



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

**EFFECTO NEUROPROTECTOR DE COMPUESTOS
BIOACTIVOS DEL MANGO CV. 'ATAULFO', SOBRE EL
ESTRÉS OXIDATIVO EN UN MODELO MURINO CON
DIABETES INDUCIDA**

Por:

Rosario Cázares Camacho

TESIS APROBADA POR LA

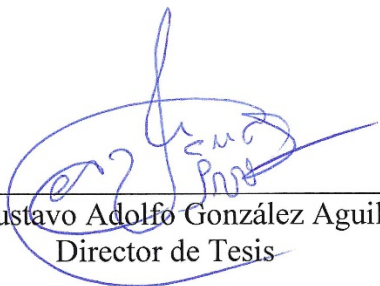
COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

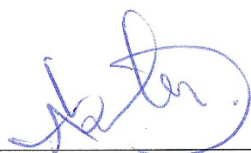
MAESTRA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Rosario Cázares Camacho, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias.



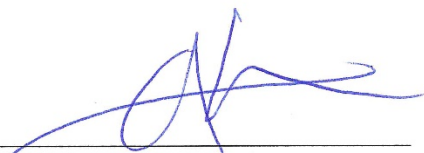
Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar
Director de Tesis



Dr. Jesús Abraham Domínguez Avila
Integrante de comité de tesis



Dr. Humberto Francisco Astiazarán García
Integrante de comité de tesis



Dr. Marcelino Montiel Herrera
Integrante de comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Efecto Neuroprotector de Compuestos Bioactivos del Mango cv. ‘Ataulfo’, sobre el Estrés Oxidativo en un Modelo Murino con Diabetes Inducida” 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 Rosario Cázares Camacho, 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 la realización de mis estudios de posgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. (CIAD) por brindarme la oportunidad de alcanzar una meta más en mi desarrollo profesional y personal.

Al proyecto “Un enfoque multidisciplinario de la farmacocinética de polifenoles de mango ‘Ataulfo’: interacciones moleculares, estudios preclínicos y clínicos”. CONACYT 2016-2019. Fronteras de la Ciencia. Clave 563.

A la Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal (CTAOV), por otorgarme un espacio en sus instalaciones durante la realización de este trabajo.

Un agradecimiento muy especial al Dr. Gustavo A. González Aguilar, mi director de tesis, por la oportunidad y confianza depositada tanto en mi persona como en mi trabajo, por sus aportaciones teóricas y prácticas y por impulsarme a dar siempre lo mejor de mí.

A los miembros del comité de tesis, el Dr. Marcelino Montiel Herrera y el Dr. Humberto Astiazarán García por todo el conocimiento compartido y por la orientación brindada durante mi formación profesional, especialmente al Dr. J. Abraham Domínguez Avila, por su sincero interés hacia mi labor, por la motivación y por el apoyo incondicional otorgado a lo largo de esta etapa.

Al equipo de trabajo y personal del Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales, en particular a la QB. Mónica Villegas Ochoa por su amistad sincera, su inagotable paciencia y su gran disposición.

A mi “familia” del laboratorio Clarisa Zepeda, Perlette Romo, Nill Campos y Alex Fontes, porque sin ustedes, estos dos años no hubieran sido lo mismo. Gracias por hacer de este posgrado una maravillosa travesía.

DEDICATORIA

A Dios por la vida y la guía.

A mi madre, padre y hermano

por toda la confianza,

por todo el amor,

por toda la felicidad.

Para ustedes, mi entera gratitud.

CONTENIDO

APROBACIÓN.....	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	5
CONTENIDO	6
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE CUADROS.....	9
RESUMEN.....	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUCCIÓN.....	12
2. ANTECEDENTES	14
2.1 El Estrés Oxidativo como Causante de Alteraciones en Biomoléculas.....	14
2.2 Protección del Sistema Antioxidante Enzimático y no Enzimático Frente al Estrés Oxidativo	17
2.3 Relación Entre Estrés Oxidativo, Diabetes y Neurodegeneración	19
2.4 Importancia del Consumo de Frutas y Vegetales Sobre el Estado de Salud	24
2.4.1 Mango: Fuente de Nutrientes y Compuestos Bioactivos.....	24
2.4.2 Papel de los Compuestos Bioactivos del Mango Sobre el Estrés Oxidativo y Mecanismos de Acción Neuroprotectores.....	26
3. HIPÓTESIS	38
4. OBJETIVOS.....	39
4.1 Objetivo general	39
4.2 Objetivos específicos.....	39
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
5.1 ETAPA 1: Expresión de Enzimas Antioxidantes	41
5.2 ETAPA 2: Actividad de Enzimas Antioxidantes	44
5.3 ETAPA 3: Determinación de Productos de Oxidación	48
5.4 Análisis Estadístico	50
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
6.1 El Consumo de Alimento	51
6.2 La Evolución del Peso Corporal.....	52
6.3 Los Niveles de Glucosa Sanguínea	54
6.4 La Actividad de Enzimas Antioxidantes	58
6.5 La Expresión de Enzimas Antioxidantes.....	63
6.6 Los Productos de Oxidación.....	69
7. CONCLUSIONES	78

CONTENIDO (continuación)

8. RECOMENDACIONES.....	79
9. REFERENCIAS	80

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Principales fuentes de especies reactivas de oxígeno y su regulación por el sistema antioxidante endógeno.....	16
2	Relación entre diabetes y estrés oxidativo.....	23
3	Clasificación general de los compuestos fenólicos en flavonoides y no flavonoides.....	28
4	Principales compuestos fenólicos identificados en la cáscara y pulpa del mango cv. ‘Ataulfo’.....	29
5	Mecanismo antioxidante del ácido ascórbico.....	34
6	Principales carotenoides encontrados en el mango cv. ‘Ataulfo’.....	36
7	Reacción de conjugación de GSH con CDNB mediado por la enzima GST.....	48
8	Consumo de alimento diario de ratas diabéticas alimentadas con dieta suplementada con cáscara y pulpa de mango.....	53
9	Ganancia de peso semanal de ratas diabéticas alimentadas con dieta suplementada con cáscara y pulpa de mango.....	54
10	Mecanismos de acción de los compuestos fenólicos relacionados a la diabetes y comorbilidades.....	57
11	Actividad enzimática de SOD1, SOD2 y SOD total en cerebelo.....	59
12	Actividad enzimática de SOD1, SOD2 y SOD total en corteza.....	60
13	Actividad enzimática de CAT en cerebelo y corteza.....	61
14	Actividad enzimática de GST en cerebelo y corteza.....	63
15	Niveles de expresión relativa de los genes de enzimas antioxidantes en cerebelo y corteza.....	67
16	Posibles mecanismos de regulación genética mediada por compuestos bioactivos del mango en neuronas.....	68
17	Niveles de MDA en cerebelo y corteza.....	71
18	Posibles mecanismos de los compuestos fenólicos y carotenoides sobre la disminución de MDA.	72
19	Niveles de carbonilos proteicos en cerebelo y corteza.....	74
20	Niveles de 8-OHdG en cerebelo y corteza.....	77

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Mecanismos de acción de los principales antioxidantes dietarios.....	20
2	Composición nutrimental promedio de la pulpa de mango.....	26
3	Compuestos fenólicos y acción neuroprotectora sobre el EO, actividad y expresión de enzimas antioxidantes en diferentes modelos in vivo.....	33
4	Compuestos fenólicos y carotenoides implicados en cascadas de señalización de respuesta antioxidante o inflamatoria, en líneas celulares cerebrales.....	40
5	Composición nutrimental de las dietas experimentales.....	45
6	Secuencia de los cebadores utilizados.....	48
7	Efecto del consumo de una dieta suplementada con cáscara y pulpa de mango ‘Ataulfo’, sobre los niveles de glucosa en ayuno en ratas diabéticas inducidas por STZ.....	64

RESUMEN

El estrés oxidativo está implicado en la patogénesis y progresión de la diabetes y daño a órganos como el cerebro. Se conoce la relación inversa entre el consumo de frutos y el desarrollo de enfermedades crónicas, explicada por la cantidad y variedad de compuestos bioactivos. El mango cv. 'Ataulfo' posee diversos compuestos con actividad biológica demostrada. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación de una dieta con cáscara y pulpa de mango cv. 'Ataulfo', sobre el estrés oxidativo en cerebro de un modelo murino con diabetes inducida por estreptozotocina. Se utilizaron 24 ratas Wistar machos divididas en 4 grupos: control sano (CS), control diabético (CD), diabético tratado con dieta suplementada con mango (TDM) y, diabético pretratado con dieta suplementada con mango (PDM). Después de 28 días, se extrajeron cerebelo y corteza para evaluar la expresión génica y actividad de enzimas antioxidantes y productos de oxidación. La expresión de superóxido dismutasa 2 (SOD2), aumentó 1.8 veces en la corteza del TDM con respecto al CS, mientras que la expresión de GSTp1 fue mayor en la corteza del TDM (4.1 veces) y en corteza y cerebelo del PDM (2.5 y 9.6 veces, respectivamente). La actividad de SOD1 fue mayor en los grupos CD, TDM y PDM (0.11, 0.09 y 0.08 U/mg de proteína en cerebelo y 0.04, 0.05 y 0.05 U/mg de proteína en corteza) en comparación con el CS (0.05 y 0.02 U/mg de proteína, respectivamente), mientras que la actividad de glutatión-S-transferasa (GST) fue mayor en el PDM (10.34 ± 0.47 y 3.40 ± 0.42 U/mg de proteína en cerebelo y corteza, respectivamente) en comparación con el CS (8.63 ± 0.43 y 2.14 ± 0.12 U/mg de proteína en cerebelo y corteza, respectivamente). Observamos una disminución de productos de peroxidación lipídica en los grupos TDM y PDM (0.63 ± 0.05 y 0.59 ± 0.02 nmol MDA/mg de proteína en cerebelo, y 0.43 ± 0.05 y 0.45 ± 0.04 nmol MDA/mg de proteína en corteza) con respecto al CD (1.31 ± 0.15 y 0.73 ± 0.05 nmol MDA/mg de proteína en cerebelo y corteza, respectivamente). Además, la dieta suplementada con mango mitigó la polifagia, pérdida de peso súbita y mantuvo estable la glicemia de las ratas diabéticas. Se concluye que, en el modelo utilizado, la ingesta de mango cv. 'Ataulfo' mejora el control metabólico y tiene un efecto sobre la disminución del daño oxidativo en cerebro, mediante el aumento de la expresión y actividad de enzimas antioxidantes y reducción de la peroxidación lipídica.

Palabras clave: Diabetes, estrés oxidativo, neuroprotección, antioxidantes, compuestos bioactivos, subproductos.

ABSTRACT

Oxidative stress is implicated in the pathogenesis and progression of diabetes, causing damage to organs such as the brain. The inverse relationship between fruit consumption and the development of chronic diseases is known, which is explained by the amount and variety of its bioactive compounds. Mango cv. 'Ataulfo' has various compounds with biological activity. The objective of this study was to evaluate the effect of supplementing a diet with mango cv. 'Ataulfo' peel and pulp, on oxidative stress in the brain of a streptozotocin-induced diabetic rat model. We used 24 male Wistar rats divided into 4 groups: healthy control (HC), diabetic control (DC), diabetic treated with diet supplemented with mango (DTM) and diabetic pretreated with a diet supplemented with mango (DPM). After 28 days, cerebellum and cortex were extracted to evaluate antioxidant enzyme expression and activity and oxidation products. Superoxide dismutase 2 (SOD2) expression showed a 1.8-fold increase in the cortex of the DTM with respect to HC, while the expression of glutathione-S-transferase p1 (GSTp1) was higher in the cortex of the DTM (4.1-fold) and in the cortex and cerebellum of the DPM (2.5 and 9.6-fold, respectively). The activity of SOD1 was higher in DC, DTM and DPM groups (0.11, 0.09, 0.08 U/mg of protein in the cerebellum and 0.04, 0.05, 0.05 U/mg protein in cortex), as compared to HC (0.05 and 0.02 U/mg protein, respectively), while GST activity was higher in DPM (10.34±0.47 and 3.40±0.42 U/mg protein in cerebellum and cortex, respectively), as compared to HC (8.63±0.43 and 2.14±0.12 U/mg protein in cerebellum and cortex, respectively). A decrease in lipid peroxidation products was reported in DTM and DPM groups (0.63±0.05 and 0.59±0.02 nmol MDA/mg protein in cerebellum, and 0.43±0.05 and 0.45±0.04 nmol MDA/mg protein in cortex), with respect to DC (1.31±0.15 and 0.73±0.05 nmol MDA/mg protein in cerebellum and cortex, respectively). Furthermore, the supplemented diet mitigated polyphagia, sudden weight loss and maintained stable glycemia of diabetic rats. We concluded that, in the model used, the intake of mango cv. 'Ataulfo' improves metabolic control and has a positive effect in reducing oxidative damage in the brain, by increasing the expression and activity of antioxidant enzymes and inhibiting lipid peroxidation.

Keywords: Diabetes, oxidative stress, neuroprotection, antioxidants, bioactive compounds, byproducts.

1. INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo (EO) está implicado en la patogénesis y progresión de algunas enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), entre las que destacan la diabetes mellitus y sus complicaciones. Se le denomina EO al fenómeno causado por el desbalance entre la concentración de especies oxidantes y antioxidantes (Sies, 2018). Las moléculas oxidantes, principalmente las especies reactivas de oxígeno (EROs), son generadas mediante diversos procesos bioquímicos y cumplen distintas funciones a nivel fisiológico. Sin embargo, bajo ciertas condiciones patológicas y de estrés, se produce una mayor cantidad de EROs causando daño a lípidos, proteínas y DNA (Nimse y Pal, 2015). La falta de un control adecuado de la glucemia en la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2), se asocia a una mayor producción de EROs, las cuales generan un ambiente oxidante que compromete a órganos como corazón, riñón, cerebro, entre otros (Pisoschi y Pop, 2015). El EO se ha relacionado directamente con alteraciones en neuronas y otras células de la glía, ocasionando deterioro y muerte celular (Sadi y Konat, 2016). En este contexto, en los últimos años ha crecido el interés por el estudio de antioxidantes provenientes de distintas fuentes en especial de vegetales, que puedan tener un impacto en la prevención del daño causado por el EO en el cerebro.

Los principales antioxidantes que se encuentran presentes en frutos y vegetales son: la vitamina C y E, carotenoides y compuestos fenólicos, destacados por sus diversas propiedades biológicas como: anticancerígenos, antiproliferativos, antiinflamatorios, antioxidantes, entre otras (Shahidi y Ambigaipalan, 2015). Recientemente, se ha demostrado que algunos de estos compuestos pueden ejercer efectos neuroprotectores *in vitro* e *in vivo*, a través de su capacidad antioxidante y su participación en distintas vías de señalización celular asociadas a la respuesta del sistema antioxidante endógeno (Abdel-Moneim *et al.*, 2017; Kang *et al.*, 2013). Lo anterior conduce al aumento en la expresión y actividad de enzimas antioxidantes o de fase II, como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión-S-transferasa (GST) (Figuroa-Méndez y Rivas-Arancibia, 2015; Kang *et al.*, 2013; Miyake *et al.*, 2014; Reglodi *et al.*, 2017), las cuáles contribuyen a mantener la homeostasis celular y a disminuir el daño oxidativo. Se ha reportado que la administración de ácido gálico y ácido *p*-cumárico en ratas diabéticas, disminuyen el EO en procesos de neurodegeneración, debido al aumento ocasionado por estos fenoles en la actividad enzimática de CAT, SOD, GPx y GST (International Journal of Molecular

Medicine Abdel-Moneim *et al.*, 2017). Por otro lado, Iwata *et al.* (2010) demostraron que la suplementación con vitamina C (100 mg/kg de peso) disminuye los niveles de peroxidación lipídica e incrementa la actividad enzimática (CAT, SOD, GPx) en diferentes regiones del cerebro de ratas diabéticas sujetas a isquemia. Estudios recientes, sugieren que de la misma forma, los carotenoides pueden estimular al factor nuclear derivado del eritroide 2 (Nrf2) para estimular la transcripción de enzimas de fase II, con la consecuente disminución del EO (Kaulmann y Bohn, 2014).

Los frutos tropicales representan una excelente fuente de fitoquímicos con actividad biológica. En el caso del mango (*Mangifera indica* L.) cv. ‘Ataulfo’, se han identificado distintos compuestos bioactivos, tanto en la pulpa como en la cáscara, tales como vitamina C, β -caroteno, ácido gálico, ácido clorogénico, ácido protocatéico, mangiferina, ácido vanílico, ácido hidroxicinámico, ácido *p*-cumárico, entre otros (Pacheco-Ordaz *et al.*, 2018; Palafox-Carlos *et al.*, 2012; Robles-Sánchez *et al.*, 2009; Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2015). Además de su potencial antioxidante, los compuestos bioactivos del mango han sido estudiados por sus efectos a nivel sistémico como hipolipidémicos (Robles-Sánchez *et al.*, 2011) y antidiabéticos (J. A. Domínguez Avila *et al.*, 2017), por mencionar algunos. Por lo que es de nuestro interés, conocer el posible efecto neuroprotector que podría tener la suplementación de una dieta con mango, rica en compuestos fenólicos y carotenoides, así como su posible efecto sinérgico.

Algunos de los compuestos bioactivos de este fruto han sido evaluados individualmente por sus efectos neuroprotectores, principalmente en modelos diabéticos, cuyos resultados indican que aún en presencia de la enfermedad, el daño oxidativo en el cerebro es menor. Sin embargo, no se han reportado estudios que evalúen el efecto del consumo de estos compuestos en una dieta habitual sobre los indicadores del EO, expresión génica y actividad de las enzimas antioxidantes. Es por ello que el objetivo de presente trabajo, es evaluar los efectos de la suplementación de una dieta con cáscara y pulpa de mango, en la prevención y/o disminución del daño oxidativo a nivel cerebral en un modelo murino con diabetes inducida.

2. ANTECEDENTES

2.1 El Estrés Oxidativo como Causante de Alteraciones en Biomoléculas

El estrés oxidativo (EO) se define como el desequilibrio entre moléculas oxidantes y antioxidantes, que conlleva a la pérdida de la homeostasis redox en el organismo (Sies, 2018). Durante el metabolismo aerobio se generan normalmente radicales libres (RLs) y especies reactivas de oxígeno (EROs) para el cumplimiento de distintas funciones fisiológicas, tales como protección inmunológica frente a patógenos, así como la señalización celular involucrada en procesos de adaptación en respuesta a factores ambientales (Shadel y Horvath, 2015). El balance entre los efectos benéficos y perjudiciales de las EROs y los RLs en el organismo, se logra a través de distintos mecanismos implicados en la regulación redox, los cuales controlan el estado de oxidoreducción en las células, manteniendo la homeostasis. Sin embargo, la sobreproducción de EROs, aunado a la actividad deficiente del sistema antioxidante y/o el bajo consumo de antioxidantes exógenos, provocan alteraciones en biomoléculas como lípidos, proteínas y DNA. Lo anterior deja como consecuencia modificaciones en la señalización, mecanismos de transporte, control de ciclo celular, etc. (Bhat *et al.*, 2015; Rani *et al.*, 2016).

Además de las condiciones biológicas normales, existen distintos estímulos exógenos que aumentan la producción de EROs, tales como la radiación, contaminación ambiental, fármacos, tabaco, actividad física excesiva, dietas bajas en antioxidantes y condiciones patológicas (Phaniendra *et al.*, 2015). La **Figura 1** resume los diversos factores que favorecen la producción de EROs. A nivel celular, la mayoría de las EROs son generadas en la cadena respiratoria mitocondrial mediante la conversión del oxígeno molecular a anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$) por la NADPH oxidasa ($2O_2 + NADPH \rightarrow 2O_2^{\bullet-} + NADP^+ + H^+$). Para disminuir su reactividad, el $O_2^{\bullet-}$ es dismutado inmediatamente a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por la enzima superóxido dismutasa (SOD), a través de la transferencia de dos átomos de hidrógeno ($2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$). A pesar de que el H_2O_2 no es considerado un RL, en presencia de metales de transición como cobre o hierro, éste puede transformarse en radical hidroxilo ($\bullet OH$) mediante la reacción de Fenton. El $\bullet OH$ es un compuesto altamente reactivo capaz de abstraer átomos de hidrógeno de biomoléculas

e iniciar reacciones en cadena, causando modificaciones químicas irreversibles que conllevan a daño celular (Nimse y Pal, 2015).

El $\bullet\text{OH}$ es capaz de reaccionar con la doble cadena del DNA, formando aductos de bases nitrogenadas, principalmente de guanina, dando lugar a la formación de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG), que durante la replicación del DNA interactúa con la adenina causando mutaciones (Nimse y Pal, 2015). Los ácidos grasos poliinsaturados y fosfolípidos de las membranas son susceptibles al ataque por EROs, formando radicales peroxilo ($\text{ROO}\bullet$) e hidroperóxidos (ROOH), que, mediante distintas reacciones, dan lugar a malondialdehído (MDA) y 4-hidroxinonenal (4-HNE) (Bhat *et al.*, 2015). Se ha reportado que los efectos mutagénicos del MDA y 4-HNE, están ligados a su capacidad para difundir a través de la membrana celular, uniéndose covalentemente a proteínas y DNA (Kanner *et al.*, 2017). En el caso de las proteínas, las EROs pueden oxidar residuos aminoacídicos (principalmente prolina, arginina, lisina y treonina) generando grupos carbonilo, los cuales también pueden ser resultado de reacciones de la cisteína, histidina y lisina, con cetonas y aldehídos producidos por peroxidación lipídica (Kolgiri y Patil, 2017). No obstante, las concentraciones de las EROs y sus efectos dañinos pueden ser reducidos a través de los mecanismos de defensa del sistema antioxidante enzimático y/o exógeno.

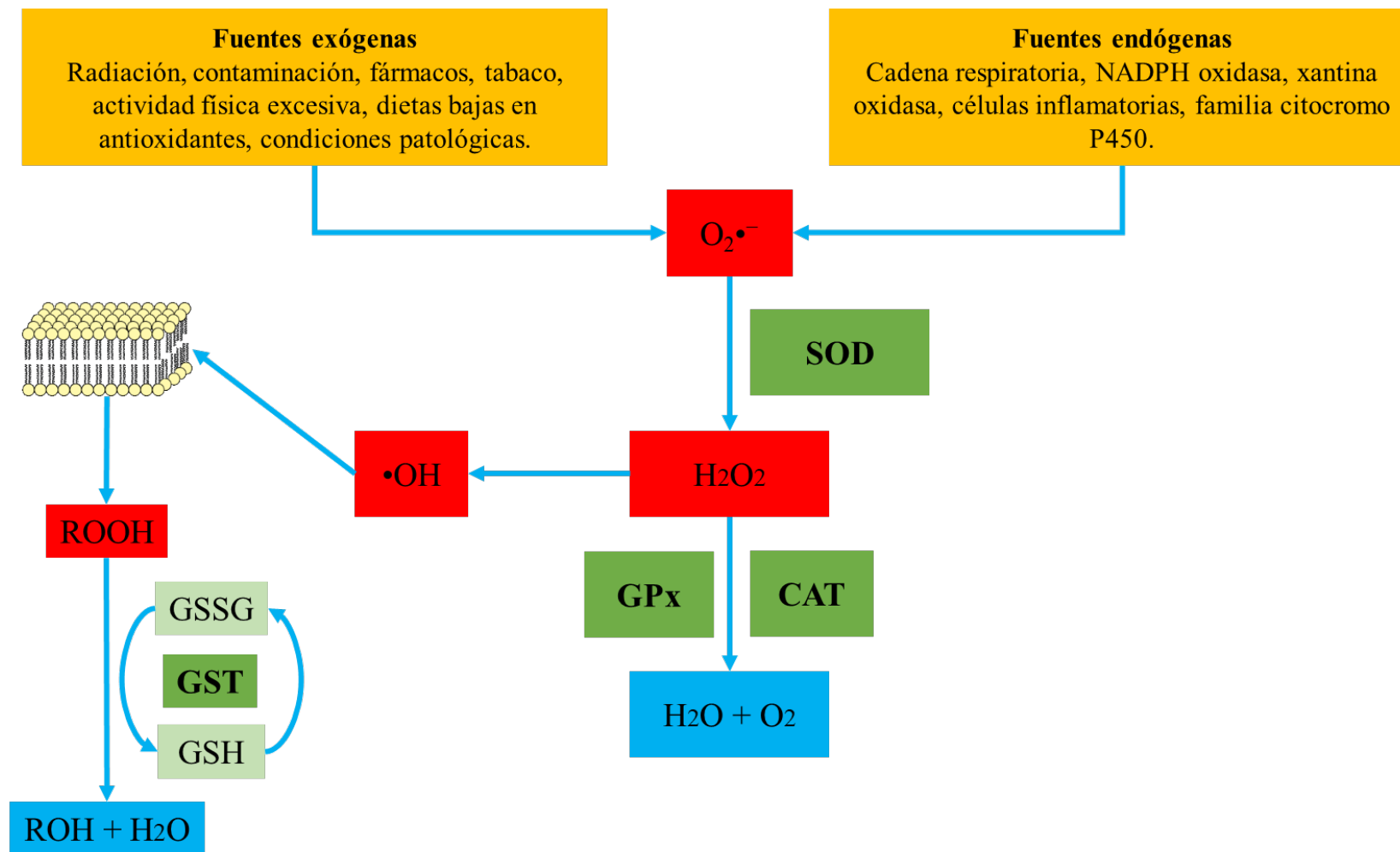


Figura 1. Principales fuentes de EROs y su regulación por el sistema antioxidante endógeno. La generación de EROs puede provenir de fuentes exógenas y endógenas, las enzimas antioxidantes de los organismos vivos encargadas de su transformación incluyen a superóxido dismutasa (SOD, EC 1.15.1.1), catalasa (CAT, EC 1.11.1.6), glutatión peroxidasa (GPx, EC 1.11.1.9) y glutatión-S-transferasa (GST, EC 2.5.1.18).

2.2 Protección del Sistema Antioxidante Enzimático y no Enzimático Frente al Estrés Oxidativo

Los antioxidantes enzimáticos comprenden moléculas como la SOD, catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) (**Figura 1**). La SOD cataliza la conversión de $O_2^{\bullet-}$ a H_2O_2 y O_2 , mediante la transferencia de H^+ ; existen 3 isoformas, las cuales se clasifican de acuerdo a su localización y grupos prostéticos metálicos: SOD1 (Cu/Zn) citosólica, SOD2 (Mn) mitocondrial, y SOD3 (Cu/Zn) extracelular (Kim *et al.*, 2015). La CAT contiene hierro en su grupo prostético (grupo hemo), se encuentra principalmente en el citoplasma y en los peroxisomas y es la enzima encargada de catalizar la reacción de descomposición del H_2O_2 : $2H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$ (Nimse y Pal, 2015). Por otro lado, la GPx, puede reducir al H_2O_2 y a los ROOH, mediante la utilización del glutatión (GSH) como donador de e^- (Kim *et al.*, 2015). Existen diversas isoformas de GST presentes en el citoplasma y la mitocondria, las cuales se encargan de catalizar la conjugación de GSH con compuestos orgánicos (Singhal *et al.*, 2015). Estas enzimas de fase II son transcritas por acción del Nrf2 en presencia de EROs y especies reactivas de nitrógeno (ERNs) para la protección contra el EO (Yuan *et al.*, 2017).

De igual forma, existen antioxidantes endógenos de carácter no enzimático que ayudan a mantener el estado redox de la célula. El sistema antioxidante endógeno incluye moléculas proteicas como la ferritina, transferrina y albúmina, así como moléculas de bajo peso molecular como el GSH, ácido úrico, melatonina, coenzima Q ($CoQH_2$), etc. (Pisoschi y Pop, 2015). El GSH es un tripéptido formado por ácido glutámico, cisteína y glicina que sirve como sustrato de las enzimas glutatión oxidasa, glutatión reductasa y GPx, que por su capacidad oxido-reductora, ayuda a mantener el estado redox en la célula (Nimse y Pal, 2015). El mecanismo de acción de algunas proteínas como antioxidantes consiste principalmente en quelar metales de transición, de manera que estos no puedan interferir en las reacciones involucradas con la generación de EROs. Se ha determinado que el ácido úrico es capaz de neutralizar al oxígeno singulete (1O_2) y a los radicales $ROO^{\bullet}$ e $^{\bullet}OH$, mientras que los metabolitos de la melatonina neutralizan al $^{\bullet}OH$, $O_2^{\bullet-}$ y óxido nítrico (NO). Por último, la $CoQH_2$, posee la capacidad de neutralizar radicales $ROO^{\bullet}$ y convertir al $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 por transferencia de H^+ , además de regenerar al radical α -tocoferoxilo producido por la oxidación del α -tocoferol. A pesar de estar integrado por múltiples antioxidantes endógenos, el sistema requiere del consumo de antioxidantes provenientes de la dieta para reforzar su eficacia.

Los antioxidantes dietarios son sustancias hidrofílicas y lipofílicas encontradas de manera natural en los alimentos, con capacidad de proteger biomoléculas del daño oxidativo mediante distintos mecanismos. Se ha documentado el efecto protector de estos compuestos frente al daño oxidativo, ya sea por su acción quelante, por su capacidad de transferencia de e^- o H^+ y mediante la estimulación de vías de señalización (Yavari *et al.*, 2015). El **Cuadro 1** resume los mecanismos de acción de los principales antioxidantes de la dieta contra las EROs y los RLs. La integración de los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos mantiene la homeostasis entre estos y las especies oxidantes del organismo, sin embargo, bajo ciertas condiciones patológicas, el sistema antioxidante podría no ser suficiente para mantener un equilibrio y provocar reacciones indeseables.

