

VERSIÓN 10 – EDICIÓN JUNIO 2021

El contenido de este manual es actualizado continuamente.

MANUAL DE INVESTIGACIÓN MÉDICA

CONFIDENCIAL

TOG[®]

POLIFENOLES DEL TÉ VERDE



SM/RH-1509

sanki mayor[®]
IN-VIVO INNOVATIONS LTD.

Kanaya Bldg 5F, 4-11-3 Hatchobori
Chuo-ku, Tokyo 104-0032 JAPAN.

www.sanki-mayor.com

development@sanki-mayor.com

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	3
2. EL TIEMPO INFLUYÓ EN LA ACTIVACIÓN DE HORMONAS DE CRECIMIENTO Y MEJORÓ LA PRODUCCIÓN DE POLIFENOLES DE TÉ VERDE	6
2.1 Influencia del clima en la hormona vegetal	6
2.2 Hormona de crecimiento de planta de té verde	10
3. POLIFENOLES DEL TÉ VERDE POTENCIADOS DE LUNA LLENA	15
3.1 Ciclo lunar/efecto de luna llena	15
3.2 Composición de bioactivos del té verde	27
3.3 Beneficios para la salud del té verde	30
4. MECANISMO DE ACCIÓN	36
4.1 Anti-obesidad	36
5. TERMOGÉNESIS	38
5.1 Balance de azúcar	39
5.1.1 Reducción del azúcar en sangre circulante	42
5.1.2 Reducción inducida por polifenol del consumo de Glucosa en el tejido	44
5.1.3 Reducción de los resultados de glucosa en sangre en la quema de grasa	45
5.1.4 Influencia de los polifenoles en la función hepática para mantener la homeostasis de la glucosa	46
5.1.5 Regula la expresión de genes implicados en la absorción de glucosa y la señalización de insulina	47
5.2 Actividad antioxidante	48
5.2.1 Efecto antioxidante a nivel celular del polifeno del té verde	51
5.2.2 Efecto antioxidante a nivel molecular de los polifenoles del té verde	53
5.3 FUNCIÓN DEL CEREBRO	55
5.3.1 Polifenoles del té verde al rescate de defectos cerebrales	58
5.3.2 Antidepresivo	59
5.3.3 Actividad neurogénica	61
5.3.4 Atenúa la excitotoxicidad	73
5.3.5 Efecto neuroprotector	75
6. INFORMACIÓN DE SEGURIDAD	80

1. INTRODUCCIÓN

El té hecho de hojas de la planta *Camellia sinensis*, se ha utilizado en la antigüedad con fines medicinales y actualmente, como una bebida popular. Es cultivado en más de 30 países y se producen más de 4 millones de toneladas métricas anualmente. Dependiendo de su procesamiento, el té se clasifica en dos tipos principales: verde y negro. Mientras que el té negro es el principal tipo de té producido y consumido en todo el mundo, el verde es más popular en China y Japón. Durante las últimas tres décadas, el té ha sido estudiado por sus efectos beneficiosos para la salud, éstos incluyen la reducción del peso corporal, el alivio del síndrome metabólico (SME), la prevención de enfermedades cardiovasculares (ECV), el cáncer y la protección contra la neurodegeneración.

El consumo de té verde puede mejorar la salud porque reduce la incidencia de cáncer en varios modelos experimentales, es un potente antioxidante y modula las concentraciones de colesterol en suero. El té verde también tiene efectos sobre el peso corporal y el gasto energético. Dulloo et al. informó que el gasto energético de 24 h (EE) y la oxidación de grasas aumentaron en hombres jóvenes y sanos que consumieron un extracto de té verde que contiene cafeína y polifenoles de té verde. Está demostrado que los polifenoles del té verde y el galato de epigallocatequina (EGCG), pueden estimular la termogénesis y la oxidación de las grasas. El análisis experimental de los mecanismos, por los cuales, el té verde ejerce su efecto es difícil ya que el té verde es una mezcla compleja de varios fitoquímicos que pueden no ser absorbidos fácilmente por el tracto gastrointestinal. Un efecto sinérgico de EGCG y cafeína puede ser responsable de mejorar la termogénesis y la oxidación de grasas, aunque esto no fue investigado en el estudio de Dulloo et al. Los efectos de los extractos de té verde sobre EE y la oxidación de grasas, observados en el estudio de Dulloo et al., contrastan con los resultados de nuestros estudios, donde se demuestra que la inyección intraperitoneal de EGCG (> 98% puro) causa una pérdida aguda de peso corporal en ratas Sprague-Dawley, machos y hembras, entre 2 y 7 días de tratamiento. EGCG también redujo significativamente un aumento en el peso corporal en hombres y mujeres delgados y obesos. La pérdida de peso corporal fue reversible ya que, cuando se detuvo la administración de EGCG, las personas recuperaron el peso corporal perdido. El efecto de pérdida de peso del polifenol (EGCG) en humano, puede deberse a una reducción en la ingesta de alimentos, ya que los sujetos que consumieron un 15% menos, perdieron un 5% de su peso corporal inicial.

El efecto de EGCG en la reducción de la ingesta de alimentos es independiente de un receptor de leptina intacto porque EGCG puede interactuar específicamente con un componente de la vía de control del apetito independiente del receptor de leptina.

Se observa que los extractos de té verde que contienen EGCG son más potentes que las concentraciones equimolares de cafeína, así mismo, se percibe que EGCG podría imitar el efecto termogénico de un extracto de té verde sobre el tejido adiposo marrón.

Las tasas mejoradas de termogénesis y respiración, por los extractos de té verde, pueden ayudar a que EGCG reduzca la acumulación total de triacilglicerol de los preadipocitos murinos 3T3-L1 durante su diferenciación a los adipocitos. EGCG también inhibió la proliferación de preadipocitos 3T3-L1. La concentración de EGCG, que inhibió la proliferación en un 50%, fue de 10 mol/L; pero no de EC, EGC o ECG, donde se inhibieron los aumentos inducidos por insulina en el número de células (34%) y en el contenido de triacilglicerol (54%), durante un período de diferenciación de 9 días. Recientemente, se demostró que EGCG y ECG son inhibidores (50% de inhibición a 0,31 mmol/L) de la actividad acetil-CoA carboxilasa, un paso limitante en la ruta de biosíntesis de ácidos grasos, en células 3T3-L1. EGCG, a una dosis de 10–100 mol/L, también reduce el número de células y el contenido de triacilglicerol de los preadipocitos diferenciadores tratados con dexametasona, 1-metil-3-isobutilxantina e insulina. Por lo tanto, el efecto in vitro de EGCG en los tejidos grasos, puede estar mediado por la modulación de la proliferación y diferenciación celular estimulada por hormonas o por la inhibición de las funciones de las células grasas. Los efectos del consumo oral diario a largo plazo de 2–4 tazas (500–1000 ml) de té verde o extractos de té verde que contienen EGCG. Los estudios han demostrado que el consumo oral de té verde, EGCG o EGC puede reducir el colesterol sérico y LDL, aumentar el colesterol HDL y disminuir la glucosa sérica. El efecto de los polifenoles del té verde sobre la pérdida de peso corporal, la grasa corporal, los nutrientes de los lípidos séricos, la termogénesis y la oxidación de las grasas, y los efectos sobre las funciones de las células grasas, puede disminuir la incidencia de obesidad y tratar a quien lo padece. Recientemente se observó un efecto reductor de peso del té oolong en ratones que consumían una dieta alta en grasas. Es posible que el EGCG en el té oolong fuera responsable de los efectos observados. Es probable que el EGCG, en el té oolong, haya sido responsable de los efectos observados. Aunque el té oolong contiene mucho menos EGCG, se presentaron potentes efectos beneficiosos debido a la presencia de otros compuestos polifenólicos.

