

Título del Estudio: El mango mejorará los parámetros óseos en los ratones ovariectomizados, un modelo de la osteoporosis en las mujeres postmenopáusica

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. Brenda J. Smith,¹ Dra. Penelope Perkins-Veazie,² Dr. Stephen Clarke,¹ and Dr. Stanley A. Lightfoot³

¹Nutritional Sciences Department, Oklahoma State University, Stillwater, OK, 74078; ²North Carolina State University Research Campus, Kannapolis, NC; ³Veterans Affairs Medical Center, Oklahoma City, OK

Traducción Carmen Lara Shrefler

INTRODUCCIÓN

La osteoporosis es una condición médica que debido a la pérdida del tejido óseo le causa al hueso hacerse frágil y susceptible a la fácil fractura o rompimiento. Según la Fundación Internacional de la Osteoporosis (The International Osteoporosis Foundation), la osteoporosis causa más de 8.9 millones de fracturas anualmente, resultando en una fractura osteoporótica en cada 3 segundos.¹ La cantidad de individuos afectados por la osteoporosis en Europa, Los EE.UU., y Japón se estima en aproximadamente 75 millones.¹ Además, el costo promedio de los tratamientos para la osteoporosis y el manejo de los heridos puede ser extremadamente alto dependiendo en el tipo de tratamiento.¹

La osteoporosis postmenopáusica explica aproximadamente el 80% de los casos que surgen de osteoporosis.¹ El riesgo de la osteoporosis aumenta cuando las mujeres llegan a la edad de la menopausia debido a la disminución en la producción del estrógeno, la hormona sexual femenina. Hay muchos cambios fisiológicos que afectan el hueso debido a la deficiencia del estrógeno. Cambios en el balance del calcio, aumentos en la producción de factores inflamatorios y especies reactivos del oxígeno, elevación de la actividad de las células rompe-huesos (osteoclastos) y la disminución de la actividad de las células formadoras del hueso (osteoblastos) ocurren debido a la deficiencia del estrógeno y estos cambios comprometen la calidad del hueso.²

Hay algunos farmacéuticos disponibles para el tratamiento de la osteoporosis. Estas drogas pueden inhibir la descomposición del hueso (medicamentos anti-resorción) o aumentar la velocidad de la formación del hueso. Por ejemplo, la droga alendronato se usa para inhibir la descomposición y aumentar la masa del hueso, lo que puede reducir la fractura. Sin embargo, se ha reportado que alendronato tiene efectos secundarios adversos como dolores de las coyunturas

y de los músculos y complicaciones gastrointestinales (p.ej. náusea, acidez estomacal, dolores abdominales, y úlceras).³ Por lo tanto, se está aumentando en popularidad el interés en buscar alternativas naturales para la prevención o el tratamiento de la osteoporosis.

Una estrategia para el mantenimiento de la salud esquelética que puede demorar o prevenir la osteoporosis posmenopáusica es el consumo de una dieta abundante en frutas y vegetales.⁴⁻⁵ Algunos estudios investigativos han sugerido el beneficio de frutas como el arándano y la ciruela en el mejoramiento de los parámetros óseos en las mujeres postmenopáusicas y en el modelo con ratones de la osteoporosis postmenopáusica.⁴⁻⁵ Una fruta adicional que tiene potencial en el sostenimiento de la salud esquelética es el mango. El mango (*Mangifera indica*) es alto en antioxidantes (las vitaminas A y C), minerales (calcio, fósforo), tanto como los compuestos fenólicos (la quercetina y la mangiferina).⁶⁻⁷ Estos antioxidantes u otros nutrientes encontrados en el mango pueden contrarrestar los efectos negativos de los radicales libres y las moléculas inflamatorias, factores que pueden comprometer la salud esquelética. Previamente mostramos que el mango puede modular la glucosa de la sangre de manera semejante al medicamento que reduce la glucosa sin comprometer a los parámetros óseos en los ratones alimentados con una dieta alta en grasa.⁸ Los efectos del mango y su polifenol en la prevención de la pérdida del hueso en los ratones ovariectomizados (Ovx), un modelo de los parámetros de la osteoporosis posmenopáusica, se investigaron en este estudio. Nuestra hipótesis era que la fruta del mango contiene componentes bioactivos capaces de impedir la osteoporosis posmenopáusica.