El EO ha sido asociado al desarrollo y progresión de numerosas ECNT, dentro de las que se encuentran algunos tipos de cáncer, enfermedades inflamatorias, cardiovasculares (ECVs) neurodegenerativas, diabetes, entre otras (Pizzino *et al.*, 2017). El EO causa modificaciones en el DNA mediante diversos mecanismos que pueden dar lugar a mutaciones genéticas. Además, estimula la activación de oncogenes y la inactivación de genes supresores de tumor, promoviendo la reproducción de células cancerígenas (Saha *et al.*, 2017). Por otro lado, la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) promueve la formación de células espumosas en la íntima de las arterias, con la consecuente respuesta de macrófagos que favorecen los procesos inflamatorios ligados al desarrollo de aterosclerosis y ECVs (Pisoschi y Pop, 2015). Altos niveles de EROs activan vías de señalización que inducen el reclutamiento de citoquinas inflamatorias involucradas en la patogénesis de la DMT2. En este contexto, el EO se asocia al desarrollo de la resistencia a la insulina y alteraciones en su señalización y producción; los procesos por los cuales esto ocurre son múltiples y se ven implicadas distintas condiciones patológicas (Rani *et al.*, 2016).

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

Antioxidantes	Mecanismo	Referencia
Vitamina C	Neutralización de $O_2^{\bullet-}$, 1O_2 , $\bullet OH$, $ROO\bullet$ Regeneración de tocoferoles	Jiang y Xiong (2016).
Vitamina E	Bloqueo de reacciones de peroxidación por donación de e^- a $ROO\bullet$ Neutralización de 1O_2	Nimse y Pal (2015).
Carotenoides	Bloqueo de reacciones de peroxidación en cadena por transferencia de e^- Neutralización de RLs por transferencia de e^- o H^+ incluyendo $O_2\bullet$, $\bullet OH$, $ROO\bullet$, $HOCl$.	Monego <i>et al.</i> (2017).
Compuestos fenólicos	Bloqueo de reacciones de peroxidación lipídica mediante actividad quelante de metales Regeneración de moléculas antioxidantes	Zhang y Tsao (2016).

2.3 Relación Entre Estrés Oxidativo, Diabetes y Neurodegeneración

La DMT2 es una enfermedad caracterizada por hiperglucemia crónica que resulta de la resistencia a la insulina y/o de la disminución de la función de las células β del páncreas para la secreción de la misma. Se ha visto que los factores involucrados en su desarrollo y progresión, varían de acuerdo al estado fisiológico y tipo de estrés (Faria y Persaud, 2017). La asociación del EO con la resistencia a la insulina, implica la habilidad de las EROs para interactuar con sustratos que se ven involucrados en la señalización intracelular de la insulina, generando un defecto en su producción y actividad (Newsholme *et al.*, 2016). Por otro lado, la oxidación de los residuos de cisteína de la proteína tirosina fosfatasa (PTP) por EROs, altera señales implicadas en la modulación de la proliferación y diferenciación celular de las células β (Newsholme *et al.*, 2016). Otro de los mecanismos propuestos involucra a las EROs en la activación de inhibidores de quinasas dependientes de ciclinas (CDKI por sus siglas en inglés: cyclin-dependent kinase inhibitor), como p16 y p27, que al inhibir a las ciclinas D, A y B, irrumpen el ciclo celular de las células β del páncreas, impidiendo su división y proliferación (Rani *et al.*, 2016). Lo anterior sugiere una alteración en la funcionalidad de las células secretoras de insulina, y por consecuencia, niveles anormales de glucemia, lo cual contribuye a la enfermedad.

La hiperglucemia sostenida en pacientes diabéticos promueve a su vez la generación de EROs mediante la vía de los polioles, la auto-oxidación de glucosa, reacciones de glicación no enzimática y peroxidación lipídica (**Figura 2**) (Pisoschi y Pop, 2015). El incremento del metabolismo de la glucosa y ácidos grasos libres, aumentan la actividad de NADH oxidasa en la cadena respiratoria mitocondrial durante la síntesis de ATP, aumentando la generación de $O_2^{\bullet-}$. La vía de los polioles tiene como finalidad la conversión de glucosa a fructosa; bajo hiperglucemia, de 30 a 35% de glucosa es metabolizada a sorbitol, el cual, al ser oxidado a fructosa, incrementa la actividad de la NADPH oxidasa con la producción consecuente de $O_2^{\bullet-}$ (Tangvarasittichai, 2015). Por otro lado, la acumulación de productos finales de glicación avanzada (AGEs por sus siglas en inglés: advanced glycation end-products) contribuye a la propagación de EROs y carbonilos proteicos, generando un daño directo en las células β , induciendo cambios morfológicos que deterioran su función (Pisoschi y Pop, 2015). Concentraciones altas de grupos carbonilo proteicos en plasma relacionados al incremento de glicación de la hemoglobina, han sido reportadas en pacientes diabéticos (Nowotny *et al.*, 2015). Adicionalmente a los mecanismos ya descritos, la relación entre la hiperglucemia y el EO en la modulación de enzimas antioxidantes, juega un rol importante en la DMT2.

Estudios clínicos han reportado alteraciones en la expresión y actividad de las enzimas antioxidantes en pacientes diabéticos. Sin embargo, existen discrepancias entre resultados, ya que su aumento o disminución pueden estar ligados a la edad, cronicidad de la enfermedad, tejido en el que son medidas, entre otros factores que dificultan la comprensión de los procesos involucrados. Se ha evidenciado el riesgo de desarrollar DMT2 en individuos con deficiencia de CAT, mientras que la actividad de SOD plasmática se ha visto disminuida en pacientes con complicaciones de DMT2 (Verma *et al.*, 2016). En estudios realizados por Bandeira *et al.* (2012), la actividad de SOD se encontró aumentada en eritrocitos de pacientes diabéticos, que podría ser atribuida a la respuesta de la producción excesiva de EROs en etapas avanzadas de la enfermedad. Las EROs pueden irrumpir la actividad de los Forkhead Box (FOXO), factores de transcripción que estimulan la transcripción de genes que codifican para enzimas antioxidantes como SOD2 y CAT (Newsholme *et al.*, 2016). La actividad deficiente de las enzimas antioxidantes en la DMT2, contribuye al daño oxidativo y aumenta el riesgo de sufrir diversas complicaciones, dentro de las cuales se encuentra la neurodegeneración (Rani *et al.*, 2016).

El EO causado por la hiperglucemia en la DMT2 promueve la disfunción de tejidos, entre los que se incluye al sistema nervioso central (SNC), provocando destrucción de las células de la glía y neuronas (Sadi y Konat, 2016). El tejido nervioso presenta el mayor contenido de lípidos insaturados, representando entre un 10-12% del peso fresco del cerebro, lo cual lo hace altamente susceptible al ataque por EROs, lo cual puede dar como resultado la peroxidación lipídica de las membranas y subsecuente daño celular. Cabe mencionar que el cerebro es un órgano con baja actividad antioxidante en comparación con otros tejidos (90% menor que el hígado), tiene una alta tasa de actividad metabólica oxidativa y niveles elevados de metales de transición, especialmente hierro (Réus *et al.*, 2016). Existe evidencia que confirma que la toxicidad por glicación a causa de la hiperglucemia aumenta la producción de EROs en neuronas. Se han reportado efectos perjudiciales en tejido cerebral diabético como menor plasticidad sináptica, cambios vasculares, modificación morfológica de dendritas, funcionamiento de neurotransmisores alterado y reactividad de los astrocitos del hipocampo (Jing *et al.*, 2013; Thomas *et al.*, 2013). Sin embargo, los mecanismos fisiopatológicos que conducen a las complicaciones diabéticas involucrados con el EO, aún no han sido dilucidados por completo.

Se han realizado diversos estudios en cultivos celulares o en modelos murinos con diabetes inducida, para evaluar del EO en tejido nervioso bajo estas condiciones. Kumar *et al.* (2014) confirmaron que la exposición de células gliales a hiperglucemia causa daño celular y molecular, observándose niveles altos de EROs y ERNs, acumulación de 8-OHdG, desregulación del ciclo celular y menor actividad de enzimas antioxidantes. Los mismos autores describen que la hiperglucemia puede inducir a apoptosis e inhibir la proliferación de células de la glía. Lee *et al.* (2015) observaron un aumento significativo en la peroxidación lipídica, evaluado mediante la presencia de MDA y la generación de carbonilos proteicos, a causa de EROs en el hipocampo de ratas con diabetes inducida por estreptozotocina. Se han propuesto varios enfoques farmacológicos dirigidos a contrarrestar los daños concomitantes generados por la DMT2, no obstante, los medicamentos antidiabéticos no han logrado reducir el riesgo de deterioro neuronal. Diversas investigaciones han mostrado que el consumo de alimentos provenientes de fuentes vegetales puede reducir algunos de los efectos negativos generados por el EO. Por lo que el estudio de los posibles efectos que podría tener el consumo de alimentos ricos en antioxidantes, en especial frutas y hortalizas, por su riqueza en cantidad y tipo de compuestos antioxidantes, abre una puerta para profundizar en este tipo de investigaciones. Esto con el fin de generar conocimiento que refuerce

con más argumentos científicos las bondades del consumo de productos de origen vegetal como el mango, en la reducción de distintas enfermedades crónicas no transmisibles, que representan un problema grave de salud en la sociedad moderna e implica un costo muy alto para los gobiernos de los países con mayor incidencia.

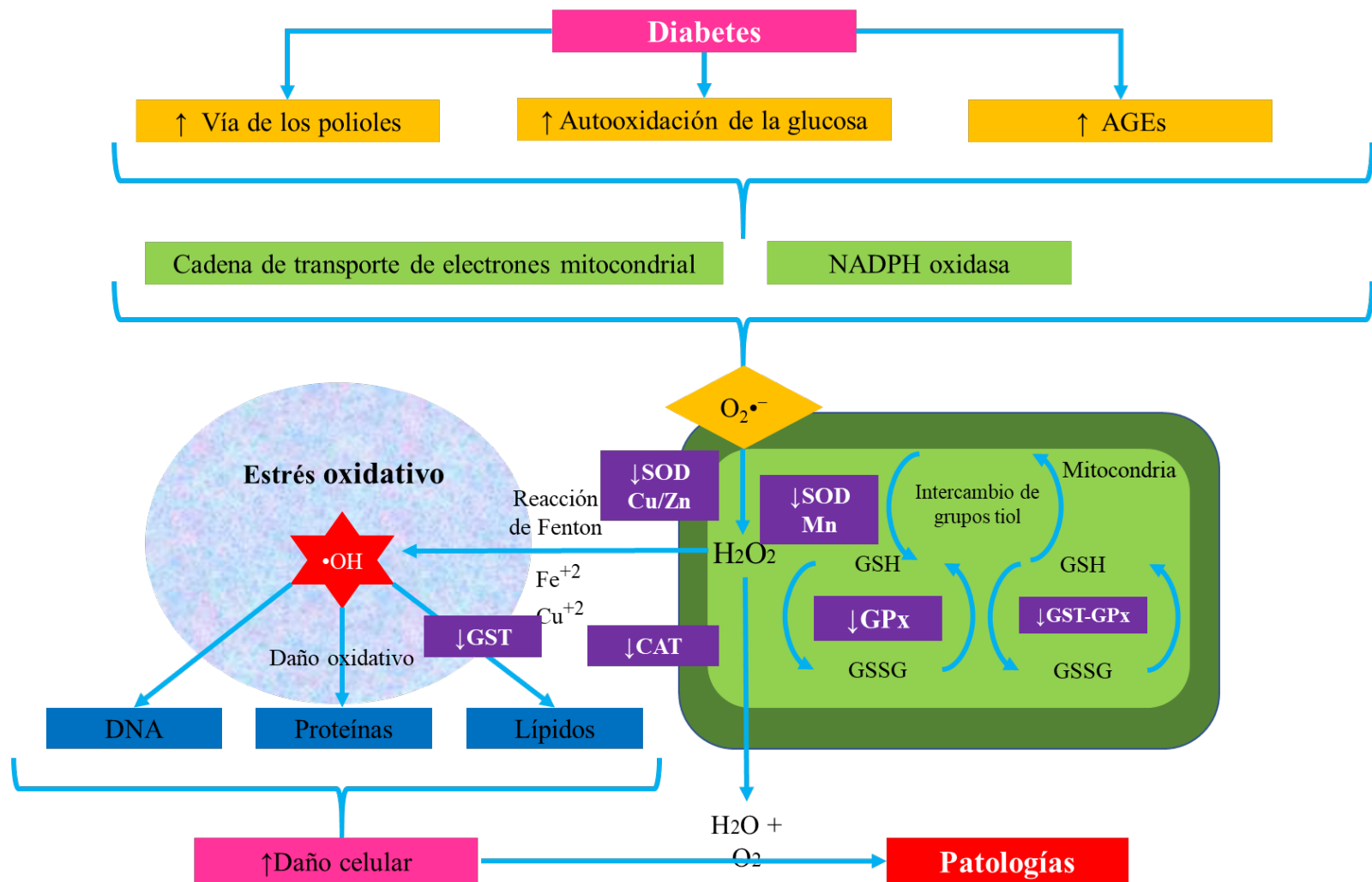


Figura 2. Relación entre diabetes y estrés oxidativo. La diabetes puede aumentar la producción de EROs a causa del incremento del metabolismo de la glucosa, conversión de glucosa a fructosa mediante la vía de los polioles y generación de productos finales de glicación avanzada, aumentando el EO asociado al desarrollo y progresión de enfermedades. Modificado de Rochette *et al.* (2014)

2.4 Importancia del Consumo de Frutas y Vegetales Sobre el Estado de Salud

Las frutas y los vegetales son componentes esenciales de una dieta saludable, un gran número de estudios epidemiológicos y meta-análisis han demostrado una asociación inversa entre su consumo y el desarrollo de ECNT (Carter *et al.*, 2010; He *et al.*, 2007; X. Wang *et al.*, 2014). En este contexto, diversas organizaciones e instituciones de salud en el mundo promueven el consumo de frutas y vegetales, por ejemplo, la Organización Mundial de la Salud recomienda una ingesta diaria de este grupo de alimentos mayor a 400 g (Olivas-Aguirre *et al.*, 2017). Unos de los grupos de alimentos de origen vegetal que ha cobrado interés en los mercados internacionales en los últimos años por su alto valor nutricional y funcional, son los frutos tropicales. Los compuestos bioactivos mayoritarios de estas frutas son carotenoides, vitamina C y E, compuestos fenólicos y fibra dietaria. La guayaba, papaya, coco, piña, sandía, aguacate, plátano y mango, son fuentes importantes de fitoquímicos con alta capacidad antioxidante relacionada a la prevención y/o control de patologías asociadas al EO (Yahia *et al.*, 2011). Hallazgos recientes demuestran que el mango, en comparación de otros frutos tropicales, es una buena fuente de compuestos fenólicos, vitamina C y carotenoides (Ayala-Zavala *et al.*, 2011; Olivas-Aguirre *et al.*, 2017).

2.4.1 Mango: Fuente de Nutrientes y Compuestos Bioactivos

El mango es uno de los frutos tropicales más consumidos en el mundo debido a sus propiedades sensoriales, alto valor nutricional y por ser buena fuente de compuestos bioactivos. México encabeza las listas en cuanto a exportación de mango, siendo el cultivar ‘Ataulfo’ el de mayor importancia agronómica por su preferencia entre los consumidores (Quirós-Sauceda *et al.*, 2017). En cuanto a su valor nutricional, el mango cv. ‘Ataulfo’ está conformado mayoritariamente por agua (83%) y carbohidratos (15%), es buena fuente de fibra dietaria soluble (pectina en pulpa) e insoluble (lignina y hemicelulosa en cáscara) y tiene un bajo contenido de lípidos y proteínas (**Cuadro 2**). Por otro lado, su funcionalidad a nivel biológico, principalmente como antioxidante,

es atribuida a la alta concentración de compuestos fenólicos que posee, sin subestimar su contenido de vitamina C y carotenoides.

Cuadro 2. Composición nutrimental promedio de la pulpa de mango.

Valor/100 g	Pulpa de mango
Agua (g)	83.46
Energía (kcal)	60
Proteína (g)	0.82
Lípidos (g)	0.38
Carbohidratos (g)	14.98
Fibra dietaria (g)	1.6
Azúcares (g)	13.66
Vitaminas	
Vitamina C (mg)	36.4
Vitamina B2 (µg)	38
Vitamina B3 (µg)	669
Vitamina B6 (µg)	119
Folatos (µg)	43
Vitamina A (µg)	54
Vitamina K (µg)	4.2
Minerales	
Calcio (mg)	11
Hierro (mg)	0.16
Magnesio (mg)	10
Fósforo (mg)	14
Potasio (mg)	168
Sodio (mg)	1
Zinc (mg)	0.09

Composición nutrimental de la pulpa de mango por 100 g de peso fresco. USDA, 2018.

2.4.2 Papel de los Compuestos Bioactivos del Mango Sobre el Estrés Oxidativo y Mecanismos de Acción Neuroprotectores

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas sintetizados para cumplir funciones clave en el crecimiento, desarrollo y supervivencia, mediante la mediación de estrés biótico y abiótico. Existen diversas formas de clasificar a estos compuestos; dependiendo de su estructura, se pueden clasificar en flavonoides y no flavonoides (**Figura 3**). Se conocen más de 6,000 flavonoides en la naturaleza, distinguidos por su esqueleto carbonado C6-C3-C6 y sus tres anillos fenólicos (A, B, C). Dentro de esta familia se encuentran flavonoles, flavanoles, flavonas, isoflavonas, flavanonas y antocianidinas, que se distinguen por la estructura y sustituciones en el anillo heterocíclico (Nimse y Pal, 2015). Por otro lado, los compuestos no flavonoides incluyen ácidos fenólicos derivados de ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinámicos, estilbenos, cumarinas, lignanos, xantonas, taninos, entre otros (Shahidi y Ambigaipalan, 2015). Los compuestos fenólicos se encuentran distribuidos ampliamente en el reino vegetal y su importancia actual reside en su alto potencial antioxidante, así como en la amplia gama de propiedades biológicas en beneficio de la salud que se les ha atribuido en los últimos años.

Se ha demostrado que el mango cv. ‘Ataulfo’ posee un contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante mayor en comparación con otras variedades (Maldonado-Astudillo *et al.*, 2016; Manthey y Perkins-Veazie, 2009). Palafox-Carlos *et al.* (2012) identificaron en la pulpa del mango ‘Ataulfo’: ácido clorogénico (28-301 mg/100 g PS), ácido gálico (94.6-98.7 mg/100 g PS), ácido vanílico (16.9-24.4 mg/100 g PS) y ácido protocatéico (0.48-1.1 mg/100 g PS). También se ha identificado epicatequina en mango liofilizado (9.29 µg/g de extracto) (Olivas-Aguirre *et al.*, 2017) (Figura 4). Adicionalmente, se ha reportado la cantidad de compuestos bioactivos presentes en los residuos agroindustriales del mismo, identificando un contenido elevado de compuestos fenólicos en cáscara y pulpa (Ayala-Zavala *et al.*, 2011; Sáyo-Ayerdi *et al.*, 2013). Pacheco-Ordaz *et al.* (2018) caracterizaron el contenido de compuestos fenólicos en la cáscara de mango cv. ‘Ataulfo’ (Figura 4) utilizando extractos metanólicos e hidrólisis ácidas y alcalinas, encontrando en los dos últimos al ácido gálico como el más representativo con 184.56 y 271.46 µg equivalentes de ácido gálico (EAG)/mg PS respectivamente, seguido de la mangiferina 36.02 µg

equivalentes de mangiferina (EM)/mg PS en la fracción no hidrolizada. En la misma fracción se identificaron también galotaninos, xantonas, flavonoides glicosilados entre otros ácidos fenólicos, mientras que en los extractos con hidrólisis ácida y alcalina fueron identificados ácido cafeoil hidroxycítrico, ácido digálico, etil galato, ácido *p*-cumárico y quercetina. Unos de los factores que modifica el perfil y la cantidad de estos compuestos, es el tratamiento, (de Ancos *et al.*, 2018) demostraron la influencia del tipo de secado sobre la cantidad de compuestos fenólicos identificados en la cáscara del mango cv ‘Ataulfo’. Mientras que el secado por aire frío aumenta la concentración de mangiferina-6'-*O*-galato (1.57 ± 0.05 g/kg PS), mangiferina-3-C-(2,3-di-*O*-galoil)-B-D-glucosidasa (1.44 ± 0.06 g/kg PS), ácido elágico (2.04 ± 0.31 g/kg PS) y quercetina hexósido (1.43 ± 0.05 g/kg PS), el secado por aire caliente incrementa la cantidad de ácido gálico (1.43 ± 0.12 g/kg PS), 3-C- β -D-glucosil-maclurina (0.54 ± 0.03 g/kg PS), metil galato (0.27 ± 0.01 g/kg PS) y ácido *m*-digálico (0.63 ± 0.03 g/kg PS). Por lo que, el perfil y contenido de compuestos fenólicos en el mango y sus subproductos se puede ver modificado por distintos factores, como la etapa de madurez, época de cosecha, tratamiento postcosecha, procesamiento, etc.

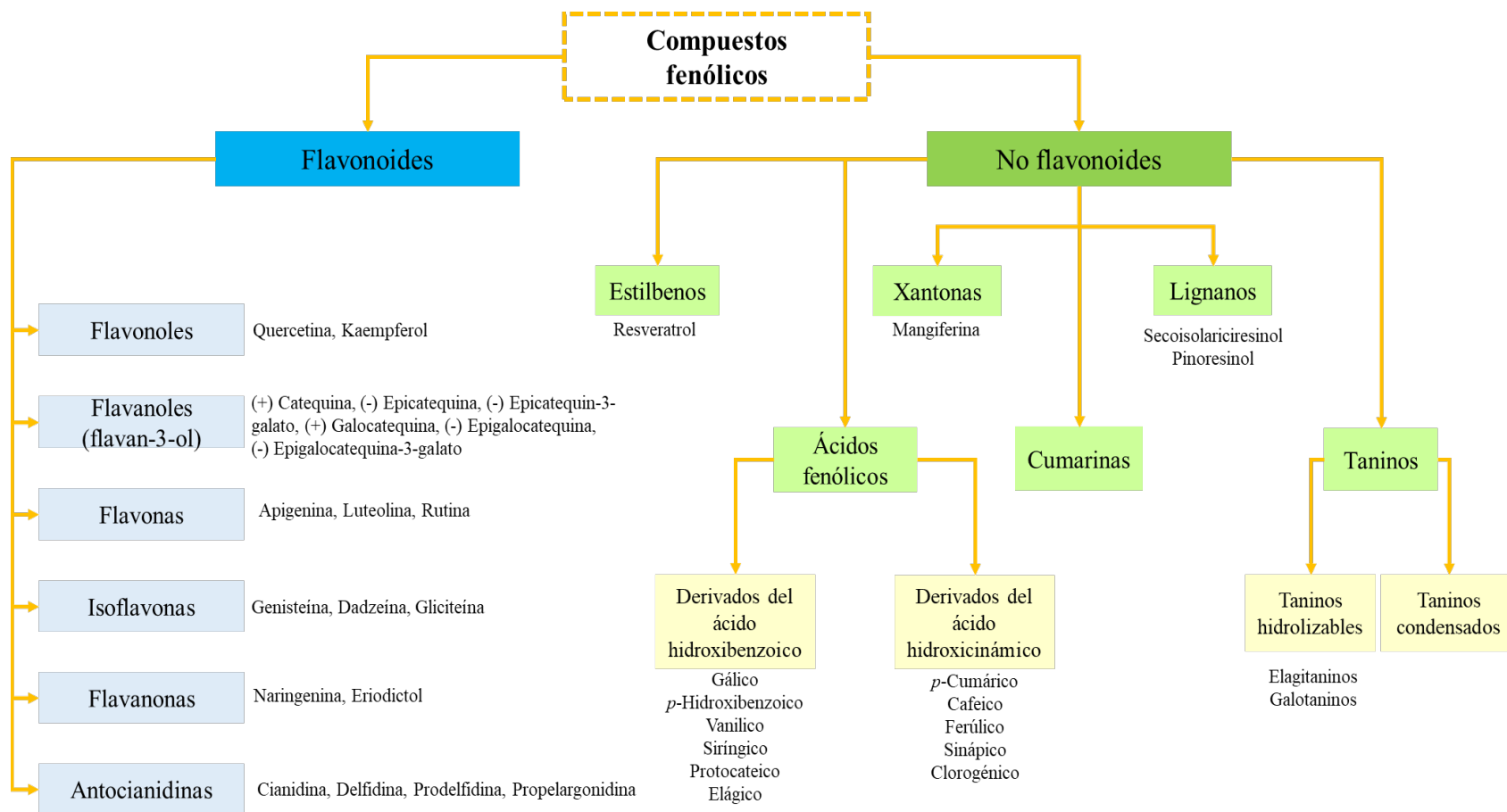


Figura 3. Clasificación general de los compuestos fenólicos en flavonoides y no flavonoides. Modificado de Shahidi y Ambigaipalan (2015).

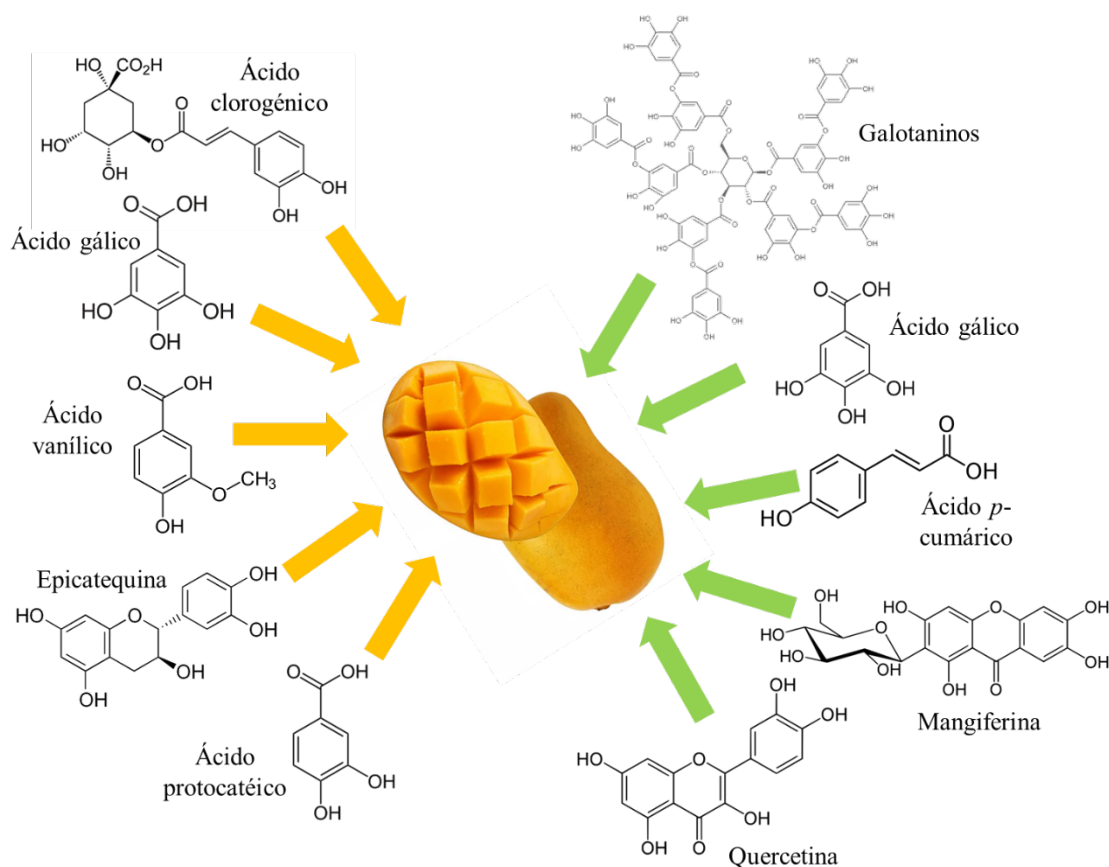


Figura 4. Principales compuestos fenólicos identificados en la cáscara y pulpa del mango cv. 'Ataulfo'.

Los compuestos fenólicos han recibido un especial interés por sus diversas actividades biológicas como antioxidantes, anticancerígenos, hipolipidémicos, antiinflamatorios, antidiabéticos, etc. (J. A. Domínguez Avila *et al.*, 2017; Heleno *et al.*, 2015; Robles-Sánchez *et al.*, 2011). Las propiedades de los compuestos fenólicos del mango a nivel sistémico han sido evaluadas, por ejemplo, diversos estudios indican que las proantocianidinas pueden inhibir a la lipasa pancreática (Burton-Freeman *et al.*, 2017; Itoh *et al.*, 2016; Vazquez-Flores *et al.*, 2018), mientras otros demuestran que los ácidos fenólicos del extracto etanólico del mango, tales como el ácido gálico y el ácido clorogénico, inhiben competitivamente la actividad de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa (Obloh *et al.*, 2015; Wan *et al.*, 2012). La disminución de la glucemia por inhibición de estas enzimas encargadas de la hidrólisis de carbohidratos puede estar asociada a un decremento de EROs, jugando un papel importante en la disminución del daño oxidativo. De acuerdo a esto, Gondi y Rao (2015) administraron un extracto etanólico de cáscara de mango cv. 'Badami' a ratas con diabetes inducida por

estreptozotocina (200 mg/kg de peso) para evaluar la inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa, la actividad enzimática antioxidante y el nivel de MDA. Los resultados arrojaron una disminución de MDA y un aumento en la actividad de SOD, CAT, GPx, GST en hígado y riñón, por lo que se podría considerar el uso de la cáscara de mango como un buen candidato para el control de la diabetes y quizás la prevención de las complicaciones relacionadas al EO.