El sobrepeso, la obesidad y la diabetes están surgiendo como problemas de salud globales importantes y el MetS, estrechamente relacionado, también predispone a las personas a las enfermedades cardiovasculares. Si el té pudiera prevenir o retrasar el desarrollo de estas enfermedades, entonces las implicaciones para la salud pública serían tremendas. Muchos estudios de laboratorio y epidemiológicos han demostrado que el té y los polifenoles del té pueden disminuir el peso corporal, los marcadores de MetS, el riesgo de diabetes y enfermedades cardiovasculares; sin embargo, tales efectos beneficiosos, se observaron solo en algunos estudios en humanos, en especial cuando el nivel de consumo de té era de tres a cuatro tazas o más por día. Se cree que la mayoría de los efectos beneficiosos observados se deben a los polifenoles en el té, aunque la cafeína también contribuye a algunos de los efectos.

El té verde es la bebida más saludable del planeta, ya que está cargado de antioxidantes y nutrientes que tienen efectos poderosos en el cuerpo. Esto incluye una función cerebral mejorada, pérdida de grasa, un menor riesgo de cáncer y muchos otros beneficios increíbles. Una gran variedad de los compuestos bioactivos en las hojas de té, llegan a ser la bebida final que contiene grandes cantidades de nutrientes importantes, como los polifenoles, las flavonoides y las catequinas, las cuales, funcionan como poderosos antioxidantes. Estas sustancias pueden reducir la formación de radicales libres en el cuerpo, protegiendo las células y las moléculas del daño. Se sabe que estos radicales libres desempeñan un papel en el envejecimiento y en todo tipo de enfermedades.

Uno de los compuestos más poderosos en el té verde es el antioxidante galato de epigallocatequina (EGCG), que se ha estudiado para tratar diversas enfermedades y puede ser una de las principales razones por las que el té verde tiene propiedades medicinales tan poderosas.

El té verde también tiene pequeñas cantidades de minerales que son importantes para la salud, no obstante, es importante elegir una marca de buena calidad, ya que algunas presentaciones pueden contener niveles excesivos de fluoruro. Elegir una marca de baja calidad puede ocasionar riesgos.

ORIGEN DEL TÉ VERDE DE SANKI MAYOR



Imagen, Plantación de té de Sanki Mayor, ubicada en Kyoto, Japón.

Sanki Mayor posee una parte de la plantación de té como fuente de variedad de té verde para investigación, desarrollo y pruebas de polifenoles.



2. EL TIEMPO INFLUYÓ EN LA ACTIVACIÓN DE HORMONAS DE CRECIMIENTO Y MEJORÓ LA PRODUCCIÓN DE POLIFENOLES DE TÉ VERDE

Las plantas, incluso después de ser sesil, han desarrollado una gran flexibilidad para adaptarse a su entorno. Las señales de temperatura, la variación de la radiación, la duración de la exposición a la radiación de la luz, la relación de los rayos de luz roja con la luz roja lejana, son factores climáticos que regulan el tiempo de múltiples procesos de desarrollo y tienen efectos dramáticos en la arquitectura de la planta y la biomasa. La modulación de la arquitectura de la planta por temperatura, radiación y altitud, tienen una relevancia creciente con respecto a la productividad de los cultivos y el cambio climático global. A diferencia de muchos otros organismos, los mecanismos a través de los cuales las plantas perciben los cambios en la temperatura ambiente, siguen siendo esquivos. Múltiples estudios han identificado la diafonía entre la detección de temperatura ambiente, la señalización de la luz, la aclimatación al frío y las vías de respuesta a los patógenos. La regulación de la arquitectura de la planta, por temperatura, parece involucrar la integración compleja de múltiples redes de señalización de hormonas. La giberelina (GA), el ácido salicílico (SA) y la citoquinina, se han implicado en la regulación del crecimiento de las plantas durante el enfriamiento, mientras que se observa un papel predominante para la auxina a altas temperaturas. El conocimiento actual de la regulación del crecimiento de las plantas por temperatura y diafonía, con otras vías de señalización de estrés abiótico y biótico, es un campo interesante de la ciencia de las plantas para explorar sobre la constitución de fitoquímicos.

2.1 METABOLITOS DEL CACAO

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

La temperatura regula el crecimiento y el desarrollo a lo largo del ciclo de vida de las plantas, por ejemplo, en muchas especies se requiere un período prolongado de frío (estratificación) para promover la germinación a través de la estimulación de la biosíntesis del ácido giberélico.

1. El tratamiento a alta temperatura de las semillas, puede inhibir la germinación mediante la inducción de ácido abscísico (ABA).
2. El tratamiento a alta temperatura de las semillas, puede inhibir la germinación mediante la inducción de ácido abscísico (ABA).
3. La *Arabidopsis thaliana* es una especie de planta cuyo tiempo de floración se acelera por las elevaciones de la temperatura ambiente, a través de la inducción del integrador floral, Tiempo de Floración (FT).

Además de modular el momento de los eventos de desarrollo, la temperatura tiene efectos marcados en la arquitectura de la planta, por ejemplo, el crecimiento de *Arabidopsis* a bajas temperaturas, produce un hábito de roseta enano y compacto con hojas que muestran un mayor grosor. Se observa un aumento gradual en el alargamiento del tallo, el área de la hoja y la biomasa de la planta al aumentar la temperatura.

Tea leaves production in Kg

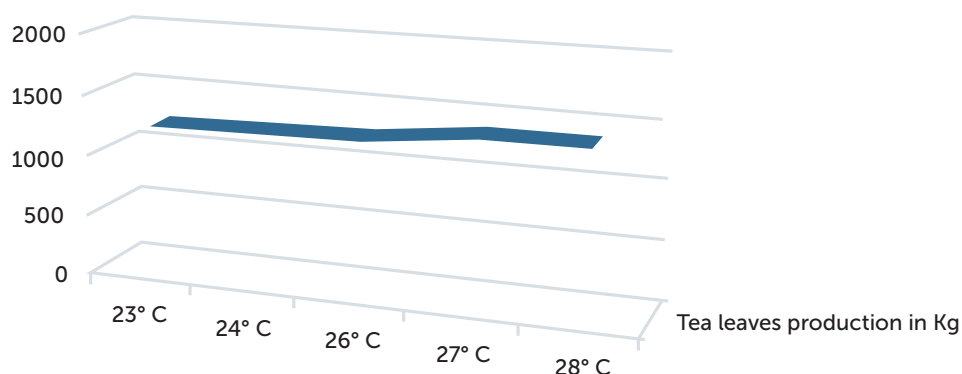


Figura. Efecto de la temperatura en el crecimiento de las hojas de té y en la producción.