LA METODOLOGÍA

Se obtuvieron noventa ratones C57/BL6, de 12 semanas de edad, de los Laboratorios Jackson (Bar Harbor, ME) y los climatizaron por 3 días antes de removerles los ovarios (ovariectomía) o hacerles una cirugía placebo (hacerle la misma cirugía pero sin removerles los ovarios). Después de la cirugía le asignaron a cada ratón, de manera al azar, uno de los siguientes tratamientos: (n= 12/grupo) (a) control placebo, (b) control Ovx, (c) Ovx+1% o 10% (peso/peso) mango liofilizado o dieta con mango polifenol (PP) (equivalente PP a lo de 1% y 10% mango), y (d) Ovx+alendronato (ALN) por inyección (0.1 mg/kg/semana).

Se compró en un supermercado local frutas de mango (variedad Tommy Atkins). Se pelaron las frutas y luego se liofilizó y se molió la pulpa. La pulpa molida fue analizada para determinar la composición de los nutrientes y luego incorporada en las dietas en concentraciones de 1% o 10% por peso. Para extraer el polifenol de la pulpa del mango se homogenizó con acetona y metanol, se extrajo con hexano, y la fase acuosa fue concentrada, filtrada, y liofilizada. Se agregó el polifenol a la dieta control en las dosis equivalentes a la cantidad encontrada en las dietas de mango de 1% y 10%. Todas las dietas tuvieron la misma composición de los macronutrientes, de calcio y fósforo. Los ratones ovariectomizados (Ovx) recibieron la misma alimentación que el grupo placebo y se le hizo disponible *ad libitum*, agua procesada con ósmosis inversa. Se pesaron los ratones semanalmente. A las doce semanas de recibir los tratamientos, sacrificaron a los ratones, coleccionaron los tejidos y evaluaron varios parámetros de los huesos.

LOS RESULTADOS

Los resultados de este estudio se presentaron en algunas reuniones locales y nacionales.

1. Eldoumi H, Meister M, Peterson S, Ketz-Riley C, Perkins-Veazie, Clarke SL, Smith BJ, Lucas EA. Effects of mango on bone parameters of ovariectomized mice. Oklahoma State University Research Week, February 21, 2013, Stillwater, OK
2. Eldoumi H, Meister M, Peterson S, Ketz-Riley C, Perkins-Veazie, Clarke SL, Smith BJ, Lucas EA. Effects of mango on bone parameters of ovariectomized mice. Oklahoma Research Day, University of Central Oklahoma, March 12, 2013, Edmond, OK.
3. Eldoumi H, Meister M, Peterson S, Ketz-Riley C, Perkins-Veazie, Clarke SL, Smith BJ, Lucas EA. The effects of freeze-dried mango on bone parameters of ovariectomized mice. Oklahoma Skeletal Biology Symposium, November 4, 2013, Oklahoma City, OK.
4. Eldoumi H, Meister M, Peterson S, Ketz-Riley C, Perkins-Veazie P, Clarke SL, Smith BJ, Lucas EA. The effects of freeze-dried mango on bone parameters of ovariectomized mice. OSU Research Symposium, February 2014; Stillwater, OK.
5. Eldoumi H, Meister M, Peterson S, Ketz-Riley C, Perkins-Veazie P, Clarke SL, Smith BJ, Lucas EA. The effects of freeze-dried mango on bone parameters of ovariectomized mice. Experimental Biology, April 2014; San Diego, CA.

El Peso Corporal, La Alimentación, y El Peso Uterino (Tabla 1)

Los ratones tuvieron pesos corporales semejantes al inicio del tratamiento. La alimentación de todos los ratones ovariectomizados fue semejante, y menos que la del grupo placebo. A pesar de la alimentación reducida de los grupos ovariectomizados, este grupo tuvo un peso corporal elevado comparado al grupo placebo después de 12 semanas del tratamiento dietético. La diferencia significativa en el peso uterino ($P < 0.001$) entre los grupos del placebo y Ovx indica el éxito de la cirugía.

