin embargo los resultados en ambos estudios sugieren que hay mecanismos transcripcionales, postrcripcionales, postraduccionales y epigenéticos pueden contribuir a la expresión de canales de potasio por lo que estos genes son inducibles y su función y/o expresión puede verse comprometida por factores como la dieta o alteraciones metabólicas (Yang y Nerbonne 2016).

La expresión proteica del canal K_v 4.2 ha mostrado una disminución significativa en ventrículos de ratones con sobreexpresión de receptores PPAR α . (Xu y Rozanski 1998, Marionneau, Aimond et al. 2008). Los receptores activados por proliferados de peroxisomas (PPAR α), son factores de transcripción que juegan un papel importante en la regulación de genes involucrados en el metabolismo de los ácidos grasos miocárdicos y el metabolismo energético. Su expresión y actividad se ve aumentada durante la diabetes y pudieran estar directamente relacionados con cambios en la excitabilidad de la membrana miocárdica. Estos factores de transcripción se expresan en los núcleos de neuronas del hipocampo, en donde han demostrado ser una parte integral en la formación de memoria, incluyendo el aprendizaje espacial y social (Abel y Kandel, 1998; Yin et al., 1995). La hiperglucemia disminuye la expresión de los receptores PPAR γ en hipocampo, lo cual promueve el deterioro cognitivo dando pie a enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer. A pesar de que estos receptores están relacionados con la despolarización de la membrana en miocardio, se desconoce si existe una relación entre ellos y los cambios de expresión de canales K_v en hipocampo.

Por otro lado, la sub expresión de canales K_v como el 2.1, 4.2 y 4.3 en células cardiacas se ha visto

relacionada con la deficiencia de insulina, sin embargo, los mecanismos aún no han sido elucidados. En el miocardio se han reportado mecanismos celulares y moleculares inducidos por la diabetes que provocan una disminución en las corrientes repolarizantes de K_{vs} y a su vez, se han realizado estudios donde tratamientos con insulina revierten este efecto (Xu, Patel et al. 2002). Se ha propuesto que la respuesta de corrientes transitorias de potasio a insulina se ve alterada por inhibidores de síntesis proteica y por el tráfico de proteínas a través del citoesqueleto. Estos datos concuerdan con otros estudios donde las disminuciones de corrientes transitorias de potasio en modelos no diabéticos con insuficiencia cardiaca se ven disminuidas, apoyando la hipótesis de que los canales iónicos están regulados por alteraciones en la transcripción y expresión superficial de su proteína. Particularmente, en el caso de la diabetes mellitus se propone que estos procesos celulares en el corazón están regulados por cascadas de señalización de insulina (Shimoni, Ewart et al. 1999, Xu, Patel et al. 2002)

El K_v 3.2 tiene una alta expresión en interneuronas corticales, interneuronas de hipocampo, neuronas corticotálamicas y neuronas auditivas del tronco encefálico. Su expresión se ve modificada por factores como la edad y condiciones del animal (Brown, El-Hassar et al. 2016). Anteriormente se han descrito interacciones entre polifenoles y canales iónicos. La curcumina es un polifenol que tiene la capacidad de inhibir corrientes de potasio I_{Kvs} en linfocitos (IC₅₀, 11.9 μ M), a esta propiedad se le ha atribuido su efecto anti inflamatorio (Shin, Seo et al. 2011). El resveratrol, compuesto presente en uvas, ha demostrado tener un efecto inhibitorio sobre canales de sodio regulados por voltaje, dando como resultado la propiedad cardioprotectora de estos compuestos. (Wallace, Baczko et al. 2006). Los mecanismos epigenéticos que pudieran estar implicados se relacionan con la activación de genes supresores de tumores, genes antioxidantes, de reparación de DNA, entre otros (Pan, Lai et al. 2013). Debido a que polifenoles como la curcumina y el resveratrol tienen un efecto sobre la actividad de canales de potasio y sodio, respectivamente, es posible sugerir que los compuestos presentes en la pulpa y cáscara de mango cv. 'Ataulfo' pudieran estar ejerciendo algún efecto sobre los canales K_v 3.1 y K_v 4.2 en hipocampo.