Se han evaluado individualmente los efectos de algunos compuestos fenólicos presentes en el mango sobre la disminución de EO en tejido cerebral, así como en la expresión y actividad de enzimas antioxidantes (**Cuadro 3**). International Journal of Molecular Medicine Abdel-Moneim *et al.* (2017) administraron 20 mg de ácido gálico/kg de peso durante 35 días a ratas, observándose una disminución significativa de MDA ($15.9 \pm 0.2 - 12.1 \pm 0.06$ nmol MDA/100 mg tejido), así como un aumento en la actividad de SOD ($5.6 \pm 0.2 - 9.5 \pm 0.3$ U/g tejido), GPx ($49.0 \pm 0.5 - 65.7 \pm 0.8$ mU/100 mg tejido) y GST ($102.9 \pm 1.8 - 115.5 \pm 1.2$ U/100 mg tejido) en el hipocampo. Resultados similares en cuanto a la disminución de MDA (225 ± 21 nmol/g de tejido) y aumento en la actividad de GPx (8.3 ± 0.92 U/g tejido) en hipocampo fueron reportados con la administración de 50 mg/kg de peso de ácido gálico en menor tiempo (10 días) en un modelo murino de la enfermedad de Parkinson (Mansouri *et al.*, 2013).

Más allá del potencial antioxidante, algunos de los mecanismos de los compuestos fenólicos como neuroprotectores se ven involucrados en la activación de distintas vías de señalización celular en respuesta al EO e inflamación. Evidencia previa sugiere que los compuestos fenólicos estimulan la vía de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK por sus siglas en inglés: mitogen-activated protein kinase), provocando la unión del factor de transcripción Nrf2 con el elemento de respuesta antioxidante (ARE por sus siglas en inglés: antioxidant response element). El ARE es una secuencia específica de DNA, que, al unírsele el Nrf2, estimula la expresión de enzimas antioxidantes y enzimas de fase II como GST, NADPH quinona oxido-reductasa-1 (NQO1), hemo oxigenasa-1 (HO-1) y GPx (de Pascual-Teresa, 2014). En condiciones basales, Nrf2 se encuentra unido a la proteína Keap1, sin embargo, bajo EO, el Nrf2 se libera de Keap1, translocándose al núcleo para interactuar con otros factores de transcripción que se unen al ARE y modulan la respuesta antioxidante. Adicionalmente, se ha estudiado que los compuestos fenólicos pueden inhibir al factor

nuclear kappa B (NF- κ B por sus siglas en inglés: nuclear factor-kappa B), moderando la respuesta a estrés por reducción de la expresión de citoquinas inflamatorias (Vauzour, 2012).

Cuadro 3. Compuestos fenólicos y acción neuroprotectora sobre el EO, actividad y expresión de enzimas antioxidantes en diferentes modelos *in vivo*.

Compuesto fenólico	Dosis	Tiempo	Modelo	Tejido	Efecto	Referencia
Ácido gálico y ácido <i>p</i> -cumárico	20 mg/kg y 40 mg/kg	35 días	Ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina	Hipocampo	↓ Peroxidación lipídica (12.1 ± 0.1 y 13.9 ± 0.1 nmol MDA/100 mg tejido) ↓ Óxido nítrico (14.1 ± 0.5 y 14.5 ± 0.1 nmol nitrito/100 mg tejido) ↑ Actividad de GSH (82.0 ± 2.8 y 65.0 ± 3.3 nmol/100 mg tejido), SOD (9.5 ± 0.3 y 8.0 ± 0.2 U/g tejido), CAT (16.1 ± 0.4 y 13.8 ± 0.2 Kx10⁻²), GPx (65.7 ± 0.8 y 62.4 ± 1.5 mU/100 mg tejido), GST (115.5 ± 1.2 y 110.0 ± 0.64 U/100 mg tejido)	International Journal of Molecular Medicine Abdel-Moneim <i>et al.</i> (2017).
Ácido clorogénico	10-100 μ M	2 h	Cultivo celular de neuronas corticales 8-DIV	Neuronas corticales	↓ EROs intracelular ↑ Actividad de SOD y CAT	Rebai <i>et al.</i> (2017).
Extracto de hoja de mango	10 mg/kg y 20 mg/kg	28 días	Ratas diabéticas inducidas con aloxano	Corteza prefrontal	↓ Pérdida de memoria a corto plazo ↓ Hiperglucemia Sin efectos neurotóxicos	Balogun y Imam (2015).
Ácido gálico	100 mg/kg	10 días	Ratas con EO cerebral inducido por oclusión bilateral de arteria carótida	Hipocampo y corteza frontal	↓ MDA Preservación de niveles de GSH y GPx	Korani <i>et al.</i> (2014).
Ácido elágico	50 mg/kg	21 días	Ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina	Nervio ciático y cerebro	↑ Niveles de CAT (1.0 ± 0.1 U/g proteína) y estado antioxidante ↓ Niveles de MDA (311.7 ± 58.6 nmol/g proteína), óxido nítrico, estado oxidante total, índice de EO	Uzar <i>et al.</i> (2012).
Galato de epigallocatequina	10 mg/kg	28 días	Ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina	Hipocampo	↑ Actividad de GPx ↓ Óxido nítrico	Biasibetti <i>et al.</i> (2013).
Ácido gálico	50, 100 y 200 mg/kg	10 días	Modelo murino de enfermedad de Parkinson	Cuerpo estriado Hipocampo	↓ MDA $225 \pm 21.2 \pm 21.1 \pm 17$ nmol/g de tejido hipocampo y $225 \pm 21.1 \pm 15$ y 185 ± 17 nmol equivalentes de MDA/g de tejido estriado. ↑ Actividad de GPx (8.3 ± 0.9, 8.2 ± 1.12 U/g y 9.3 ± 0.8 U/g tejido en hipocampo)	Mansouri <i>et al.</i> (2013).

Las concentraciones de compuestos fenólicos alcanzadas en el cerebro (<1 nmol/g tejido), han demostrado efectos en la activación de distintas vías de señalización en respuesta al estrés y mediación de sistemas de defensa celular (**Cuadro 4**). Bahia *et al.* (2008) reportaron que la (-) epicatequina puede prevenir daño cerebral mediante la modulación de la vía Nrf2/HO1 y el aumento de GSH en astrocitos primarios. Por otra parte, Abramov *et al.* (2005) confirmaron que la quercetina (50 μ M) es capaz de suprimir al NF- κ B en líneas celulares de la microglía. Estudios indican que el ácido clorogénico podría estimular la translocación nuclear de Nrf2, así como la posterior inducción de la expresión de GST mediada por ARE. Feng *et al.* (2005) evidenciaron un aumento en las actividades de GST y NQO-1 en células epiteliales JB6 de ratón con un pretratamiento de 40 μ M de ácido clorogénico. Se ha reportado que la mangiferina regula la translocación nuclear de NF- κ B, reduce los niveles de EROs y restaura la actividad de SOD y CAT en cultivos celulares neuronales (Campos-Esparza *et al.*, 2009).

Vitamina C

La vitamina C o ácido L-ascórbico (AA), es una vitamina hidrosoluble esencial para el ser humano, ya que no posee la enzima L-gulono- γ -lactona oxidasa encargada de su síntesis a partir de glucosa, por lo que debe ser obtenida de la dieta. Las principales fuentes naturales de vitamina C son las frutas y vegetales, especialmente las de origen tropical y subtropical (Dumbravă *et al.*, 2012). En el caso del mango cv. ‘Ataulfo’ se han encontrado concentraciones de hasta 158.5 mg/100 g PS, muy superiores a las encontradas a otras cultivadas en México (Robles-Sánchez *et al.*, 2009) y a las reportadas por la USDA para otros cultivares de mango (≈ 35 mg/100 g PS). La importancia del consumo de esta vitamina se debe a sus funciones biológicas que incluyen reacciones enzimáticas (como coenzima) como antioxidante y regenerando antioxidantes de importancia biológica como la vitamina E. Dependiendo del pH del medio, la vitamina C puede donar H^+ de uno de su par de grupos ionizables de los C2' y C3', formando ascorbato. El ascorbato es capaz de donar un e^- para la neutralización de RLs, convirtiéndose en radical ascorbato, que, en presencia de H^+ , da lugar a una molécula de ascorbato y dehidroascorbato, el cual puede ser convertido de nuevo a ascorbato por adición de un e^- (**Figura 5**) (Figuroa-Méndez y Rivas-Arancibia, 2015; Nimse y Pal, 2015).

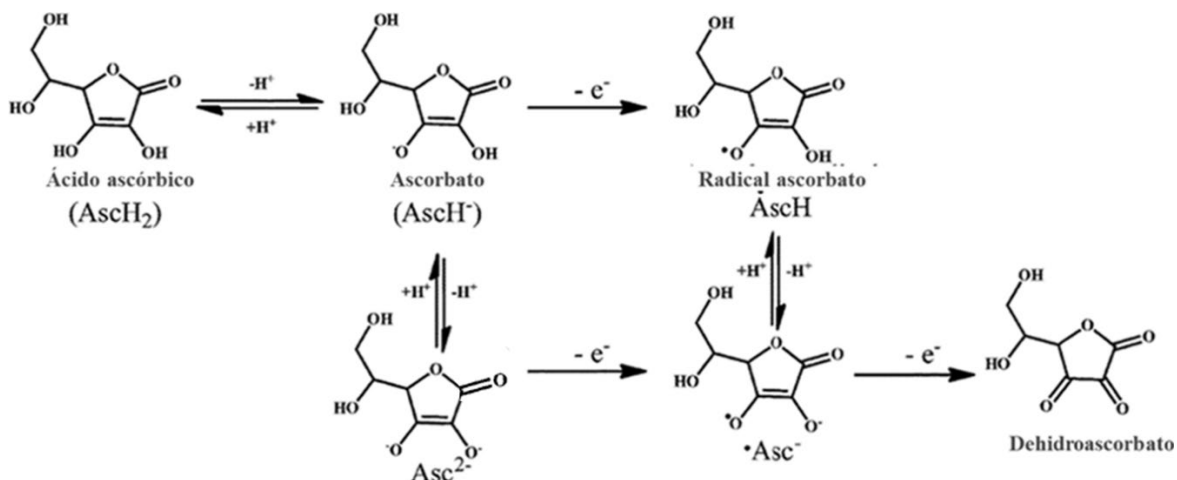


Figura 5. Mecanismo antioxidante de la vitamina C o ácido ascórbico (AA). El AA se convierte a radical de ascorbato al donar un e⁻ a un radical, el radical ascorbato da lugar a una molécula de ascorbato y una molécula de dehidroascorbato, el cual es reducido de nuevo a ascorbato mediante la adición de e⁻. Modificado de Nimse y Pal (2015).

Se ha visto que, de los órganos del cuerpo, el cerebro es el segundo órgano con mayor concentración de ascorbato (140 mg/kg), su distribución en las diferentes regiones soporta su requerimiento como antioxidante y neuroprotector. Una vez que el ascorbato ha sido absorbido en intestino delgado, pasa a circulación periférica y se transporta hacia el líquido cefalorraquídeo (formado por los plexos coroides), donde puede difundir libremente en el espacio extracelular de las neuronas y la glía (Figuroa-Méndez y Rivas-Arancibia, 2015). El transportador 2 de vitamina C dependiente de sodio (SVCT2, por sus siglas en inglés sodium-dependent vitamin C transporter 2) se encarga de capturar al ascorbato para mantener las concentraciones adecuadas en el cerebro con ayuda de los transportadores de glucosa (GLUT1), que lo transportan en su forma oxidada (ácido dehidroascórbico), una vez dentro es reducido a ascorbato (Figuroa-Méndez y Rivas-Arancibia, 2015). Existen una gran cantidad de estudios *in vivo* en tejido cerebral que soportan la idea de que el ascorbato intracelular, es primordial para la protección contra el EO (Harrison y May, 2009).

Sözbir y Nazıroğlu (2016) reportaron concentraciones de vitamina C disminuidas ($88.00 \pm 13.23 - 68.13 \pm 16.93$ $\mu\text{mol/g}$ tejido) asociadas al daño oxidativo en el cerebro de ratas diabéticas inducidas. Se ha demostrado que la suplementación de 100 mg/kg de vitamina C durante dos semanas revierte los niveles de peroxidación lipídica e incrementa la actividad enzimática (CAT, SOD, GPx) en diferentes regiones cerebrales de ratas diabéticas (Iwata *et al.*, 2010). Iwata *et al.*

(2014) reportaron que el pretratamiento con vitamina C disminuye la producción de $O_2^{\bullet-}$ y restaura la expresión génica del transportador SVCT2, la cual se encuentra suprimida en condiciones de diabetes y es necesario para el transporte de esta vitamina hacia el cerebro. Por tanto, se considera que la vitamina C puede actuar como antioxidante y neuroprotector, retardando los procesos oxidativos perjudiciales en células cerebrales.

Carotenoides

Los carotenoides son compuestos fitoquímicos liposolubles sintetizados por plantas y algunos microorganismos a partir del isopentil difosfato, el cual, mediante distintas reacciones de ciclación, hidroxilación u oxidación, da lugar a una gran variedad de carotenoides. La mayoría de los carotenoides son tetraterpenoides, es decir, su estructura se compone de 40 carbonos con una unidad de isopreno como estructura básica, suelen dividirse en carotenos (cadenas hidrocarbonadas como el licopeno, α - y β -caroteno) o en xantófilas (luteína, capxantina, astaxantina, etc), las cuales se distinguen por contener grupos polares (Kiokias *et al.*, 2016). Estos compuestos son conocidos por sus diversas actividades biológicas y su potencial antioxidante en la protección de la membrana celular en contra de las EROs, mediante la neutralización de radicales $ROO^{\bullet}$ y 1O_2 , manteniéndose estable por resonancia electrónica (Nimse y Pal, 2015). Se conocen más de 40 carotenoides que pueden ser metabolizados por el hombre, encontrándose generalmente al α - y β -caroteno en frutas y vegetales de color amarillo y anaranjado, mientras que la luteína, zeaxantina y licopeno se encuentran en vegetales verdes. Debido a que el ser humano no es capaz de sintetizarlos, estos deben ser consumidos a través de la dieta. Allí radica la importancia del consumo de alimentos ricos en carotenoides, en especial frutas y hortalizas.

Se han identificado alrededor de 33 carotenoides en la cáscara de mango, incluyendo α -caroteno, todo-*trans*-violaxantina, luteína, β -caroteno, isómeros *cis*, derivados epóxidos, entre otros (de Ancos *et al.*, 2018). La composición de los carotenoides en el mango depende de la etapa de madurez, condiciones pre- y postcosecha y procesamiento del fruto. En el caso del mango cv. ‘Ataulfo’, el carotenoide más abundante es el β -caroteno (4.53 mg/100g PS) (Robles-Sánchez *et al.*, 2009) representando del 48 al 84% del contenido total de carotenoides, seguido de todo-*trans*-violaxantina y 9-*cis*-violaxantina (Yahia *et al.*, 2006) (**Figura 6**). También se reportaron β -criptoxantina (0.66 ± 0.03 mg/g PS) y β -caroteno (19.13 ± 0.41 mg/g PS) en subproductos pertenecientes a este cultivar (Mercado-Mercado *et al.*, 2017; Mercado-Mercado *et al.*, 2019).

Dichos compuestos han demostrado tener efectividad en la prevención de ECNT o como coadyuvantes terapéuticos, debido a su amplia gama de actividades biológicas como antioxidantes, anticancerígenos, antidiabéticos antiinflamatorios, neuroprotectores, etc (Saini *et al.*, 2015).

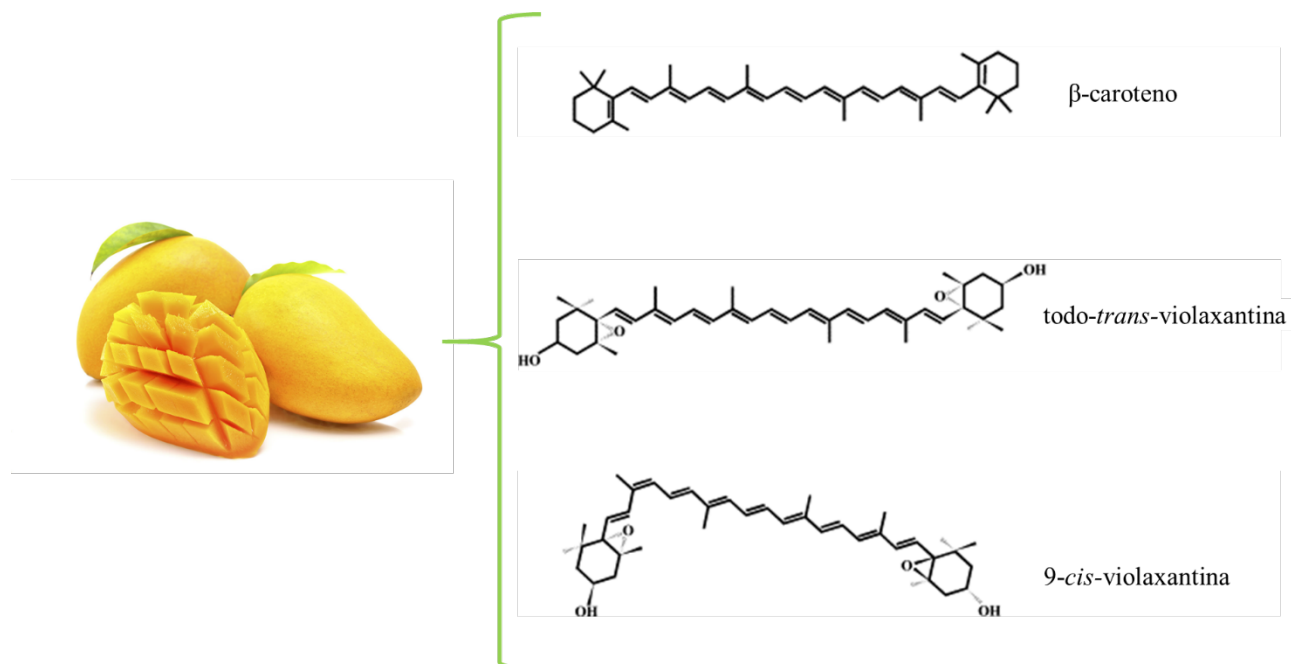


Figura 6. Principales carotenoides encontrados en el mango cv. 'Ataulfo'.

Muchas de estas propiedades se han asociado al efecto de los carotenoides sobre las cascadas de señalización intracelular que influyen en la expresión génica. Se ha documentado que los carotenoides pueden interactuar en la vía del NF-κB e inhibir la producción de citoquinas inflamatorias, por otro lado, pueden actuar sobre la estimulación del Nrf2 para la transcripción de enzimas y antioxidantes de la fase II, disminuyendo el EO (Kaulmann y Bohn, 2014). Wu *et al.* (2015) demostraron que el pretratamiento con luteína (50 μM) en células microgliales de ratón (BV-2), puede atenuar la neuroinflamación al suprimir la activación de NF-κB y promover la activación de Nrf2 inducida por ERK (**Cuadro 4**). En este estudio se inhibió la síntesis de NO, ciclooxygenasa-2 y EROs, así como la producción del factor de necrosis tumoral α (TNF-α por sus siglas en inglés: tumor necrosis factor-α) e interleucina 1β (IL-1β), además de promover la expresión de antioxidantes endógenos, incluyendo HO-1 y NQO-1. Miyake *et al.* (2014)

observaron que el tratamiento con luteína en la línea celular neuronal PC12D resultó en niveles disminuidos de EROs intracelulares y en un aumento del mRNA y de proteína de SOD1, SOD2 y CAT. Por lo que se sugiere que la ingesta de un alimento integrado por diversos compuestos fenólicos y carotenoides como lo es el mango podría activar vías de respuesta al estrés celular, resultando en una regulación positiva de los genes neuroprotectores involucrados con el aumento en la actividad de las enzimas antioxidantes endógenas, aunado a la disminución de biomarcadores de oxidación.

Cuadro 4. Compuestos fenólicos y carotenoides implicados en cascadas de señalización de respuesta antioxidante o inflamatoria en líneas celulares cerebrales.

Compuesto	Concentración	Modelo	Efecto	Referencia
Quercetina	30 μ M	Líneas celulares de microglía BV-2	Inactivación NF- κ B Estimulación Nrf2-ARE	Kang <i>et al.</i> (2013).
Mangiferina	100 nM	Cultivo neuronal	Regulación de la translocación de NF- κ B, $\uparrow$ actividad de SOD y CAT	Campos-Esparza <i>et al.</i> (2009).
Epicatequina	100 nM	Cultivo de astrocitos corticales	Regulación positiva Nrf2-ARE $\uparrow$ GSH en astrocitos primarios	Bahia <i>et al.</i> (2008).
Ácido clorogénico	40 μ M	Células epidérmicas JB6	Estimulación de Nrf2-ARE $\uparrow$ Expresión de GST	Feng <i>et al.</i> (2005).
Luteína	50 μ M	Células neuronales PC12D	Estimulación Nrf2-ARE	Miyake <i>et al.</i> (2014).
Luteína	50 μ M	Células microgliales BV-2	Inactivación NF- κ B $\downarrow$ Citoquinas inflamatorias IL-1 β , TNF α	Wu <i>et al.</i> (2015).
β -Criptoxantina	10 μ M	Células preosteoblásticas MC3T3	Inactivación NF- κ B	Yamaguchi y Weitzmann (2009).

3. HIPÓTESIS

La suplementación de una dieta con cáscara y pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) cv. ‘Ataulfo’, aumenta la expresión y actividad de enzimas antioxidantes y disminuye los productos de oxidación de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, en cerebro de un modelo murino con diabetes inducida.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la suplementación de una dieta con cáscara y pulpa de mango cv. ‘Ataulfo’, sobre el estrés oxidativo en cerebro de un modelo murino con diabetes inducida.

4.2 Objetivos específicos

1. Determinar la expresión génica de superóxido dismutasa, catalasa y glutatión-S-transferasa, en cerebro de un modelo murino con diabetes inducida, alimentado con una dieta suplementada con cáscara y pulpa de mango.
2. Determinar la actividad de superóxido dismutasa, catalasa y glutatión-S-transferasa, en cerebro de un modelo murino con diabetes inducida, alimentado con una dieta suplementada con cáscara y pulpa de mango.
3. Evaluar los niveles de malondialdehído, carbonilos proteicos y aductos de 8-hidroxi-2’desoxiguanosina, en cerebro de un modelo murino con diabetes inducida, alimentado con una dieta suplementada con cáscara y pulpa de mango.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con las políticas éticas para el cuidado y manejo de animales del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, contando con la aprobación del proyecto por parte del comité de ética de esta institución (CE/013/2018). Se utilizaron 24 ratas Wistar machos de 2 meses de edad, con un peso inicial de 250 ± 50 g, que se mantuvieron en el bioterio del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo durante 28 días, a 24 °C con periodos de luz/oscuridad de 12 h (7:00-19:00). Los animales experimentales fueron alimentados *ad libitum* con la dieta isocalórica estándar basada en la Laboratory Rodent Diet 5001 (Círculo ADN), a la cual se le sustituyó la celulosa con 5% de cáscara de mango y la sacarosa por 10% de pulpa de mango (Ironi *et al.*, 2016), manteniendo los porcentajes de macro y micronutrientes para el crecimiento adecuado de los roedores de esta edad (porcentaje de calorías de carbohidratos 57%, proteínas 29% y lípidos 14%) (**Cuadro 5**). Durante el ensayo se llevaron a cabo registros del peso, el consumo de alimento consumido y la glicemia inicial y final. Los animales fueron divididos aleatoriamente en 4 grupos de 6 ratas y tratados de la siguiente manera:

Grupo 1 (CS): Control sano alimentado con una dieta estándar.

Grupo 2 (CD): Control diabético no tratado, alimentado con la dieta estándar. A las 8 semanas de nacidas fueron inyectadas con una dosis única de estreptozotocina (STZ; 60 mg/kg peso) vía intraperitoneal, la cual, mediante su acción como agente alquilante, daña al DNA causando degeneración de las células β del páncreas. Se determinó la glucemia 72 h después (OneTouch UltraMini® meter, Lifescan), y se consideraron como diabéticos los animales que registraron niveles de glucosa ≥ 200 mg/dL.

Grupo 3 (TDM): Diabético con tratamiento, alimentado con una dieta suplementada con cáscara (5%) y pulpa (10%) de mango cv. ‘Ataulfo’, a los cuales se les indujo y comprobó diabetes con STZ al igual que el grupo CD. Los animales recibieron la dieta suplementada con mango durante 28 días posteriores a la inducción.

Grupo 4 (PDM): Diabético con pretratamiento, alimentado con una dieta suplementada con cáscara y pulpa de mango cv. ‘Ataulfo’ durante 14 días previos a la inducción. Después, se les indujo y comprobó diabetes con STZ al igual que el grupo CD. Los animales recibieron la dieta suplementada con mango por 28 días posteriores a la inducción.

Al término del tratamiento, todos los animales se anestesiaron con 120 mg de pentobarbital sódico/kg de peso por vía intraperitoneal, se practicó la eutanasia y se disectaron el cerebelo y la corteza. Durante la disección, los tejidos se trataron constantemente con fluido cerebroespinal artificial (ACSF, por sus siglas en inglés artificial cerebrospinal fluid) frío (5-8 °C). Del total de corteza o cerebelo extraído por animal, ~15 mg de cada uno se sumergió en reactivo TRIzol (Sigma-Aldrich) contenido en tubos Eppendorf estériles libres de nucleasas para extraer RNA total. El resto de tejido se congeló a -80 °C para realizar extractos proteicos con el objetivo de determinar la actividad enzimática y analizar los marcadores indirectos de EO.

Cuadro 5. Composición nutrimental de las dietas experimentales (g/kg).

Ingrediente	CS	CD	TDM	PDM
Almidón ¹	414	414	410	410
Sacarosa	100	100	-	-
Celulosa	50	50	30	30
Caseína ²	320	320	315	315
Aceite de maíz	27	27	25	25
Grasa animal	27	27	25	25
Mix de vitaminas ³	10	10	10	10
Mix de minerales ⁴	30	30	28	28
Cloruro de colina ⁵	2	2	2	2
Agua	20	20	5	5
Cáscara de mango ⁶	-	-	50	50
Pulpa de mango ⁶	-	-	100	100

La sacarosa fue sustituida en un 100% por la pulpa de mango y la celulosa fue sustituida en un 20% por la cáscara de mango en la dieta experimental. Todos los macronutrientes fueron ajustados para brindar la misma cantidad de energía en ambas dietas. Bio-Serv #3200¹; #1100²; #F800³; #F8505⁴; #6105⁵; mercado local de Hermosillo, Sonora, México⁶.

5.1 ETAPA 1: Expresión de Enzimas Antioxidantes

Extracción de RNA

Para cuantificar la expresión de los transcritos de SOD, CAT y GST, se extrajo el RNA total de corteza y cerebelo de cada uno de los animales (N=24) de acuerdo con el procedimiento descrito

por el proveedor Direct-zol RNA MiniPrep R5020 (Zymo Research). El tejido cerebral sumergido en reactivo TRIzol se lisó mecánicamente. La suspensión se centrifugó a 12,000 xg durante 1 min en una microcentrífuga (Thermo IEC, MicroMax RF MicroCentrifuge). Se añadieron 150 µL de etanol (grado biología molecular, 95-100%, Sigma-Aldrich) y se agitó en vórtex por unos segundos. El RNA total se purificó en una columna Zymo-Spin IIC (Zymo Research) colocada en un tubo colector y se centrifugó a 12,000 xg durante 1 min, se descartó el sobrenadante y se añadieron 400 µL de solución Direct-zol RNA PreWash a la columna para centrifugar en las mismas condiciones. Esta etapa se repitió dos veces. Después se agregaron a la columna 700 µL de RNA Wash Buffer para lavar la muestra y se centrifugó por 2 min a 12,000 xg. Finalmente, la columna se transfirió a un tubo Eppendorf estéril, el RNA total se eluyó con 50 µL de agua libre de nucleasas y se centrifugó 2 min a 12,000 xg. La concentración de RNA total se cuantificó por espectrofotometría (Nanodrop 2000, Thermo Fisher) y se almacenó a -80 °C hasta su uso.

Transcripción reversa

Se prepararon los siguientes reactivos en tubos Eppendorf de 200 µL en condiciones estériles:

En el tubo 1 se preparó un concentrado con 5.5 µL de agua libre de nucleasas, 1 µL de cebadores aleatorios [500 µg/mL] y 1 µL de RNA total, agitando en vórtex por 5 s.

En el tubo 2 se preparó un buffer de reacción con 4 µL de buffer-5X de retrotranscriptasa de virus de leucemia murina Moloney (MMLV, por sus siglas en inglés: Moloney murine leukemia virus), 2 µL de ditioneitol (DTT) [0.1 mM], 1 µL de desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTPs) [10 mM] mezclados con 0.5 µL de inhibidor de RNAsas recombinante [40 U/µL]. El tubo 1 se incubó 3 min a 65 °C en un termociclador C1000 (BioRad), una vez a temperatura ambiente, se añadió la solución contenida en el tubo 2. La mezcla de ambos se incubó a 42 °C por 1 min, para añadir 1 µL de la enzima RT-MMLV. La reacción se corrió por 2 h a 42 °C y a 65 °C por 25 min para inactivar la enzima. El producto de reacción final se cuantificó (Nanodrop) y almacenó a -80 °C hasta su uso.