En entornos naturales es probable que la diferencia entre las temperaturas diurnas y nocturnas (DIF) haya una influencia importante en la arquitectura de la planta. La regulación del desarrollo de la planta, mediante termociclos alternos (termoperiodismo¹¹), es comúnmente explotada por la industria hortícola para modular la estatura de la planta. Generalmente se observa un mayor alargamiento de los tallos y las hojas cuando las temperaturas diurnas exceden la temperatura nocturna (DIF positivo), mientras que el efecto contrario resulta con un régimen inverso.

El crecimiento a altas temperaturas (28/29 ° C) da como resultado un alargamiento significativo de los tallos de las plantas, hojas elevadas (hiponastía), biomasa reducida y floración acelerada. Estos fenotipos se asemejan a las respuestas de las plantas a la amenaza de la sombra vegetativa y a menudo se denominan "síndrome de evitación de la sombra". Cuando se cultiva cerca de otras plantas, las especies intolerantes a la sombra, compiten con la vegetación vecina por la luz solar y alimentar la fotosíntesis. La luz reflejada o transmitida, a través de los tejidos verdes, se agota en longitudes de onda rojas y se enriquece en longitudes de onda rojas lejanas. La familia fitocromo de fotorreceptores de plantas percibe reducciones en la proporción de rojo a rojo lejano (R: FR), lo que resulta en el inicio del síndrome de evitación de sombra. Estas respuestas permiten que las plantas superen a los competidores y establezcan semillas en condiciones desfavorables. Se ha especulado que las respuestas de alargamiento fenotípicamente similares a las altas temperaturas, pueden ayudar a la disipación de calor al elevar la hoja y los tejidos meristemáticos hacia la brisa fresca.

Hormonas, temperatura y arquitectura vegetal

Múltiples estudios en *Arabidopsis* han implicado a las hormonas vegetales en la regulación de la temperatura de la arquitectura de la planta. Cuando se cultiva a temperaturas bajas ($<4^{\circ}\text{C}$), las reducciones en el tamaño de la planta van acompañadas de la expresión de genes implicados en la aclimatación al frío. Estos incluyen el regulón del factor de unión de repetición C (CBF), un conjunto de genes involucrados en la protección de las plantas contra el daño por congelación, a través de la síntesis de proteínas estabilizadoras de membrana y la acumulación de solutos compatibles. Las plantas que expresan constitutivamente los factores de transcripción de CBF, muestran una mayor tolerancia a la congelación y una reducción severa en el crecimiento. Recientemente se ha demostrado que este retraso del crecimiento, implica la estabilización mediada por CBF de la familia DELLA de proteínas que reprimen el crecimiento, a través de reducciones en el nivel de la hormona GA de la planta. Las giberelinas regulan el crecimiento a través de proteínas DELLA dirigidas a la degradación mediada por proteosomas. Por lo tanto, la reducción mediada por CBF en GA bioactiva, asegura la coordinación de la aclimatación al frío con el crecimiento de la planta a bajas temperaturas.

La hormona vegetal se ha implicado en el retraso del crecimiento de la planta durante el enfriamiento, ya que ésta desempeña un papel importante en las defensas de sus patógenos, pero también participa en las respuestas de las plantas a una variedad de tensiones abióticas ya que se acumula a bajas temperaturas. Se ha demostrado que las plantas transgénicas que expresan el transgen SA hidroxilasa de NahG, muestran una expansión celular mejorada y un aumento de 2,7 veces en la biomasa, en comparación con los controles de tipo salvaje cultivados durante 2 meses a 5°C .

Estas plantas contenían cantidades reducidas de SA, lo que sugiere un vínculo entre la acumulación de SA y el tamaño reducido de la planta. Recientemente se ha demostrado que la expansión celular mejorada de las plantas de NahG a 4°C coincide con la expresión elevada del gen del ciclo celular CYCD3 y el aumento de la endoreduplicación. Este estudio también informó el papel de la citoquinina en la mediación de las tasas de crecimiento de las plantas a bajas temperaturas, puesto que se demostró que los mutantes que contienen niveles elevados de citoquinina (amp1), muestran una división celular mejorada a 4°C . Por su parte, no se registraron alteraciones en la expresión de CBF en plantas NahG o amp1 a bajas temperaturas, lo que sugiere que los efectos de SA y citoquinina, sobre el crecimiento regulado por temperatura, son independientes del regulón de CBF.

La interacción entre las defensas de los patógenos de las plantas y el crecimiento regulado por temperatura, fue percibido también en la *Camellia sinensis*. El gen BONZAI1 codifica una proteína copina involucrada en la represión de las proteínas involucradas en la defensa del patógeno.

Se observaron respuestas de defensa constitutivas y un fenotipo enano en mutantes bonzai1 cultivados a 22°C . Sin embargo, cuando se cultivó a 28°C , se informó la supresión de las vías de respuesta del patógeno y el hábito de crecimiento de tipo salvaje. Así mismo, se informaron anomalías de crecimiento dependientes de la temperatura entre diferentes accesiones naturales de *Arabidopsis*. Se demostró que la accesión Bur- 0 muestra un alargamiento extremo del peciolo, hojas deformadas y mortalidad prematura cuando se cultiva en días cortos a 27°C . Estos defectos de crecimiento se exacerbaron a 30°C pero desaparecieron a 23°C . Los análisis genéticos revelaron que este defecto de crecimiento, dependiente de la temperatura, es el resultado de una repetición de triplete TTC/GAA, expandida en el

gen de la biosíntesis de leucina ISOPROPYL MALATE ISOMERASE SUBUNIT 1 (IIL1). Se observó una actividad de IIL reducida en la accesión de Bur-0 a temperaturas elevadas, lo que resultó en las anomalías de desarrollo reportadas.