7 CONCLUSIONES

El consumo de una dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. 'Ataulfo' previo a la enfermedad, presentó una mejora en signos propios de la diabetes como la ganancia de peso, el consumo de alimento y los niveles finales de glucosa.

La expresión cualitativa de genes KCN mostró que K_v 3.1 y K_v 4.2 se dejaron de visualizar en el hipocampo de los grupos con diabetes inducida (CD, TDM, PDM).

La dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. 'Ataulfo' tuvo un efecto sobre la expresión relativa de K_{ir} 6.2 dependiendo del tejido y la administración de la dieta, en el riñón se observó un aumento en la expresión en ambos tratamientos (TDM, PDM), mientras que en hipocampo se presentó un aumento y disminución en la expresión, en los grupos TDM y PDM, respectivamente.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se concluye que el consumo de mango cv. 'Ataulfo' y sus subproductos, pueden tener un impacto positivo en la prevención y manejo de la diabetes mellitus; así como disminuir el efecto de la hiperglucemia y el estrés oxidativo derivado sobre la expresión y posible funcionalidad de canales de potasio presentes en células renales y neuronales.

8 RECOMENDACIONES

Se recomienda ampliar el bioensayo agregando un grupo tratado con sulfonilureas, ya que estos fármacos se unen a canales K_{ATP} presentes en las células β – pancreáticas. Esto con la finalidad de comparar su efecto con el de una dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. ‘Ataulfo’.

De la misma forma, se pudieran agregar otros grupos combinando ambos tratamientos (Hipoglucemiantes + dieta) o evaluando por separado el efecto de la suplementación de pulpa y cáscara de mango.

Se sugiere evaluar el efecto de la hiperglucemia y del extracto de pulpa y cáscara y/o compuestos bioactivos presentes en mango cv. ‘Ataulfo’, sobre la expresión génica o a través de receptores o factores de transcripción implicados en su regulación, así como de su funcionalidad, utilizando como modelo cultivos celulares renales y neuronales.

9. REFERENCIAS

- Acosta-Martínez, M. y J. E. Levine (2007). "Regulation of KATP channel subunit gene expression by hyperglycemia in the mediobasal hypothalamus of female rats." American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism **292**(6): E1801-E1807.
- Aiello, E. A., et al. (1995). "Phosphorylation by protein kinase A enhances delayed rectifier K⁺ current in rabbit vascular smooth muscle cells." American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology **268**(2): H926-H934.
- Akazawa, H. y I. Komuro (2003). "Roles of cardiac transcription factors in cardiac hypertrophy." Circulation research **92**(10): 1079-1088.
- Alexander, S. P., et al. (2017). "The Concise Guide to PHARMACOLOGY 2017/18: Voltage-gated ion channels." British journal of pharmacology **174**: S160-S194.
- Ani, V. y K. A. Naidu (2008). "Antihyperglycemic activity of polyphenolic components of black/bitter cumin *Centratherum anthelminticum* (L.) Kuntze seeds." European Food Research and Technology **226**(4): 897-903.
- Anjaneyulu, M. y K. Chopra (2004). "Quercetin, an anti-oxidant bioflavonoid, attenuates diabetic nephropathy in rats." Clinical and Experimental pharmacology and physiology **31**(4): 244-248.
- Avshalumov, M. V., et al. (2003). "Glutamate-dependent inhibition of dopamine release in striatum is mediated by a new diffusible messenger, H₂O₂." Journal of Neuroscience **23**(7): 2744-2750.
- Avshalumov, M. V. y M. E. Rice (2003). "Activation of ATP-sensitive K⁺ (KATP) channels by H₂O₂ underlies glutamate-dependent inhibition of striatal dopamine release." Proceedings of the National Academy of Sciences **100**(20): 11729-11734.
- Ayub, T., et al. (2011). "Reduced nitrate level in individuals with hypertension and diabetes." Journal of cardiovascular disease research **2**(3): 172-176.
- Bae, J. H., et al. (2002). "EGCG attenuates AMPA-induced intracellular calcium increase in hippocampal neurons." Biochemical and biophysical research communications **290**(5): 1506-1512.
- Bahadoran, Z., et al. (2013). "Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review." Journal of diabetes & metabolic disorders **12**(1): 43.
- Baile, C. A., et al. (1970). "Ventromedial hypothalamus and hyperphagia in hyperglycemic obese mice." American Journal of Physiology-Legacy Content **218**(3): 857-863.
- Bello-Chavolla, O. Y., et al. (2017). "Epidemiology of diabetes mellitus in Mexico." Nutrition reviews **75**(suppl_1): 4-12.
- Berridge, M. J., et al. (2000). "The versatility and universality of calcium signalling." Nature reviews Molecular cell biology **1**(1): 11.
- Boeing, H., et al. (2012). "Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic

