

Efecto del resveratrol y la curcumina sobre parámetros antropométricos y bioquímicos en ratones diabéticos db/db

Cualcialpud Serna, Julian David (1), Márquez-Villalobos Fátima Airam (2), Oviedo-Solis Cecilia Isabel, (3) Ramirez-Emiliano Joel (4)

1 [Química, Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle] e-mail: julian.cualcialpud@correounivalle.edu.co

2 [Departamento de ciencias médicas, Campus León, Universidad de Guanajuato] e-mail: danmqz1000@gmail.com

3. [Departamento de ciencias médicas, Campus León, Universidad de Guanajuato] e-mail: cioviedo@outlook.com

4. [Departamento de ciencias médicas, Campus León, Universidad de Guanajuato] e-mail: joelramirez2244@hotmail.com

Resumen

En los últimos años se ha dado un aumento drástico en la incidencia de diabetes mellitus en los países desarrollados. Se pronostica que para el 2035, el número de personas afectadas será de 592 millones. Aunque actualmente se cuenta con un amplio espectro de fármacos para su tratamiento, la búsqueda de nuevas alternativas farmacológicas no ha cesado. El resveratrol y la curcumina parecen ser dos fármacos prometedores para el tratamiento y la prevención de la diabetes y la obesidad. En nuestro conocimiento no hay estudios que describen su efecto combinado en modelos murinos de diabetes. Por tal razón se decidió evaluar el efecto de suplementar la dieta de 13 ratones hembras C57BL6/J con resveratrol y curcumina 0,5% durante 7 semanas en: la composición corporal, la ingesta de alimentos y los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos. Se concluyó que el tratamiento no tuvo un efecto significativo sobre ninguno de los parámetros analizados, lo cual, probablemente fue resultado de las altas dosis empleadas. Adicionalmente, se observaron ciertas tendencias como la depleción en los niveles de glucosa y triglicéridos, lo cual requiere un mayor número de estudios: modificando sistemáticamente las dosis y periodos de tratamiento así como un mayor número de individuos, para obtener resultados contundentes.

Abstract

In recent years there has been a dramatic increase in the incidence of diabetes mellitus in developed countries. It is predicted that by 2035, the number of people affected will increase to 592 million. Even though currently we had a broad spectrum of drugs for its treatment, the search for new pharmacological alternatives has not ceased. Resveratrol and curcumin appear to be two promising drugs for the treatment and prevention of diabetes and obesity. To our knowledge there are no studies that describe their combined effect in murine models of diabetes. For this reason it was decided to evaluate the effect of supplementing the diet of 13 female mice C57BL6 / J with resveratrol and curcumin 0.5% for 7 weeks in: body composition, food intake and levels of glucose, cholesterol and triglycerides. It was concluded that treatment had no significant effect on any of the parameters analyzed, which probably resulted from the high doses used. Additionally, certain trends such as depletion in glucose and triglyceride levels were observed, which requires a greater number of studies: systematically changing the dose, treatment periods as well as a greater number of individuals to obtain conclusive results.

Palabras Clave

Diabetes tipo 2; Obesidad; Resveratrol; Curcumina.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) comprende un grupo de trastornos metabólicos que comparten, principalmente, la hiperglucemia como característica común. Las anomalías implicadas en el desarrollo de esta enfermedad son diversas y pueden ser ocasionadas, en la mayoría de los casos, por trastornos autoinmunitarios (tipo I) o una “deficiencia relativa de insulina” (tipo II) [1].

El desarrollo de la diabetes tipo 2 incluye dos procesos fundamentales: la resistencia de los tejidos periféricos a la insulina y el fracaso de las células β pancreáticas para adaptarse a su nueva carga secretora. Un desorden metabólico que subyace a la resistencia a la insulina es la dislipidemia diabética. Sus características principales incluyen: un incremento en las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y LDL, además de una disminución del HDL. Esta condición es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, lo cual contribuye, junto a la hiperglucemia sostenida a las complicaciones a largo y corto plazo de la diabetes [1]. Por lo antes mencionado, la DM tipo 2 es una de las causas principales de mortalidad y morbilidad en todo el mundo; se estima que para el 2035 el número de personas con diabetes será de aproximadamente 592 millones [1, 2].