La hormona auxina tiene un papel fundamental en el crecimiento del alargamiento dependiente de la temperatura. En alta temperatura (28°C/29°C), se demostró que los aumentos inmediatos en el alargamiento de hipocotilo de *Arabidopsis* se correlacionan con niveles elevados de auxina libre y expresión génica inducida por auxina. También se registraron niveles más altos de auxina libre en tallos de flores de *Arabidopsis* cultivados en condiciones DIF positivas, en comparación con plantas cultivadas en un régimen DIF negativo. Se demostró que las respuestas de elongación a la reducción de R: FR, en la evitación del tono, implican la síntesis de auxina a través de una vía dependiente de triptófano. La similitud fenotípica entre las respuestas de la planta, a bajo R: FR, y alta temperatura, sugiere la posibilidad de mecanismos moleculares compartidos en la percepción de estos estímulos ambientales. La reducción de R: FR, da como resultado la estabilización de dos factores de transcripción bHLH que promueven el crecimiento: el Factor de Interacción de Fitocromo 4 (PIF4) y el PIF5, los cuales actúan de forma redundante para regular las respuestas de evitación de sombra. Se ha demostrado que los mutantes dobles PIF4 PIF5 muestran respuestas deterioradas a bajo R: FR, mientras que las plantas transgénicas que sobreexpresan estos factores de transcripción, muestran una respuesta de "evitación del tono constitutivo". En un estudio reciente, se informó que los mutantes deficientes en PIF4 no mostraban alargamiento de hipocotilo o pecíolo, tras la transferencia a alta temperatura. Es importante destacar que la respuesta de hiponastia foliar, severamente deteriorada, se observó en estas plantas. Las respuestas de floración acelerada a altas temperaturas se mantuvieron en mutantes PIF4, lo que sugiere que el papel de PIF4 se limita a las adaptaciones arquitectónicas. Se registró una abolición de la expresión génica mediada por auxina en mutantes PIF4 transferidos a alta temperatura, lo que sugiere que PIF4 actúa como un regulador maestro de una vía de crecimiento de alargamiento mediada por auxina. Por lo tanto, se puede concluir que las plantas integran múltiples señales ambientales, en parte, a través de la regulación convergente de factores de transcripción compartidos.

Radiación

El crecimiento del brote de las hojas de *Camellia sinensis* está rigurosamente controlado por las interacciones de las señales ambientales con varios grupos de fitohormonas. Los efectos de señalización de la luz, en el crecimiento de los brotes, son de especial interés, ya que tanto la irradiación de la luz como la calidad de la luz cambian rápidamente a lo largo del día, causando cambios profundos en el alargamiento del tallo y el crecimiento del área de la hoja. Entre las varias especies de plan de té verde examinadas, los brotes de té verde constituyen un tejido ideal para evaluar las respuestas tanto a la irradiación de la luz como a las señales de calidad de la luz. Aquí, las posibles funciones de las giberelinas, las auxinas, el etileno, las citoquininas y los brasinoesteroides, en la mediación del alargamiento del tallo y el crecimiento del área de la hoja, es un punto importante a enfocar. Las respuestas de la planta a los cambios en la relación de luz roja a roja lejana [R/FR] de sus respuestas a los cambios en la irradiación de la radiación fotosintéticamente activa [PAR] están bien estudiadas. La reducción de cada relación de luz R/FR y la irradiancia PAR, da como resultado un mayor alargamiento del tallo de la planta de té verde. Sin embargo, la respuesta de la planta al crecimiento del área de la hoja difiere considerablemente, con una baja relación R/FR que generalmente promueve el crecimiento del área de la hoja, mientras que la baja irradiación PAR lo inhibe. El aumento del alargamiento del tallo que se produce, en respuesta a la

disminución de la relación R/FR y la irradiación PAR, se logra a expensas del crecimiento del área de la hoja. En efecto, la señal de baja irradiancia PAR anula la señal de baja relación R/FR en el control del crecimiento y desarrollo de la hoja por parte de la luz de sombra. Tres grupos hormonales, giberelinas, auxinas y etileno están directamente involucrados en la regulación de estos cambios de crecimiento de brotes mediados por la luz. Las giberelinas y las auxinas funcionan como promotores del crecimiento y es probable que las auxinas actúen como un regulador de la biosíntesis de giberelinas. El etileno funciona como un inhibidor del crecimiento y probablemente interactúa con las giberelinas en la regulación del crecimiento del tallo y la hoja del brote de té verde.

Las plantas modulan su tasa de crecimiento y desarrollo de acuerdo con la variación continua en las condiciones de su entorno circundante, una capacidad conocida como plasticidad. Esta capacidad se basa en una red de interacciones entre las vías de señalización desencadenadas por señales endógenas y ambientales. La forma en que la planta interpreta los cambios en los factores ambientales, en términos de señales de desarrollo o crecimiento, es una pregunta importante en la biología de las plantas.

La luz se destaca entre los factores ambientales que dan forma al desarrollo de las plantas. Las plantas han desarrollado sistemas que les permiten monitorear las diferencias cuantitativas y cualitativas a la luz, esto les ayuda a generar cambios importantes en su hábito de crecimiento. Los hallazgos recientes se han centrado en la información proveniente de esta señal ambiental que se integra durante la degradación y en el síndrome de evitación de sombra, modulándose por varias vías hormonales. En algunos casos, la interacción entre una hormona y las vías de señalización de la luz es recíproca, como es el caso de la vía de la giberelina. En otros casos, las vías hormonales actúan aguas abajo de la señal ambiental para regular el crecimiento. Además, el reloj circadiano agrega una capa adicional de regulación, que se ha propuesto para integrar la información proporcionada por la luz, es proporcionada por las vías hormonales para regular el crecimiento diario.

Un resumen general es que el clima tiene un efecto inmenso en el crecimiento y desarrollo de la planta. Además, la planta depende de la temperatura de la luz y otros factores ambientales para sus diversos mecanismos y actividades biológicas.

Estos factores relacionados con el clima no solo influyen en la actividad de la planta, sino que también tienen otros efectos, como la influencia directa en las concentraciones hormonales de la planta de té verde.

2.2 HORMONA DE CRECIMIENTO DE PLANTA DE TÉ VERDE

Muchas plantas superiores producen compuestos orgánicos económicamente importantes como aceites, resinas, taninos, caucho natural, gomas, ceras, tintes, sabores y fragancias, productos farmacéuticos y pesticidas. Sin embargo, la mayoría de las especies de plantas superiores nunca se han descrito y tampoco han sido estudiadas para la búsqueda de componentes químicos. Los avances en biotecnología, en particular los métodos para el cultivo de células y tejidos vegetales, deberían proporcionar nuevos medios para el procesamiento comercial, incluso de plantas raras y productos químicos que producen. Se puede esperar que los productos químicos, derivados de plantas biológicamente activas, desempeñen un papel cada vez más importante en el desarrollo comercial de nuevos productos, para regular el crecimiento de las plantas y el control de insectos y malezas.

Las hormonas vegetales son un grupo de sustancias orgánicas naturales que influyen en los procesos fisiológicos a bajas concentraciones. Los procesos influenciados consisten, principalmente, en el crecimiento, la diferenciación y el desarrollo, aunque otros procesos, como el movimiento del estoma, también pueden verse afectados. Las hormonas vegetales, conocidas también como fitohormonas, actúan como inhibidores y promotores del crecimiento, están potencialmente implicadas en la regulación del crecimiento rítmico e influyen en el proceso de síntesis secundaria de metabolitos. Por lo tanto, las concentraciones de estas hormonas en la planta son de primordial importancia. La síntesis de las hormonas vegetales puede localizarse, pero también puede ocurrir en una amplia gama de tejidos o células dentro de los tejidos, si bien, pueden ser transportados y tener su acción a distancia, este no es siempre el caso. También podrían actuar en el tejido en el que se sintetizan o incluso dentro de la misma célula.