El Contenido Mineral Tibial y Lumbar (BMC), Área (BMA), y La Densidad (BMD) (Tabla 2)

La menopausia está asociada con una lenta y continua reducción en BMC Y BMD debido a la falta de equilibrio entre las velocidades de la formación del hueso y la resorción. Como se espera, el grupo placebo tuvo los BMC y BMA del cuerpo entero comparado a los grupos OVX. Ni el mango liofilizado ni su polifenol pudo prevenir la reducción en el BMC ni el BMA causado por la ovariectomía. El BMC, que se calcula del BMC y BMA, fue semejante para todos los grupos.

Para los demás análisis óseos se escogieron la tibia (rica en corteza ósea) y la cuarta vertebra lumbar (rica en hueso trabecular o hueso esponjoso). De manera semejante al cuerpo completo, la ovariectomía causó una disminución significativa la BMD de la tibia próxima al lumbar. Los ratones alimentados con 10% de mango o 10% PP mostraron niveles similares del BMD tibial en los grupos ALN y el Ovx-control. Entre los grupos Ovx, el BMD lumbar fue máximo en el grupo ALN, y con el próximo grupo siendo los ratones alimentados con el 10% de mango liofilizado.

Los Parámetros de la Micro arquitectura Tibial y Lumbar (Tabla 3 and Figura 1)

Adicional a los cambios en la BMD, la deficiencia del estrógeno es también asociado con el compromiso del micro arquitectura ósea. La deficiencia del estrógeno se caracteriza por una reducción en el volumen del hueso por el volumen total (BV/TV), la densidad de la conectividad (Conn.Dens.), el numero trabecular (Tr.N.), el grosor trabecular (Tr.Th) y el aumento en la separación trabecular (Tr.Sp).⁹ El resultado de estos cambios es un hueso más débil. El análisis por tomografía micro-computarizado muestra que el 10% de mango y ambas dosis de PP pudo mejorar el BV/TV lumbar y la Conn. Dens (de manera similar al grupo tratado

con alendronate pero todavía similar al control Ovx; Figura 1a y 1c). La BV/TV Tibial y la Conn. Dens también mejoraron con los tratamientos PP de manera similar al grupo placebo, pero también similar al grupo control-Ovx.

Como se esperaba, el Tr.N lumbar se disminuyó y el Tr.Sp aumentó debido a la ovariectomía (Figura 1b y Tabla 3). Estos parámetros llegaron a los niveles del control placebo y del ALN (pero todavía similar a los ratones del control-Ovx) en los ratones que recibieron un 10% de mango y las dietas PP. Los Tr.Th y Tb.Sp tibial fueron semejante entre todos los grupos de los tratamientos.

La dieta de mango en 10% pudo mejorar el índice modelo estructural (SMI) del hueso lumbar de manera semejante al grupo ALN. Un SMI bajo indica una trabécula como un plato, lo que provee más soporte y aumenta la calidad general del hueso, mientras un SMI alto indica un hueso trabecular de forma de barra que provee menos apoyo y que es más vulnerable a la fractura.¹⁰ No hubo ninguna diferencia en la SMI tibial entre los grupos de los tratamientos.

El propéptido amino terminal del procolágeno de tipo 1(P1NP) de plasma, que se libera del procolágeno durante la síntesis del colágeno y considerado ser un indicador de la formación del hueso, fue medido. También se evaluó piridinolina (PYD), un marcador de la resorción ósea que se libera durante la descomposición de los entrecruzamientos lisil hidroxil. Los grupos alimentados con mango tienen la misma P1NP que los del grupo placebo. Entre los grupos de los tratamientos no hubo diferencia significativa en el marcador de resorción ósea PYD.

Para determinar si los efectos del mango al hueso se debe a su influencia potencial al estatus oxidativo, se evaluaron las actividades del superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT) al extracto tibial. Los grupos del mango y PP tuvieron actividades de la enzima

antioxidante SOD que fueron estadísticamente semejante al grupo placebo. Sin embargo, no se observó ninguna diferencia significativa en la actividad CAT entre los grupos de los tratamientos.

