

Titulo del Estudio: Los efectos del Mango en Parámetros del Hueso en Ratones Alimentados con una Dieta Alta en Grasa (Titulo en Ingles: Effects of Mango on Bone Parameters in Mice Fed High Fat Diet)

Investigadora Principal: Dra. Edralin A. Lucas
Nutritional Sciences Department
Oklahoma State University
422 HES
Stillwater, OK 74078
Phone: 405-744-3132
Fax: 405-744-1357
Email: edralin.a.lucas@okstate.edu

Co-Investigadores: Dra. Penelope Perkins-Veazie,¹ Dr. Brenda J. Smith,²
Dr. Stephen Clarke,² Dra. Solo Kuvibidila,² Dr. Stanley A.
Lightfoot,³
¹North Carolina State University Research Campus, Kannapolis,
NC; ²Nutritional Sciences Department, Oklahoma State University,
Stillwater, OK, 74078; ³Veterans Affairs Medical Center,
Oklahoma City, OK

Introducción

La osteoporosis, caracterizada como una reducción en la masa del hueso y una susceptibilidad elevada a las fracturas, afecta a 10 millones de individuos en los EE UU hoy en día.¹ Sorprendentemente, 34 millones de individuos adicionales padecen de una masa del hueso bajo, una condición a la cual se refiere como osteopenia.¹ Se estimaba que los costos al sistema de salud asociados directamente con la osteoporosis están entre \$12-18 billones por año.¹ En el 2005, se estimó que la incidencia de fracturas fue más de 2 millones con un costo total de \$19 billones.¹ Para el 2025, se pronostica que las fracturas se aumentarán a más de 3 millones con un costo anual de estas fracturas proyectado a \$25.3 billones.¹ Aunque hay opciones de tratamientos disponibles y aprobados por el Food and Drug Administration (FDA), el uso de estas opciones a largo plazo no es razonable.² Pues, hay una necesidad de identificar tratamientos alternativos que no tengan efectos secundarios. Tomando en cuenta el aumento del conocimiento que ha habido sobre la importancia de la dieta en la prevención de las enfermedades crónicas, creemos que una opción de un tratamiento atractivo sería uno que se pueda incluir como una parte de la dieta cotidiana. La investigación del papel de intervenciones dietéticas que sean efectivas, económicas y fáciles de incorporar en un régimen de tratamiento anti osteoporosis es una estrategia alternativa y atractiva.

El hueso es un tejido dinámico el cual se remodela durante la vida entera. El cuerpo mantiene un balance delicado entre la formación y la descomposición (resorción) del hueso. Las células del hueso, a las cuales se refiere como osteoblastos, son responsables de la formación del hueso mientras la actividad de los osteoclastos es lo que resulta en la resorción. La osteoporosis se desarrolla cuando el proceso de remodelaje de hueso favorece a la actividad de los osteoclastos. La osteoporosis predispone al individuo a un aumento en riesgo de fracturas del hueso.

El estilo de vida (por ejemplo, evitando el fumar y la actividad física) y los factores nutricionales (el aumento en el consumo de calcio y la vitamina D) son reconocidos como formas de reducir el riesgo de la osteoporosis. También se ha demostrado que la dieta alta en grasas saturadas aumenta el riesgo de la osteoporosis.³ Se ha determinado que las grasas saturadas cohiben la absorción del calcio dietético, que reduce la mineralización del hueso.³ En los ratones, una dieta alta en grasa fue mostrada a convertir las células que normalmente se convierten en osteoblasto que forma el hueso, a células de grasa, lo que resulta en una

disminución de la formación del hueso.^{4,5} La diabetes Tipo 2 también ha mostrado ser un factor que aumenta el riesgo de que un individuo sufrirá de fractura, desde los 5 hasta 10 años después de la diagnosis de la condición, aunque la información sobre la razón de esta relación entre la diabetes y las fracturas es muy limitada.⁶

Adicionalmente a los factores del estilo de vida y dieta, ciertos medicamentos están asociados con el aumento en el riesgo de pérdida de hueso y las fracturas. Por ejemplo, rosiglitazone, también conocido por el nombre Avandia™, es un medicamento de administración oral que se usa para reducir la glucosa de la sangre y para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. Una manera por la cual rosiglitazone reduce la glucosa de la sangre es por el aumento del consumo de la glucosa por la grasa y los músculos. Rosiglitazone también convierte las células precursoras de osteoblasto a células grasosas en lugar de osteoblasto maduro, lo que resulta en un aumento en la grasa total del cuerpo y una reducción en la formación de hueso y también un aumento en el riesgo de osteoporosis.⁷ Una droga adicional que se prescribe comúnmente es el fenofibrate, una droga usada para reducir el colesterol elevado y / o los niveles de los triglicéridos. El uso del fenofibrate es frecuentemente asociado con efectos secundarios no deseables incluyendo problemas con la piel y la digestión, dolores en los músculos, los sudores y el mareo.⁸ Un estudio utilizando ratones ha mostrado que el fenofibrate también reduce la densidad de los minerales del hueso.⁹ Se necesita explorar las opciones para reducir la glucosa de la sangre y los lípidos, sin tener efectos secundarios.