Es probable que estas hormonas estén involucradas en el proceso de crecimiento y desarrollo de la planta. Las hormonas importantes incluyen ácido abscísico (ABA), citoquininas y giberelina (GA), cuyas concentraciones se cuantificaron en yemas apicales y hojas de té en las cuatro etapas de desarrollo. La auxina se ha asociado previamente con el crecimiento rítmico en las plantas de té verde.

El descubrimiento de que el crecimiento de brotes rítmicos en especies perennes era endógeno, llevó a muchos a creer que las hormonas, como inhibidores y promotores del crecimiento, controlaban el crecimiento rítmico en el té. Los primeros experimentos mostraron que los injertos entre brotes de crecimiento activo y ramas de té, aumentaron la altura de la planta y la longitud de las hojas y los entrenudos. En contraste, se produjo un menor crecimiento en los injertos entre brotes inactivos y vástagos, lo que llevó a la propuesta de que las hormonas vegetales, o alguna sustancia transportable, controlaran la latencia en el té. Se ha demostrado que la eliminación de hojas o catafilas, como en *Gnetum*, promueve la actividad de los brotes y, por lo tanto, mantiene el crecimiento de los brotes, lo que lleva a la hipótesis de que las sustancias responsables de la latencia de los brotes se originaron en las hojas.

La mayoría de las especias, condimentos, tés y otras bebidas como el café y el cacao deben sus propiedades individuales (sabores y aromas) a los metabolitos secundarios farmacológicamente activos que contienen. Aunque varias de estas sustancias activas (como la vainillina, la efedrina y la cafeína) se producen por síntesis semi o total, en algunos casos aún se pagan precios altos por los compuestos extraídos de sus fuentes naturales, especialmente si están destinados a usarse como aditivos alimentarios o agentes aromatizantes.

Algunos metabolitos secundarios biológicamente activos han encontrado aplicación como entidades farmacológicas o como compuestos modelo para síntesis y semíntesis de fármacos, sin embargo, a menudo se olvida que los productos naturales a menudo sirven como modelos químicos para el diseño y la síntesis total de nuevas entidades farmacéuticas.

Actualmente, la mayoría de los informes que relacionan la latencia de los brotes y la promoción del crecimiento de brotes en el té, con las hormonas vegetales, se basan en observaciones de estudios de hormonas aplicadas. Por ejemplo, se informa que la giberelina aplicada (GA) y la citoquinina (como la bencil se basan en observaciones de estudios de hormonas aplicadas. Por ejemplo, se informa que la giberelina aplicada (GA) y la citoquinina (como la bencil promueven la liberación de la latencia del brote en el té, en contraste, el ABA aplicado promueve la latencia de la yema, como se informó en *Gnetum*. No se ha demostrado que exista una relación causal entre la aplicación exógena de hormonas y la respuesta observada,

lo que limita la interpretación. Estas limitaciones pueden superarse mediante la cuantificación de la concentración de hormonas endógenas, donde el crecimiento y desarrollo de brotes en el té se correlacionó con los cambios en la concentración de las hormonas vegetales ácido abscísico (ABA), giberelina (GA), citolcínina y ribosido de zeatina (ZR).

El ácido abscísico se considera tradicionalmente como un inhibidor del crecimiento y está implicado en la regulación de la inducción, mantenimiento y liberación de la latencia de las yemas en especies perennes. Por ejemplo, se informa que la concentración de ABA aumenta durante el invierno en especies como *Salix*. En el té, propuso que una disminución de la ABA libre en los brotes durante el invierno, podría inducir y mantener la latencia de las yemas. Del mismo modo, durante el crecimiento rítmico, aunque el ABA en las hojas fue relativamente constante en 18 a 23 ng g⁻¹, el ABA en los brotes aumentó significativamente durante la latencia de 24 ng g⁻¹ a 34 ng g⁻¹.

Esto es consistente con las observaciones de Kulasegaram y Kathiravetpillai, donde los inhibidores del crecimiento (quizás ABA) se asociaron con la latencia del brote lateral en el té. Esto difiere de las observaciones de Orchard en *Theobroma*, cuando se informó que las altas concentraciones de ABA en las hojas en la última fase de latencia se mantuvieron, en lugar de inducir la latencia de las yemas durante el crecimiento rítmico. Es posible que el aumento de ABA durante el crecimiento rítmico se limite a las catafilas, ya que el meristemo está entrando en la fase de mayor actividad apical a medida que se inician nuevos primordios.

La cantidad de ABA, detectada en hojas y brotes en el té, fue comparable a la reportada en hojas de *Pseudotsuga* y en hojas de *Glycine max*. En contraste, la concentración de ABA asociada con la latencia en otras especies es considerablemente más alta, variando entre 500 y 3500 ng g⁻¹ en *Citrus*, *Betula* y *Corylus*. En el té, informó que ABA alcanzó un máximo de 3200 ng g⁻¹ dw en brotes de té inactivos durante el invierno, disminuyendo a 350 ng g⁻¹ en la explosión de brotes; esto fue diez veces mayor que la concentración de ABA en brotes y hojas en el estudio actual.

Los cambios fisiológicos, asociados con ABA en estos ejemplos, experimentaron cambios relativamente altos en la concentración. Por ejemplo, en las hojas de *Citrus*, ABA aumentó nueve veces desde la aparición del brote hasta su extensión, mientras que el contenido de ABA aumentó 10 veces en las yemas *Silex* durante la latencia de invierno y nueve veces en los brotes de té. En comparación, si bien, el aumento de ABA en la latencia, durante el crecimiento rítmico fue significativo en comparación con las otras etapas de crecimiento, éste no fue tan pronunciado como el que se informa que ocurre durante la latencia de invierno en los ejemplos anteriores.

Es importante resaltar que la concentración endógena de GA no se informó previamente para el té, tampoco si la concentración de ésta varía o no durante el crecimiento del brote. Hasta la fecha, los únicos informes que vinculan el crecimiento de brotes con GA, son observaciones que muestran que ésta, aplicada de manera exógena, puede reducir la duración de la latencia de las yemas en el té; lo que genera poca relación con los cambios endógenos en la actividad. En los brotes, GA estuvo presente en concentraciones significativas solo durante el inicio del crecimiento, durante el período de elongación rápida del brote. Del mismo modo, se informó que los niveles de GA, durante la expansión temprana de los brotes en *Alnus*, *Betula* y *Populus*, son relativamente altos, mientras que las puntas de los brotes de *Brassica* tienen concentraciones similares de GA (20 ng g⁻¹ dw) en los brotes.

Las observaciones sobre GA en yemas, en el presente estudio, son consistentes con el papel principal de GA, en la estimulación del alargamiento celular y en la extensión del tallo. Sin embargo, es inconsistente que GA estuvo presente en hojas completamente expandidas durante la latencia, pero no durante el alargamiento del brote, cuando las hojas aún no han alcanzado la expansión total y, por lo tanto, son inmaduras.