PCR tiempo final

Se llevó a cabo una PCR de tiempo final para comprobar la especificidad de los cebadores diseñados y validar las condiciones utilizadas para su amplificación, lo cual se determina mediante la visualización y comparación de las bandas de DNA con respecto a un marcador de peso

molecular. El diseño de cebadores (sentido y antisentido) se llevó a cabo utilizando el programa BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>, por sus siglas en inglés: basic local alignment search tool) (**Cuadro 6**). En condiciones estériles, se preparó un concentrado de mezcla (master mix) en tubos Eppendorf de 200 µL con los siguientes reactivos: 15 µL de agua libre de nucleasas, 2 µL de buffer para Taq polimerasa 10X (GoTaq Flexi DNA Polymerase, Promega), 1.2 µL de MgCl₂ [25 mM] y una mezcla de 0.2 µL de dNTPs [10 mM] con 0.1 µL de Taq polimerasa [5 U/µL]. Luego de agitar, se agregaron a cada tubo 0.4 µL de la mezcla de cebadores [1 µM] para los genes de interés y 1 µL de cDNA resultante del paso anterior (ver transcripción reversa), para obtener un volumen final de 20 µL. Las mezclas de reacción se corrieron en un termociclador C1000 (BioRad) con el protocolo: 94 °C por 2 min (ciclo inicial de desnaturalización), 94 °C por 40 s (desnaturalización), 60 °C por 1 min (alineamiento) y 72 °C por 40 s (extensión), repitiendo estos tres pasos por un total de 35 ciclos. Al finalizar, las reacciones fueron incubadas a 72 °C por 15 s (extensión final), posteriormente se dejaron enfriar a 4 °C hasta su uso. Este procedimiento se realizó al menos tres veces para cada gen (β-actina, SOD2, CAT, GSTP1).

Cuadro 6. Secuencia de los cebadores utilizados.

Gen	No. de acceso del GenBank	Secuencia 5'-3'	Tm (°C)	Tamaño del amplicón (pb)
SOD2	NM_017051.2	F: GGCCGTGTTCTGAGGAGAG	60	76
		R: TTCTGCCCCGCGCTGC	58	
CAT	NM_012520.2	F: GCTCCGCAATCCTACACCAT	60	97
		R: GGACATCGGGTTTCTGAGGG	60	
GSTp1	NM_012577.2	F: GGGTCGCTCTTTAGGGCTTT	58	90
		R: TTGCATCGAAGGTCCTCCAC	58	
β-actina	NM_031144.3	F: CCCGCGAGTACAACCTTCTT	60	75
		R: TATCGTCATCCATGGCGAACTGG	62	

Electroforesis en agarosa

Se realizó una electroforesis en agarosa para la identificación de las bandas con base al tamaño del producto esperado de los cebadores diseñados. Los productos de PCR se separaron en gel de agarosa al 2% preparado en buffer Tris/borato/EDTA (TBE) 5X, añadiendo 3.6 µL de SYBR-safe DNA (Invitrogen) para la tinción y visualización del amplicón. Cada pozo se cargó con 7 µL del producto de PCR y el gel se dejó correr durante 40 min a una tensión de 80 V. Al finalizar, se

visualizaron las bandas bajo un sistema de transiluminación con luz UV. Se confirmó la presencia de un solo amplicón, y su tamaño se determinó utilizando un marcador de tamaño molecular de DNA de 100 pb [0.1 µg/µL] (Invitrogen) mezclada con buffer de carga TBE 1X. Los resultados fueron fotodocumentados (WiseDoc® Gel Documentation System). Este procedimiento se realizó al menos tres veces para cada gen.

PCR tiempo real

Se llevaron a cabo reacciones de PCR en tiempo real con el objetivo de cuantificar las secuencias específicas amplificadas de los fragmentos de DNA de interés mediante el uso de un fluoróforo específico de DNA bicatenario, monitoreando el producto amplificado en cada ciclo. Cada reacción de PCR tiempo real contuvo: 5 µL de SYBR-Green master mix (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific), 1 µL de cebadores [1 µM]_{final}, 1 µL cDNA (10 ng/µL) (10 ng cDNA/reacción) y 3 µL de agua libre de nucleasas para obtener un volumen final de 10 µL. Las reacciones se realizaron en un termociclador StepOne (Thermo Fisher Scientific) con el siguiente protocolo: 95 °C por 15 s, seguido de 60 °C por 1 min, repitiendo estos pasos por un total de 40 ciclos. Para corroborar la especificidad de los amplicones, las reacciones se llevan de 60 °C a 95 °C con aumentos graduales de 3 °C generando la curva de fusión del producto amplificado. La β-actina fue utilizada como control endógeno (gen de referencia) para normalizar la variación entre la expresión de los genes de interés. El análisis de expresión relativa se realizó mediante la metodología de $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ (Livak y Schmittgen, 2001). Esta metodología se realizó por triplicado (N=12, para cada estructura cerebral).

5.2 ETAPA 2: Actividad de Enzimas Antioxidantes

Los extractos enzimáticos se prepararon a partir del cerebelo y la corteza cerebral de las ratas experimentales. Los tejidos se homogenizaron en buffer de fosfatos [0.05 M] (pH 7.4) con un sonicador (Sonic Dismembrator 100, Fisher Scientific), seguido de centrifugación a 11,000 xg a 4 °C por 10 min (MicroCentrifuge 5415 C, Brinkmann). El sobrenadante recuperado (aproximadamente 1 mL) se utilizó para la cuantificación de proteína y los bioensayos de actividad

enzimática y de productos de oxidación. Todos los experimentos se realizaron por triplicado (N=24).

Cuantificación de proteína

Para determinar la concentración de proteína en los extractos, se utilizó el método de Bradford (1976), el cual se basa en el cambio en el máximo de absorción al interactuar un colorante hidrofóbico (Azul de Coomassie G-250 o “reactivo de Bradford”) con la proteína presente, generando así un complejo azul, explicado por estabilización de la especie aniónica de color azul, que se detecta a 595 nm.

Se realizó una curva de calibración con albúmina bovina sérica (BSA, por sus siglas en inglés: bovine serum albumin) partiendo de una solución inicial de BSA (10 mg/mL), de la cual se realizaron diluciones seriadas con concentraciones de 1.5 a 100 µg/mL. En un pozo de microplaca, se añadieron 160 µL de cada una de las soluciones estándar, muestras (previamente diluidas 1:400) o PBS [0.05 M] pH 7.4 como blanco. Se añadieron 40 µL de reactivo de Bradford a cada una de las soluciones mencionadas y se incubaron por 5 min a temperatura ambiente. La absorbancia se leyó en un lector de microplacas (POLARstar Omega) a 595 nm.

Actividad de SOD

Para determinar la actividad de SOD, se utilizó el método de Marklund y Marklund (1974), que se basa en la inhibición de la autooxidación del pirogalol en condiciones aerobias y básicas.

Se prepararon un buffer Tris [0.05 M] pH 8.2/EDTA [1mM] y una solución de pirogalol [5.5 mM]. Para diferenciar la actividad de SOD2 de las isoformas 1 y 3, se preparó un segundo buffer Tris que también contenía cianuro de sodio (NaCN) [2 mM], el cual inhibe la transferencia de e^- a nivel de los átomos de cobre del centro activo de SOD1 y SOD3 (Marklund, 1984). Se mezclaron en un pozo de microplaca 15 µL de muestra (previamente diluida 1:2) y 250 µL de buffer Tris-EDTA o Tris-EDTA/NaCN. La reacción se inició al agregar 10 µL de pirogalol (concentración final de 0.2 mM), leyendo la absorbancia a 420 nm cada 0.5 s por 1 min en un lector de microplacas (POLARstar Omega), utilizando PBS [0.05M] pH 7.4 como blanco. La pendiente del blanco y las muestras se calculó con base al cambio de la absorbancia contra el tiempo. Los resultados se expresaron en unidades (U), definidas como la cantidad de SOD que inhibe el 50% de la

autooxidación de pirogalol. La actividad específica se representa como el número de unidades (U) SOD por mg de proteína de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$U\ SOD = \frac{\left[100 * \frac{\text{pendiente del blanco} - \text{pendiente de la muestra}}{\text{pendiente del blanco}} \right]}{50 \text{ mg proteína}}$$

Actividad de CAT

La cuantificación de la actividad de CAT se basa en la descomposición de H₂O₂, leída a 240 nm en un medio de reacción con H₂O₂ [30 mM] y buffer de fosfatos de potasio [50 mM] pH 7.0. Para determinar la actividad de CAT, se utilizó el método de Aebi (1984), con ligeras modificaciones.

Brevemente: se preparó una solución de H₂O₂ [30 mM] en buffer de fosfatos [0.05 M] pH 7.0. Se añadieron 600 µL de esta solución en una celda de cuarzo de espectrofotómetro, y se inició la reacción adicionando 50 µL de la muestra, agitando brevemente y leyendo la absorbancia a 240 nm durante 1 min registrando valores cada 0.5 s.

La actividad de CAT en las muestras se calculó con base a la tasa de decremento en absorbancia 240 nm (ΔABS_{240}) utilizando el coeficiente de extinción molar del H₂O₂ de 0.0436 µmol⁻¹cm⁻¹. Una unidad (U) de catalasa se define como la cantidad de enzima que cataliza 1 µmol de H₂O₂ por min. La actividad específica se representa como el número de unidades (U) CAT por mg de proteína de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$U\ CAT = \frac{\Delta\text{ABS}_{340} \left[\frac{\text{vol total}}{\frac{\text{vol muestra}}{0.0436}} \right]}{\text{mg proteína}}$$

Actividad de GST

La actividad de la GST se basa en la conjugación de 1-cloro, 2,4-dinitrobenceno (CDNB) con GSH, dando lugar al aducto de tioeter glutatión-dinitrobenceno (GS-CDNB) (**Figura 7**) de color amarillo, cuya presencia puede registrarse a 340 nm. Para determinar la actividad de GST, se utilizó el método de Habig *et al.* (1974), con ligeras modificaciones.

Se preparó una solución de buffer fosfato de potasio [0.1 M] pH 6.5, glutatión reducido [2.25 mM] y CDBN [2.25 mM]. Se tomaron volúmenes iguales de GSH y CDBN, mezclando suavemente, para obtener una concentración final de 1.125 mM. Posteriormente, se adicionaron 25 µL de homogenado (o 25 µL de buffer como blanco) a un pozo de microplaca y 200 µL de la solución de sustratos GSH y CDBN [1.125 mM de cada uno]. Se leyó la absorbancia en un lector de microplacas (POLARstar Omega) a 340 nm, a 37 °C, cada 15 s durante 15 min.

La actividad de GST se calcula con base a los cambios en absorbancia a 340 nm (ΔABS_{340}), utilizando el coeficiente de extinción molar del GS-DNB de $0.0096 \mu\text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. La actividad específica se representa como el número de unidades (U) GST por mg de proteína, donde una U de GST es la cantidad de enzima capaz de catalizar la unión de 1 µmol de CDBN con GSH por min de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$U \text{ GST} = \frac{\Delta ABS_{340} * \left[\frac{\text{vol total}}{\frac{\text{vol muestra}}{0.0096}} \right] * \text{dilución}}{\text{mg proteína}}$$

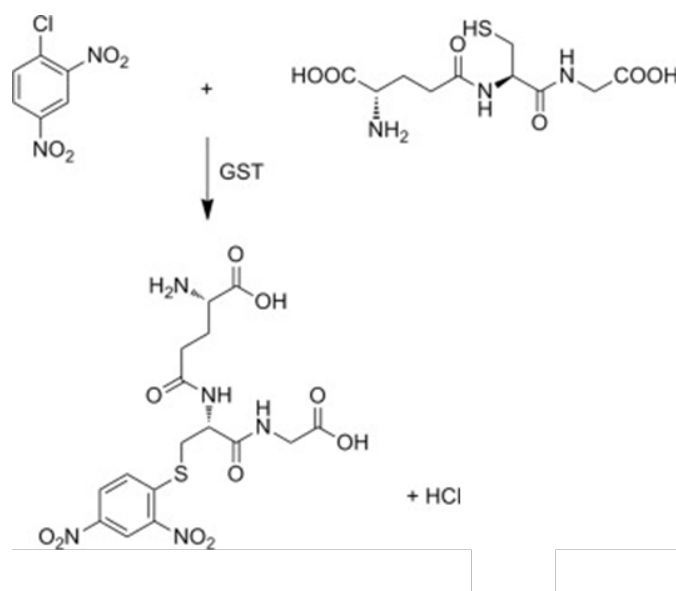


Figura 7. Reacción de conjugación de GSH con CDNB mediado por la enzima GST.

5.3 ETAPA 3: Determinación de Productos de Oxidación

Malondialdehído (MDA)

Para estimar el daño oxidativo a lípidos se utilizó la técnica de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS, por sus siglas en inglés: thiobarbituric acid reactive substances), siguiendo la metodología de Buege y Aust (1978) con ligeras modificaciones. Este método se basa en la medición del MDA, el cual es formado como producto principal de la degradación de ROOH, dicho compuesto reacciona con el ácido tiobarbitúrico (TBA) en un medio ácido para dar un complejo coloreado, cuya absorción máxima es de 535 nm.

Se colocaron 100 μL de muestra en un tubo Eppendorf, a los cuales se añadieron 200 μL de una solución de HCl (0.25 N) ácido tricloroacético (TCA, 15% p/v) y TBA (0.375% p/v) seguido de una incubación en baño seco a 100 $^{\circ}\text{C}$ durante 30 min. Después del periodo de incubación, la muestra se enfrió y centrifugó a 11,000 $\times g$ por 10 min, se tomó el sobrenadante para posteriormente leer su absorbancia a 532 nm.

Se determinó la concentración de MDA utilizando una curva estándar con concentraciones conocidas de 1,1,3,3-tetrametoxipropano en intervalos de concentración de 0.5-20 μM . Se

normalizaron los valores obtenidos con la concentración de proteína de la muestra, para reportarlos como nmol MDA/mg de proteína.

Carbonilos proteicos

La cuantificación de carbonilos proteicos se basa en la reacción de estos grupos asociados a aldehídos o cetonas con 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH), que conduce a la formación de un aducto estable de 2,4-dinitrofenil-hidrazona (DNP), cuya presencia puede ser identificada espectrofotométricamente a 370 nm. Se evaluó el contenido de carbonilos proteicos siguiendo la metodología de Reznick y Packer (1994).

Se añadieron 50 μL de muestra y 100 μL de DNPH [10 mM] disueltos en HCl [2 M], o HCl [2 M] (blanco) en un tubo Eppendorf. La mezcla fue incubada en oscuridad durante 1 h y agitada con vórtex cada 15 min, acto seguido, se añadieron 125 μL de TCA al 20% a cada tubo, se agitó en vórtex y se centrifugó a 11,000 xg a 4 °C durante 3 min, descartando el sobrenadante obtenido. El sedimento obtenido fue lavado con 250 μL de etanol: acetato de etilo (1:1, v/v), se agitó en vórtex y se centrifugó a 11,000 xg durante 3 min para eliminar el DNPH libre, se descartó el sobrenadante obtenido y se resuspendió el sedimento en 150 μL de cloruro de guanidinio 6 M (preparado en buffer de fosfato de potasio 20 mM, pH 2.3 ajustado con ácido fosfórico). Se agitó en vórtex, se incubó a 37 °C durante 15 min, se centrifugó a 11,000 xg durante 3 min, y el sobrenadante obtenido se utilizó para medir la absorbancia en un espectrofotómetro a 370 nm. Se utilizó el coeficiente de extinción molar de 22 $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ para DNPH para calcular la concentración de contenido de carbonilos, y los resultados se informaron como nmol/mg de proteína (Rosa *et al.*, 2015).

Aductos de 8-OHdG

Se utilizó un kit comercial ELISA siguiendo la metodología descrita por el proveedor (BioVision). Durante la reacción, las moléculas de 8-OHdG presentes en la muestra o en el estándar compiten con una cantidad fija de 8-OHdG en el soporte de fase sólida para sitios en el anticuerpo de detección biotinilado específico para 8-OHdG. La densidad del color es proporcional a la cantidad de 8-OHdG capturada de las muestras, la cual se lee en un espectrofotómetro a 450 nm.

5.4 Análisis Estadístico

Los resultados son expresados como la media $\pm$ el error estándar (EE). Se realizó un diseño completamente al azar unifactorial (ANOVA) con una significancia de $p < 0.05$ y un nivel de confianza del 95% mediante el paquete estadístico NCSS 2019. Se realizó una comparación de medias entre tratamientos por medio de la prueba de Tukey-Kramer ($p < 0.05$) en donde el factor experimental fue la dieta suplementada con cáscara y pulpa de mango cv. 'Ataulfo' y las variables respuesta fueron; la actividad de enzimas antioxidantes (SOD, CAT y GST) y los productos de oxidación (MDA, carbonilos proteicos, aductos de 8-OHdG) en cerebelo y corteza de un modelo murino con diabetes inducida. Para la evaluación de la expresión relativa de los genes SOD2, CAT y GSTp1 en ambas estructuras cerebrales, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis con una $p < 0.05$ y un nivel de confianza del 95%.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del consumo de una dieta suplementada con mango sobre:

6.1 El Consumo de Alimento

La **Figura 8** muestra el consumo de alimento diario, representado como promedio por semana para los cuatro grupos experimentales. Se observa que el grupo CD mostró una ingesta de alimento significativamente mayor en comparación con el grupo CS ($p < 0.05$), lo cual sugiere uno de los signos propios de la diabetes, que es la polifagia. El centro regulatorio del hambre y la saciedad se encuentra en el hipotálamo, el cual responde a señales anorexigénicas y adipostáticas mediante hormonas como insulina y leptina. Se ha reportado que en organismos diabéticos, la secreción de estas hormonas se encuentra disminuida (Valenlia *et al.*, 2018), lo cual provoca una reducción de péptidos anorexigénicos como la hormona estimuladora de los melanocitos α y el transcrito relacionado con cocaína anfetamina (α -MSH y CART, por sus siglas en inglés: melanocyte-stimulating hormone y cocaine- and amphetamine-regulated transcript, respectivamente) y un aumento de neuropéptido Y (NPY) en el núcleo arcuato del hipotálamo, causando sensación de apetito (Ahima y Antwi, 2008). A pesar de este comportamiento en el grupo CD, el consumo de la dieta suplementada con mango, ya sea antes o después de presentar la enfermedad, tiene una influencia positiva sobre el aumento de la saciedad ($p < 0.05$) en los grupos TDM y PDM, lo cual podría ser debido al efecto ocasionado por la fibra, o bien, de los compuestos fenólicos. Domínguez-Avila *et al.* (2018), encontraron resultados similares, mostrando una disminución en la ingesta de alimento en los grupos de ratas que fueron suplementados con pulpa de mango liofilizada y extracto de compuestos fenólicos provenientes de la pulpa. Estudios previos han demostrado que los compuestos fenólicos tienen un impacto sobre el crecimiento selectivo de bacterias benéficas de la microbiota (Chacar *et al.*, 2018; Pacheco-Ordaz *et al.*, 2018), las cuales, a través de la producción de ácidos grasos de cadena corta, juegan un papel en la regulación del apetito y la ingesta de alimentos, mediante el aumento de leptina y hormonas intestinales

anorexigénicas, como el péptido-1 similar al glucagón (GLP-1, por sus siglas en inglés glucagon-like peptide-1) y el péptido tirosina-tirosina (PYY) (Byrne *et al.*, 2015).

6.2 La Evolución del Peso Corporal

La **Figura 9** presenta el cambio de peso corporal de los animales durante las 4 semanas del bioensayo, observándose que el grupo CD presentó una ganancia de peso significativamente ($p < 0.05$) menor que el grupo CS. Cuando la glucosa no puede ser internalizada a las células como consecuencia de la falta de insulina, la demanda energética es suplida mediante la utilización de lípidos del tejido adiposo y proteína muscular (Okon *et al.*, 2012). Esto aunado a la glucosuria (presencia de glucosa en orina), conduce a una pérdida de peso, tal como resultó en el grupo CD, a pesar de su aumento en el consumo de alimento (**Figura 8**). No obstante, el grupo PDM, mantuvo una ganancia de peso similar al grupo CS ($p > 0.05$). Dichos resultados concuerdan con los reportados por Gondi *et al.* (2015), quienes suplementaron a ratas diabéticas con 5 y 10% de extracto etanólico de cáscara de mango cv. 'Badami' durante 16 semanas, encontrando que las ratas diabéticas suplementadas con el extracto mostraron una mejora significativa en el peso corporal a lo largo del experimento. Además, la administración de este extracto logró constreñir los niveles de glucosa en orina, glucemia en ayunas, colesterol total, triglicéridos y lipoproteínas de alta y baja densidad.

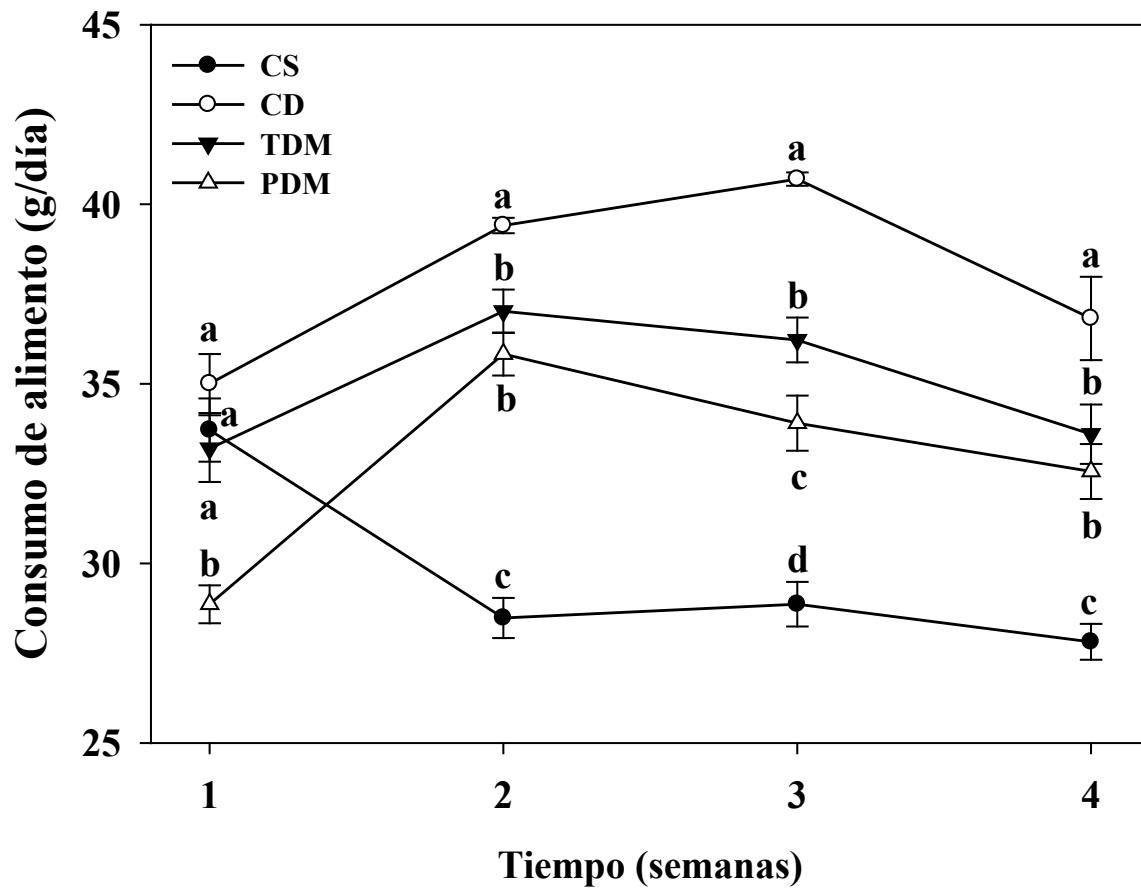


Figura 8. Consumo de alimento diario de ratas diabéticas alimentadas con dieta suplementada con cáscara y pulpa de mango. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético tratado con dieta de mango; PDM: diabético pretratado con dieta de mango. Los resultados se representan como la media $\pm$ error estándar (E.E.) de alimento consumido por semana. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre grupos por semana. (n=6/grupo).

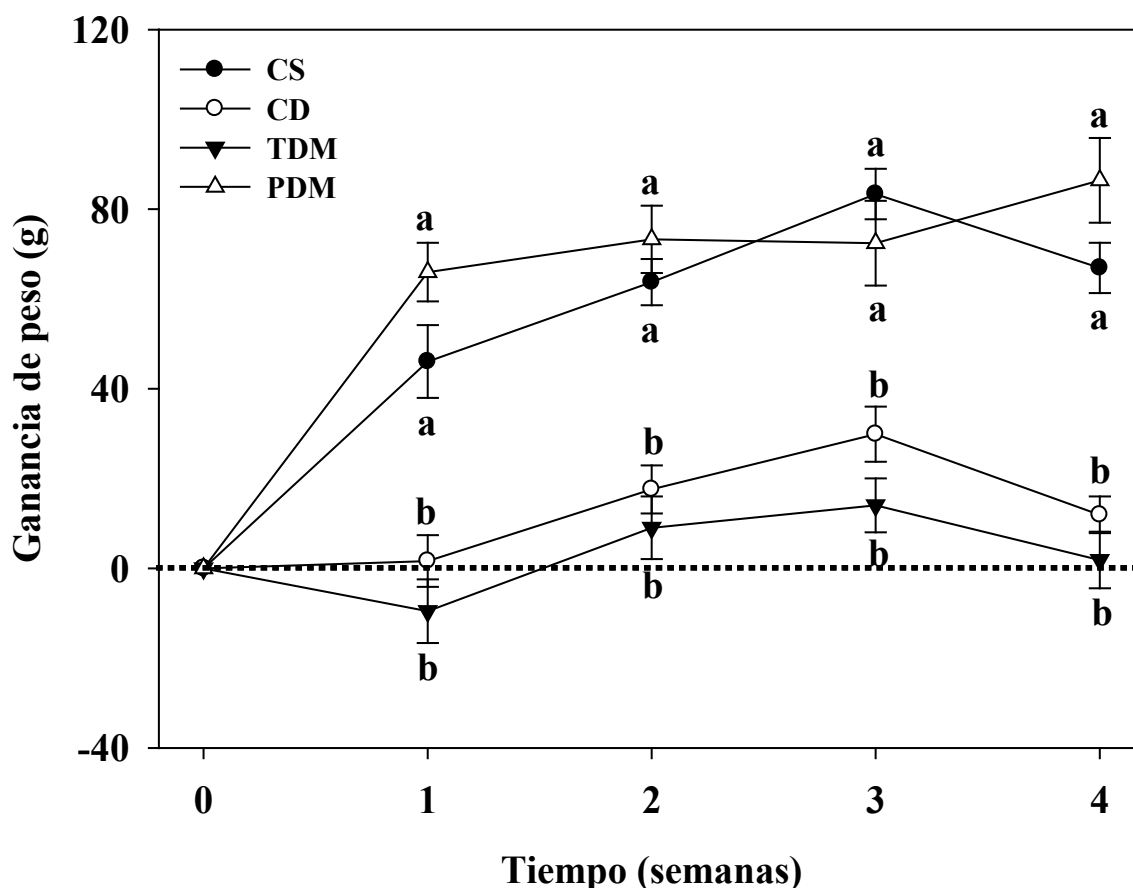


Figura 9. Ganancia de peso semanal de ratas diabéticas alimentadas con dieta suplementada con cáscara y pulpa de mango. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético tratado con dieta de mango; PDM: diabético pretratado con dieta de mango. Los resultados se representan como la media $\pm$ error estándar (E.E.) de dos mediciones del cambio de peso por semana en comparación al peso inicial. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre grupos ($n = 6/\text{grupo}$) por semana.

6.3 Los Niveles de Glucosa Sanguínea

Existen estudios que reportan el efecto protector e insulinogénico de las células β del páncreas por parte de algunos compuestos fenólicos como la mangiferina, la cual es capaz de promover la transcripción de genes relacionados con la regeneración de las células β , disminuir la apoptosis y estimular la secreción y acción de insulina por las células remanentes en modelos inducidos con STZ (Sellamuthu *et al.*, 2013; Sellamuthu *et al.*, 2012; H.-L. Wang *et al.*, 2014). Se ha encontrado que estos compuestos son capaces de aumentar la secreción del GLP-1 por parte de las células L

del intestino, el cual estimula la secreción de insulina postprandial y mejora su respuesta a nivel periférico (J. Domínguez Avila *et al.*, 2017). De la misma forma, se ha reportado que diversos compuestos fenólicos tienen un efecto inhibitorio sobre la dipeptidil peptidasa 4 (DPP4) (Gao *et al.*, 2015), previniendo la hidrólisis del GLP-1. Debido a lo anterior, se puede resaltar que en presencia de insulina, procesos metabólicos como la lipólisis y la gluconeogénesis son inhibidos, disminuyendo la movilización de triglicéridos y las proteínas para la síntesis de ATP, contribuyendo al mantenimiento del peso corporal en el grupo PDM.