Los compuestos activos que se originan en los alimentos ofrecen una opción terapéutica más atractiva para muchas enfermedades crónicas.¹⁰⁻¹³ En particular, se ha investigado los frutos, vegetales y hortalizas para sus beneficios potenciales para la salud.¹⁰⁻¹³ Entre estos frutos, los mangos son fuentes ricas de vitamina A y C y también contienen más de 20 vitaminas y minerales diferentes.¹⁴ La vitamina A juega un papel importante en la visión y el crecimiento de los huesos mientras la vitamina C promueve la función saludable del sistema inmunológico. Adicionalmente, la vitamina C es importante en la formación del colágeno, una proteína que apoya y conecta los tejidos, como la piel y los huesos. La actividad antioxidante del mango ayuda a la protección del hueso. Las vitaminas A y C u otros compuestos antioxidantes que se encuentran en el mango pueden proteger las células de nuestros cuerpos de los efectos dañinos de los radicales libres. Por ejemplo, se ha mostrado que el jugo del mango inhibe la formación de los radicales libres y retrasa el desarrollo de las células cancerosas.¹⁵ Sin embargo, a nuestro

conocimiento, no hay estudios que hayan investigado los efectos del mango a los parámetros del hueso.

El *objetivo* de este proyecto era de investigar el efecto de la pulpa del mango liofilizado en los parámetros del hueso en ratones que reciben una dieta alta en grasa y para comparar estos efectos a fenofibrate y rosiglitazone. Nuestra hipótesis es que los compuestos del mango pueden tener un efecto en contra de los efectos negativos de una dieta alta en grasa a los huesos.

Usando mangos de la variedad Tommy Atkins, se pelaron, se cortaron, se liofilizaron y se molieron para hacer un polvo fino. Las muestras del mango fueron analizadas para determinar su contenido de carbohidratos, grasa, calcio y fosforo y luego las agregaron a una dieta estándar de ratones. Los tratamientos dietéticos consistían en un control (dieta regular de ratón, AIN-93M), alta grasa (HF), alta grasa mas 1% polvo de mango (HF+1% mango), alta grasa mas 10% polvo de mango (HF+10% mango), alta grasa mas fenofibrate (HF+fenofibrate), y alta grasa mas rosiglitazone (HF+rosiglitazone). Todas las dietas altas en grasa se regularon para tener contenidos semejantes de carbohidrato, fibra, proteína, grasa, calcio y fosforo. Se asignaron a los ratones a una de las seis dietas (8-9 ratones por grupo) por dos meses y se les permitía comer y beber sin restricción. Después de dos meses de tratamiento, los ratones fueron anestesiados para poder medir la composición del cuerpo entero y la densidad del hueso. Se coleccionó la sangre y tejidos incluyendo los huesos. Se limpiaron los huesos de tejidos adherentes para usarlos en los análisis de los parámetros del hueso.

Resultados:

Reportamos previamente que la incorporación del mango en la dieta del ratón mejoraba la glucosa de la sangre y reducía la grasa del cuerpo asociada con el consumo de una dieta alta en grasa. Aquí presentamos nuestros hallazgos sobre el efecto del mango en los parámetros del hueso en los ratones alimentados con una dieta alta en grasa.

Contenido Mineral (BMC), Área (BMA), y Densidad (BMD) del Cuerpo Entero, Tibia, y la Columna vertebral

Los efectos del mango, fenofibrate y rosiglitazone en el contenido mineral del hueso y en el área de cuerpo entero, la tibia y en la columna vertebral se presenta en la Tabla 1. Los contenidos minerales del hueso del cuerpo entero, la columna vertebral y en la tibia fueron, consistentemente, más bajos en los ratones alimentados con la dieta HF+rosiglitazone y más

altos en los grupos HF+mango. No hubo diferencias en el área mineral del hueso del cuerpo entero, la columna vertebral ni en la tibia.