AUXINAS

Las auxinas son un grupo de hormonas vegetales con las siguientes actividades biológicas: **AMPLIACIÓN DE CÉLULAS.** La auxina estimula el crecimiento celular y el crecimiento del tallo. **DIVISIÓN CELULAR.** Las auxinas estimulan la división celular en el cambium y en combinación con la citoquinina, en el cultivo de tejidos. **DIFERENCIACIÓN DE TEJIDOS VASCULARES.** La auxina estimula el crecimiento de floema y xilema. **INICIACIÓN DE RAÍZ.** Estimula el inicio de la raíz en esquejes del tallo y también el desarrollo de raíces ramificadas y la diferenciación de raíces en el cultivo de tejidos. **RESPUESTAS TROPÍSTICAS.** La auxina media la respuesta tropística (flexión) de los brotes y las raíces a la gravedad y la luz. **DOMINIO APICAL.** El suministro de auxina del brote apical reprime el crecimiento de los brotes laterales. **SENESCENCIA DE LAS HOJAS.** Las auxinas retrasan la senescencia de las hojas. **ABSCISIÓN DE LAS HOJAS Y DE LAS FRUTAS.**

CITOQUININAS

La citoquinina está asociada con la división celular y, como GA, tiende a estar presente en concentraciones más altas en tejidos jóvenes. En *Theobroma*, se informa que el aumento de la concentración de citoquinina en las hojas, promueve la explosión de brotes durante el crecimiento rítmico. Se propuso que el aumento de la actividad de las raíces durante la latencia promovió la síntesis de citoldina. De acuerdo con estas observaciones, la concentración de at en las hojas de té fue significativamente mayor durante la explosión del brote, disminuyendo desde las etapas 2.11 y 2.IV. La concentración de ZR en brotes fue de alrededor de 75 ng g⁻¹, pero disminuyó significativamente durante la etapa 2.11, extensión del brote. Esto podría estar asociado con una actividad reducida en la yema, ya que el crecimiento de los primordios ha cesado (Capítulo IV. 1). Aunque el anticuerpo policlonal contra at pudo haber tenido cierta reactividad cruzada, existe la posibilidad de que otras citoldinas, como la zeatina y la isopentildenina, también puedan estar involucradas en la regulación de la explosión de brotes en el té, lo que debería examinarse en estudios posteriores.

Los cambios observados en la concentración de GA, ABA y ZR, durante el crecimiento del brote en las plantas de té verde, podrían indicar un papel potencial de estas hormonas en el control del desarrollo del brote en el té; ABA en la regulación de las etapas iniciales de latencia, y GA en la liberación de brotes de ésta. Sin embargo, la naturaleza exacta del papel de estas hormonas, en la regulación del crecimiento rítmico del té verde, requiere el desarrollo de técnicas más precisas que las que están disponibles actualmente para estudiar la actividad hormonal a nivel celular y molecular y los sitios receptores de hormonas.

Ácido abscísico

El ácido abscísico se detectó en brotes y hojas subtiende en todas las etapas de desarrollo. Los niveles de ABA en las hojas no variaron significativamente durante las diferentes etapas de desarrollo, oscilando entre 18 y 23 ng g⁻¹. ABA fue significativamente mayor a 35 ng g⁻¹ en yemas latentes durante la etapa 2.111, en comparación con alrededor de 24 ng g⁻¹ en las otras etapas de desarrollo.

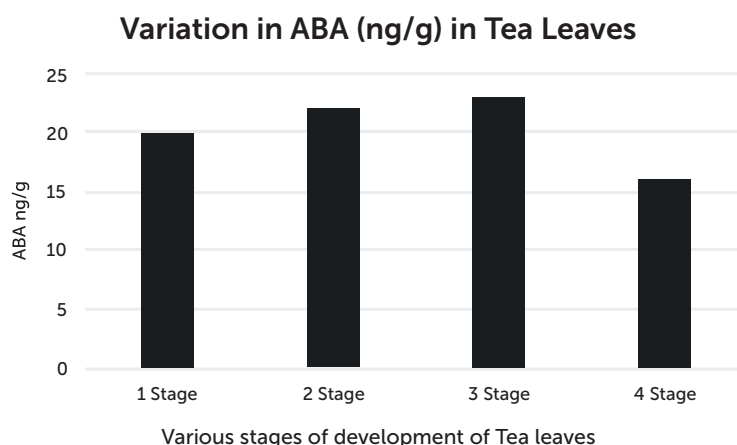


Figura. Gráfico de variación en las concentraciones de ABA en las hojas de té durante diferentes etapas de su desarrollo.

Giberelina

Se detectó una cantidad significativa de GA (23 ng g⁻¹) en la explosión de brotes durante la etapa 2.1, en la cual, los entrenudos y las hojas experimentaron un rápido crecimiento de extensión. Esto es consistente con el papel de GA en la extensión celular en tejido inmaduro, especialmente en los nodos internos. No hubo cantidades significativas de GA en los brotes en las etapas restantes de desarrollo, la concentración varía de cero a 1 ng g⁻¹. La falta de GA en las hojas subtiende, durante la etapa 2.1 y la etapa 2.IV, refleja la madurez de la hoja. En comparación, las hojas subtiende en la etapa 2.11 y la etapa 2.111, son inmaduras; sin embargo, GA solo se detectó en concentraciones significativas de 33 ng g⁻¹ en la etapa 2.m. GA fue de otra manera insignificante en las hojas subtiende durante la etapa 2.11.

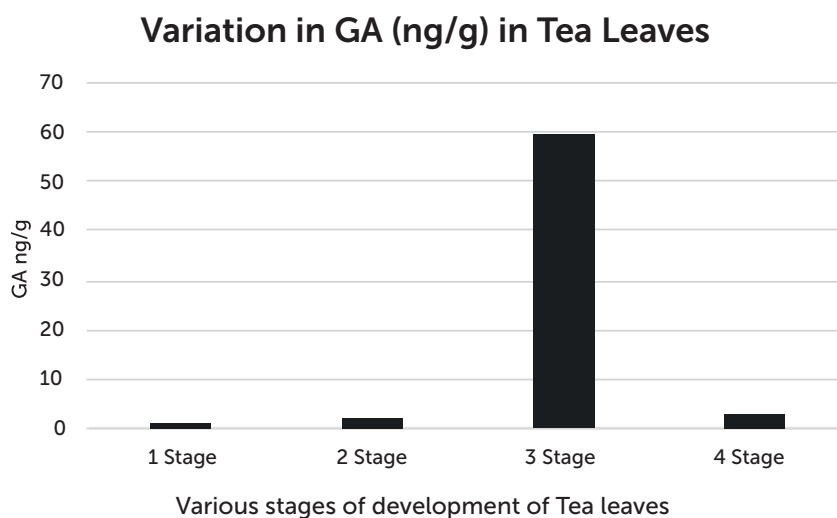


Figura. Gráfico de variación en las concentraciones de GA en las hojas de té durante diferentes etapas de su desarrollo.