- diseases." European journal of nutrition **51**(6): 637-663.
- Brown, M. R., et al. (2016). "Physiological modulators of Kv3. 1 channels adjust firing patterns of auditory brain stem neurons." Journal of neurophysiology **116**(1): 106-121.
- Butt, A. M. y A. Kalsi (2006). "Inwardly rectifying potassium channels (Kir) in central nervous system glia: a special role for Kir4. 1 in glial functions." Journal of cellular and molecular medicine **10**(1): 33-44.
- Ceriello, A. y E. Motz (2004). "Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited." Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology **24**(5): 816-823.
- Chabot, C., et al. (1997). "Impaired modulation of AMPA receptors by calcium-dependent processes in streptozotocin-induced diabetic rats." Brain research **768**(1-2): 249-256.
- Chai, Y., et al. (2011). "Activation of cGMP-dependent protein kinase stimulates cardiac ATP-sensitive potassium channels via a ROS/calmodulin/CaMKII signaling cascade." PloS one **6**(3): e18191.
- Chen, P.-S., et al. (2001). "Sympathetic nerve sprouting, electrical remodeling and the mechanisms of sudden cardiac death." Cardiovascular research **50**(2): 409-416.
- Chung, S. S., et al. (2003). "Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress." Journal of the American Society of Nephrology **14**(suppl 3): S233-S236.
- Cruz-Castellanos, M., et al. (2017). "Aspectos evolutivos de la alimentación básica de la población mexicana y su efecto en la obesidad." OmniaScience Monographs.
- Cruz Hernández, J., et al. (2011). "Oxidative stress and diabetes mellitus." Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio **58**(1): 4-15.
- de Lourdes García-Magaña, M., et al. (2013). "Functional properties and dietary fiber characterization of mango processing by-products (Mangifera indica L., cv Ataulfo and Tommy Atkins)." Plant foods for human nutrition **68**(3): 254-258.
- Díaz-Flores, M., et al. (2004). "Aspectos moleculares del daño tisular inducido por hiperglucemia crónica." Scielo.
- Díaz Arce, D. (2006). "Hiperglicemia y estrés oxidativo en el paciente diabético." Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas **25**(3): 0-0.
- Domingueti, C. P., et al. (2016). "Diabetes mellitus: the linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications." Journal of Diabetes and its Complications **30**(4): 738-745.
- Dunn-Meynell, A. A., et al. (1998). "Distribution and phenotype of neurons containing the ATP-sensitive K⁺ channel in rat brain." Brain research **814**(1-2): 41-54.
- Elejalde Guerra, J. I. (2001). "Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes." Anales de Medicina Interna **18**: 50-59.
- Evans, S. F., et al. (2014). "Mango supplementation improves blood glucose in obese individuals." Nutrition and metabolic insights **7**: NMI. S17028.
- Ferk, F., et al. (2011). "Potent protection of gallic acid against DNA oxidation: results of human