Tabla 1: Los efectos del mango, rosiglitazone y fenofibrate en el contenido mineral de hueso (BMC) y en el área del cuerpo entero, de la tibia y de la columna vertebral en los ratones alimentados con una dieta alta en grasa durante dos meses.

Para- metros	Dieta normal AIN-93M	HF	HF + 1% Mango	HF + 10% Mango	HF + Feno- fibrate	HF + Rosi- glitazone
Cuerpo entero						
BMC† (mg)	458.6± 11.5	450.7± 19.8	486.8± 23.1	505.3± 24.4	447.3± 14.0	425.5± 15.5
Área (cm ²)	9.12± 0.18	9.18±0.29	9.35±0.33	9.94±0.38	8.99±0.25	8.92±0.23
Tibia						
BMC (mg)	23.6±0.6 ^{AB} C	22.5±0.7 ^B C	25.6±1.1 ^A	25.0±1.0 ^A B	22.4±0.8 ^C	22.7±0.9 ^B C
Área (cm ²)	0.492± 0.008	0.478± 0.009	0.498± 0.012	0.498± 0.013	0.477± 0.011	0.444± 0.012
Columna vertebral						
BMC‡ (mg)	20.9±0.6	19.9±0.5	21.7±1.0	21.6±1.2	19.6±0.5	18.8±0.7
Área (cm ²)	0.425± 0.006	0.419± 0.004	0.423± 0.007	0.430± 0.009	0.418± 0.005	0.428± 0.007

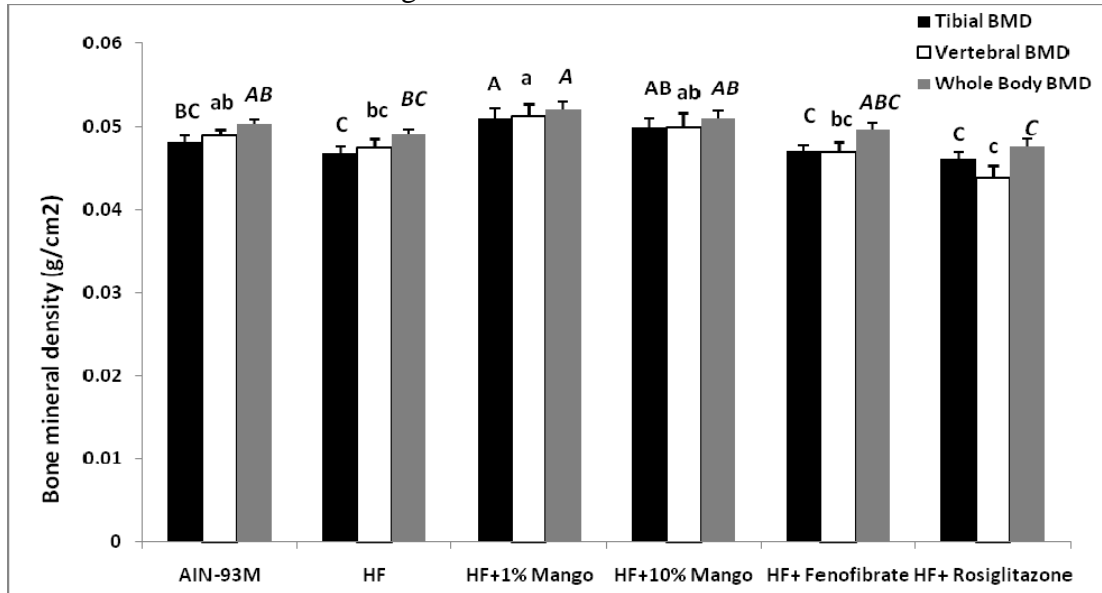
Los valores son el promedio ± SE, n=8 o 9; dentro de una columna, valores que no comparten letras comunes son diferentes estadísticamente ($P<0.05$). † $P=0.0537$; ‡ $P=0.0636$

Se observaron patrones semejantes en la densidad de los minerales en los huesos (BMD). Los ratones que recibían la dieta HF+1% mango mostraba consistentemente un elevado BMD del cuerpo entero, la columna vertebral y la tibia mientras los mismos factores eran reducidos consistentemente en los ratones de la dieta HF+rosiglitazone (Figura 1).