Ribosido de zeatina

El ribosido de zeatina se detectó en brotes y hojas en todas las etapas de desarrollo. En los brotes, la concentración de ZR disminuyó, aproximadamente, un 50% durante la extensión del brote en la etapa 2.II a 30 ng g⁻¹. Las concentraciones de ZR variaron de 75 a 90 ng g⁻¹ en las otras etapas de desarrollo. Como las citoquininas están asociadas con la división celular, la disminución de la concentración de ZR, durante la extensión del brote, podría deberse a una menor actividad en la yema. En las hojas, ZR estuvo presente en una concentración significativamente más alta a 70 ng g⁻¹ durante el brote en la etapa 2.I; la concentración de ZR disminuyó cuando las hojas alcanzaron la expansión total, alcanzando un mínimo de alrededor de 25 ng g⁻¹ durante la etapa 2.IV.

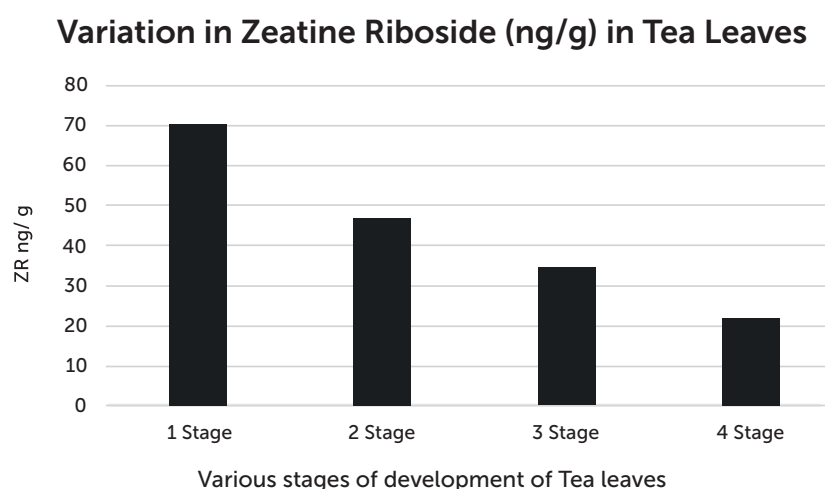


Figura. Gráfico de variación en las concentraciones de ZR en las hojas de té, durante diferentes etapas de su desarrollo.

3. POLIFENOLES DEL TÉ VERDE POTENCIADOS EN LUNA LLENA

3.1 CICLO LUNAR/EFEECTO DE LUNA LLENA

La luna es el único satélite permanente y natural. Los humanos son heterótrofos, es decir, usan la sustancia de otros organismos como alimento y, para sobrevivir, siempre han tenido que tener en cuenta este carácter rítmico de las plantas. Al leer obras sobre costumbres populares y tradiciones de un país, relatos de autores antiguos o cuando se habla con jardineros, agricultores o leñadores sobre su experiencia empírica; uno es conducido infaliblemente a dos observaciones:

- Además del ritmo de las estaciones y de la naturaleza solar, desde un punto de vista geocéntrico, estas fuentes evocan sistemáticamente los ciclos lunares como un factor que influye en el crecimiento, las estructuras y ciertas propiedades de las plantas.
- A pesar de la distancia geográfica, entre los informantes, a menudo hay similitudes entre las declaraciones sobre este factor.

Esto parecería indicar la posible existencia de fenómenos reales, por lo tanto, las máximas generales sobre la tala de árboles, coinciden porque mencionan el factor Luna, en los Alpes, en el Medio Oriente, en la India, en Brasil, en Guyana, en Corea y en Finlandia. Todas estas tradiciones parecen estar basadas en observaciones similares, por ejemplo, el período de la Luna nueva o Luna menguante, se considera el más favorable para la tala de árboles para proporcionar madera duradera para la construcción, resistente a insectos y hongos. Una "fitopráctica" de este tipo se refiere al período para plantar esquejes en América Central, considerado óptimo en una Luna menguante. Cabe señalar que en tiempos anteriores, las personas podían observar la Luna durante períodos más largos de tiempo y en condiciones más tranquilas. La observación debió ser de vital importancia ya que la supervivencia era más precaria que ahora. Hasta hace poco, ninguna máquina o proceso de automatización se interpuso entre los humanos y su objeto de trabajo, esto probablemente les permitió refinar su percepción en un grado considerable. Probablemente se agregó una parte de la superstición, tan pronto como la observación precisa y objetiva dio paso a la aceptación ciega de las máximas tradicionales. Sin embargo, el cambio de transmisión oral a escrita agregó su parte de distorsiones.

Para la determinación de la "fecha de corte correcta", los registros históricos y la tradición oral proporcionan tres tipos de máximas:

- Según las "fases de la luna", el ritmo lunar sinódico tiene un período de 29.531 días. Mide el paso de una Luna nueva a una Luna llena (fase "creciente"), y luego, a la siguiente Luna nueva (fase "menguante"). Diariamente, este ritmo sinódico se puede observar en el movimiento de las mareas, cuyo período principal es de 24.8 horas, pero esto rara vez se menciona. El único caso actualmente conocido por el autor, se refiere a la tala de bambú (*Phyllostachys aurea*) en Ecuador. Se observó que para determinar los tiempos de marea baja favorables para la conservación del bambú, los agricultores cortaban una "liana de agua".



Figura 1. Fases de la Luna, correspondiente al ritmo sinódico, con un período de 29.5 días.

- 1) Órbita lunar alrededor de la Tierra, para un observador que mira el sistema Tierra-Luna desde muy lejos sobre el Polo Norte de la Tierra.
- 2) Luna Nueva observada desde la Tierra.
- 3) Creciente creciente
- 4) Primer cuarto
- 5) Luna llena

- 6) Último cuarto
- 7) Creciente menguante
- 8) La Tierra
- 9) Dirección de los rayos solares. Entre el primer cuarto y la Luna llena, la fase se llama "gibosa creciente"; entre la Luna llena y el último cuarto, es "menguante gibosa".

Prácticas que siguen muy vivas

Actualmente, ciertos trabajadores de la madera aplican las máximas sobre la tala vinculada a la Luna. A continuación, evitaremos tratar con los múltiples "calendarios lunares" modernos sin base experimental, solo presentaremos casos conocidos directamente por el autor o tomados de fuentes científicamente documentadas, con el objetivo de ilustrar la gran variedad de usos de la madera, para los cuales, el factor lunar se considera importante para obtener ciertas propiedades excepcionales. Cabe señalar que en la mayoría de los casos, este factor se presenta solo en la segunda o tercera posición, ya que los factores más importantes son la época general del año, con un alto valor en "madera de invierno" y con condiciones de crecimiento, es decir, con madera de montaña de los bosques naturales de crecimiento lento. A veces se mencionan vientos, como el Foehn en los Alpes, que podría afectar negativamente ciertas propiedades de la madera.

Madera para construcción. Las principales propiedades requeridas, en este caso, son la resistencia mecánica a la presión, la tracción o la flexión, y la resistencia al ataque de hongos e insectos. Una máxima francesa estipula: "Madera blanda en una Luna creciente, madera dura en una Luna menguante". Las tejas de madera son tablas de diferentes dimensiones que se usan, como tejas para cubrir techos y fachadas; por lo tanto, éstas están particularmente expuestas a la intemperie y a la descomposición.