- and animal experiments." Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis **715**(1-2): 61-71.
- Frindt, G. y L. G. Palmer (2010). "Effects of dietary K on cell-surface expression of renal ion channels and transporters." American Journal of Physiology-Renal Physiology **299**(4): F890-F897.
- Frindt, G., et al. (1998). "Dissociation of K channel density and ROMK mRNA in rat cortical collecting tubule during K adaptation." American Journal of Physiology-Renal Physiology **274**(3): F525-F531.
- Fukagawa, N. K., et al. (1990). "High-carbohydrate, high-fiber diets increase peripheral insulin sensitivity in healthy young and old adults." The American journal of clinical nutrition **52**(3): 524-528.
- Gispén, W. H. y G.-J. Biessels (2000). "Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus." Trends in neurosciences **23**(11): 542-549.
- Gondi, M., et al. (2015). "Anti-diabetic effect of dietary mango (*Mangifera indica* L.) peel in streptozotocin-induced diabetic rats." Journal of the Science of Food and Agriculture **95**(5): 991-999.
- Gondi, M. y U. P. Rao (2015). "Ethanol extract of mango (*Mangifera indica* L.) peel inhibits α -amylase and α -glucosidase activities, and ameliorates diabetes related biochemical parameters in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats." Journal of food science and technology **52**(12): 7883-7893.
- Gong, L.-W., et al. (2000). "Redox modulation of large conductance calcium-activated potassium channels in CA1 pyramidal neurons from adult rat hippocampus." Neuroscience letters **286**(3): 191-194.
- Gruol, D., et al. (1996). "Ca²⁺ signaling pathways linked to glutamate receptor activation in the somatic and dendritic regions of cultured cerebellar purkinje neurons." Journal of neurophysiology **76**(5): 3325-3340.
- Hains, B. C., et al. (2003). "Upregulation of sodium channel Nav1. 3 and functional involvement in neuronal hyperexcitability associated with central neuropathic pain after spinal cord injury." Journal of Neuroscience **23**(26): 8881-8892.
- Hebert, S. C., et al. (2005). "Molecular diversity and regulation of renal potassium channels." Physiological reviews **85**(1): 319-371.
- Henriksen, E. J., et al. (2011). "Oxidative stress and the etiology of insulin resistance and type 2 diabetes." Free Radical Biology and Medicine **51**(5): 993-999.
- Hernández-Ávila, M., et al. (2013). "Diabetes mellitus en México: El estado de la epidemia." Salud Pública de México **55**: s129-s136.
- Hudmon, A. y H. Schulman (2002). "Structure–function of the multifunctional Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II." Biochemical Journal **364**(3): 593-611.
- Jenkins, D. J. y T. M. Wolever (1981). "Slow release carbohydrate and the treatment of diabetes." Proceedings of the Nutrition Society **40**(2): 227-235.
- Joël, G., et al. (1997). "Binding properties of glutamate receptors in streptozotocin-induced

diabetes in rats." Diabetes **46**(5): 841-846.

Johnson-Delaney, C. (1996). "Exotic animal companion medicine handbook for veterinarians." Zoological Education Network **1**(6): 15-22.

Johnston, K., et al. (2005). "Dietary polyphenols decrease glucose uptake by human intestinal Caco-2 cells." FEBS letters **579**(7): 1653-1657.

Jung, S.-C., et al. (2008). "Rapid, bidirectional remodeling of synaptic NMDA receptor subunit composition by A-type K⁺ channel activity in hippocampal CA1 pyramidal neurons." Neuron **60**(4): 657-671.

Kato, M., et al. (2006). "Role of the Akt/FoxO3a pathway in TGF- β 1-mediated mesangial cell dysfunction: a novel mechanism related to diabetic kidney disease." Journal of the American Society of Nephrology **17**(12): 3325-3335.

King, G. L. y M. R. Loeken (2004). "Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complications." Histochemistry and cell biology **122**(4): 333-338.

Klein, J. P. y S. G. Waxman (2003). "The brain in diabetes: molecular changes in neurons and their implications for end-organ damage." The Lancet Neurology **2**(9): 548-554.

Kobori, M., et al. (2009). "Dietary quercetin alleviates diabetic symptoms and reduces streptozotocin-induced disturbance of hepatic gene expression in mice." Molecular nutrition & food research **53**(7): 859-868.

Kressin, K., et al. (1995). "Developmental regulation of Na⁺ and K⁺ conductances in glial cells of mouse hippocampal brain slices." Glia **15**(2): 173-187.

Liu, F., et al. (2016). "Effects of chlorogenic acid on voltage-gated potassium channels of trigeminal ganglion neurons in an inflammatory environment." Brain research bulletin **127**: 119-125.

Liu, R. H. (2013). Health Promoting components of fruits and vegetables in diet. Advances in nutrition: 384-392.

Liu, Y. y D. D. Gutterman (2002). "Oxidative stress and potassium channel function." Clinical and Experimental pharmacology and physiology **29**(4): 305-311.