A pesar del gran número de fármacos desarrollados para el tratamiento de la diabetes (insulina, análogos de incretina, biguanidas, sulfamidas, inhibidores de DPP-4, etc.), su acción usualmente está acompañada de múltiples efectos secundarios, principalmente: hipoglucemia y problemas gastrointestinales [3]. En las últimas décadas se ha volcado especial interés en el efecto antidiabético de algunos productos naturales como el resveratrol y la curcumina [4].

El resveratrol (3,4',5-trihidroxiestilbeno) es una fitoalexina de la familia de los estilbenoides, que se encuentra en frutos como: las uvas, los piñones y las moras. Numerosos estudios llevados a cabo en roedores demuestran el gran potencial del resveratrol en el tratamiento y prevención de la obesidad, la diabetes y el cáncer [5,6]. Se ha reportado que el resveratrol disminuye los niveles de lípidos plasmáticos y hepáticos, protege las

células β , provoca el pardeamiento del tejido adiposo blanco, disminuye la resistencia a la insulina y suprime la inflamación y el estrés oxidativo [7]. Probablemente los mecanismos subyacentes a estos efectos incluyen su actividad antioxidante inherente y la modificación en la actividad y expresión de proteínas como SIRT-1 y AMPK [3].

La curcumina (diferuloilmetano), es el componente más activo de la cúrcuma, una especie que ha sido empleada en la medicina tradicional china y ayurvédica durante cientos de años [8]. Estudios en roedores han demostrado que este compuesto es efectivo en el tratamiento de la diabetes y las complicaciones asociadas como: problemas hepáticos, disfunción adipocitaria, nefropatía, neuropatía, disfunción de células β , etc [8,9]. Las dianas moleculares que median las respuestas mencionadas incluyen: PPAR- γ , TNF- α , NF- κ B y AMPK [4,10].

En nuestro conocimiento no hay investigaciones que reporten el efecto combinado de estos antioxidantes en la salud de roedores. Por tal motivo, en la presente investigación se evalúa el efecto en la salud de 13 ratones de la cepa C57BL/6 tras suplementar su dieta con resveratrol y curcumina durante 7 semanas. Se realizó una comparación de los perfiles bioquímicos, la ingesta de alimentos y la composición corporal en ratones silvestres (S) y diabéticos (db/db), empleando los respectivos controles.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se empleó una población de 13 ratones hembra C57BL/6J, conformada por 4 grupos de ratones: ratones diabéticos db/db sin tratamiento (db/db STx, n=3), silvestre sin tratamiento (S-STx, n=3), diabéticos db/db con tratamiento (db/db-CTx, n=4) y, silvestres con tratamiento (S-CTx, n=3). Los roedores fueron alimentados con dieta estándar (LabDiet 5008), y los tratados se suplementaron con una mezcla de resveratrol (ResVitale) y curcumina (Curcuminoids, advanced nutrición) al 0,5% de cada polifenol durante 7 semanas. Los ratones fueron sacrificados a las 18 semanas de vida mediante la técnica de dislocación cervical. El protocolo empleado fue avalado por el comité de ética de la Universidad de Guanajuato.

Análisis de composición corporal

Semanalmente se registró el peso y la ingesta alimentaria de cada uno de los ratones. La Circunferencia torácica, abdominal y la talla se registraron al inicio y al final del tratamiento.

Análisis sanguíneos

Finalizado el tratamiento se llevó a cabo la medición de los niveles de colesterol total (CT), glucosa (G) y triglicéridos (T) en cada uno de los ratones, tras 12 horas de ayuno, para lo cual se emplearon los analizadores digitales: CardioChek (ProAnálisis) y Accu-Check. Las muestras fueron colectadas del seno venoso orbitario.

Análisis estadístico

A los datos se les aplicó la prueba de Saphiro-Wilks (SW; $\alpha=0,05$). La presencia de diferencias significativas entre los diferentes conjuntos de datos se evaluó empleando la prueba de Kruskal-Wallis (KW). Finalmente, se realizó un análisis de comparaciones múltiples, *post hoc*, empleando la prueba T-3 de Dunnet (T3D; $\alpha=0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluó la administración combinada de resveratrol y curcumina sobre la supresión del apetito en ratones diabéticos db/db, figura 1.