En Conclusión

Los resultados de este estudio demuestran que donde usamos el modelo de la osteoporosis posmenopáusica de los ratones ovariectomizados, el complemento de mango en la dieta tiene efectos modestos al hueso. La dosis más alta de mango y su PP sirvieron para mejorar ligeramente los parámetros micro arquitecturales óseos, algo que puede ayudar en contra la fractura de los huesos. Para determinar si una dosis elevada de mango es necesaria para producir un efecto más elevado será necesario realizar estudios adicionales.

Tabla 1 Los efectos del complemento con mango liofilizado por 12 semanas al peso corporal, consumo alimenticio, y peso uterino de ratones ovariectomizados (Ovx)¹

Grupo/variable	Control-placebo	Control-Ovx	1% mango-Ovx	10% mango-Ovx	1% PP-Ovx	10% PP-Ovx	ALN-Ovx	valor-P
Peso corporal inicial (g)	21.1 ± 0.6	21.6 ± 1.8	21.6 ± 1.2	22.0 ± 1.6	21.5 ± 1.2	21.6 ± 1.4	21.0 ± 0.8	0.7396
Peso corporal final (g)	25.3 ± 2.5 ^c	32.0 ± 4.4 ^{ab}	32.8 ± 3.2 ^a	32.2 ± 5.4 ^{ab}	34.8 ± 1.5 ^a	32.6 ± 1.7 ^a	29.2 ± 3.6 ^b	< 0.0001
Consumo alimenticio (g)	3.5 ± 0.2 ^a	3.1 ± 0.2 ^b	3.2 ± 0.2 ^b	3.2 ± 0.3 ^b	3.2 ± 0.2 ^b	3.2 ± 0.2 ^b	3.3 ± 0.4 ^{ab}	0.0250
Peso uterino (mg)	121 ± 46 ^a	21 ± 12 ^b	16 ± 7 ^b	21 ± 14 ^b	15 ± 5 ^b	16 ± 5 ^b	12 ± 7 ^b	< 0.0001

¹Los valores son los promedios ±SD; n= 9-11 ratones/grupo. Dentro de una fila, valores sin letras comunes son diferentes estadísticamente(P<0.05). PP – dieta con extracto polifenolico de mango equivalente a la dieta de mango en 1% o 10%, ALN – inyección de alendronato.

Tabla 2 Los efectos del complemento con mango liofilizado por 12 semanas al contenido mineral del hueso del cuerpo entero, tibia proximal, y lumbar (L4) (BMC), área (BMA), y densidad (BMD) en ratones ovariectomizados (ovx)¹

Parameters	Sham-control	Ovx-control	Ovx-1% mango	Ovx-10% mango	Ovx-1% PP	Ovx-10% PP	Ovx-ALN	P-value
Whole Body								
BMC (mg)	685.7 ± 56.8 ^a	491.7 ± 58.5 ^{bc}	457.0 ± 66.0 ^c	478.1 ± 72.7 ^c	445.8 ± 59.0 ^c	473.0 ± 52.0 ^c	538.1 ± 45.6 ^{bc}	< 0.0001
BMA (cm ²)	11.90 ± 0.66 ^a	8.91 ± 0.54 ^c	8.58 ± 0.34 ^c	8.74 ± 0.60 ^c	8.61 ± 0.27 ^c	8.74 ± 0.24 ^c	10.28 ± 0.68 ^b	< 0.0001
BMD (mg/cm ²)	57.56 ± 1.94	55.11 ± 5.06	52.91 ± 6.97	54.49 ± 4.67	51.80 ± 6.70	54.08 ± 5.91	52.29 ± 1.76	0.220
Tibia								
BMC (mg)	21.7 ± 3.0	19.8 ± 2.0	19.8 ± 1.5	20.2 ± 1.9	20.3 ± 0.8	20.4 ± 1.1	21.4 ± 3.1	0.258
BMA (cm ²)	0.445 ± 0.053	0.446 ± 0.044	0.445 ± 0.018	0.441 ± 0.019	0.455 ± 0.016	0.454 ± 0.15	0.455 ± 0.051	0.946
BMD (mg/cm ²)	49.62 ± 1.40 ^a	44.83 ± 2.57 ^{bc}	44.55 ± 1.65 ^c	46.21 ± 3.87 ^{bc}	44.50 ± 1.91 ^c	45.06 ± 1.58 ^{bc}	46.88 ± 2.89 ^b	< 0.0001
Lumbar								
BMC (mg)	18.8 ± 2.1 ^a	14.8 ± 1.5 ^b	13.6 ± 1.0 ^b	15.25 ± 3.0 ^b	14.2 ± 1.8 ^b	14.1 ± 1.4 ^b	17.4 ± 2.8 ^a	< 0.0001
BMA (cm ²)	0.319 ± 0.032	0.320 ± 0.025	0.316 ± 0.028	0.312 ± 0.039	0.313 ± 0.035	0.317 ± 0.025	0.319 ± 0.034	0.998
BMD(mg/cm ²)	59.42 ± 3.38 ^a	46.25 ± 4.30 ^{cd}	43.10 ± 2.94 ^d	47.88 ± 4.35 ^c	45.65 ± 2.46 ^{cd}	44.36 ± 1.99 ^d	54.04 ± 4.96 ^b	< 0.0001