Lu, C. y M. P. Mattson (2001). "Dimethyl sulfoxide suppresses NMDA-and AMPA-induced ion currents and calcium influx and protects against excitotoxic death in hippocampal neurons." Experimental neurology **170**(1): 180-185.

Lucas, E. A., et al. (2011). "Mango modulates body fat and plasma glucose and lipids in mice fed a high-fat diet." British journal of nutrition **106**(10): 1495-1505.

Ma, D., et al. (2002). "Diverse trafficking patterns due to multiple traffic motifs in G protein-activated inwardly rectifying potassium channels from brain and heart." Neuron **33**(5): 715-729.

Marchionni, M., et al. (2011). "Enfermedades crónicas no transmisibles y sus factores de riesgo en Argentina: prevalencia y prevención."

Marionneau, C., et al. (2008). "PPAR α -mediated remodeling of repolarizing voltage-gated K⁺ (K_v) channels in a mouse model of metabolic cardiomyopathy." Journal of molecular and cellular cardiology **44**(6): 1002-1015.

- Maritim, A., et al. (2003). "Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review." Journal of biochemical and molecular toxicology **17**(1): 24-38.
- Masibo, M. y Q. He (2008). "Major mango polyphenols and their potential significance to human health." Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety **7**(4): 309-319.
- Matsuda, H. y J. d. S. Cruz (1993). "Voltage-dependent block by internal Ca²⁺ ions of inwardly rectifying K⁺ channels in guinea-pig ventricular cells." The Journal of physiology **470**(1): 295-311.
- Matsui, T., et al. (2002). "Anti-hyperglycemic effect of diacylated anthocyanin derived from Ipomoea batatas cultivar Ayamurasaki can be achieved through the α -glucosidase inhibitory action." Journal of agricultural and food chemistry **50**(25): 7244-7248.
- Mattson, M. P., et al. (1995). "Neurotrophic factors attenuate glutamate-induced accumulation of peroxides, elevation of intracellular Ca²⁺ concentration, and neurotoxicity and increase antioxidant enzyme activities in hippocampal neurons." Journal of neurochemistry **65**(4): 1740-1751.
- Min, J. Y., et al. (2010). "Downregulation of catalase by reactive oxygen species via hypermethylation of CpG island II on the catalase promoter." FEBS letters **584**(11): 2427-2432.
- Monego, D. L., et al. (2017). "Applications of computational chemistry to the study of the antiradical activity of carotenoids: A review." Food chemistry **217**: 37-44.
- Montier Iglesias, A., et al. (2015). "Estrés oxidativo en la diabetes mellitus papel de la vitamina E y antioxidantes endógenos." Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río **19**: 973-985.
- Moritz, W., et al. (2001). "Regulated expression of adenosine triphosphate-sensitive potassium channel subunits in pancreatic β -cells." Endocrinology **142**(1): 129-138.
- Muriach, M., et al. (2014). "Diabetes and the brain: oxidative stress, inflammation, and autophagy." Oxidative medicine and cellular longevity **2014**.
- Muruganandan, S., et al. (2005). "Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats." Journal of ethnopharmacology **97**(3): 497-501.
- N. Kashihara, Y. H., V.K. Kondeti, Y.S. Kanwar (2010). "Oxidative stress in diabetic nephropathy." Current Medical Chemistry: 4256-1269.
- Namkoong, C., et al. (2005). "Enhanced hypothalamic AMP-activated protein kinase activity contributes to hyperphagia in diabetic rats." Diabetes **54**(1): 63-68.
- Nimse, S. B. y D. Pal (2015). "Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms." Rsc Advances **5**(35): 27986-28006.
- Nirakar Sahoo, T. H., Stefan H. Heinemann (2013). "Oxidative modulation of voltage-gated potassium channels." 1- 55.
- Nystoriak, M. A., et al. (2017). "Ser1928 phosphorylation by PKA stimulates the L-type Ca²⁺ channel CaV1. 2 and vasoconstriction during acute hyperglycemia and diabetes." Sci. Signal. **10**(463): eaaf9647.
- Olaiya, et al. (2016). "The role of nutraceuticals, functional foods and value added food products in the prevention and treatment of chronic diseases." African Journal of Food Science.