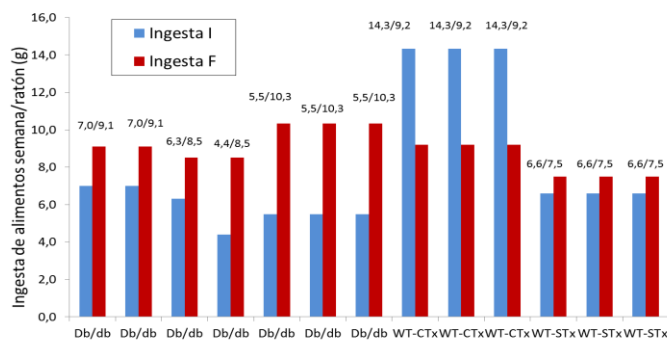


Figura 1. Efecto del resveratrol y la curcumina sobre la ingesta de alimento. Los valores representan la cantidad de alimento ingerido individualmente por ratón/día al inicio (I) y final (F) del tratamiento.

El análisis *post hoc* de los datos indica que no hay ninguna diferencia significativa entre la ingesta de alimentos para los diferentes grupos de ratones (Figura 1). Sin embargo hubo una clara tendencia

a incrementar la ingesta de alimentos en ratones db/db sin tratamiento. Por el contrario en los ratones silvestres (S) con tratamiento se observó descenso en la ingesta alimentaria transcurridas las 7 semanas. Previamente ha sido reportado el efecto anorexigénico del resveratrol en roedores, probablemente mediante un aumento en la expresión de los genes NPY y AgRP [11], lo que permite razonar las tendencias observadas. Por el contrario, la curcumina ha demostrado tener un efecto orexigénico en ratones DOI [9]. Es probable que el efecto anorexigénico del resveratrol haya predominado sobre el efecto de la curcumina.

Ganancia de peso

En los cuatro grupos de ratones se observó un incremento en la masa corporal transcurridas siete semanas, figura 2. El incremento fue significativamente superior en el caso de los organismos diabéticos, principalmente, en los que no recibieron el tratamiento. Las diferencias entre estos grupos de organismos resultan de los fenotipos propios de cada organismo. Los ratones db/db se caracterizan por alta hiperfagia y un alto grado de sedentarismo, lo que acentúa el aumento de su masa corporal.

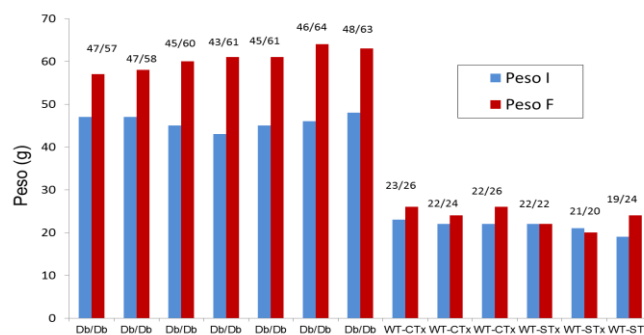


Figura 2. Efecto del resveratrol y la curcumina sobre la ganancia de peso corporal. Los datos representan los pesos de cada ratón al inicio (I) y al final (F) del tratamiento.

Parámetros antropométricos

En la figura 3 se presentan los cambios en los parámetros antropométricos. El análisis *post hoc* de los datos, para circunferencia torácica y abdominal, indica que significativamente mayor en los ratones db/db-CTx y db/db-STx respecto a los silvestres con y sin tratamiento ($p<0,05$). Como fue

mencionado previamente el efecto se debe meramente al fenotipo exhibido por los organismos db/db.

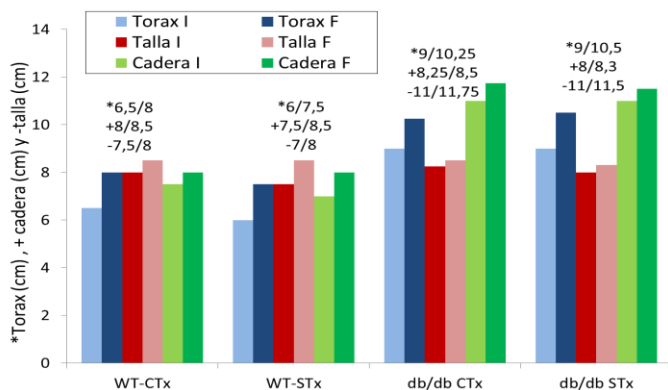


Figura 3. Efecto del resveratrol y la curcumina sobre los parámetros antropométricos. Los datos representan la mediana para cada grupo de ratones: torax (*), talla(+) y circunferencia abdominal, cadera (-), al inicio (I) y al final del tratamiento (F).