Además del aumento en la secreción de insulina, se ha determinado que la mangiferina aumenta la actividad de la hexoquinasa y piruvato quinasa en modelos diabéticos, promoviendo la utilización y el metabolismo de glucosa en tejidos periféricos, disminuyendo por consecuencia la cantidad de glucosa excretada en orina (Sellamuthu *et al.*, 2012). Dichos mecanismos también podrían explicar la tendencia de la disminución de la glucemia ($p > 0.05$) en los grupos TDM y PDM, en comparación con el grupo CD (**Cuadro 7**). En el mismo cuadro, podemos observar que en el grupo CD, la glicemia final aumentó ($p < 0.05$) con respecto a la inicial, mientras que los grupos CS, TDM y PDM los niveles de glucosa sanguínea se mantuvieron iguales ($p < 0.05$) al inicio y al final del experimento.

Dado que la concentración de STZ utilizada en el experimento destruye eficazmente la gran mayoría de las células pancreáticas y causa hiperglucemia persistente, las propiedades antidiabéticas de los compuestos fenólicos, pudieran involucrar acciones extrapancreáticas distintas a la liberación y/o secreción de insulina de las células β de las ratas inducidas por STZ (Muruganandan *et al.*, 2005). Esta hipótesis podría ser respaldada por recientes hallazgos sobre la inhibición de enzimas involucradas en el metabolismo de carbohidratos con la concomitante disminución de la absorción de la glucosa a nivel intestinal. Sekar *et al.* (2019) reportaron la capacidad de acoplamiento de la mangiferina en los sitios catalíticos de las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa mediante un análisis *in silico* (docking molecular), mostrando una energía de unión de -7.4 y -5.67 kcal/mol, respectivamente, similar a la ejercida por la acarbosa, fármaco utilizado comúnmente como inhibidor de dichas enzimas. Otro compuesto presente en el mango que puede ejercer este efecto es el ácido gálico, el cual mostró la inhibición de estas enzimas en un ensayo *in vitro*, utilizando homogenados de tejido pancreático de ratas (Obboh *et al.*, 2016). Se ha reportado también que una suplementación con extracto etanólico de cáscara de mango cv. 'Badami' disminuye la glucemia significativamente ($p < 0.05$) en un modelo diabético, el cual se relaciona directamente con la inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa con valores de IC_{50} de 4.0 y 3.5 μ g/mL, respectivamente (Gondi y Rao, 2015).

Otros de los mecanismos alternos que pudieran explicar el efecto antidiabético por parte de los compuestos fenólicos, se ha relacionado con modificaciones en el transporte o movilidad de proteínas transmembranales. Por ejemplo, la translocación de transportadores de glucosa (GLUTs) o la inhibición de los cotransportadores de sodio-glucosa (SGLT, por sus siglas en inglés: sodium-glucose transport proteins). Se ha demostrado que el ácido gálico, a una concentración máxima de 10 mM, induce la translocación del GLUT4 y la absorción de glucosa en líneas celulares de tejido adiposo 3T3-L1 mediante la fosforilación del receptor de insulina, activación de la fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K) e inducción de la señalización la proteína quinasa B (PKB/Akt) y proteínas quinasas atípicas (aPKCs, por sus siglas en inglés: atypical protein kinases) (Vishnu Prasad *et al.*, 2010). Los SGLT se encuentran presentes en las células epiteliales del intestino delgado (SGLT1) y en los túbulos proximales del riñón (SGLT2), estos juegan un papel en la absorción y resorción de la glucosa, proponiéndose como blancos terapéuticos en el tratamiento de la diabetes. Se ha encontrado que la quercetina y sus análogos glicosilados, pueden inhibir selectivamente al SGLT2, promoviendo la glucosuria y disminuyendo la glucemia (Nicolle *et al.*, 2011). En años más recientes, se demostró que el consumo de un extracto de manzana, con un contenido de 16 mg de florizina y 12 mg de quercetina/100 mg PS, aumentó hasta 4 veces la glucosuria en hombres sanos e inhibió al SGLT1 en ratas de manera dosis-dependiente, mediante el método de yeyuno invertido, al disminuir la absorción de metil- α -D-glucopiranososa [1 mM] con un valor de EC_{50} de 8.9 ± 2.2 μ g/mL (Schulze *et al.*, 2014). La **Figura 10** resume los mecanismos de acción de los compuestos fenólicos relacionados a la modificación de distintas vías relacionadas con la diabetes.

Cuadro 7. Efecto del consumo de una dieta suplementada con cáscara y pulpa de mango cv. ‘Ataulfo’ sobre los niveles de glucosa en ayuno en ratas diabéticas inducidas por STZ.

Parámetro	Semanas	CS	CD	TDM	PDM
Glucosa (mg/dL)	0	84.57 $\pm$ 5.14 ^a	322.83 $\pm$ 25.29 ^b	353.16 $\pm$ 20.53 ^b	298.85 $\pm$ 18.90 ^b
	4	83.71 $\pm$ 4.77 ^a	434.00 $\pm$ 39.95 ^{b*}	432.00 $\pm$ 68.94 ^b	306.71 $\pm$ 20.97 ^b

CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético tratado con dieta de mango; PDM: diabético pretratado con dieta de mango. Los resultados se representan como la media $\pm$ error estándar (E.E.) de glucemia inicial y final con 12 h de ayuno. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre grupos. (n=6/grupo) *Indican diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de glucosa inicial y final por grupo evaluados por la prueba de t pareada ($p < 0.05$).

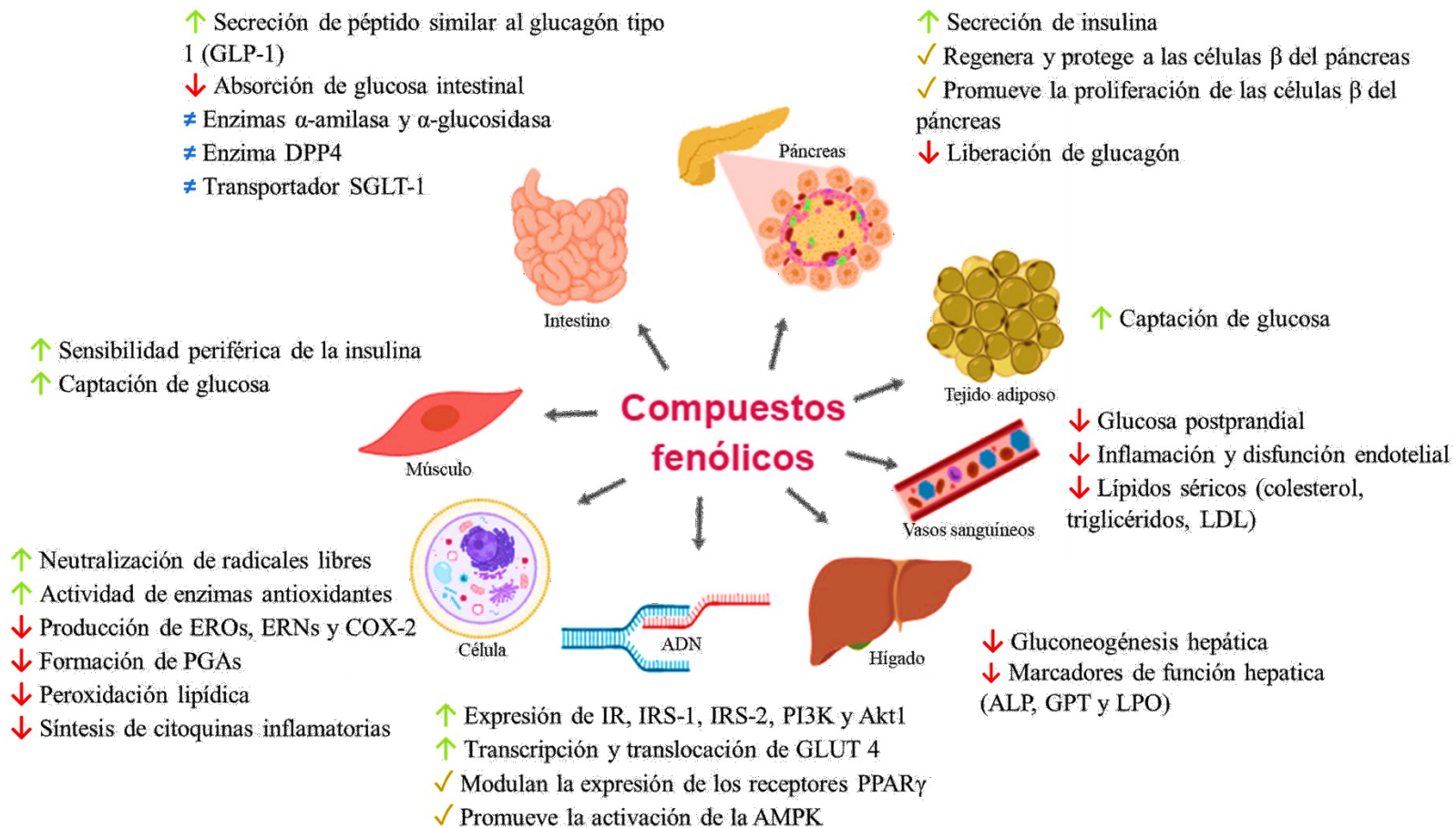


Figura 10. Mecanismos de acción de los compuestos fenólicos relacionados a la diabetes y comorbilidades.

COX-2: ciclooxigenasa 2; PGAs: productos finales de glicación avanzada; IR: receptor de insulina, por sus siglas en inglés insulin receptor; IRS-1: sustrato receptor de insulina 1, por sus siglas en inglés insulin receptor substrate 1; IRS-2: sustrato receptor de insulina 2, por sus siglas en inglés insulin receptor substrate 2; Akt1: proteína quinasa B, por sus siglas en inglés protein kinase B; AMPK: proteína quinasa activada por AMP, por sus siglas en inglés AMP-activated protein kinase; PPAR γ : receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma, por sus siglas en inglés peroxisome proliferator-activated receptor gamma; LDL: lipoproteínas de baja densidad, por sus siglas en inglés low-density lipoprotein; ALP: fosfatasa alcalina, por sus siglas en inglés, alkaline phosphatase; GPT: transaminasa glutámico-pirúvica, por sus siglas en inglés glutamic-pyruvic transaminase; LPO: peroxidación lipídica, por sus siglas en inglés lipid peroxidation.

↑: aumento ↓: disminución ✓: promoción/modulación ≠: inhibición

6.4 La Actividad de Enzimas Antioxidantes

Debido a que el cerebro es un órgano compuesto mayoritariamente por lípidos, tiene una tasa metabólica elevada, presenta niveles bajos de enzimas antioxidantes y no requiere insulina para la internalización de la glucosa, es de esperar que la hiperglucemia genere mayor producción de EROs y RLs que conlleven a un mayor daño oxidativo. Por consiguiente, enzimas antioxidantes como SOD y CAT, y enzimas de detoxificación de fase II como GST, tienen un papel primordial en la inhibición y eliminación de EROs en el cerebro. Múltiples estudios han encontrado que la actividad de estas enzimas tienden a disminuir en organismos diabéticos, posiblemente debido al exceso en la producción de las moléculas oxidantes, dando lugar a la inactivación de las mismas (International Journal of Molecular Medicine Abdel-Moneim *et al.*, 2017; Réus *et al.*, 2016; Sharma *et al.*, 2015). Sin embargo, esos estudios no son concluyentes, ya que en otras publicaciones se reporta que la actividad de SOD, CAT y GST, se ve incrementada como posible mecanismo compensatorio para tratar de contrarrestar los daños causados por EROs en condiciones de hiperglucemia (Cho *et al.*, 2002; Sadi y Konat, 2016). Por otra parte, diversos autores han demostrado que la utilización de extractos de plantas, y, específicamente de sus compuestos bioactivos, pueden aumentar la actividad de las enzimas antioxidantes, en modelos murinos inducidos por STZ, con una consecuente reducción de daño oxidativo en distintos tejidos (Ola *et al.*, 2015; Sheweita *et al.*, 2016; Uzar *et al.*, 2012).

En el presente trabajo se observó un aumento significativo ($p < 0.05$) de SOD total en corteza en los grupos diabéticos (TDM y PDM) en comparación con el grupo CS. Sin embargo, en cerebelo no se observaron diferencias ($p > 0.05$), no obstante, las principales disparidades estuvieron dadas por el incremento de la actividad de SOD1 a expensas de SOD2 en los tres grupos diabéticos en comparación con el grupo CS, en ambas estructuras cerebrales (**Figuras 11 y 12**). A pesar de que SOD2 es considerada como la isoforma de mayor importancia por proteger directamente a la mitocondria del daño por EROs, su expresión es más elevada en órganos como hígado, riñón y corazón (Yon *et al.*, 2008). Por otro lado, parece ser que SOD1 tiene una actividad imprescindible en tejido cerebral, ya que se ha encontrado en diversos estudios que mutaciones en esta isoforma se relacionan con el desarrollo de esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad neurodegenerativa que afecta a las neuronas motoras (Al-Chalabi *et al.*, 2017; Kaur *et al.*, 2016). El aumento general en

la actividad de SOD podría estar explicado por el fenómeno de hiperglucemia, que, como se mencionó previamente, promueve la generación de $O_2^{\bullet-}$, por lo que la sobreproducción de SOD es necesaria para la conversión de $O_2^{\bullet-}$ a H_2O_2 . En un estudio realizado por Sadi y Konat (2016) se observó un comportamiento similar en cerebro al inducir a las ratas con 55 mg/kg de STZ, además, reportaron que al administrar una dosis de resveratrol (20 mg/kg/día) intraperitoneal durante 4 semanas, el grupo diabético tratado aumentó la actividad enzimática de ésta enzima, aunado a la disminución del daño oxidativo. Estos estudios demuestran el papel que juegan los antioxidantes de distintas fuentes vegetales, en la modulación del mecanismo antioxidante enzimático y no enzimático, y, en consecuencia, la protección de los distintos tejidos, reduciendo los posibles daños causados por las EROs y RL.

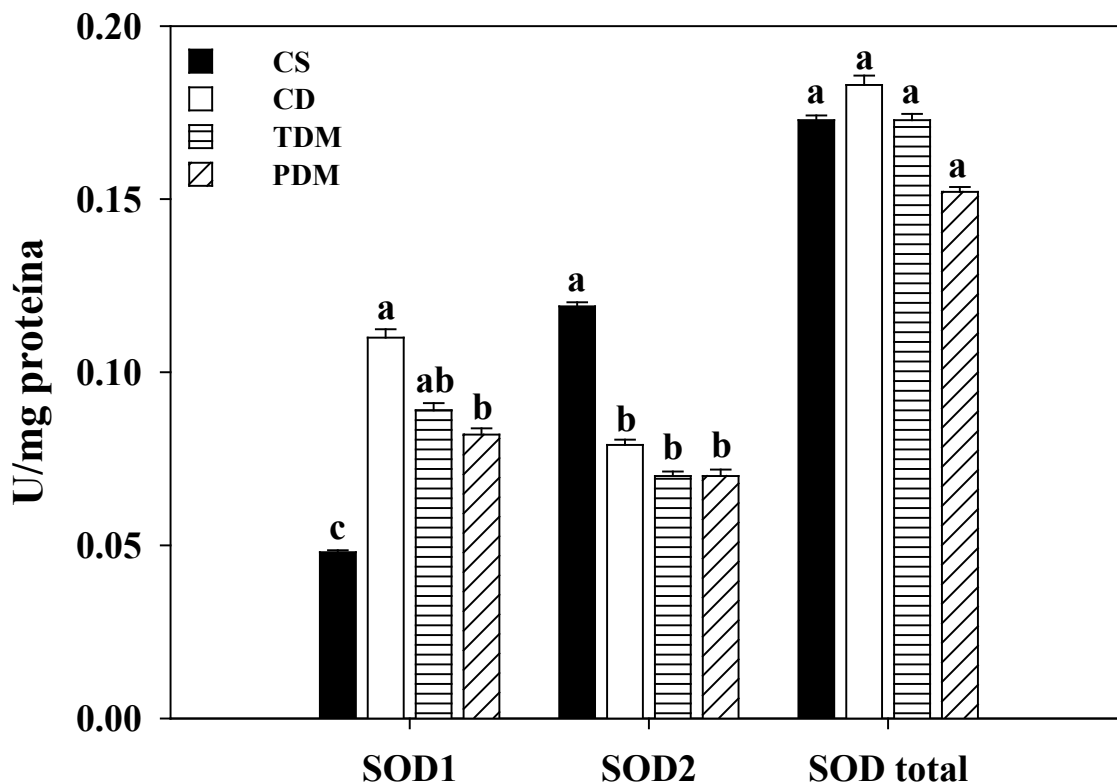


Figura 11. Actividad enzimática de SOD1, SOD2 y SOD total en cerebelo. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético tratado con dieta de mango; PDM: diabético pretratado con dieta de mango. Los resultados se representan como la media $\pm$ error estándar (E.E.) de una medición realizada por triplicado de cada animal por grupo. Literales diferentes indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0.05$).

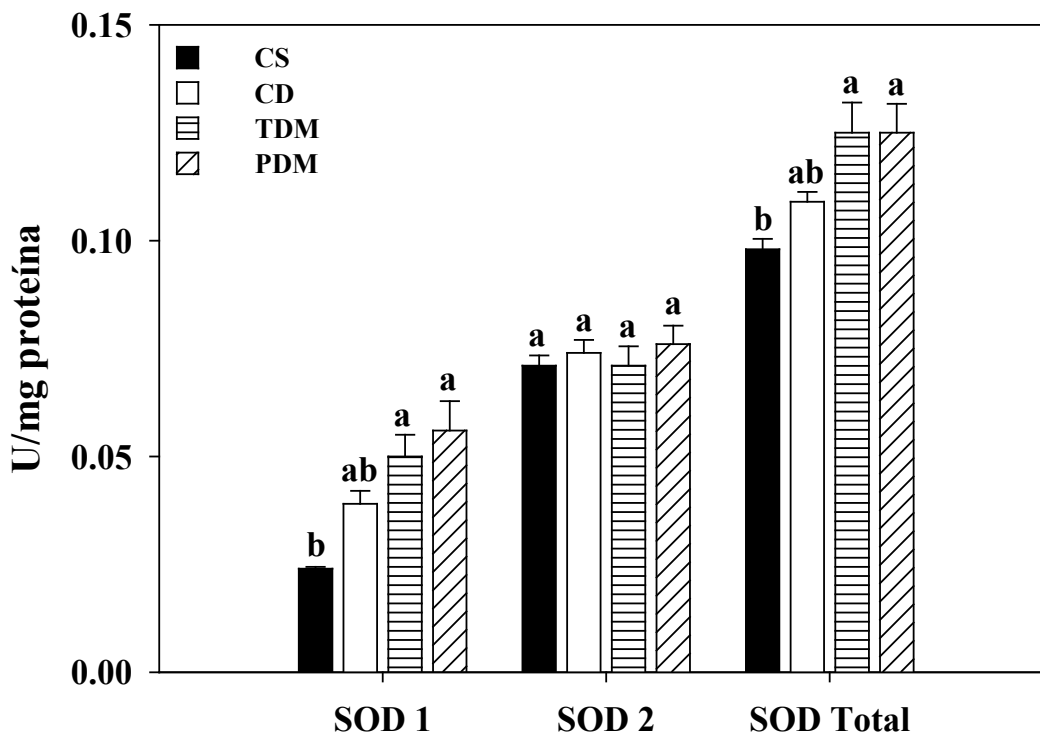


Figura 12. Actividad enzimática de SOD1, SOD2 y SOD total en corteza. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético tratado con dieta de mango; PDM: diabético pretratado con dieta de mango. Los resultados se representan como la media $\pm$ error estándar (E.E.) de una medición realizada por triplicado de cada animal por grupo. Literales diferentes indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0.05$).

Con respecto a la actividad de CAT, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre grupos, sin embargo, en corteza se observa una tendencia al aumento en la actividad de esta enzima en los grupos CD, TDM y PDM (**Figura 13**). De acuerdo con lo observado para SOD (**Figuras 11 y 12**), su actividad se ve incrementada en los tres grupos de ratas diabéticas, por lo que la cantidad de H_2O_2 que pudo haberse producido en esa etapa, pudiera estar relacionada directamente con la actividad de CAT, la cual se encarga de su conversión a H_2O y O_2 . La CAT trabaja de manera conjunta sobre los productos generados por SOD, y a pesar de su baja afinidad por el H_2O_2 , no es saturada a altas concentraciones de este sustrato, siendo la enzima antioxidante más eficaz en el organismo, con una velocidad de reacción de 10^7 min^{-1} (Fernandes *et al.*, 2007). Mientras algunos estudios indican que las ratas hiperglucémicas tienden a disminuir significativamente ($p < 0.05$) la actividad enzimática de CAT con respecto al control (Elbe *et al.*, 2015; Foster *et al.*, 2017; Lee, 2006; Raish *et al.*, 2016), otros han visto un comportamiento contrario en hígado (Cho *et al.*, 2002),

corazón y riñón (Kakkar *et al.*, 1995) de ratas inducidas por STZ. Por lo que, al parecer, la actividad está en función del tejido evaluado, así como la severidad y tipo de daño.

La idea de suministrar un tratamiento con compuestos bioactivos para el aumento en la actividad de esta enzima y disminución del EO en ratas diabéticas, ha sido puesta en práctica por diversos autores, obteniendo resultados positivos al utilizar ácido gálico (20 mg/kg) y ácido *p*-cumárico (40 mg/kg) durante 35 días (International Journal of Molecular Medicine Abdel-Moneim *et al.*, 2017), ácido elágico (50 mg/kg) durante 21 días (Uzar *et al.*, 2012), o bien, mediante la suplementación de la dieta con 5 o 10% de cáscara de mango cv. ‘Badami’ por 16 semanas (Gondi *et al.*, 2015). No obstante, en el presente trabajo no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el grupo TDM o el grupo PDM, después de 28 días, con respecto al grupo CD.

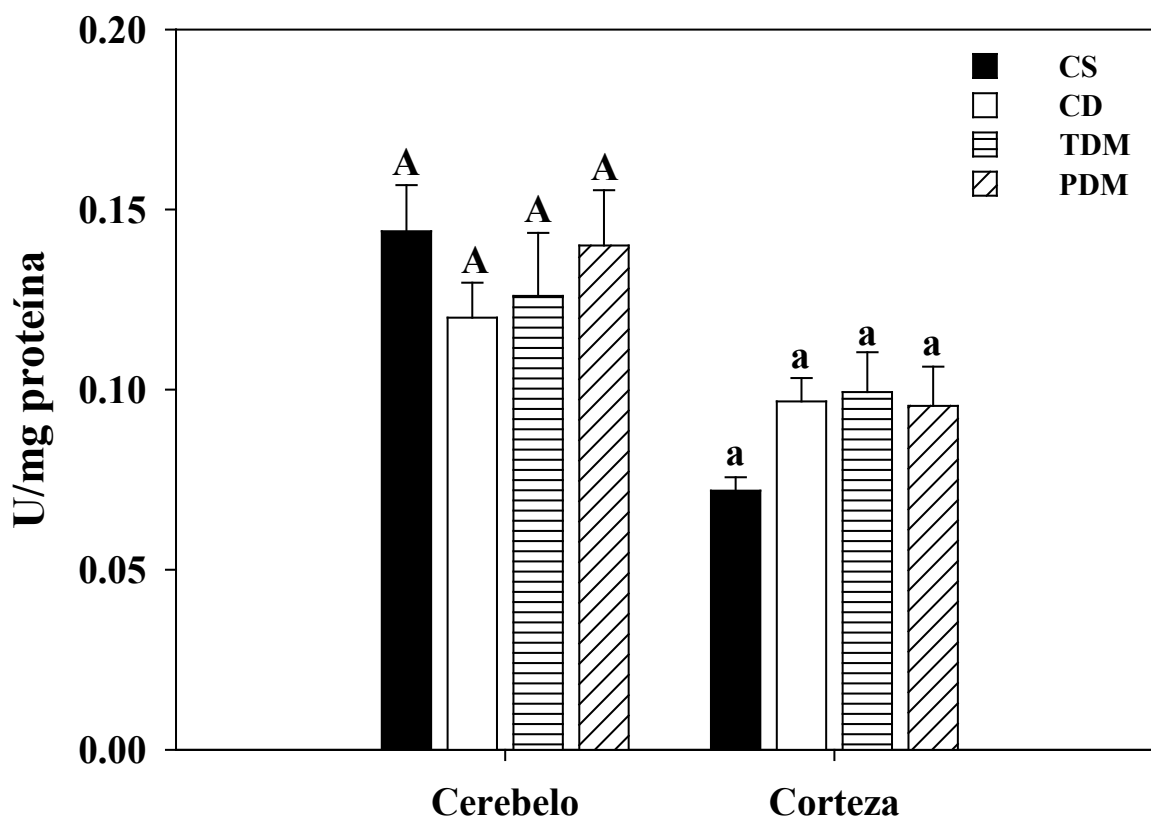


Figura 13. Actividad enzimática de CAT en cerebelo y corteza. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético tratado con dieta de mango; PDM: diabético pretratado con dieta de mango. Los resultados se representan como la media $\pm$ error estándar (E.E.) del valor de una medición única de cada animal por grupo. Literales mayúsculas diferentes indican diferencias significativas en cerebelo ($p < 0.05$). Literales minúsculas diferentes indican diferencias significativas en corteza ($p < 0.05$).

La GST cataliza la conjugación de GSH con moléculas electrofílicas, para la detoxificación de compuestos resultantes del EO como lo son los ROOH y aldehídos insaturados (Nunes *et al.*, 2017), además, aumenta la solubilidad de distintos xenobióticos que pudieran servir como cofactores para la formación de EROs y RLs. La **Figura 14** muestra la actividad de GST en cerebelo y corteza, observándose un incremento significativo ($p<0.05$) en ambas estructuras cerebrales en el grupo PDM en comparación con el grupo CS. La acción que ejercen algunos compuestos fenólicos y carotenoides sobre la neutralización de EROs y RLs es bien conocido, la presencia de estas moléculas puede detener procesos de peroxidación lipídica, estabilizando radicales ROO• y •OH (Ajila *et al.*, 2007). Al ser el cerebelo una estructura con mayor composición de lípidos y materia blanca (0.0287 cm^3) (Bush y Allman, 2003; Gilmore *et al.*, 2009; Salamon *et al.*, 2007), presenta una mayor susceptibilidad a daño por tóxicos, EROs y RLs, por lo que el incremento de la actividad de GST dado por el pretratamiento con mango, podría favorecer la protección de la integridad estructural y funcional de las membranas celulares. En un estudio realizado por Elberry *et al.* (2015), se reportó que la actividad de esta enzima se ve disminuida en el hígado de ratas diabéticas, sin embargo, al administrar un extracto metanólico de *Marrubium vulgare* L. (planta con altas concentraciones de compuestos fenólicos y flavonoides), se logró normalizar la actividad de GST (Elberry *et al.*, 2015), que a su vez correlacionó con la disminución de MDA. En este sentido, se midieron los niveles de MDA para poder hacer comparaciones e inferencias entre la actividad de enzimas antioxidantes analizadas y el daño causado por oxidación lipídica.

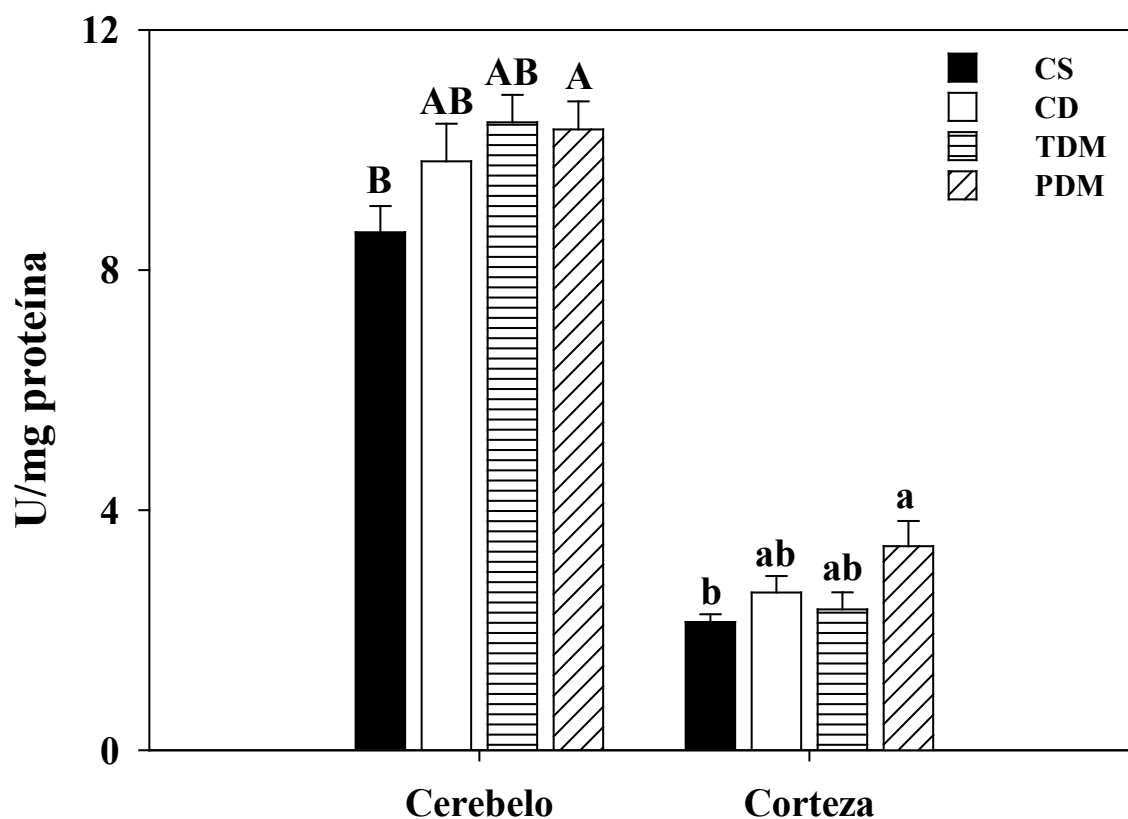


Figura 14. Actividad enzimática de GST en cerebelo y corteza. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético tratado con dieta de mango; PDM: diabético pretratado con dieta de mango. Los resultados se representan como la media $\pm$ error estándar (E.E.) de una medición realizada por triplicado de cada animal por grupo. Literales mayúsculas diferentes indican diferencias significativas en cerebelo ($p < 0.05$). Literales minúsculas diferentes indican diferencias significativas en corteza ($p < 0.05$).