- OMS (2013). Informe mundial sobre la diabetes.
- Ossola, B., et al. (2009). "The multiple faces of quercetin in neuroprotection." Expert opinion on drug safety **8**(4): 397-409.
- Pacher, P., et al. (2007). "Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease." Physiological reviews **87**(1): 315-424.
- Pal, P. B., et al. (2014). "Mangiferin attenuates diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress mediated signaling cascade, TNF α related and mitochondrial dependent apoptotic pathways in streptozotocin-induced diabetic rats." PloS one **9**(9): e107220.
- Palafox-Carlos, H., et al. (2012). "Antioxidant interactions between major phenolic compounds found in 'Ataulfo' mango pulp: chlorogenic, gallic, protocatechuic and vanillic acids." Molecules **17**(11): 12657-12664.
- Palmer, L. G., et al. (1994). "Regulation of apical K and Na channels and Na/K pumps in rat cortical collecting tubule by dietary K." The Journal of general physiology **104**(4): 693-710.
- Pan, M.-H., et al. (2013). "Epigenetic and disease targets by polyphenols." Current pharmaceutical design **19**(34): 6156-6185.
- Pandit, S. V., et al. (2003). "A mathematical model of the electrophysiological alterations in rat ventricular myocytes in type-I diabetes." Biophysical journal **84**(2): 832-841.
- Pedraza Chaverri, J. y N. Cárdenas Rodríguez (2006). "Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes. Aspectos básicos." Educacion química **17**(2): 164-173.
- Peralta, J. (2009). "Rol del potasio en la actividad y metabolismo celular." Rol del Potasio en la Actividad y Metabolismo Celular: 1-32.
- Philip-Couderc, P., et al. (2008). "Forkhead transcription factors coordinate expression of myocardial KATP channel subunits and energy metabolism." Circulation research **102**(2): e20-e35.
- Poljsak, B., et al. (2013). "Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants." Oxidative medicine and cellular longevity **2013**.
- Pop-Busui, R., et al. (2017). "Diabetic Neuropathy: A Position Statement by the American Diabetes Association." Diabetes Care **40**(1): 136-154.
- Prabhakar, P. K. y M. Doble (2009). "Synergistic effect of phytochemicals in combination with hypoglycemic drugs on glucose uptake in myotubes." Phytomedicine **16**(12): 1119-1126.
- Puro, D. G., et al. (1996). "Activation of NMDA receptor-channels in human retinal Müller glial cells inhibits inward-rectifying potassium currents." Visual neuroscience **13**(2): 319-326.
- Quast, U. (1996). "ATP-sensitive K⁺ channels in the kidney." Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology **354**(3): 213-225.
- Randhir Singh, S. D., Rakesh Gollen (2015). "Role of free radicals in atherosclerosis, diabetes and dyslipidemia." Diabetes/Metabolism Research Review: 113-126.
- Rangel-Huerta, O. D., et al. (2015). "A systematic review of the efficacy of bioactive compounds in cardiovascular disease: phenolic compounds." Nutrients **7**(7): 5177-5216.
- Ribeiro, S. M. R. y A. Schieber (2010). Bioactive compounds in mango (*Mangifera indica* L.).

Bioactive foods in promoting health, Elsevier: 507-523.