Estudios previos han demostrado que tanto el resveratrol como la curcumina, empleados en bajas dosis, promueven el pardeamiento del tejido adiposo blanco, reducen la adiposidad, imitan la restricción calórica y por lo tanto evitan la ganancia de peso y la acumulación de grasa corporal en exceso en modelos animales con obesidad inducida por una dieta rica en grasa [5,6,12]. Es probable que las discrepancias encontradas estén asociadas a factores como: las altas dosis empleadas en el tratamiento, la edad y las diferencias en los modelos empleados. No se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) ni tendencias en lo que respecta a la variable talla.

Análisis bioquímicos.

Se evaluó el efecto combinado del resveratrol y la curcumina en la disminución de los niveles de colesterol, glucosa y triglicéridos.

El análisis post hoc de los datos indica que el tratamiento no tuvo ningún efecto significativo en la disminución de los niveles plasmáticos de: glucosa, triglicéridos y colesterol ($p>0,05$). Las diferencias son atribuibles a las características metabólicas del modelo db/db: hiperglucemia y dislipidemia diabética. Sin embargo la comparación de los individuos sugiere ciertas tendencias, como la reducción de los niveles de glucosa y triglicéridos en los organismos diabéticos y silvestres sometidos a tratamiento.

Estas tendencias son consistentes con los resultados reportados anteriormente sobre la disminución significativa de los niveles de colesterol y glucosa en roedores [9,13]. La ausencia de resultados significativos pudo ser consecuencia de las altas dosis empleadas, la edad y el tiempo de tratamiento. Incluso leves variaciones en las dosis pueden incurrir en cambios en la respuesta de un grupo de organismos al tratamiento, como fue reportado previamente en un estudio sobre los niveles de colesterol en humanos empleando resveratrol [14].

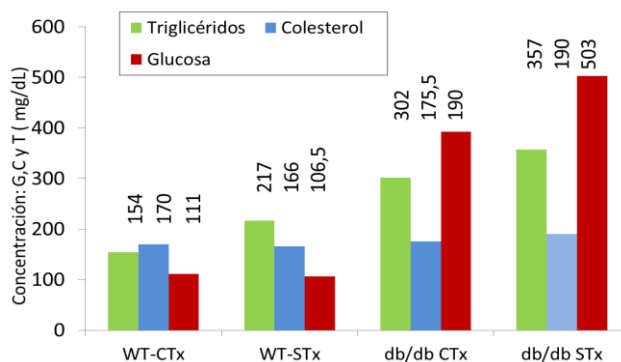


Figura 4. Efecto del resveratrol y la curcumina sobre los parámetros bioquímicos: glucosa, triglicéridos y colesterol. Los datos representan la mediana para cada grupo de ratones. Encima de las barras se presenta el valor de la mediana, de izquierda a derecha, triglicéridos, colesterol y glucosa (mg/dL).

Para obtener resultados contundentes respecto al efecto de estos compuestos en la ingesta de alimentos es necesario llevar a cabo experimentos donde se varíe sistemáticamente las dosis relativa de cada antioxidante, al igual que la cantidad total de suministrada.

CONCLUSIONES.

El tratamiento con resveratrol y curcumina al 0,5 no tuvo ningún efecto benéfico significativo en la composición corporal, la ingesta de alimentos y los parámetros bioquímicos estudiados en los ratones db/db y silvestres; Igualmente, no se observó ningún efecto adverso significativo. Algunas tendencias fueron claras, como la reducción en la ingesta de alimentos y la reducción de los niveles de triglicéridos y glucosa de los ratones db/db y silvestres. Se requiere un mayor número de estudios, empleando una mayor población, y

modificando sistemáticamente las dosis administradas, para obtener resultados contundentes.