6.5 La Expresión de Enzimas Antioxidantes

En materia de diabetes, no existe un panorama claro en cuanto a la expresión de los genes que codifican para enzimas antioxidantes endógenas; mientras que algunos autores aseveran que su expresión y actividad se ven disminuidas bajo esta condición patológica (Sadi *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2015), otros hablan de un mecanismo compensatorio por el aumento de EROs y RL (Idris-Khodja *et al.*, 2016; Sadi y Konat, 2016). Con la finalidad de explorar si los cambios en la actividad enzimática de SOD, CAT y GST son causados por cambios en la regulación de la expresión génica,

se llevó a cabo un estudio de PCR a tiempo real en cerebelo y corteza de los cuatro grupos experimentales.

En la **Figura 15a** se muestra que la expresión de SOD2 no se afectó significativamente ($p > 0.05$) por la diabetes, no obstante, tiende a disminuir en corteza y cerebelo del grupo CD. Resulta interesante que la expresión de esta enzima disminuye en el cerebelo del grupo TDM, mientras que en la corteza aumenta ($p < 0.05$) hasta 1.84 veces más, en comparación con el grupo CS. Esto puede deberse a la priorización de la protección contra el EO en corteza, la cual cumple un rol imprescindible en la memoria en la ejecución motora, percepción sensitiva y función cognitiva, cuya pérdida se ha visto asociada con la muerte neuronal en enfermedades como el Alzheimer en modelos diabéticos (Kandimalla *et al.*, 2017; Kwakowsky *et al.*, 2018). A pesar de esto, no todo el transcrito de SOD2 es traducido a una proteína funcional, ya que no se asocia directamente con los resultados para la actividad específica de SOD2 en la corteza del grupo TDM, en donde no existen diferencias entre grupos, pero se reporta un incremento significativo ($p < 0.05$) en la actividad de la isoforma SOD1 y en la actividad total de la enzima (**Figura 12**). Sadi *et al.* (2015) publicaron resultados similares en cuanto al aumento de expresión de SOD2 en hígado, causado por la suplementación con resveratrol (20 mg/kg/día) en un grupo de ratas diabéticas.

Lo anterior parece estar explicado por la represión del Nrf2 en dicha patología y el efecto modulador de los tratamientos basados en la administración de compuestos fenólicos, los cuales regulan la señalización de Nrf2, impactando a su vez a enzimas antioxidantes.

Por otro lado, se ha descrito en la literatura que un aumento en la expresión génica de NF- κ B y una disminución de Nrf2 y sirtuina 1 (SIRT1) en diabetes, se asocia con una disminución significativa de la expresión del gen que codifica para CAT, cuyos niveles pueden ser restaurados al tratarse con compuestos con actividad antioxidante (Sadi *et al.*, 2014). En el presente estudio, la expresión relativa de CAT se redujo en el cerebelo de todos los grupos diabéticos (CD, TDM y PDM) con relación al grupo CS, invariablemente del tratamiento administrado ($p < 0.05$) (**Figura 15b**). En un estudio reciente, Sadi *et al.* (2019) demostraron que no existe una regulación positiva de la expresión de CAT en los riñones de ratas diabéticas al administrarles una dosis de resveratrol intraperitoneal diaria (20 mg/kg), que en contraste con estudios anteriores realizados en hígado y cerebro por los mismos autores, se reafirma que la regulación transcripcional de algunas enzimas antioxidantes es tejido-específica (Sadi *et al.*, 2015; Sadi y Konat, 2016). La supresión parcial de la expresión génica de CAT en los grupos diabéticos del presente estudio, puede atribuirse al

incremento de la producción de EROs, que activan al NF- κ B, el cual está involucrado en procesos autoinmunes e inflamatorios que generan más EROs (Negi *et al.*, 2011), por lo que es posible que la influencia de la dieta no haya sido suficiente para tener un efecto significativo en la modulación los factores de transcripción NF- κ B y Nrf2.

En el estudio de Sadi *et al.* (2008) se determinó que no hay una regulación genética positiva en la expresión de CAT en el hígado de ratas diabéticas tratadas con dos potentes antioxidantes, como lo son el ácido α -lipoico libre y vitamina C (50 mg/kg/día). Se conoce que una disrupción del estado redox puede afectar la translocación al núcleo de algunos factores de transcripción sensibles al EO, ya que, como se mencionó previamente, el estado redox en organismos diabéticos puede dañar a las proteínas involucradas en las vías de señalización activadas por los factores de transcripción encargados del proceso de transcripción de enzimas antioxidantes y de detoxificación. Por lo tanto, la disminución de la transcripción de CAT en los grupos diabéticos y su nulo efecto en la actividad enzimática sugiere una modulación post-traducciona, la cual no está asociado con la inducción de su síntesis.

La activación de la vía del Nrf2 y su unión al promotor ARE, también promueve la expresión de genes que codifican enzimas de detoxificación de fase II como las GST, cuya función en modelos animales con enfermedades asociadas al EO ha sido descrita con anterioridad. En el cerebro, la mayoría de estas enzimas se localizan en las células de la glía, protegiendo a las neuronas contra el EO mediante la conjugación del glutatión con sustancias citotóxicas. Wahid *et al.* (2013) reportaron que existe una disminución en la expresión de la isoforma GSTp1 en muestras de tumores cerebrales, mientras que Chang *et al.* (2013) sostienen que hay una regulación negativa en la expresión de proteínas de GSTp1 en corteza cerebral, relacionada con la progresión de la enfermedad de Alzheimer, en un modelo murino transgénico Tau. Es así que queda claro que la función de GST es imprescindible en procesos inflamatorios, de carcinogénesis, entre otros mecanismos asociados al daño celular por EO.

En el presente trabajo no se observaron cambios significativos ($p > 0.05$) en la expresión de GSTp1 influenciada por la diabetes, ya que, en los grupos CS y CD, no hubo cambios a nivel de expresión ni en la actividad total de GST. Por otro lado, la expresión aumentó significativamente ($p < 0.05$) en cerebelo y en corteza en el grupo PDM (9.6 y 2.5 veces, respectivamente) y en la corteza del grupo TDM (4.1 veces) (**Figura 15c**). Esto a su vez, concuerda con el incremento de la actividad enzimática de GST en ambas estructuras cerebrales (**Figura 14**), sugiriendo que GSTp1 pudiera

ser la enzima que regula en mayor medida la actividad total de GST, en comparación con las demás isoformas, y que los cambios generados en esta enzima bajo la influencia de la dieta son a nivel transcripcional y funcional. Datos similares se obtuvieron a través de tratamientos con 50-200 μM de ácido vanílico y 50-400 μM de ácido *p*-cumárico (dos compuestos fenólicos principales en el mango) (Quirós-Sauceda *et al.*, 2017), en dónde se mostró un incremento en la expresión de GSTp1 de 1.2 veces más en líneas celulares de cáncer de colon, mejorando la defensa contra la toxicidad causada por diversos agentes (Altay *et al.*, 2017). Adilijiang *et al.* (2016) lograron restaurar la expresión proteica de GSTp1 en corteza prefrontal, así como mejorar los síntomas depresivos y pérdida de memoria en un modelo murino con desmielinización inducida, mediante la administración oral de un extracto de nueces (alto en terpenos y flavonoides) durante 8 semanas. El efecto sobre la activación o inhibición de ciertos factores de transcripción asociados a la defensa antioxidante endógena, generado por algunos fitoquímicos se representa de manera simplificada en la **Figura 16**.

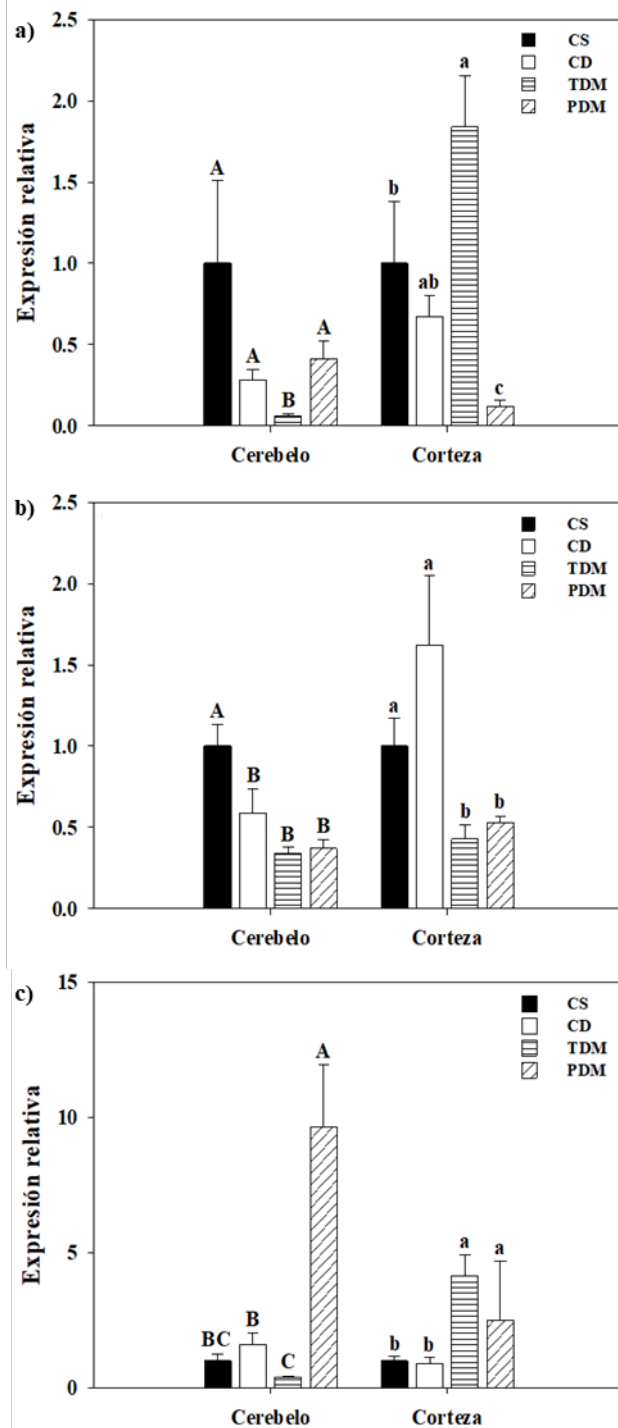


Figura 15. Niveles de expresión relativa de los genes de enzimas antioxidantes en cerebelo y corteza. a) SOD2 b) CAT c) GSTp1. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético tratado con dieta de mango; PDM: diabético pretratado con dieta de mango. Los datos fueron normalizados con β -actina 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 3 animales por grupo. La comparación entre grupos se realizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos. Literales mayúsculas diferentes indican diferencias significativas en cerebelo ($p < 0.05$). Literales minúsculas diferentes indican diferencias significativas en corteza ($p < 0.05$).

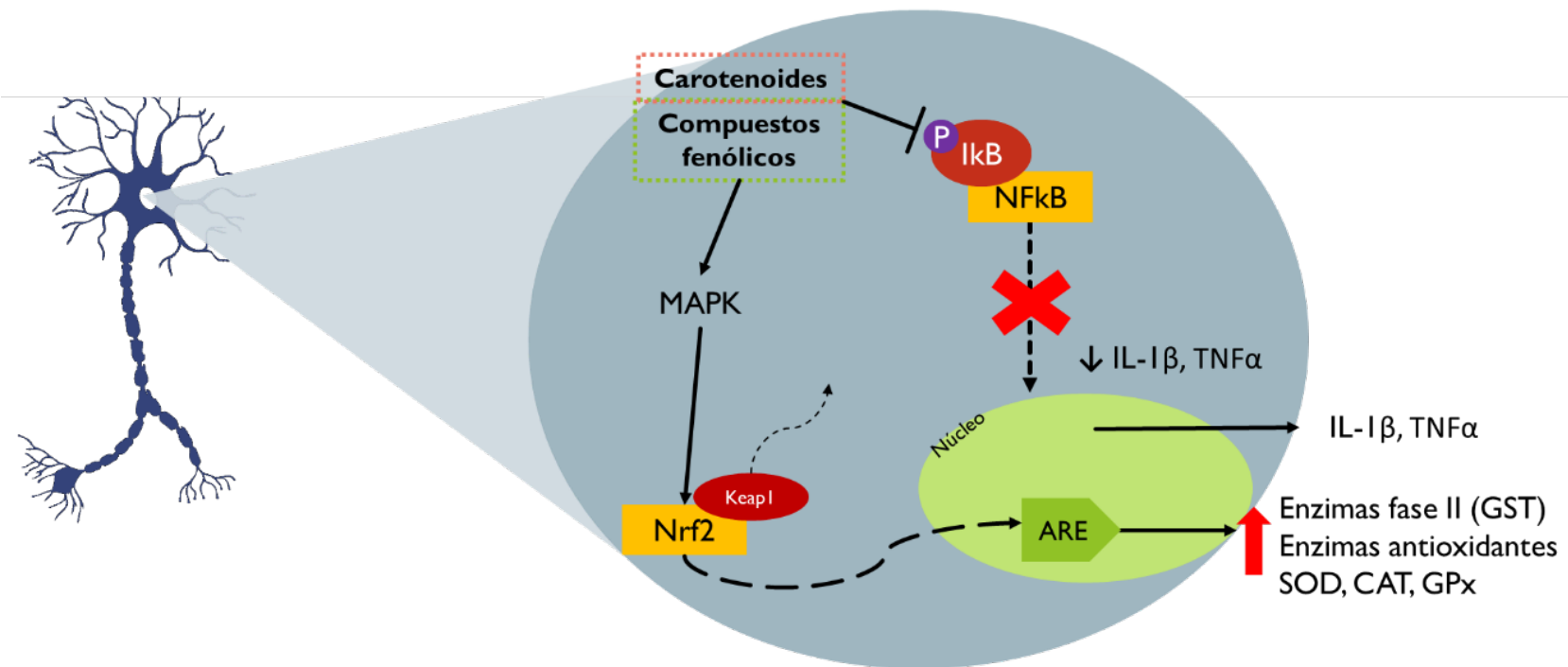


Figura 16. Posibles mecanismos de regulación genética mediada por compuestos bioactivos del mango en neuronas. Algunos compuestos fenólicos tienen la capacidad de estimular la vía de las MAPK promoviendo la fosforilación del Nrf2 en sus residuos de serina y treonina, causando la disociación de Keap1 y la consecuente translocación del Nrf-2 al núcleo. En el núcleo se une con el ARE, implicado en la transcripción de genes que codifican para enzimas antioxidantes como SOD, CAT, GPx y enzimas de fase II como la GST, NADPH quinona oxido-reductasa-1 (NQO1) y hemo oxigenasa-1 (HO-1), las cuales contribuyen a la protección de la célula a través de la eliminación de EROs. Diversos compuestos fenólicos y carotenoides pueden irrumpir la fosforilación del inhibidor del factor de transcripción NF-κB moderando la respuesta a estrés por reducción de la expresión de citoquinas inflamatorias.

6.6 Los Productos de Oxidación

Los ROOH son productos primarios generados durante la etapa de propagación en la peroxidación lipídica, que al hidrolizarse dan lugar a productos de oxidación secundaria como aldehídos, cetonas, epóxidos y algunos RLs ($\text{ROO}\bullet$, el radical alcoxilo ($\text{RO}\bullet$) y $\bullet\text{OH}$) los cuales actúan generando más RLs mediante reacciones en cadena, causando daño estructural y funcional de las membranas celulares (Shahidi y Zhong, 2010). En este sentido, los RLs aceleran la peroxidación de ácidos grasos insaturados (AGIs) con la consecuente producción de MDA, al cual se le atribuyen interacciones con ácidos nucleicos y proteínas que conllevan a irregularidades en el funcionamiento celular relacionados a la patogénesis y progresión de algunas enfermedades (Del Rio *et al.*, 2005; Moussa, 2008). En el caso particular de la diabetes, se ha documentado que la peroxidación lipídica da lugar a la progresión de complicaciones secundarias crónicas, las cuales incluyen aterosclerosis y desórdenes neuronales como Parkinson y Alzheimer (Dei *et al.*, 2002; Reddy *et al.*, 2009; Tiwari *et al.*, 2013; Tsikas, 2017). En un estudio realizado por Bandeira *et al.* (2012), se reportan niveles de MDA aumentados en plasma y eritrocitos de individuos con DM2, con un consecuente aumento en la actividad de SOD total relacionado a la hiperglucemia, de manera similar a los resultados observados en la corteza cerebral en el presente trabajo (**Figura 12**). De la misma manera, se ha mostrado que las cifras de MDA se ven incrementadas de un 30 a un 50% en suero, riñón, hígado y cerebro de modelos murinos inducidos a diabetes por STZ (Al-Jameel y El-Rahman, 2017; Sheweita *et al.*, 2016; Unsal *et al.*, 2016).

Los niveles de MDA encontrados en los grupos diabéticos (CD, TDM y PDM) fueron significativamente mayores ($p < 0.05$) que los del grupo CS, tanto en cerebelo como en corteza (**Figura 17**). Estudios previos reportan que un tratamiento con ácido gálico (20 mg/kg/día) y ácido *p*-cumárico (40 mg/kg/día) por 6 semanas, disminuye significativamente ($p < 0.05$) el daño oxidativo asociado a la diabetes en el hipocampo de ratas diabéticas inducidas por STZ, aumentando la actividad de enzimas antioxidantes con la consiguiente reducción de los niveles de MDA (International Journal of Molecular Medicine Abdel-Moneim *et al.*, 2017). Resultados similares fueron obtenidos por Sharma *et al.* (2015) con respecto a la disminución de los niveles de MDA y 4-HNE en hígado y cerebro al administrar por 15 días el polvo de la semilla de *Trigonella foenum-graecum* L. a ratas diabéticas inducidas con aloxano. En el presente trabajo, se

encontró que el MDA se redujo significativamente ($p<0.05$) en el cerebelo de los grupos TDM y PDM. Los valores de MDA en la corteza de los grupos diabéticos también mostraron una reducción significativa ($p<0.05$) al tratarlos (TDM) o pre-tratarlos (PDM) con la dieta suplementada con cáscara y pulpa de mango (**Figura 17**).

Los efectos observados con anterioridad se pueden relacionar con el aumento observado en la actividad de las enzimas SOD y GST, así como con la capacidad antioxidante que suponen los compuestos bioactivos presentes en el mango. Estos compuestos se encargan de estabilizar a los RLs, inactivar peróxidos y otras EROs mediante la donación de H^+ , quelación metales de transición que evita la formación de $\bullet OH$, así como también retardando o inhibiendo la peroxidación lipídica y la acumulación de los productos resultantes de este proceso (Shahidi y Zhong, 2010). Además, como se muestra en el **Cuadro 7**, los grupos que consumieron la dieta con mango (TDM y PDM), mostraron una tendencia a reducir sus niveles de glucemia, que, por ende, disminuiría la sobreproducción de EROs generados mediante diversas vías como la glicación no enzimática de proteínas, formación de AGEs, la autooxidación de la glucosa y la activación de la proteína quinasa C (PKC) y de la vía de biosíntesis de hexosaminas (Karunakaran y Park, 2013). Las observaciones precedentes sugieren que las dietas suplementadas con mango podrían tener la capacidad de proteger al cerebro del daño oxidativo y enfermedades concomitantes a las cuales se exponen los pacientes diabéticos, ya sea por la actividad antioxidante de sus compuestos bioactivos, la disminución de la glicemia, o bien, estimulando la actividad de las enzimas antioxidantes endógenas (**Figura 18**).

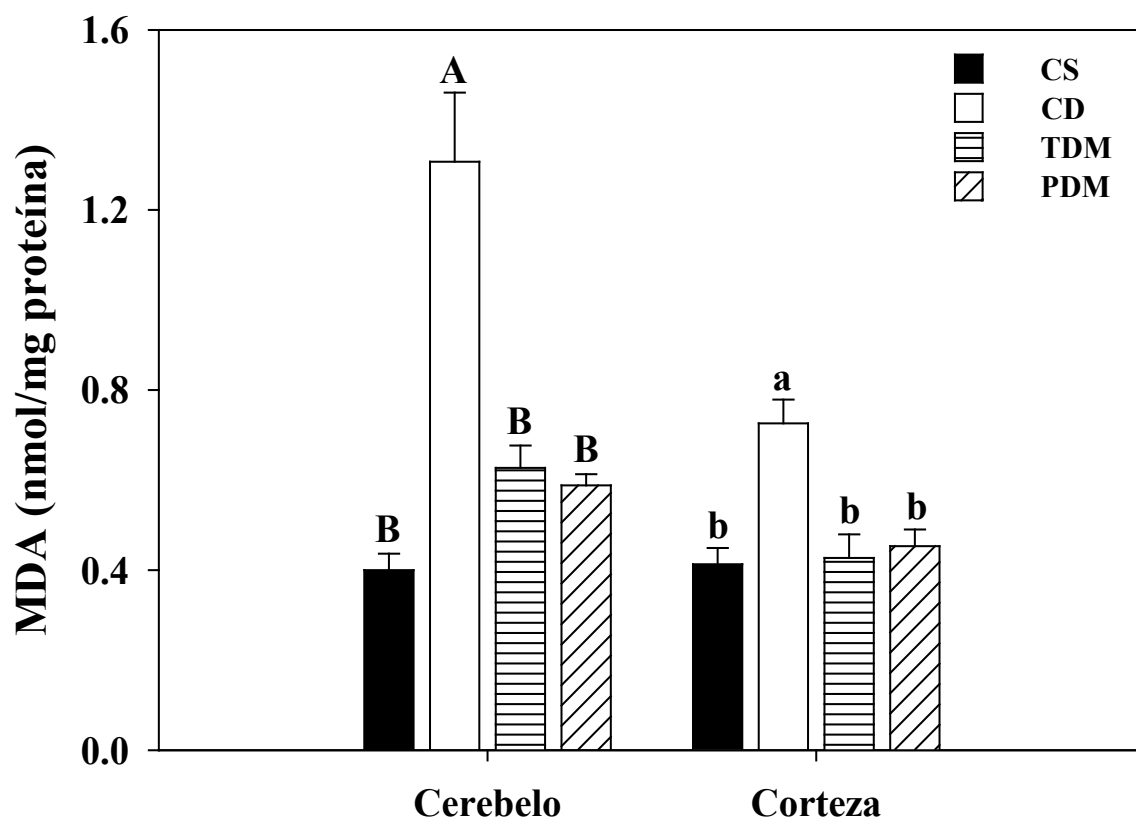


Figura 17. Niveles de MDA en cerebelo y corteza. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético tratado con dieta de mango; PDM: diabético pretratado con dieta de mango. Los resultados se representan como la media $\pm$ error estándar (E.E.) de una medición realizada por triplicado de cada animal por grupo. Literales mayúsculas diferentes indican diferencias significativas en cerebelo ($p < 0.05$). Literales minúsculas diferentes indican diferencias significativas en corteza ($p < 0.05$).

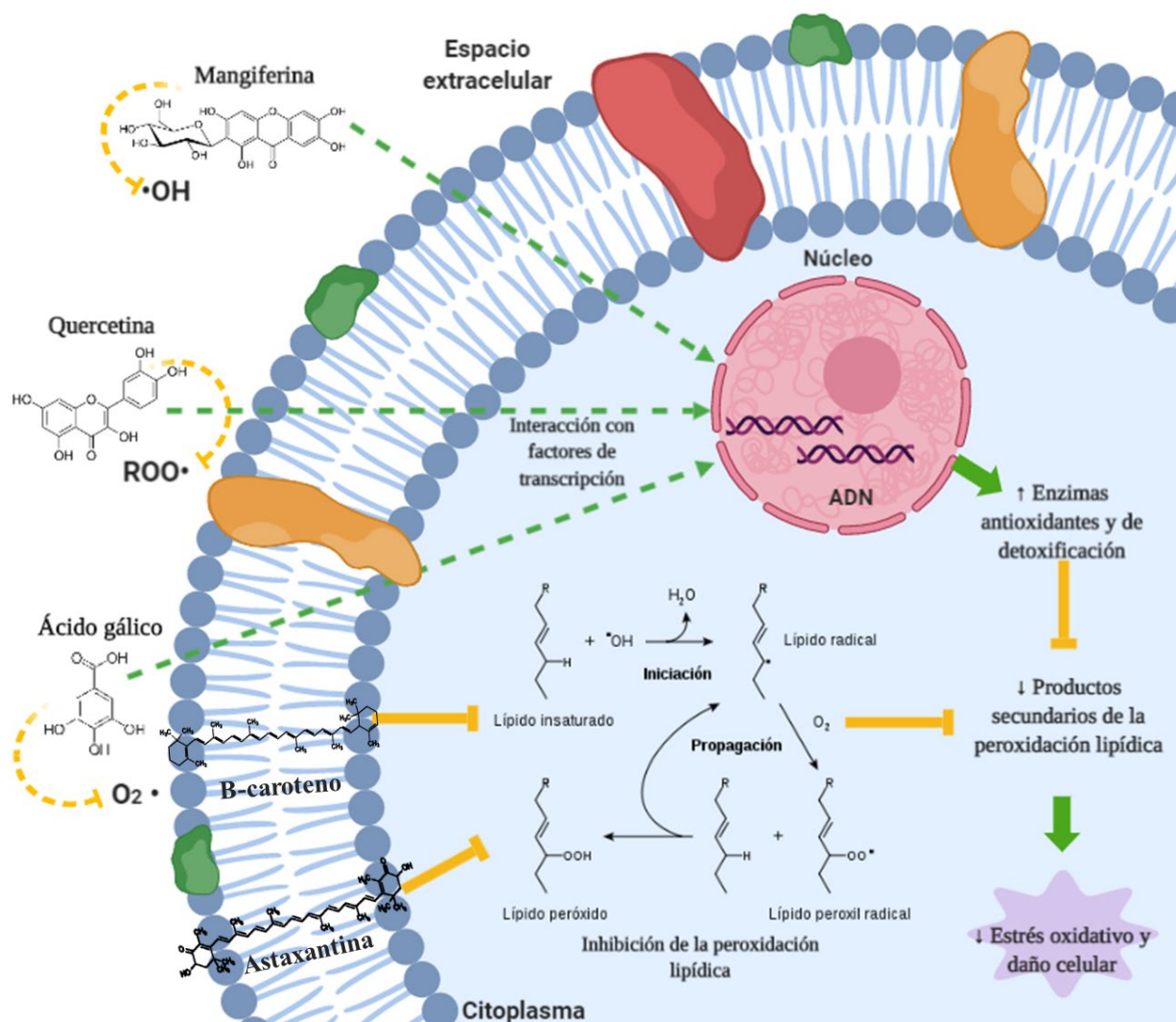


Figura 18. Posibles mecanismos de los compuestos fenólicos y carotenoides sobre la disminución de MDA. Los compuestos fenólicos y carotenoides son capaces de neutralizar RL y EROs mediante la donación de H^+ , e^- o ambos, evitando la iniciación de las cascadas de peroxidación lipídica de los ácidos grasos insaturados que conforman a las membranas celulares. Por otro lado, estos compuestos pueden promover la transcripción genética de enzimas antioxidantes y de detoxificación, a través de la interacción con factores de transcripción como FOXO, SIRT1 y Nrf2. Se sugiere que dichos mecanismos disminuyen o inhiben la generación de productos secundarios de la peroxidación lipídica (aldehídos y las cetonas), lo que conllevaría al decremento del EO y daño celular.

Se sabe que la hiperglucemia promueve la glicación y oxidación no sólo de lípidos, sino también de proteínas por medio de la unión de un aminoácido con el grupo carbonilo de una cetona o aldehído de un azúcar reductor. Estas reacciones generan AGEs como la 3,4- N^{ϵ} -carboximetil-lisina, 3-deoxiglucosona, metil-glioxal, entre otros, cuya formación se acelera bajo condiciones de EO (Dei *et al.*, 2002; Fuentes *et al.*, 2015). La alteración en la estructura y función de las enzimas antioxidantes afecta la neutralización de las EROs y los RLs, los cuales tienen la capacidad de

reaccionar con algunos aminoácidos, conllevando a la desnaturalización y mal funcionamiento de las proteínas, llevándose a cabo un círculo vicioso (Asmat *et al.*, 2016). Los carbonilos proteicos son considerados como un marcador de daño oxidativo de proteínas, que pueden generarse mediante la oxidación catalizada por metales en residuos de Lys, Arg, Pro y Thr o por uniones covalentes en las cadenas laterales de los residuos Lys, His y Cys con aldehídos (4-HNE, MDA y 2-propenal) producidos durante la peroxidación lipídica (Shacter, 2000).