- Rivera-Pagán, A. F., et al. (2015). "Up-regulation of TREK-2 potassium channels in cultured astrocytes requires de novo protein synthesis: relevance to localization of TREK-2 channels in astrocytes after transient cerebral ischemia." PloS one **10**(4): e0125195.
- Roberfroid, M. (1993). "Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects." Critical Reviews in Food Science & Nutrition **33**(2): 103-148.
- Robles-Sánchez, R. M., et al. (2009). "Quality Index, Consumer Acceptability, Bioactive Compounds, and Antioxidant Activity of Fresh-Cut "Ataulfo" Mangoes (*Mangifera Indica* L.) as Affected by Low-Temperature Storage." Journal of Food Science **74**(3): S126-S134.
- Rodríguez, G. R. V., et al. "18 Cáscara de mango."
- Rojas-Martínez, R., et al. (2018). "Prevalencia de diabetes por diagnóstico médico previo en México." Salud Pública de México **60**: 224-232.
- Rosati, B. y D. McKinnon (2004). "Regulation of ion channel expression." Circulation research **94**(7): 874-883.
- Sánchez-Moreno, C., et al. (2006). "Mediterranean vegetable soup consumption increases plasma vitamin C and decreases F2-isoprostanes, prostaglandin E2 and monocyte chemotactic protein-1 in healthy humans." The Journal of nutritional biochemistry **17**(3): 183-189.
- Santarelli, L. C., et al. (2006). "Three methionine residues located within the regulator of conductance for K⁺ (RCK) domains confer oxidative sensitivity to large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels." The Journal of physiology **571**(2): 329-348.
- Saxena, A. y N. K. Vikram (2004). "Role of selected Indian plants in management of type 2 diabetes: a review." The Journal of Alternative & Complementary Medicine **10**(2): 369-378.
- Schröder, H. (2007). "Protective mechanisms of the Mediterranean diet in obesity and type 2 diabetes." The Journal of nutritional biochemistry **18**(3): 149-160.
- Schröder, W., et al. (2002). "AMPA receptor-mediated modulation of inward rectifier K⁺ channels in astrocytes of mouse hippocampus." Molecular and Cellular Neuroscience **19**(3): 447-458.
- Serrano, F. y E. Klann (2004). "Reactive oxygen species and synaptic plasticity in the aging hippocampus." Ageing research reviews **3**(4): 431-443.
- Sharaf, S. A., et al. (2018). "Altered expression of WFS1 and NOTCH2 genes associated with diabetic nephropathy in T2DM patients." Diabetes research and clinical practice **140**: 304-313.
- Shimoni, Y., et al. (1999). "Insulin stimulation of rat ventricular K⁺ currents depends on the integrity of the cytoskeleton." The Journal of physiology **514**(3): 735-745.
- Shin, D. H., et al. (2011). "Inhibition of Ca²⁺-Release-Activated Ca²⁺ Channel (CRAC) and K⁺ Channels by Curcumin in Jurkat-T Cells." Journal of pharmacological sciences **115**(2): 144-154.
- Sierra, A., et al. (2013). "Regulation of cardiac ATP-sensitive potassium channel surface expression by calcium/calmodulin-dependent protein kinase II." Journal of Biological Chemistry **288**(3): 1568-1581.

- Sindelar, D. K., et al. (2002). "Attenuation of diabetic hyperphagia in neuropeptide Y-deficient mice." Diabetes **51**(3): 778-783.
- Singh, D. K., et al. (2011). "Oxidative stress in early diabetic nephropathy: fueling the fire." Nature Reviews Endocrinology **7**(3): 176.
- Sogi, D. S., et al. (2015). "Total phenolics, carotenoids and antioxidant properties of Tommy Atkin mango cubes as affected by drying techniques." LWT-Food Science and Technology **62**(1): 564-568.
- Solis-Herrera, C., et al. (2018). Classification of Diabetes Mellitus. Endotext [Internet], MDText.com, Inc.
- Soobrattee, M. A., et al. (2005). "Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions." Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis **579**(1-2): 200-213.
- Storino, M., et al. (2014). "Complicaciones de la diabetes y su asociación con el estrés oxidativo: un viaje hacia el daño endotelial." Revista colombiana de cardiología **392-398**.
- Tang, X. D., et al. (2004). "Reactive oxygen species impair Slo1 BK channel function by altering cysteine-mediated calcium sensing." Nature structural & molecular biology **11**(2): 171.
- Tangvarasittichai, S. (2015). "Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus." World journal of diabetes **6**(3): 456.
- Tavafi, M. (2013). "Diabetic nephropathy and antioxidants." Journal of nephropathology **2**(1): 20.
- Urquiaga, I., et al. (2017). "Origen, componentes y posibles mecanismos de acción de la dieta mediterránea." Revista médica de Chile **145**: 85-95.
- Valdez Morales, M., et al. (2016). "Enfoque integral de la importancia de la dieta en las condiciones actuales de salud de la población mexicana." Biotecnia.
- Viada Pupo, E., et al. (2017). "Estrés oxidativo." Correo Científico Médico **21**: 171-186.
- Wall-Medrano, A., et al. (2015). "El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud." Nutricion hospitalaria **31**(1).
- Wallace, C., et al. (2006). "Inhibition of cardiac voltage-gated sodium channels by grape polyphenols." British journal of pharmacology **149**(6): 657-665.
- Wang, J.-j. y Y. Li (2016). "KCNQ potassium channels in sensory system and neural circuits." Acta Pharmacologica Sinica **37**(1): 25.
- Wang, W., et al. (1990). "Regulation of small-conductance K⁺ channel in apical membrane of rat cortical collecting tubule." American Journal of Physiology-Renal Physiology **259**(3): F494-F502.
- Warner, R. y L. Breuer Jr (1972). "Nutrient requirements of the laboratory rat." NUTRIENT requirements of laboratory animals(10): 56-93.
- Wilkinson, A. S., et al. (2008). "Effects of the mango components mangiferin and quercetin and the putative mangiferin metabolite norathyriol on the transactivation of peroxisome proliferator-activated receptor isoforms." Journal of agricultural and food chemistry **56**(9): 3037-3042.