La Estructura de tres dimensiones (micro arquitectura) del hueso

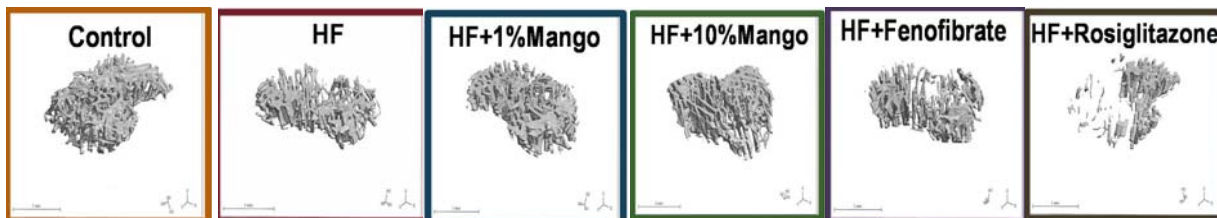
En adición a la masa del hueso (BMC and BMD), análisis hecho por tomografía de rayos-X micro computado da una estructura de 3 dimensiones (3-D) del hueso y también otros indicadores de la calidad del hueso. Como señala la Figura 2, un empeoramiento de la calidad de la tibia se observó en los ratones que recibían HF, HF+fenofibrate, y HF+rosiglitazone. No se detectó empeoramiento de la calidad del hueso en los grupos de ratones que recibían mango ni en el grupo del control.

Figura 1. Los efectos del suplemento del mango comparado de rosiglitazone y fenofibrate a la densidad mineral del hueso del cuerpo entero, la columna vertebral y la tibia en los ratones alimentados con una dieta alta grasa durante dos meses¹



¹Las barras son el promedio \pm SE, n=8-9/grupo; Las barras que no comparten letras comunes son diferentes estadísticamente ($P < 0.05$). Notas de traducción: Bone Mineral Density = densidad mineral del hueso; Whole Body = Cuerpo entero.

Figura 2. Imágenes representativas de la estructura 3-D de la tibia en los ratones que recibían durante dos meses las dietas control, alta en grasa (HF), HF+1% o 10% mango, HF+fenofibrate, o HF+rosiglitazone.

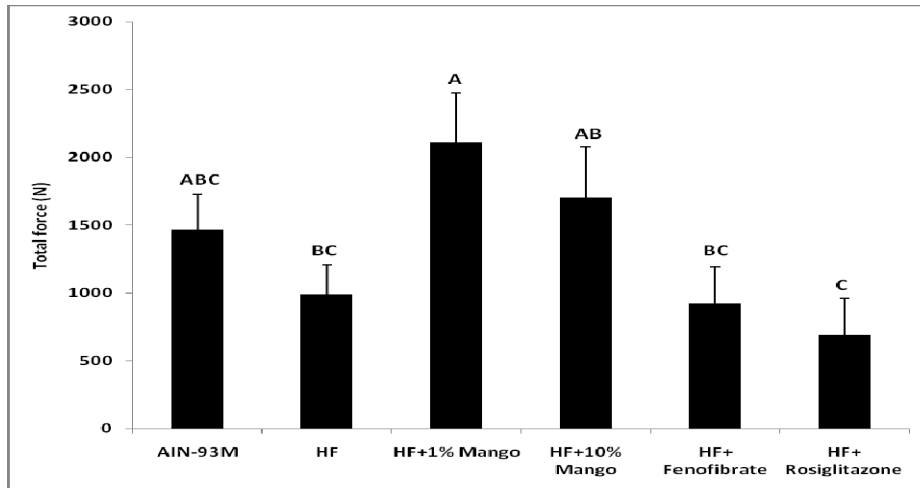


Fuerza del hueso usando prueba de compresión simulada

La fuerza del hueso fue evaluada utilizando una prueba de compresión simulada. Hueso de calidad pobre requiere un nivel de fuerza reducida para romper el hueso, lo que significa un aumento en el riesgo de las fracturas. La Figura 3 muestra que el mango en 1% mejoraba la fuerza del hueso comparado a lo de los animales que consumían una dieta alta en grasa (HF). También se requería una fuerza reducida para romper la tibia de los ratones alimentados con la

dieta HF+rosiglitazone comparado a la fuerza requerida con los ratones que recibían la dieta HF+1% mango. La tibia de los ratones que recibían la dieta HF+1% mango es el hueso mas fuerte, basado en la fuerza total más alta. La dieta de 10% de mango tiene un efecto en la fuerza del hueso.

Figura 3. Efectos del suplemento de mango comparado a rosiglitazone y fenofibrate en la fuerza total requerida para romper la tibia en ratones alimentados con una dieta alta en grasa (HF) durante dos meses¹



¹Las barras son el promedio \pm SE, n=8-9/grupo; Las barras que no comparten letras comunes son diferentes estadísticamente ($P < 0.05$). Nota de traducción: “total force” = Fuerza total.