Se ha demostrado que la concentración de carbonilos proteicos se encuentra elevada en corteza prefrontal, hipocampo y páncreas de ratas diabéticas (Réus *et al.*, 2016). Asimismo, Rosa *et al.* (2015) reportaron que las ratas con hiperglicemia neonatal, presentan modificaciones y daño a proteínas cerebrales mediante la glicación inducida por dicarbonilos asociados a los mecanismos fisiopatológicos de la diabetes y enfermedades neurodegenerativas. Debido a lo anterior, se ha propuesto el uso de antioxidantes con el objetivo de disminuir el EO, y, por tanto, la generación de proteínas modificadas. En el presente estudio no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en cerebelo, no obstante, en corteza, el grupo PDM mostró un nivel de carbonilos proteicos significativamente menor ($p < 0.05$) que el grupo TDM (**Figura 19**). En la investigación de Réus *et al.* (2016) se observó una disminución significativa ($p < 0.05$) de los carbonilos proteicos en corteza prefrontal e hipocampo, de las ratas diabéticas al tratarse durante 14 días con dos fármacos antioxidantes: N-acetilcisteína (NAC) y deferoxamina (DFX). En este estudio se aplicaron 3 inyecciones intraperitoneales diarias de NAC (20 mg/kg/peso) y 1 de DFX (20 mg/kg/peso), no obstante, en amígdala y núcleo accumbens no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$). Lo anterior sugiere que el daño proteico a nivel cerebral parece ser específico para cada estructura cerebral, sin embargo, el observar un efecto en corteza prefrontal e hipocampo pudo deberse a las altas dosis del fármaco que manejaron los autores, así como a la vía de administración, que asegura una mayor biodisponibilidad de los compuestos bioactivos estudiados.

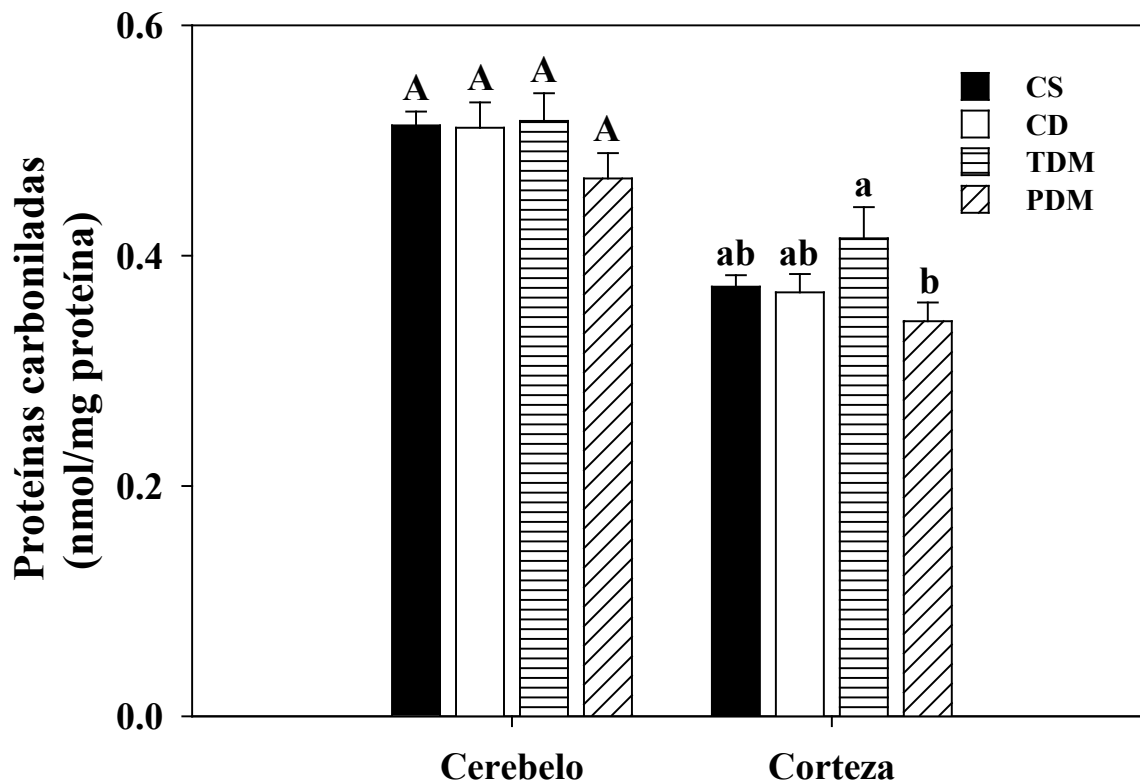


Figura 19. Niveles de carbonilos proteicos en cerebelo y corteza. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético tratado con dieta de mango; PDM: diabético pretratado con dieta de mango. Los resultados se representan como la media $\pm$ error estándar (E.E.) de una medición realizada por triplicado de cada animal por grupo. Literales mayúsculas diferentes indican diferencias significativas en cerebelo ($p < 0.05$). Literales minúsculas diferentes indican diferencias significativas en corteza ($p < 0.05$).

El daño al material genético provocado por EROs y RLs incluye sustitución de bases, deleciones, modificaciones de azúcares, entrecruzamientos covalentes, fragmentación simple o doble de cadenas, entre otros. En este contexto, el $\bullet\text{OH}$ puede interaccionar directamente con las bases nitrogenadas de las cadenas del DNA, especialmente con la guanina, formando C8-hidroxiguanina (8-OHGua) y su forma como nucleósido deoxiguanosina (8-hidroxi-2'-desoxiguanosina). La adición de $\bullet\text{OH}$ genera aductos de radicales, que con la abstracción de un e^- dan lugar a la 8-OHdG (Valavanidis *et al.*, 2009). Dada esta relación, la medición de 8-OHdG se ha convertido en un marcador de EO y carcinogénesis relacionado con el daño al DNA. Se han realizado una gran variedad de estudios *in vivo*, tanto en modelos animales como en humanos con la finalidad de disminuir el EO y consecuentemente el daño al DNA, en los cuales se administraron antioxidantes

como vitamina C, carotenoides y vitamina E, mostrando resultados inconsistentes en cuanto a niveles esperados de 8-OHdG (Anderson *et al.*, 1997; Cadenas *et al.*, 1997; Huang *et al.*, 2000; Shi *et al.*, 2005). Tratándose más específicamente del suministro de antioxidantes en ratas diabéticas, Hsieh *et al.* (2005) mostraron que un tratamiento con aceite de arroz (33.90 mg de γ -oryzanol, 0.5 mg de γ -tocotrienol, y 3.02 mg de α -tocoferol/g de aceite) no tuvo efectos significativos ($p>0.05$) en cuanto a la disminución de 8-OHdG, específicamente en DNA mitocondrial y nuclear de tejido cerebral.

Por otro lado, hallazgos recientes en ratas expuestas a ejercicio extenuante, mostraron una disminución significativa de 8-OHdG en suero y músculo, al ser suplementadas con 25, 50 y 100 mg/kg/día de resveratrol por 4 semanas (Xiao, 2015). La concentración de 8-OHdG en suero al utilizar este mismo compuesto fenólico (30 mg/kg/día), fue aminorada en ratas inducidas a EO con acrilamida (40 mg/kg/día) por 10 días, asociado a regulación de procesos inflamatorios y de apoptosis (Alturfan *et al.*, 2012). Además de la suplementación con fármacos antioxidantes o compuestos bioactivos individuales, se ha promovido la ingesta de ciertos frutos con alto contenido de fitoquímicos para contrarrestar los daños causados por el EO. Tal es el caso del estudio de Alvarez-Suarez *et al.* (2014), quienes determinaron que el consumo de una dieta enriquecida con fresas (500 g/día) por 30 días, reduce los niveles de 8-OHdG en orina de adultos sanos, relacionado con el contenido de antocianinas que estas poseen. No obstante, en el presente trabajo, no se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) entre grupos en cerebelo, mientras que en corteza, se observa una tendencia en el aumento de este marcador en los tres grupos diabéticos. Sin embargo, los niveles de 8-OHdG son iguales ($p<0.05$) entre los grupos CS y CD, y no mejoraron con la administración de la dieta suplementada con mango previa o posterior de la inducción por STZ, y contrario a lo esperado, estos aumentan ($p<0.05$) en los grupos TDM y PDM, en comparación con el grupo CS (**Figura 20**) lo cual pudiera estar relacionado con algún efecto prooxidante de algunos de los compuestos del mango a este nivel, o bien, por la hiperglucemia *per se*.

Existen algunos estudios que confirman el efecto prooxidante de la vitamina C (molécula presente en la pulpa de mango: 36 mg/100 g peso fresco) (Wall-Medrano *et al.*, 2015). Se ha reportado que el carbono en la posición 8 de la desoxiguanosina, además de la reacción con $\bullet\text{OH}$, puede ser hidroxilado por el ácido ascórbico en presencia de O_2 , H_2O_2 y otros agentes reductores que incluyen a los metales de transición (Kasai y Nishimura, 1984). En un estudio reciente, se reportó el efecto

prooxidante de la vitamina C en un modelo murino de enfermedad de Alzheimer, demostrando que a altas dosis (600 mg/kg) se incrementan las alteraciones en la memoria, existe una mayor degeneración y neuroinflamación en el hipocampo así como un aumento en la respuesta inmune periférica (Sil *et al.*, 2016) . En otra investigación realizada por Kasai y Nishimura (1986), se encontró que algunos compuestos fenólicos como el ácido clorogénico y la quercetina pueden causar hidroxilación *in vitro* de la desoxiguanosina en presencia de H_2O_2 y Fe^{3+} . El ácido gálico y sus alquil ésteres también se han reportado como causantes de roturas en la cadena de DNA dependientes de cobre, conllevando a la formación de 8-OHdG *in vitro*, debido a la acción prooxidante de los compuestos de galato relacionados con la actividad reductora del cobre (Yoshino *et al.*, 2002). Sin embargo, estos últimos trabajos no concuerdan con lo reportado en experimentos realizados en organismos vivos, por lo que no queda claro, cuáles compuestos pudieran ser los responsable de los resultados obtenidos para este marcador de daño en DNA en el presente modelo de estudio.

Dado que la incidencia y prevalencia de la diabetes y sus complicaciones continúan incrementando rápidamente en el mundo, existe la necesidad de identificar compuestos naturales con efectos antidiabéticos que puedan ser demostrados. Las evidencias encontradas en el presente trabajo reivindican a los compuestos antioxidantes de frutas como el mango, como protectores contra el daño causado en cerebro a causa del estrés oxidativo, al ser capaces de regular vías moleculares relacionadas al mecanismo antioxidante endógeno y de inflamación, entre otras propiedades. Los hallazgos que aquí se presentan, sugieren la utilización de los compuestos bioactivos del mango para el desarrollo de estrategias terapéuticas alternativas para la prevención de complicaciones en pacientes diabéticos.

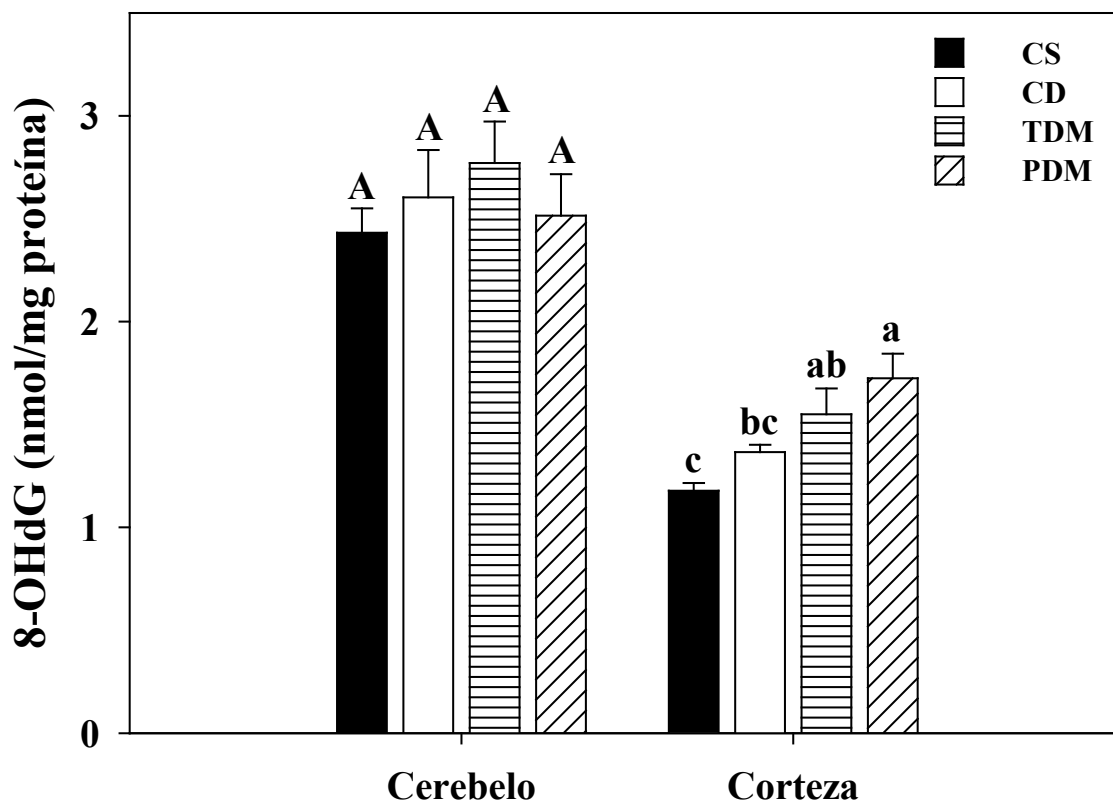


Figura 20. Niveles de 8-OHdG en cerebelo y corteza. CS: control sano; CD: control diabético; TDM: diabético tratado con dieta de mango; PDM: diabético pretratado con dieta de mango. Los resultados se representan como la media $\pm$ error estándar (E.E.) de una medición realizada por duplicado de cada animal por grupo. Literales mayúsculas diferentes indican diferencias significativas en cerebelo ($p < 0.05$). Literales minúsculas diferentes indican diferencias significativas en corteza ($p < 0.05$).

7. CONCLUSIONES

El cerebro debe ser considerado como un órgano fundamental en el estudio de la diabetes, las alteraciones que puede sufrir debido al estrés oxidativo han sido poco estudiadas, sobre todo en estructuras como corteza y cerebelo. Dichas estructuras son claves para el análisis de la progresión de esta enfermedad, en donde algunas de sus funciones se han visto alteradas. Los resultados obtenidos de los estudios relacionados con el estado de oxido-reducción en modelos murinos, varían dependiendo de las condiciones experimentales (modelo animal, duración de la enfermedad, edad, sexo, dosis de fármaco o tratamiento, entre otras). No obstante, todas las investigaciones convergen en que el estrés oxidativo afecta a los sistemas de defensa antioxidante en los diferentes tejidos, provocando que el organismo utilice distintos mecanismos para tratar de protegerse frente a lesiones celulares y tisulares.

De acuerdo con los resultados encontrados en el presente estudio se concluye que:

El estrés oxidativo en ratas diabéticas modificó la expresión y actividad de algunas enzimas antioxidantes en ambas estructuras cerebrales. Asimismo, los efectos perjudiciales de esta patología también se vieron reflejados en los signos y parámetros bioquímicos de nuestro modelo experimental, así como en el aumento de productos de oxidación lipídica.

El pretratamiento con la dieta suplementada con pulpa y cáscara de mango cv. ‘Ataulfo’, mostró de manera global, una mejora del cuadro patológico del animal, ya que se aumentó significativamente la actividad de SOD total en corteza, SOD1 en corteza y cerebelo e incrementó la expresión y actividad de GST en ambas estructuras cerebrales, disminuyendo los productos de peroxidación lipídica, mas no los niveles de carbonilos proteicos y 8-OHdG en las ratas diabéticas. Además, el consumo de esta dieta de manera preventiva disminuyó la pérdida de peso súbita, mantuvo la glucosa sanguínea y se sugiere que podría mitigar la polifagia.

Con los resultados obtenidos en este trabajo, podemos concluir que el consumo de frutas y vegetales a lo largo de la vida, en particular de mango cv. ‘Ataulfo’, podría tener un impacto

positivo, tanto en la prevención como en el manejo de la diabetes. Finalmente, se resalta la importancia de considerar aquellas fracciones que son comúnmente desechadas (cáscara, bagazo, semillas o hueso, etc.), ya que muchas de ellas poseen un alto valor nutracéutico y diversas propiedades biológicas que requieren ser investigadas en futuros trabajos.

8. RECOMENDACIONES

Se sugiere el estudio de las diversas vías de señalización mediadas por los componentes de la dieta asociadas a la activación o inactivación de factores de transcripción (Nrf2, NF- κ B y ARE), a nivel génico y proteico, en un modelo de diabetes crónica para la visualización de los posibles efectos a largo plazo.

Se propone también la inclusión de muestras histopatológicas de las distintas subregiones cerebrales y el análisis de la expresión genética, proteica y evaluación de la actividad de GPx y glutatión, para una mejor comprensión del mecanismo molecular del sistema de defensa antioxidante endógeno.

Con los resultados que de aquí surjen, se abre el panorama a la innovación de nutracéuticos y alimentos funcionales, adicionados con los componentes bioactivos de interés que sean extraídos de este fruto (incluyendo sus subproductos), con la finalidad de probar su funcionalidad en modelos animales para corroborar sus efectos *in vivo*.

9. REFERENCIAS

- Abdel-Moneim, A., Yousef, A. I., El-Twab, S. M. A., Reheim, E. S. A., y Ashour, M. B. (2017). Gallic acid and p-coumaric acid attenuate type 2 diabetes-induced neurodegeneration in rats. *Metabolic Brain Disease*, 32(4), 1279-1286.
- Abramov, A. Y., Jacobson, J., Wientjes, F., Hothersall, J., Canevari, L., y Duchen, M. R. (2005). Expression and modulation of an NADPH oxidase in mammalian astrocytes. *Journal of Neuroscience*, 25(40), 9176-9184.
- Adilijiang, A., Guan, T., Xu, Z.-z., Hartle, K., Zhang, Y.-b., Wang, W.-q., y Li, X.-m. (2016). The aqueous fraction of Areca catechu nut ameliorates demyelination in prefrontal cortex-induced depressive symptoms and cognitive decline through brain-derived neurotrophic factor-cyclic adenosine monophosphate response element-binding activation. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 1-8.
- Aebi, H. (1984). [13] Catalase in vitro *Methods in Enzymology* (Vol. 105, pp. 121-126): Elsevier.
- Ahima, R. S., y Antwi, D. A. (2008). Brain regulation of appetite and satiety. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 37(4), 811-823.
- Ajila, C., Naidu, K., Bhat, S., y Rao, U. P. (2007). Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food Chemistry*, 105(3), 982-988.
- Al-Chalabi, A., Van Den Berg, L. H., y Veldink, J. (2017). Gene discovery in amyotrophic lateral sclerosis: implications for clinical management. *Nature Reviews Neurology*, 13(2), 96.
- Al-Jameel, S. S., y El-Rahman, S. N. A. (2017). Effect of quercetin nanoparticles on the kidney of the streptozotocin-induced diabetes in male rats: A histological study and serum biochemical alterations. *African Journal of Biotechnology*, 16(39), 1944-1952.
- Altay, A., Kartal, D. İ., Sadi, G., Güray, T., y Yaprak, A. E. (2017). Modulation of mRNA expression and activities of xenobiotic metabolizing enzymes, CYP1A1, CYP1A2, CYP2E1, GPx and GSTP1 by the *Salicornia freitagii* extract in HT-29 human colon cancer cells. *Archives of Biological Sciences*, 69(3), 439-448.
- Alturfan, A. A., Tozan-Beceran, A., Şehirli, A. Ö., Demiralp, E., Şener, G., y Omurtag, G. Z. (2012). Resveratrol ameliorates oxidative DNA damage and protects against acrylamide-induced oxidative stress in rats. *Molecular Biology Reports*, 39(4), 4589-4596.
- Alvarez-Suarez, J. M., Giampieri, F., Tulipani, S., Casoli, T., Di Stefano, G., González-Paramás, A. M., Santos-Buelga, C., Busco, F., Quiles, J. L., y Cordero, M. D. (2014). One-month strawberry-rich anthocyanin supplementation ameliorates cardiovascular risk, oxidative stress markers and platelet activation in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(3), 289-294.
- Anderson, D., Phillips, B., Yu, T. W., Edwards, A., Ayesh, R., y Butterworth, K. (1997). The effects of vitamin C supplementation on biomarkers of oxygen radical generated damage in human volunteers with “low” or “high” cholesterol levels. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 30(2), 161-174.

- Asmat, U., Abad, K., y Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress—a concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(5), 547-553.
- Ayala-Zavala, J., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, J., Siddiqui, M. W., Dávila-Aviña, J., y González-Aguilar, G. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, 44(7), 1866-1874.
- Bahia, P. K., Rattray, M., y Williams, R. J. (2008). Dietary flavonoid (–) epicatechin stimulates phosphatidylinositol 3-kinase-dependent anti-oxidant response element activity and up-regulates glutathione in cortical astrocytes. *Journal of Neurochemistry*, 106(5), 2194-2204.
- Balogun, W. G., y Imam, A. (2015). NEUROPROTECTIVE POTENTIAL OF MANGO (MAGNIFERA INDICA) LEAVE EXTRACT IN ALLOXAN-INDUCED DIABETIC RATS. *Israel Medical Journal*, 7(1), 25-29.
- Bandeira, S. d. M., Guedes, G. d. S., Fonseca, L. J. S. d., Pires, A. S., Gelain, D. P., Moreira, J. C. F., Rabelo, L. A., Vasconcelos, S. M. L., y Goulart, M. O. F. (2012). Characterization of blood oxidative stress in type 2 diabetes mellitus patients: increase in lipid peroxidation and SOD activity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 1-13.
- Bhat, A. H., Dar, K. B., Anees, S., Zargar, M. A., Masood, A., Sofi, M. A., y Ganie, S. A. (2015). Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases; a mechanistic insight. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 74, 101-110.
- Biasibetti, R., Tramontina, A. C., Costa, A. P., Dutra, M. F., Quincozes-Santos, A., Nardin, P., Bernardi, C. L., Wartchow, K. M., Lunardi, P. S., y Gonçalves, C.-A. (2013). Green tea (–) epigallocatechin-3-gallate reverses oxidative stress and reduces acetylcholinesterase activity in a streptozotocin-induced model of dementia. *Behavioural Brain Research*, 236, 186-193.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Buege, J. A., y Aust, S. D. (1978). [30] Microsomal lipid peroxidation *Methods in Enzymology* (Vol. 52, pp. 302-310): Elsevier.
- Burton-Freeman, B. M., Sandhu, A. K., y Edirisinghe, I. (2017). Mangos and their bioactive components: Adding variety to the fruit plate for health. *Food & Function*, 8(9), 3010-3032.
- Bush, E. C., y Allman, J. M. (2003). The scaling of white matter to gray matter in cerebellum and neocortex. *Brain, Behavior and Evolution*, 61(1), 1-5.
- Byrne, C., Chambers, E., Morrison, D., y Frost, G. (2015). The role of short chain fatty acids in appetite regulation and energy homeostasis. *International Journal of Obesity*, 39(9), 1331.
- Cadenas, S., Barja, G., Poulsen, H. E., y Loft, S. (1997). Oxidative DNA damage estimated by oxo8dG in the liver of guinea-pigs supplemented with graded dietary doses of ascorbic acid and alpha-tocopherol. *Carcinogenesis*, 18(12), 2373-2377.
- Campos-Esparza, M. R., Sánchez-Gómez, M. V., y Matute, C. (2009). Molecular mechanisms of neuroprotection by two natural antioxidant polyphenols. *Cell Calcium*, 45(4), 358-368.

- Carter, P., Gray, L. J., Troughton, J., Khunti, K., y Davies, M. J. (2010). Fruit and vegetable intake and incidence of type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *Bmj*, 341, c4229.
- Chacar, S., Itani, T., Hajal, J., Saliba, Y., Louka, N., Faivre, J. F., Maroun, R., y Fares, N. (2018). The impact of long-term intake of phenolic compounds-rich grape pomace on rat gut microbiota. *Journal of Food Science*, 83(1), 246-251.
- Chang, S.-H., Jung, I.-S., Han, G.-Y., Kim, N.-H., Kim, H.-J., y Kim, C.-W. (2013). Proteomic profiling of brain cortex tissues in a Tau transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 430(2), 670-675.
- Cho, S.-Y., Park, J.-Y., Park, E.-M., Choi, M.-S., Lee, M.-K., Jeon, S.-M., Jang, M. K., Kim, M.-J., y Park, Y. B. (2002). Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. *Clinica Chimica Acta*, 317(1-2), 109-117.
- de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Zacarías, L., Rodrigo, M. J., Ayerdí, S. S., Benítez, F. J. B., Avila, J. A. D., y González-Aguilar, G. A. (2018). Effects of two different drying methods (freeze-drying and hot air-drying) on the phenolic and carotenoid profile of 'Ataulfo' mango by-products. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 2145-2157.
- de Pascual-Teresa, S. (2014). Molecular mechanisms involved in the cardiovascular and neuroprotective effects of anthocyanins. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 559, 68-74.
- Dei, R., Takeda, A., Niwa, H., Li, M., Nakagomi, Y., Watanabe, M., Inagaki, T., Washimi, Y., Yasuda, Y., y Horie, K. (2002). Lipid peroxidation and advanced glycation end products in the brain in normal aging and in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*, 104(2), 113-122.
- Del Rio, D., Stewart, A. J., y Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4), 316-328.
- Domínguez-Avila, J. A., Astiazaran-García, H., Wall-Medrano, A., de la Rosa, L. A., Alvarez-Parrilla, E., y González-Aguilar, G. A. (2018). Mango phenolics increase the serum apolipoprotein A1/B ratio in rats fed high cholesterol and sodium cholate diets. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Domínguez Avila, J., Rodrigo García, J., González Aguilar, G., y de la Rosa, L. (2017). The antidiabetic mechanisms of polyphenols related to increased glucagon-like peptide-1 (GLP1) and insulin signaling. *Molecules*, 22(6), 903.
- Domínguez Avila, J. A., Rodrigo García, J., González Aguilar, G. A., y de la Rosa, L. A. (2017). The antidiabetic mechanisms of polyphenols related to increased glucagon-like peptide-1 (GLP1) and insulin signaling. *Molecules*, 22(6), 903.
- Dumbravă, D., Moldovan, C., Raba, D.-i., y Popa, M. (2012). Comparative analysis of vitamin C content and antioxidant activity of some fruits extracts. *J Agroalimentary Processes Technol*, 18(3), 223-228.

- Elbe, H., Vardi, N., Esrefoglu, M., Ates, B., Yologlu, S., y Taskapan, C. (2015). Amelioration of streptozotocin-induced diabetic nephropathy by melatonin, quercetin, and resveratrol in rats. *Human & Experimental Toxicology*, 34(1), 100-113.
- Elberry, A. A., Harraz, F. M., Ghareib, S. A., Gabr, S. A., Nagy, A. A., y Abdel-Sattar, E. (2015). Methanolic extract of *Marrubium vulgare* ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Diabetes Mellitus*, 3(1), 37-44.
- Faria, A., y Persaud, S. J. (2017). Cardiac oxidative stress in diabetes: mechanisms and therapeutic potential. *Pharmacology & Therapeutics*, 172, 50-62.
- Feng, R., Lu, Y., Bowman, L. L., Qian, Y., Castranova, V., y Ding, M. (2005). Inhibition of activator protein-1, NF- κ B, and MAPKs and induction of phase 2 detoxifying enzyme activity by chlorogenic acid. *Journal of Biological Chemistry*, 280(30), 27888-27895.
- Fernandes, P. N., Mannarino, S. C., Silva, C. G., Pereira, M. D., Panek, A. D., y Eleutherio, E. C. (2007). Oxidative stress response in eukaryotes: effect of glutathione, superoxide dismutase and catalase on adaptation to peroxide and menadione stresses in *Saccharomyces cerevisiae*. *Redox Report*, 12(5), 236-244.
- Figueroa-Méndez, R., y Rivas-Arancibia, S. (2015). Vitamin C in health and disease: its role in the metabolism of cells and redox state in the brain. *Frontiers in Physiology*, 6, 397.
- Foster, S. R., Dilworth, L. L., Thompson, R. K., Alexander-Lindo, R. L., y Omoruyi, F. O. (2017). Effects of combined inositol hexakisphosphate and inositol supplement on antioxidant activity and metabolic enzymes in the liver of streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, 275, 108-115.
- Fuentes, M., Olmos, P., y Santos, J. L. (2015). Productos finales de glicación avanzada (AGEs) y su importancia en enfermedades crónicas relacionadas con la nutrición. *Revista Chilena de Endocrinología y Diabetes*, 8(2), 70-77.
- Gao, Y., Zhang, Y., Zhu, J., Li, B., Li, Z., Zhu, W., Shi, J., Jia, Q., y Li, Y. (2015). Recent progress in natural products as DPP-4 inhibitors. *Future Medicinal Chemistry*, 7(8), 1079-1089.
- Gilmore, C. P., Donaldson, I., Bö, L., Owens, T., Lowe, J., y Evangelou, N. (2009). Regional variations in the extent and pattern of grey matter demyelination in multiple sclerosis: a comparison between the cerebral cortex, cerebellar cortex, deep grey matter nuclei and the spinal cord. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 80(2), 182-187.
- Gondi, M., Basha, S. A., Bhaskar, J. J., Salimath, P. V., y Prasada Rao, U. J. (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 Rao, U. P. (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.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., y Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249(22), 7130-7139.
- Harrison, F. E., y May, J. M. (2009). Vitamin C function in the brain: vital role of the ascorbate transporter SVCT2. *Free Radical Biology and Medicine*, 46(6), 719-730.