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco a la Universidad de Guanajuato por la oportunidad brindada en el verano de investigación. Al Dr Joel, Ceci, Airam y Norma por sus enseñanzas y por hacer amena esta experiencia. Y finalmente pero no menos importante a mi familia y a Matilda por el apoyo incondicional brindado.

REFERENCIAS.

- [1] Kumar, V. Abbas, N. Fausto y J. C. Aster (2010) Robbins y Cotran, patología estructural y funcional (8st ed.) España: Elsevier.
- [2] Timmers S, Hesselink Mk, Scharauwen P.(2013). Therapeutic potential of resveratrol in obesity and type 2 diabetes: new avenues for health benefits?. *Ann N Y Acad Sci*, 1290:83-9. doi: 10.1111/nyas.12185.
- [3] Szkudelski T, Szkudelska K. (2015). Resveratrol and diabetes: from animal to human studies. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*, 52(6):1145–54. doi: 10.1016/j.bbdis
- [4] Zhang D, Fu M, Gao S-H, Liu J-L. (2013). Curcumin and Diabetes: A Systematic Review. *Evidence-Based Complement Altern Med*, 2013: 1-16. doi: 636053.
- [5] Szkudelska K, Szkudelski T. (2010). Resveratrol, obesity and diabetes. *Eur J Pharmacol*, 35(1-3):1. doi: 10.1016/j.ejphar.2010.02.054.
- [6] Baur JA, Sinclair DA. (2006) Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nat Rev Drug Discov*, 5(6):493–506.DOI:10.1038/nrd2060
- [7] Wang S, Liang X, Yang Q, Fu X, Rogers CJ, Zhu M, et al. (2015). Resveratrol induces brown-like adipocyte formation in white fat through activation of AMP-activated protein kinase (AMPK) α 1. *Int J Obes*, 39(6):967–76. doi: 10.1038/ijo.2015.23.
- [8] Gupta SC, Sung B, Kim JH, Prasad S, Li S, Aggarwal BB. (2013). Multitargeting by turmeric, the golden spice: From kitchen to clinic. *Mol Nutr Food Res*, 57(9):1510–28. doi: 10.1002/mnfr.201100741.
- [9] Weisberg SP, Leibel R, Tortoriello D V. (2008). Dietary Curcumin Significantly Improves Obesity-Associated Inflammation and Diabetes in Mouse Models of Diabetes. *Endocrinology*, 9(7):3549–58. doi: 10.1210/en.2008-0262
- [10] Jiménez Flores, L. M., Ramírez Emiliano, J., Macías, M. H., López Briones, S. & Pérez Vázquez, V. (2014). La curcumina incrementa la expresión de AMPK y PPAR γ y disminuye la expresión de NF- κ B en hígado de ratón diabético db/db. *Acta Universitaria*, 24(NE-2), 23-29. doi: 10.15174/ au.2014.718.
- [11] Kim S-J, Lee YH, Han M-D, Mar W, Kim W-K, Nam K-W.(2010) Resveratrol, purified from the stem of *Vitis coignetiae* Pulliat, inhibits food intake in C57BL/6J Mice. *Arch Pharm*, 33(5):775–80. doi: 10.1007/s12272-010-0518-5
- [12] Chen W, Wilson JL, Khaksari M, Cowley MA, Enriori PJ.(2012). Abdominal fat analyzed by DEXA scan reflects visceral body fat and improves the phenotype description and the assessment of metabolic risk in mice. *AJP Endocrinol Metab*, 303(5):E635–43.doi: 10.1152/ajpendo.00078.2012.
- [13] Ding L, Li J, Song B, Xiao X, Zhang B, Qi M, et al. (2016). Curcumin rescues high fat diet-induced obesity and insulin sensitivity in mice through regulating SREBP pathway. *Toxicol Appl Pharmacol*.4:99,109.doi:10.1016/j.taap.2016.05.01
- [14] Sáenz Chávez Pedro Lennon, Garza Ocañas Lourdes, Badillo Castañeda Christian Tadeo, Tamez de la O Eduardo Javier, Triana Verástegui Jesús. (2014). Tolerabilidad del resveratrol y efectos sobre parámetros bioquímicos sanguíneos. *Rev Mex ciencias Farm*; 45(4):1–7.