¹Los valores son el promedio ± SD; n= 9-11 ratones/grupo. Dentro de una fila, los valores sin letras comunes son diferentes estadísticamente (P<0.05).

PP – dieta con extracto polifenolico de mango equivalente a la dieta de mango en 1% o 10%, ALN – inyección de alendronato.

Tabla 3 Los efectos del complemento con mango liofilizado por 12 semanas a los parámetros micro arquitecturales tibial y lumbar (L4) en ratones ovariectomizados (ovx)¹

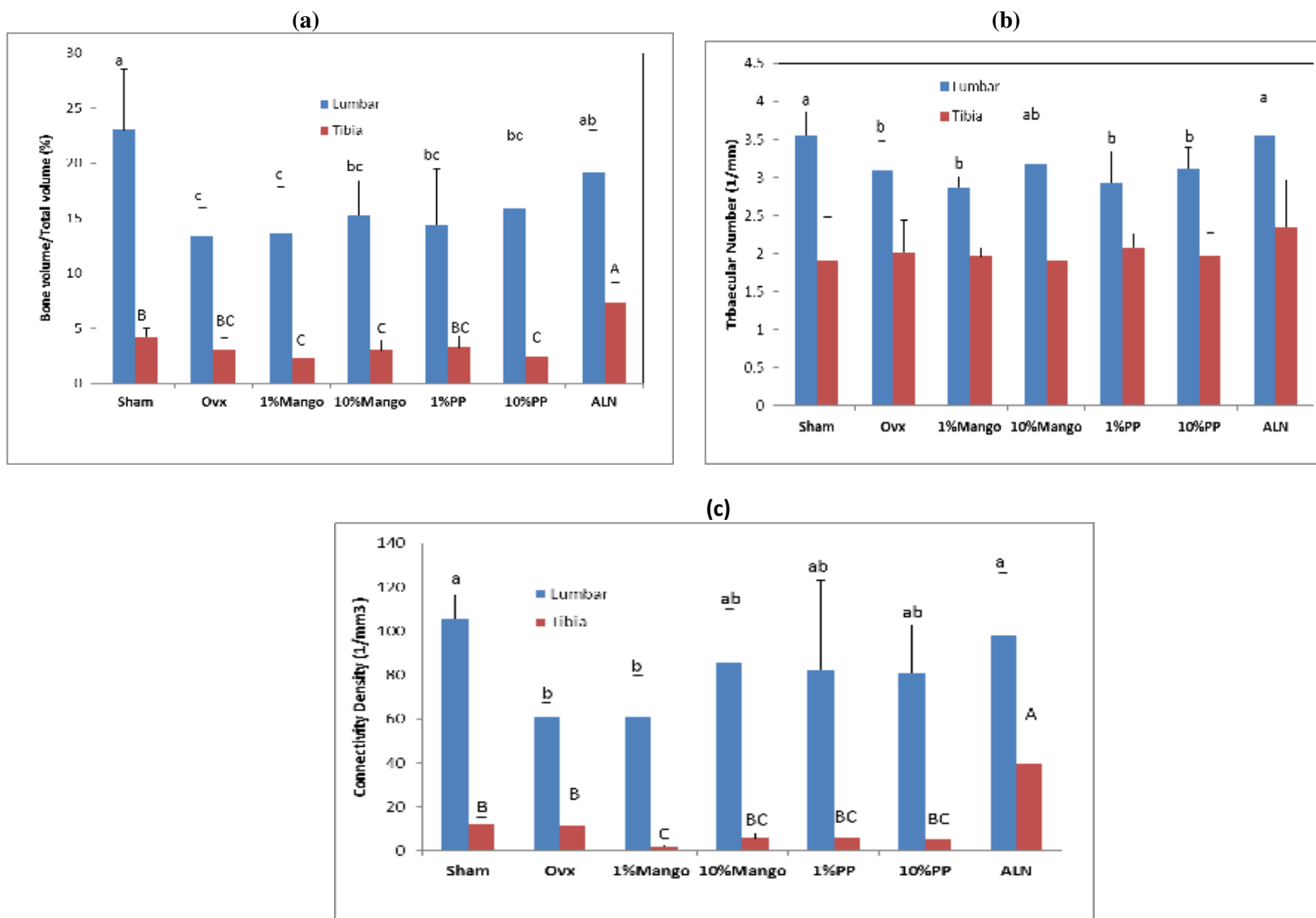
Parametros	Placebo-control	Ovx-control	Ovx-1% mango	Ovx-10% mango	Ovx-1% PP	Ovx-10% PP	Ovx-ALN	valor - P
Lumbar								
SMI	0.90 ± 0.42 ^c	1.75 ± 0.25 ^a	1.82 ± 0.42 ^a	1.50 ± 0.42 ^{ab}	1.58 ± 0.45 ^{ab}	1.49 ± 0.40 ^{ab}	1.19 ± 0.49 ^{bc}	0.008
Tb.Sp. (um)	289.0 ± 30.1 ^b	334.7 ± 42.2 ^a	355.4 ± 17.0 ^a	327.4 ± 41.7 ^{ab}	352.2 ± 56.9 ^a	328.9 ± 26.3 ^{ab}	286.3 ± 31.8 ^b	0.015
TrTh (um)	63.0 ± 8.3	55.8 ± 5.8	55.8 ± 7.4	54.5 ± 5.0	53.5 ± 3.4	56.0 ± 6.6	57.3 ± 2.0	0.155
Tibia								
SMI	2.31 ± 0.39	2.51 ± 0.37	2.70 ± 0.14	2.50 ± 0.24	2.47 ± 0.24	2.60 ± 0.22	2.40 ± 0.55	0.5515