- Wilmer, W. A., et al. (2001). "Chronic exposure of human mesangial cells to high glucose environments activates the p38 MAPK pathway." Kidney international **60**(3): 858-871.
- Wu, L., et al. (2012). "The effect of resveratrol on FoxO1 expression in kidneys of diabetic nephropathy rats." Molecular biology reports **39**(9): 9085-9093.
- Xu, H., et al. (2000). "Modulation of Kir4. 1 and Kir5. 1 by hypercapnia and intracellular acidosis." The Journal of physiology **524**(3): 725-735.
- Xu, Z., et al. (2002). "Up-regulation of K⁺ channels in diabetic rat ventricular myocytes by insulin and glutathione." Cardiovascular research **53**(1): 80-88.
- Xu, Z. y G. J. Rozanski (1998). "K⁺ current inhibition by amphiphilic fatty acid metabolites in rat ventricular myocytes." American Journal of Physiology-Cell Physiology **275**(6): C1660-C1667.
- Yamagishi, S.-i. y T. Matsui (2010). "Advanced glycation end products, oxidative stress and diabetic nephropathy." Oxidative medicine and cellular longevity **3**(2): 101-108.
- Yan, W., et al. (2019). "Blockade of voltage-gated potassium channels ameliorates diabetes-associated cognitive dysfunction in vivo and in vitro." Experimental neurology: 112988.
- Yang, K.-C. y J. M. Nerbonne (2016). "Mechanisms contributing to myocardial potassium channel diversity, regulation and remodeling." Trends in cardiovascular medicine **26**(3): 209-218.
- Yao, Y., et al. (2010). "Quercetin improves cognitive deficits in rats with chronic cerebral ischemia and inhibits voltage-dependent sodium channels in hippocampal CA1 pyramidal neurons." Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives **24**(1): 136-140.
- Yoshizumi, M., et al. (2001). "Quercetin inhibits Shc-and phosphatidylinositol 3-kinase-mediated c-Jun N-terminal kinase activation by angiotensin II in cultured rat aortic smooth muscle cells." Molecular Pharmacology **60**(4): 656-665.
- Yusaf, S. P., et al. (2001). "Streptozocin-induced neuropathy is associated with altered expression of voltage-gated calcium channel subunit mRNAs in rat dorsal root ganglion neurones." Biochemical and biophysical research communications **289**(2): 402-406.
- Zhang, B., et al. (2017). "KATP channels in high glucose-induced rat mesangial cell proliferation and release of MMP-2 and fibronectin." Experimental and therapeutic medicine **14**(1): 135-140.
- Zhang, D. M., et al. (2014). "Intracellular signalling mechanism responsible for modulation of sarcolemmal ATP-sensitive potassium channels by nitric oxide in ventricular cardiomyocytes." The Journal of physiology **592**(5): 971-990.
- Zhang, G., et al. (2006). "Cysteine oxidation and rundown of large-conductance Ca²⁺-dependent K⁺ channels." Biochemical and biophysical research communications **342**(4): 1389-1395.
- Zhang, H. y R. Tsao (2016). "Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects." Current Opinion in Food Science **8**: 33-42.
- Zhang, X., et al. (2018). "Potassium channel dysfunction in neurons and astrocytes in Huntington's disease." CNS neuroscience & therapeutics **24**(4): 311-318.