- He, F., Nowson, C., Lucas, M., y MacGregor, G. (2007). Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: meta-analysis of cohort studies. *Journal of human hypertension*, 21(9), 717.
- Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R., y Ferreira, I. C. (2015). Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food Chemistry*, 173, 501-513.
- Hsieh, R. H., Lien, L. M., Lin, S. H., Chen, C. W., Cheng, H. J., y Cheng, H. H. (2005). Alleviation of Oxidative Damage in Multiple Tissues in Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes by Rice Bran Oil Supplementation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1042(1), 365-371.
- Huang, H.-Y., Helzlsouer, K. J., y Appel, L. J. (2000). The effects of vitamin C and vitamin E on oxidative DNA damage: results from a randomized controlled trial. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 9(7), 647-652.
- Idris-Khodja, N., Ouerd, S., Mian, M. O. R., Gornitsky, J., Barhoumi, T., Paradis, P., y Schiffrin, E. L. (2016). Endothelin-1 overexpression exaggerates diabetes-induced endothelial dysfunction by altering oxidative stress. *American Journal of Hypertension*, 29(11), 1245-1251.
- International Journal of Molecular Medicine Abdel-Moneim, A., Yousef, A. I., El-Twab, S. M. A., Reheim, E. S. A., y Ashour, M. B. (2017). Gallic acid and p-coumaric acid attenuate type 2 diabetes-induced neurodegeneration in rats. *Metabolic Brain Disease*, 32(4), 1279-1286.
- Irondi, E. A., Oboh, G., y Akindahunsi, A. A. (2016). Antidiabetic effects of *Mangifera indica* Kernel Flour-supplemented diet in streptozotocin-induced type 2 diabetes in rats. *Food Science & Nutrition*, 4(6), 828-839.
- Itoh, K., Murata, K., Nakagaki, Y., Shimizu, A., Takata, Y., Shimizu, K., Matsukawa, T., Kajiyama, S. i., Fumuro, M., y Iijima, M. (2016). A pancreatic lipase inhibitory activity by Mango (*Mangifera indica*) leaf methanolic extract. *Journal of Plant Studies; Vol*, 5(2).
- Iwata, N., Okazaki, M., Kamiuchi, S., y Hibino, Y. (2010). Protective effects of oral administrated ascorbic acid against oxidative stress and neuronal damage after cerebral ischemia/reperfusion in diabetic rats. *Journal of Health Science*, 56(1), 20-30.
- Iwata, N., Okazaki, M., Xuan, M., Kamiuchi, S., Matsuzaki, H., y Hibino, Y. (2014). Orally administrated ascorbic acid suppresses neuronal damage and modifies expression of SVCT2 and GLUT1 in the brain of diabetic rats with cerebral ischemia-reperfusion. *Nutrients*, 6(4), 1554-1577.
- Jiang, J., y Xiong, Y. L. (2016). Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. *Meat Science*, 120, 107-117.
- Jing, Y.-H., Chen, K.-H., Kuo, P.-C., Pao, C.-C., y Chen, J.-K. (2013). Neurodegeneration in streptozotocin-induced diabetic rats is attenuated by treatment with resveratrol. *Neuroendocrinology*, 98(2), 116-127.
- Kakkar, R., Kalra, J., Mantha, S. V., y Prasad, K. (1995). Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 151(2), 113-119.

- Kandimalla, R., Thirumala, V., y Reddy, P. H. (2017). Is Alzheimer's disease a type 3 diabetes? A critical appraisal. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1863(5), 1078-1089.
- Kang, C.-H., Choi, Y. H., Moon, S.-K., Kim, W.-J., y Kim, G.-Y. (2013). Quercetin inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in BV2 microglial cells by suppressing the NF- κ B pathway and activating the Nrf2-dependent HO-1 pathway. *International Immunopharmacology*, 17(3), 808-813.
- Kanner, J., Selhub, J., Shpaizer, A., Rabkin, B., Shacham, I., y Tirosh, O. (2017). Redox homeostasis in stomach medium by foods: The Postprandial Oxidative Stress Index (POSI) for balancing nutrition and human health. *Redox Biology*, 12, 929-936.
- Karunakaran, U., y Park, K.-G. (2013). A systematic review of oxidative stress and safety of antioxidants in diabetes: focus on islets and their defense. *Diabetes & Metabolism Journal*, 37(2), 106-112.
- Kasai, H., y Nishimura, S. (1984). Hydroxylation of deoxyguanosine at the C-8 position by ascorbic acid and other reducing agents. *Nucleic Acids Research*, 12(4), 2137-2145.
- Kasai, H., y Nishimura, S. (1986). Hydroxylation of guanine in nucleosides and DNA at the C-8 position by heated glucose and oxygen radical-forming agents. *Environmental Health Perspectives*, 67, 111-116.
- Kaulmann, A., y Bohn, T. (2014). Carotenoids, inflammation, and oxidative stress—implications of cellular signaling pathways and relation to chronic disease prevention. *Nutrition Research*, 34(11), 907-929.
- Kaur, S. J., McKeown, S. R., y Rashid, S. (2016). Mutant SOD1 mediated pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *Gene*, 577(2), 109-118.
- Kim, G. H., Kim, J. E., Rhie, S. J., y Yoon, S. (2015). The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Experimental Neurobiology*, 24(4), 325-340.
- Kiokias, S., Proestos, C., y Varzakas, T. (2016). A review of the structure, biosynthesis, absorption of carotenoids-analysis and properties of their common natural extracts. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 4(Special Issue Carotenoids March 2016), 25-37.
- Kolgiri, V., y Patil, V. W. (2017). Protein carbonyl content: a novel biomarker for aging in HIV/AIDS patients. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 21(1), 35-41.
- Korani, M. S., Farbood, Y., Sarkaki, A., Moghaddam, H. F., y Mansouri, M. T. (2014). Protective effects of gallic acid against chronic cerebral hypoperfusion-induced cognitive deficit and brain oxidative damage in rats. *European Journal of Pharmacology*, 733, 62-67.
- Kumar, P., Rao, G. N., Pal, B. B., y Pal, A. (2014). Hyperglycemia-induced oxidative stress induces apoptosis by inhibiting PI3-kinase/Akt and ERK1/2 MAPK mediated signaling pathway causing downregulation of 8-oxoG-DNA glycosylase levels in glial cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 53, 302-319.
- Kwakowsky, A., Calvo-Flores Guzmán, B., Pandya, M., Turner, C., Waldvogel, H. J., y Faull, R. L. (2018). GABAA receptor subunit expression changes in the human Alzheimer's disease hippocampus, subiculum, entorhinal cortex and superior temporal gyrus. *Journal of Neurochemistry*, 145(5), 374-392.

- Lee, J.-S. (2006). Effects of soy protein and genistein on blood glucose, antioxidant enzyme activities, and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sciences*, 79(16), 1578-1584.
- Lee, S. G., Yoo, D. Y., Jung, H. Y., Nam, S. M., Kim, J. W., Choi, J. H., Yi, S. S., Won, M.-H., Yoon, Y. S., y Hwang, I. K. (2015). Neurons in the hippocampal CA1 region, but not the dentate gyrus, are susceptible to oxidative stress in rats with streptozotocin-induced type 1 diabetes. *Neural Regeneration Research*, 10(3), 451.
- Livak, K. J., y Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ method. *Methods*, 25(4), 402-408.
- Maldonado-Astudillo, Y. I., Navarrete-García, H. A., Ortiz-Morales, Ó. D., Jiménez-Hernández, J., Salazar-López, R., Alia-Tejacal, I., y Álvarez-Fitz, P. (2016). Propiedades físicas, químicas y antioxidantes de variedades de mango crecidas en la costa de Guerrero. *Revista fitotecnica mexicana*, 39(3), 207-214.
- Mansouri, M. T., Farbood, Y., Sameri, M. J., Sarkaki, A., Naghizadeh, B., y Rafeirad, M. (2013). Neuroprotective effects of oral gallic acid against oxidative stress induced by 6-hydroxydopamine in rats. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1028-1033.
- Manthey, J. A., y Perkins-Veazie, P. (2009). Influences of harvest date and location on the levels of β -carotene, ascorbic acid, total phenols, the in vitro antioxidant capacity, and phenolic profiles of five commercial varieties of mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(22), 10825-10830.
- Marklund, S., y Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *The FEBS Journal*, 47(3), 469-474.
- Marklund, S. L. (1984). Extracellular superoxide dismutase and other superoxide dismutase isoenzymes in tissues from nine mammalian species. *Biochemical Journal*, 222(3), 649-655.
- Mercado-Mercado, G., Montalvo-González, E., González-Aguilar, G. A., Alvarez-Parrilla, E., y Sáyo-Ayerdi, S. G. (2017). Ultrasound-assisted extraction of carotenoids from mango (*Mangifera indica* L. 'Ataulfo') by-products on in vitro bioaccessibility. *Food Bioscience*, 21, 125-131.
- Mercado-Mercado, G., Montalvo-González, E., Sánchez-Burgos, J., Velázquez-Estrada, R., Álvarez-Parrilla, E., González-Aguilar, G., y Sáyo-Ayerdi, S. (2019). OPTIMIZATION OF β -CAROTENE FROM 'ATAULFO' MANGO (*Mangifera indica* L.) BY-PRODUCTS USING ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 18(3), 1051-1061.
- Miyake, S., Kobayashi, S., Tsubota, K., y Ozawa, Y. (2014). Phase II enzyme induction by a carotenoid, lutein, in a PC12D neuronal cell line. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 446(2), 535-540.
- Monego, D. L., da Rosa, M. B., y do Nascimento, P. C. (2017). Applications of computational chemistry to the study of the antiradical activity of carotenoids: A review. *Food Chemistry*, 217, 37-44.

- Moussa, S. (2008). Oxidative stress in diabetes mellitus. *Romanian Journal of Biophysics*, 18(3), 225-236.
- Muruganandan, S., Srinivasan, K., Gupta, S., Gupta, P., y Lal, J. (2005). Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(3), 497-501.
- Negi, G., Kumar, A., y Sharma, S. S. (2011). Melatonin modulates neuroinflammation and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy: effects on NF- κ B and Nrf2 cascades. *Journal of Pineal Research*, 50(2), 124-131.
- Newsholme, P., Cruzat, V. F., Keane, K. N., Carlessi, R., y de Bittencourt, P. I. H. (2016). Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes. *Biochemical Journal*, 473(24), 4527-4550.
- Nicolle, E., Souard, F., Faure, P., y Boumendjel, A. (2011). Flavonoids as promising lead compounds in type 2 diabetes mellitus: molecules of interest and structure-activity relationship. *Current Medicinal Chemistry*, 18(17), 2661-2672.
- Nimse, S. B., y Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Research Advances*, 5(35), 27986-28006.
- Nowotny, K., Jung, T., Höhn, A., Weber, D., y Grune, T. (2015). Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Biomolecules*, 5(1), 194-222.
- Nunes, M. E., Müller, T. E., Braga, M. M., Fontana, B. D., Quadros, V. A., Marins, A., Rodrigues, C., Menezes, C., Rosemberg, D. B., y Loro, V. L. (2017). Chronic treatment with paraquat induces brain injury, changes in antioxidant defenses system, and modulates behavioral functions in zebrafish. *Molecular Neurobiology*, 54(6), 3925-3934.
- Oboh, G., Agunloye, O. M., Adefegha, S. A., Akinyemi, A. J., y Ademiluyi, A. O. (2015). Caffeic and chlorogenic acids inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes (in vitro): a comparative study. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 26(2), 165-170.
- Oboh, G., Ogunsuyi, O. B., Ogunbadejo, M. D., y Adefegha, S. A. (2016). Influence of gallic acid on α -amylase and α -glucosidase inhibitory properties of acarbose. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(3), 627-634.
- Okon, U., Owo, D., Udokang, N., Udobang, J., y Ekpenyong, C. (2012). Oral administration of aqueous leaf extract of *Ocimum gratissimum* ameliorates polyphagia, polydipsia and weight loss in streptozotocin-induced diabetic rats. *American Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2(3), 45-49.
- Ola, M. S., Ahmed, M. M., Ahmad, R., Abuohashish, H. M., Al-Rejaie, S. S., y Alhomida, A. S. (2015). Neuroprotective effects of rutin in streptozotocin-induced diabetic rat retina. *Journal of Molecular Neuroscience*, 56(2), 440-448.
- Olivas-Aguirre, F. J., González-Aguilar, G. A., Velderrain-Rodríguez, G. R., Torres-Moreno, H., Robles-Zepeda, R. E., Vázquez-Flores, A. A., Rosa, L. A., y Wall-Medrano, A. (2017). Radical scavenging and anti-proliferative capacity of three freeze-dried tropical fruits. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(7), 1699-1709.
- Pacheco-Ordaz, R., Antunes-Ricardo, M., Gutiérrez-Urbe, J. A., y González-Aguilar, G. A. (2018). Intestinal permeability and cellular antioxidant activity of phenolic compounds from

mango (*Mangifera indica* cv. Ataulfo) peels. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2), 514.

- Pacheco-Ordaz, R., Wall-Medrano, A., Goni, M., Ramos-Clamont-Montfort, G., Ayala-Zavala, J. F., y González-Aguilar, G. (2018). Effect of phenolic compounds on the growth of selected probiotic and pathogenic bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 66(1), 25-31.
- Palafox-Carlos, H., Yahia, E., y González-Aguilar, G. (2012). Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS-ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. *Food Chemistry*, 135(1), 105-111.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., y Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11-26.
- Pisoschi, A. M., y Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., y Bitto, A. (2017). Oxidative stress: Harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.
- Quirós-Sauceda, A. E., Chen, C.-Y. O., Blumberg, J. B., Astiazaran-Garcia, H., Wall-Medrano, A., y González-Aguilar, G. A. (2017). Processing ‘Ataulfo’Mango into Juice Preserves the Bioavailability and Antioxidant Capacity of Its Phenolic Compounds. *Nutrients*, 9(10), 1082.
- Raish, M., Ahmad, A., Jan, B. L., Alkharfy, K. M., Ansari, M. A., Mohsin, K., al Jenooobi, F., y Al-Mohizea, A. (2016). Momordica charantia polysaccharides mitigate the progression of STZ induced diabetic nephropathy in rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 394-399.
- Rani, V., Deep, G., Singh, R. K., Palle, K., y Yadav, U. C. (2016). Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sciences*, 148, 183-193.
- Rebai, O., Belkhir, M., Sanchez-Gomez, M. V., Matute, C., Fattouch, S., y Amri, M. (2017). Differential Molecular Targets for Neuroprotective Effect of Chlorogenic Acid and its Related Compounds Against Glutamate Induced Excitotoxicity and Oxidative Stress in Rat Cortical Neurons. *Neurochemical Research*, 42(12), 3559-3572.
- Reddy, V. P., Zhu, X., Perry, G., y Smith, M. A. (2009). Oxidative stress in diabetes and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 16(4), 763-774.
- Reglodi, D., Renaud, J., Tamas, A., Tizabi, Y., Socías, S. B., Del-Bel, E., y Raisman-Vozari, R. (2017). Novel tactics for neuroprotection in Parkinson's disease: role of antibiotics, polyphenols and neuropeptides. *Progress in Neurobiology*, 155, 120-148.
- Réus, G. Z., dos Santos, M. A. B., Abelaira, H. M., Titus, S. E., Carlessi, A. S., Matias, B. I., Bruchchen, L., Florentino, D., Vieira, A., y Petronilho, F. (2016). Antioxidant treatment ameliorates experimental diabetes-induced depressive-like behaviour and reduces oxidative stress in brain and pancreas. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 32(3), 278-288.
- Reznick, A. Z., y Packer, L. (1994). [38] Oxidative damage to proteins: Spectrophotometric method for carbonyl assay *Methods in Enzymology* (Vol. 233, pp. 357-363): Elsevier.

- Robles-Sánchez, M., Astiazarán-García, H., Martín-Belloso, O., Gorinstein, S., Alvarez-Parrilla, E., Laura, A., Yepiz-Plascencia, G., y González-Aguilar, G. A. (2011). Influence of whole and fresh-cut mango intake on plasma lipids and antioxidant capacity of healthy adults. *Food Research International*, 44(5), 1386-1391.
- Robles-Sánchez, R., Islas-Osuna, M., Astiazarán-García, H., Vazquez-Ortiz, F., Martín-Belloso, O., Gorinstein, S., y González-Aguilar, G. (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), 126-134.
- Rochette, L., Zeller, M., Cottin, Y., y Vergely, C. (2014). Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840(9), 2709-2729.
- Rosa, A. P., Jacques, C. E. D., de Souza, L. O., Bitencourt, F., Mazzola, P. N., Coelho, J. G., Mescka, C. P., y Dutra-Filho, C. S. (2015). Neonatal hyperglycemia induces oxidative stress in the rat brain: the role of pentose phosphate pathway enzymes and NADPH oxidase. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 403(1-2), 159-167.
- Sadi, G., Baloğlu, M. C., y Pektaş, M. B. (2015). Differential gene expression in liver tissues of streptozotocin-induced diabetic rats in response to resveratrol treatment. *PloS one*, 10(4), e0124968.
- Sadi, G., Bozan, D., y Yildiz, H. B. (2014). Redox regulation of antioxidant enzymes: post-translational modulation of catalase and glutathione peroxidase activity by resveratrol in diabetic rat liver. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 393(1-2), 111-122.
- Sadi, G., y Konat, D. (2016). Resveratrol regulates oxidative biomarkers and antioxidant enzymes in the brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*, 54(7), 1156-1163.
- Sadi, G., Şahin, G., y Bostanci, A. (2019). Modulation of renal insulin signaling pathway and antioxidant enzymes with streptozotocin-induced diabetes: effects of resveratrol. *Medicina*, 55(1), 3.
- Sadi, G., Yılmaz, Ö., y Güray, T. (2008). Effect of vitamin C and lipoic acid on streptozotocin-induced diabetes gene expression: mRNA and protein expressions of Cu–Zn SOD and catalase. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 309(1-2), 109-116.
- Saha, S. K., Lee, S. B., Won, J., Choi, H. Y., Kim, K., Yang, G.-M., Dayem, A. A., y Cho, S.-g. (2017). Correlation between Oxidative Stress, Nutrition, and Cancer Initiation. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1544.
- Saini, R. K., Nile, S. H., y Park, S. W. (2015). Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Research International*, 76, 735-750.
- Salamon, N., Sicotte, N., Drain, A., Frew, A., Alger, J., Jen, J., Perlman, S., y Salamon, G. (2007). White matter fiber tractography and color mapping of the normal human cerebellum with diffusion tensor imaging. *Journal of Neuroradiology*, 34(2), 115-128.
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Moreno-Hernández, C. L., Montalvo-González, E., García-Magaña, M. L., de Oca, M. M.-M., Torres, J. L., y Pérez-Jiménez, J. (2013). Mexican ‘Ataulfo’ mango

- (*Mangifera indica* L) as a source of hydrolyzable tannins. Analysis by MALDI-TOF/TOF MS. *Food Research International*, 51(1), 188-194.
- Schulze, C., Bangert, A., Kottra, G., Geillinger, K. E., Schwanck, B., Vollert, H., Blaschek, W., y Daniel, H. (2014). Inhibition of the intestinal sodium-coupled glucose transporter 1 (SGLT1) by extracts and polyphenols from apple reduces postprandial blood glucose levels in mice and humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(9), 1795-1808.
- Sekar, V., Chakraborty, S., Mani, S., Sali, V., y Vasanthi, H. (2019). Mangiferin from *Mangifera indica* fruits reduces post-prandial glucose level by inhibiting α -glucosidase and α -amylase activity. *South African Journal of Botany*, 120, 129-134.
- Sellamuthu, P. S., Arulselvan, P., Muniappan, B. P., Fakurazi, S., y Kandasamy, M. (2013). Mangiferin from *Salacia chinensis* prevents oxidative stress and protects pancreatic β -cells in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Food*, 16(8), 719-727.
- Sellamuthu, P. S., Arulselvan, P., Muniappan, B. P., y Kandasamy, M. (2012). Effect of mangiferin isolated from *Salacia chinensis* regulates the kidney carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3), S1583-S1587.
- Shacter, E. (2000). Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metabolism Reviews*, 32(3-4), 307-326.
- Shadel, G. S., y Horvath, T. L. (2015). Mitochondrial ROS signaling in organismal homeostasis. *Cell*, 163(3), 560-569.
- Shahidi, F., y Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897.
- Shahidi, F., y Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews*, 39(11), 4067-4079.
- Sharma, S., Mishra, V., Jayant, S. K., y Srivastava, N. (2015). Effect of *Trigonella foenum graecum* L on the activities of antioxidant enzyme and their expression in tissues of Alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Evidence-based Complementary & Alternative Medicine*, 20(3), 203-211.
- Sheweita, S., Mashaly, S., Newairy, A., Abdou, H., y Eweda, S. (2016). Changes in oxidative stress and antioxidant enzyme activities in streptozotocin-induced Diabetes mellitus in rats: Role of *Alhagi Maurorum* extracts. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1-8.
- Shi, M., Xu, B., Azakami, K., Morikawa, T., Watanabe, K., Morimoto, K., Komatsu, M., Aoyama, K., y Takeuchi, T. (2005). Dual role of vitamin C in an oxygen-sensitive system: Discrepancy between DNA damage and cell death. *Free Radical Research*, 39(2), 213-220.
- Sies, H. (2018). On the History of Oxidative Stress: Concept and Some Aspects of Current Development. *Current Opinion in Toxicology*, 7, 122-126.
- Sil, S., Ghosh, T., Gupta, P., Ghosh, R., Kabir, S. N., y Roy, A. (2016). Dual role of vitamin C on the neuroinflammation mediated neurodegeneration and memory impairments in colchicine induced rat model of Alzheimer disease. *Journal of Molecular Neuroscience*, 60(4), 421-435.

- Singhal, S. S., Singh, S. P., Singhal, P., Horne, D., Singhal, J., y Awasthi, S. (2015). Antioxidant role of glutathione S-transferases: 4-Hydroxynonenal, a key molecule in stress-mediated signaling. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 289(3), 361-370.
- Sözbir, E., y Nazıroğlu, M. (2016). Diabetes enhances oxidative stress-induced TRPM2 channel activity and its control by N-acetylcysteine in rat dorsal root ganglion and brain. *Metabolic Brain Disease*, 31(2), 385-393.
- Tangvarasittichai, S. (2015). Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 6(3), 456.
- Thomas, J., Garg, M. L., y Smith, D. W. (2013). Altered expression of histone and synaptic plasticity associated genes in the hippocampus of streptozotocin-induced diabetic mice. *Metabolic Brain Disease*, 28(4), 613-618.
- Tiwari, B. K., Pandey, K. B., Abidi, A., y Rizvi, S. I. (2013). Markers of oxidative stress during diabetes mellitus. *Journal of Biomarkers*, 2013.
- Tsikas, D. (2017). Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry*, 524, 13-30.
- Unsal, C., Oran, M., Albayrak, Y., Aktas, C., Erboga, M., Topcu, B., Uygur, R., Tulubas, F., Yanartas, O., y Ates, O. (2016). Neuroprotective effect of ebselen against intracerebroventricular streptozotocin-induced neuronal apoptosis and oxidative stress in rats. *Toxicology and Industrial Health*, 32(4), 730-740.
- Uzar, E., Alp, H., Cevik, M. U., Firat, U., Evliyaoglu, O., Tufek, A., y Altun, Y. (2012). Ellagic acid attenuates oxidative stress on brain and sciatic nerve and improves histopathology of brain in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurological Sciences*, 33(3), 567-574.
- Valavanidis, A., Vlachogianni, T., y Fiotakis, C. (2009). 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): a critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *Journal of Environmental Science and Health Part C*, 27(2), 120-139.
- Valenlia, K. B., Morshedi, M., Saghafi-Asl, M., Shahabi, P., y Abbasi, M. M. (2018). Beneficial impacts of *Lactobacillus plantarum* and inulin on hypothalamic levels of insulin, leptin, and oxidative markers in diabetic rats. *Journal of Functional Foods*, 46, 529-537.
- Vauzour, D. (2012). Dietary polyphenols as modulators of brain functions: biological actions and molecular mechanisms underpinning their beneficial effects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 1-16.
- Vazquez-Flores, A. A., Martinez-Gonzalez, A. I., Alvarez-Parrilla, E., Díaz-Sánchez, Á. G., de la Rosa, L. A., González-Aguilar, G. A., y Aguilar, C. N. (2018). Proanthocyanidins with a low degree of polymerization are good inhibitors of digestive enzymes because of their ability to form specific interactions: A hypothesis. *Journal of Food Science*, 83(12), 2895-2902.
- Velderrain-Rodríguez, G. R., Ovando-Martínez, M., Villegas-Ochoa, M., Ayala-Zavala, J. F., Wall-Medrano, A., Álvarez-Parrilla, E., Madera-Santana, T. J., Astiazarán-García, H., Tortoledo-Ortiz, O., y González-Aguilar, G. A. (2015). Antioxidant Capacity and Bioaccessibility of Synergic Mango (cv. Ataulfo) Peel Phenolic Compounds in Edible Coatings Applied to Fresh-Cut Papaya. *Food and Nutrition Sciences*, 6(3), 365.

- Verma, M. K., Singh, S. P., Alam, R., y Verma, P. (2016). Comparative study on MDA, SOD and Hba1c levels in patients of type 2 diabetes mellitus with retinopathy and without retinopathy. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(10), 4184.
- Vishnu Prasad, C., Anjana, T., Banerji, A., y Gopalakrishnapillai, A. (2010). Gallic acid induces GLUT4 translocation and glucose uptake activity in 3T3-L1 cells. *FEBS Letters*, 584(3), 531-536.
- Wahid, M., Mahjabeen, I., Baig, R. M., y Kayani, M. A. (2013). Expression of CYP1A1 and GSTP1 in human brain tumor tissues in Pakistan. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(12), 7187-7191.
- Wall-Medrano, A., Olivas-Aguirre, F. J., Velderrain-Rodríguez, G. R., González-Aguilar, A., Rosa, L. A., López-Díaz, J. A., y Álvarez-Parrilla, E. (2015). El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud. *Nutricion Hospitalaria*, 31(1), 67-75.
- Wan, C., Yuan, T., Li, L., Kandhi, V., Cech, N. B., Xie, M., y Seeram, N. P. (2012). Maplexins, new α -glucosidase inhibitors from red maple (*Acer rubrum*) stems. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22(1), 597-600.
- Wang, H.-L., Li, C.-Y., Zhang, B., Liu, Y.-D., Lu, B.-M., Shi, Z., An, N., Zhao, L.-K., Zhang, J.-J., y Bao, J.-K. (2014). Mangiferin facilitates islet regeneration and β -cell proliferation through upregulation of cell cycle and β -cell regeneration regulators. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(5), 9016-9035.
- Wang, X., Ouyang, Y., Liu, J., Zhu, M., Zhao, G., Bao, W., y Hu, F. B. (2014). Fruit and vegetable consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Bmj*, 349, g4490.
- Wu, W., Li, Y., Wu, Y., Zhang, Y., Wang, Z., y Liu, X. (2015). Lutein suppresses inflammatory responses through Nrf2 activation and NF- κ B inactivation in lipopolysaccharide-stimulated BV-2 microglia. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(9), 1663-1673.
- Xiao, N.-N. (2015). Effects of resveratrol supplementation on oxidative damage and lipid peroxidation induced by strenuous exercise in rats. *Biomolecules & Therapeutics*, 23(4), 374.
- Yahia, E., Ornelas-Paz, J. d. J., y Gardea, A. (2006). *Extraction, separation and partial identification of Ataulfo mango fruit carotenoids*. Paper presented at the IV International Conference on Managing Quality in Chains-The Integrated View on Fruits and Vegetables Quality 712.
- Yahia, E., Ornelas-Paz, J. D. J., y González-Aguilar, G. (2011). Nutritional and health-promoting properties of tropical and subtropical fruits *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits: Fundamental Issues* (pp. 21-78): Elsevier.
- Yamaguchi, M., y Weitzmann, M. N. (2009). The bone anabolic carotenoids p-hydroxycinnamic acid and β -cryptoxanthin antagonize NF- κ B activation in MC3T3 preosteoblasts. *Molecular Medicine Reports*, 2(4), 641-644.
- Yavari, A., Javadi, M., Mirmiran, P., y Bahadoran, Z. (2015). Exercise-induced oxidative stress and dietary antioxidants. *Asian Journal of Sports Medicine*, 6(1), 1-7.

- Yon, J.-M., Baek, I.-J., Lee, S.-R., Jin, Y., Kim, M.-R., Nahm, S.-S., Kim, J.-S., Ahn, B., Lee, B. J., y Yun, Y. W. (2008). The spatio-temporal expression pattern of cytoplasmic Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) mRNA during mouse embryogenesis. *Journal of Molecular Histology*, 39(1), 95-103.
- Yoshino, M., Haneda, M., Naruse, M., Htay, H., Iwata, S., Tsubouchi, R., y Murakami, K. (2002). Prooxidant action of gallic acid compounds: copper-dependent strand breaks and the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA. *Toxicology In Vitro*, 16(6), 705-709.
- Yuan, L., Liu, J., Zhen, J., Xu, Y., Chen, S., Halm-Lutterodt, N. V., y Xiao, R. (2017). Vegetable and fruit juice enhances antioxidant capacity and regulates antioxidant gene expression in rat liver, brain and colon. *Genetics and Molecular Biology*, 40(1), 134-141.
- Zhang, H., y Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33-42.