Tb.Sp. (mm)	0.62 ± 0.23	0.52 ± 0.14	0.51 ± 0.02	0.52 ± 0.08	0.48 ± 0.03	0.52 ± 0.06	0.40 ± 0.11	0.138
TrTh (mm)	48.7 ± 5.1	46.9 ± 3.5	54.0 ± 6.4	52.6 ± 6.2	50.6 ± 2.0	50.1 ± 3.2	47.4 ± 7.6	0.223

¹Los valores son el promedio ± SD; n= 6 ratones/grupo. Dentro de una fila, valores sin letras comunes son diferentes estadísticamente (P<0.05).

PP – dieta con extracto polifenolico de mango equivalente a la dieta de mango en 1% o 10%; ALN – inyección de alendronato;

SMI – índice del modelo estructural; TbSp – separación trabecular; TbTh grosor trabecular.

Figura 1 Los efectos del complemento con mango liofilizado por 12 semanas al tejido tibial y lumbar (L4) (a) volumen de hueso/volumen total, (b) numero trabecular (c) densidad de conectividad de los ratones ovariectomizados (ovx)¹



¹Los valores son el promedio $\pm$ SD; n= 6 ratones/grupo. Barras sin letras comunes son diferente estadísticamente (P<0.05). Letras minúsculas y mayúsculas son comparaciones para el hueso lumbar y el hueso tibial, respectivamente.