Resumen:

Los resultados de nuestro estudio demuestran que el mango, particularmente con la dosis de 1%, contrarresta los efectos negativos al hueso de una dieta alta en grasa. Los ratones que recibían la dieta HF+1% mango tenía la BMG más alta en el cuerpo entero, la columna vertebral, y la tibia. De manera importante, el mango no solo mejoró el BMD pero también la calidad del hueso indicado por el mejoramiento en el micro arquitectura y la fuerza. Las dietas de HF comprometieron la calidad y la fuerza del hueso, sin embargo la dieta alta en grasa combinada con rosiglitazone fue la más perjudicial a la calidad y a la fuerza del hueso.

Este estudio, junto con nuestros hallazgos anteriores, demuestran que el mango es tan efectivo como el rosiglitazone (una droga que reduce la glucosa) en la reducción de la glucosa y la reducción de la grasa del cuerpo que resulta del consumo de una dieta alta en grasa. Sin embargo, el mango provee los beneficios del control de la glucosa y la prevención del aumento

en la grasa del cuerpo sin comprometer la calidad del hueso, lo que ocurre con el rosiglitazone. Estos resultados podrían ser muy importantes en las estrategias de la prevención y tratamiento para los individuos quienes tengan riesgos de sufrir o quienes padezcan, la diabetes tipo 2. Los estudios usando un modelo animal de osteoporosis aceptable, tanto como los estudios humanos, son necesarios para confirmar nuestros resultados y para empezar a comprender como funciona el mango. Además, se necesita investigar más a fondo los componentes responsables para los efectos positivos que el mango tiene en el hueso.

Referencias:

1. National Osteoporosis Foundation (NOF). Osteoporosis: A debilitating disease that can be prevented and treated. 2008.
2. Biskobing DM, Novy AM, Downs R. Novel therapeutic options for osteoporosis. *Curr.Opin.Rheumatol.* 2002; 14(4):447-52.
3. Wohl GR, Loehrke L, Watkins BA, Zernicke RF. Effects of high-fat diet on mature bone mineral content, structure, and mechanical properties. *Calcif Tissue Int.* 1998; 63:74-79.
4. Parhami F, Tintut Y, Beamer WG, Gharavi N, Goodman W, Demer LL. Atherogenic high-fat diet reduces bone mineralization in mice. *J Bone Miner Res.* 2001;16:182-188.
5. Parhami F, Jackson SM, Tintut Y, Le V, Balucan JP, Territo M, Demer LL. Atherogenic diet and minimally oxidized low density lipoprotein inhibit osteogenic and promote adipogenic differentiation of marrow stromal cells. *J Bone Miner Res.* 1999;14(12):2067-78.
6. Melton LJ 3rd, Leibson CL, Achenbach SJ, Therneau TM, Khosla S. Fracture risk in type 2 diabetes: update of a population-based study. *J Bone Miner Res.* 2008;23(8):1334-42
7. Kalaitzidis RG, Sarafidis PA, Bakris GL. Effects of thiazolidinediones beyond glycaemic control. *Curr Pharm Des* 2009;15:529-536.
8. Roberts WC. Safety of fenofibrate--US and worldwide experience. *Cardiology* 1989; 76; 169-179.
9. Toda K, Okada T, Miyaura C, Saibara T. Fenofibrate, a ligand for PPARalpha, inhibits aromatase cytochrome P450 expression in the ovary of mouse. *J Lipid Res.* 2003;44(2):265-70.
10. Ullah MF, Khan MW. Food as medicine: potential therapeutic tendencies of plant derived polyphenolic compounds. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008; 9:187-195.

11. Jew S, AbuMweis SS, Jones PJ. Evolution of the human diet: linking our ancestral diet to modern functional foods as a means of chronic disease prevention. *J Med Food* 2009; **12**: 925-934.
12. Wu H, Dai Q, Shrubsole MJ, *et al.* (2009) Fruit and vegetable intakes are associated with lower risk of colorectal adenomas. *J Nutr* **139**, 340-344.
13. Iriti M & Faoro F (2006) Grape phytochemicals: a bouquet of old and new nutraceuticals for human health. *Med Hypotheses* **67**, 833-838.
14. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (2005) USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 18. <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>
15. Percival SS, Talcott ST, Chin ST, Mallak AC, Lounds-Singleton A, Pettit-Moore J. Neoplastic transformation of BALB/3T3 cells and cell cycle of HL-60 cells are inhibited by mango (*Mangifera indica* L.) juice and mango juice extracts. *J Nutr.* 2006; 136 (5): 1300-4.