PP – dieta con extracto polifenolico de mango equivalente a la dieta de mango en 1% o 10%; ALN – inyección de alendronato;

Sham – control placebo

Tabla 4 Los efectos del complemento con mango liofilizado por 12 semanas a los marcadores óseos y las enzimas anti oxidantes de los ratones ovariectomizados (ovx)¹

Parametros	Placebo-control	Ovx-control	Ovx-1% mango	Ovx-10% mango	Ovx-1% PP	Ovx-10% PP	Ovx-ALN	valor-P
Plasma								
PYD (nmol/L)	4.93 ± 0.88	4.53 ± 0.78	3.92 ± 0.97	5.75 ± 1.80	3.96 ± 1.47	4.15 ± 1.27	5.29 ± 2.29	0.057
PINP (ng/mL)	24.25 ± 5.64 ^a	22.69 ± 4.91 ^a	23.21 ± 6.07 ^a	20.63 ± 4.11 ^{ab}	17.49 ± 4.61 ^b	14.83 ± 3.41 ^{bc}	12.53 ± 2.97 ^c	< 0.0001
Extracto Tibial								
CAT (nmol/min/mL)	7.15 ± 2.47	5.86 ± 2.19	5.68 ± 0.71	6.42 ± 2.53	7.65 ± 4.11	7.48 ± 3.58	8.30 ± 2.09	0.694
SOD (U/mL)	0.31 ± 0.08 ^{abc}	0.36 ± 0.08 ^a	0.31 ± 0.04 ^{abc}	0.27 ± 0.08 ^{bc}	0.32 ± 0.07 ^{ab}	0.26 ± 0.06 ^c	0.32 ± 0.04 ^{ab}	0.018

¹Los valores son el promedio ± SD; n= 9-11 ratones/grupo. Dentro de una fila, valores sin letras comunes son diferentes estadísticamente (P<0.05). PP – dieta con extracto polifenolico de mango equivalente a la dieta de mango en 1% o 10%; ALN – inyección de alendronato; PINP - propéptido amino terminal del procolágeno de tipo 1; PYD - piridinolina; CAT - catalasa; SOD - superóxido dismutasa.

; .

Referencias:

1. International Osteoporosis Foundation. Facts and Statistics; Available from: Facts and Statistics | International Osteoporosis Foundation
2. Khosla S, Oursler MJ, Monroe DG. Estrogen and the skeleton. *Trends Endocrinol Metab.* 2012;23(11):576-81.
3. National Osteoporosis Foundation. Types of Osteoporosis Medications; Available from: Types of Osteoporosis Medications | National Osteoporosis Foundation
4. Arjmandi BH, Khalil DA, Lucas EA, Georgis A, Stoecker BJ, Hardin C, Payton ME, Wild RA. Dried plums improve indices of bone formation in postmenopausal women. *J Womens Health Gend Based Med.* 2002; 11 (1); 61-68.
5. Zhang J, Lazarenko O, Balckburn M, Shankar K, Badger T, Ronis M, Chen JR. Feeding blueberry diets in early life prevent senescence of osteoblasts and bone loss in ovariectomized adult female rats. *PLOS One.* 2011 doi:10.1371/journal.pone.0024486.g003.
6. U.S. Department of Agriculture ARS. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 18. 2005; Available from: <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>.
7. Lucas EA, Li W, Peterson SK, Brown A, Kuvibidila S, Perkins-Veazie P, et al. Mango modulates body fat and plasma glucose and lipids in mice fed a high-fat diet. *Br J Nutr* 2011;106(10):1495-505. Epub 2011/07/08.
8. Lucas EA, Brown A, Li W, Peterson SK, Wang Y, Perkins-Veazie P, Clarke SL, Smith BJ. Mango modulates blood glucose similar to rosiglitazone without compromising bone parameters in mice fed high fat diet. *J Pharm and Nutrition Sciences* 2012; 2(2): 115-126.
9. Hildebrand T, Laib A, Müller R, Dequeker J, Rügsegger P. Direct three-dimensional morphometric analysis of human cancellous bone: microstructural data from spine, femur, iliac crest, and calcaneus. *J Bone Miner Res* 1999;14 (7); 1167–1174.

10. Hildebrand T, Rüegsegger P. Quantification of bone microarchitecture with the structure model index. *Comput Methods Biomech Biomed Engin* 1997;1 (1); 15-23.