Los tipos apropiados de madera solo pueden provenir de especies bien probadas, como el roble (*Quercus* spp.), el castaño (*Castanea sativa*) o el alerce (*Larix* spp.). También hay abetos (*Picea abies*) y abetos (*Abies* spp.), donde algunos fabricantes de guijarros, cayeron en fases lunares particulares para obtener un material seco.

Chimeneas. En ciertas partes de Europa Central, la madera se usaba en la construcción de chimeneas y para ahumar carne. Incluso, existen máximas de tala "lunares" que supuestamente proporcionan madera que no es fácilmente flamable.

Leña: Todavía aplicada comúnmente en el Jura, por ejemplo, la máxima mencionada por Olivier de Serres, aconseja: "La posición de la Luna es notable al encerar, cortar leña, al menguar y cortar madera para construir". En este caso, se busca claramente la combustibilidad en lugar de la dureza o la resistencia a los agentes destructivos.

Resonancia de la madera: Hasta el uso más prestigioso, como la "caja de resonancia" para hacer violines, guitarras o pianos, la fecha de tala en relación con las fases de la Luna, constituye uno de los secretos del arte del fabricante de instrumentos.

Barriles y barricas: Según las observaciones de los artesanos, las duelas de roble más herméticas no se pueden obtener en cualquier estación del año, ni en cualquier fase de la Luna. Las tradiciones de bambú generalizadas en América del

Sur (Colombia, Ecuador, Brasil) y la India, tienen en cuenta el calendario lunar para cortar bambúes (que en realidad son gramíneas gigantes o gramíneas), capaces de resistir los ataques de insectos.

Flotante: Varias fuentes tradicionales independientes mencionan que tanto las propiedades de la madera, como la forma en que la madera flota en los ríos, varían según los períodos de la Luna.

Ritmo lunar en biología: una visión general

Endres y Schad son los investigadores que presentan la realidad de los períodos lunares en el mundo anual de las plantas, en la biología animal y en los humanos. Una serie de más de 600 especies, en su mayoría animales, muestran este tipo de ritmo en revistas científicas, donde se ilustra la complejidad de los fenómenos cronobiológicos involucrados y plantea la cuestión de la naturaleza fundamental del tiempo. Engelmann, en 2004, recomienda en "Rhythms of Life" los trabajos de Pearse y de Palmer, como buenas referencias sobre los ritmos vinculados a las mareas de dos semanas y un mes. Aunque no se ha informado ningún ritmo periódico lunar para Cyanophyceae, debido a su ciclo de vida corto con relación a los ritmos lunares, 45 especies de Thallophytes y 40 especies de angiospermas ya estaban incluidas en 1996.

Todas las células y organismos eucariotas oscilan en general entre factores exógenos y endógenos, debido a su reloj interno basado en las interacciones entre el núcleo y el citoplasma. En 1938, Bracher descubrió que en el lodo de la costa oeste de Inglaterra, la protista *Euglena limosa*, migra no solo con un ritmo circadiano diario, sino también de acuerdo con un ritmo lunar (24.8 horas), que le permite aparecer en la superficie solo de día y con marea baja. Esta especie unicelular, con un núcleo distinto, tiene movimiento a través de sus flagelos, asimilación clorofílica y un ojo rudimentario. Esto demuestra que el factor rítmico lunar y el factor solar (fotoperiódico), constituye un continuo que incluye muchas formas vivas, tanto plantas como animales.

Periodicidades lunares en la germinación, crecimiento y fructificación de plantas anuales

Uno de los primeros proyectos de investigación, ejecutados de acuerdo con criterios científicos fue Semmen, publicado en 1923 con precisiones añadidas en 1947, en *Nature*. El investigador mencionó la germinación de las semillas de mostaza (*Sinapis* spp.) fuertemente acelerada por el efecto de la luz de la Luna. Establece una relación entre este fenómeno y la naturaleza polarizada de la luz debido a su reflejo, una polarización que es más pronunciada en ciertos momentos del ciclo. Este tipo de luz, acentúa el proceso de descomposición de los granos de almidón por la diastasa, una enzima que moviliza por hidrólisis esta sustancia de almacenamiento. A través de pruebas de laboratorio extremadamente exhaustivas que duraron de 1927 a 1935, Kolisko demostró las variaciones en el crecimiento de las plantas de acuerdo con el ritmo sinódico lunar. Las semillas de especies vegetales, florales y cereales (lechuga [*Lactuca sativa*], repollo blanco [*Brassica oleracea*], puerro [*Allium porrum*], tomate [*Lycopersicon esculentum*], guisante [*Pisum sativum*], frijol común [*Phaseolus vulgaris*], apio de monte [*Levisticum officinale*], milenrama [*Achillea millefolium*], bálsamo de limón [*Melissa officinalis*], monasterio [*Aconitum napellus*], maíz [*Zea mays*], trigo [*Triticum* spp.], avena [*Avena sativa*] y cebada [*Hordeum vulgare*]), sembradas dos días antes de la Luna llena, mostró una mejor germinación, un crecimiento más fuerte, una inflorescencia más numerosa y produjo una mejor cosecha que las semillas sembradas dos días antes de Luna nueva.

Series experimentales mostraron un cambio brusco entre el período ideal, aproximadamente dos días antes de la Luna llena y el día exacto de la Luna llena, ya que revela una forma de diferencia de fase entre el curso visible de nuestro satélite y su efecto sobre la germinación. Kolisko trabajó con material muy homogéneo y siguió para la elección de las fechas las sugerencias de Rudolf Steiner, fundador del método de agricultura biodinámica, que practicó con un éxito creciente durante más de 80 años. Se hizo evidente que la fase lunar exacta en el momento de la siembra, desempeña un papel importante para todo el ciclo vegetativo que sigue: germinación, crecimiento, floración y fructificación. Este papel se acumula con el de la estación del año, correspondiente a la relación Tierra-Sol. Estas periodicidades se confirmaron posteriormente, pero también se diferenciaron varias veces, por ejemplo, por Voegelé en 1930, con varios cereales probados en el exterior, donde la diferencia máxima apareció entre las siembras de dos a cinco días antes de la Luna llena y de dos a tres días, después de la Luna llena. Popp (1933) retomó el trabajo de Kolisko con diferentes variedades de papa (*Solanum tuberosum*), frijol, maíz y chalote (*Allium ascalonicum*). La papa mostró mayores rendimientos en los lotes plantados hacia el último cuarto y la Luna nueva, mientras que los chalotes, dieron su mayor rendimiento en los lotes del primer y último trimestre. A pesar de estos resultados, el autor de estos ensayos declaró que era extremadamente improbable que la Luna tuviera alguna influencia, al tiempo que admitía fallas metodológicas. Todo ello, proporciona una idea del papel de las ideas a priori y preconcebidas en la investigación sobre este tema. En un experimento posterior, Popp et al. obtuvieron nuevamente diferencias marcadas para el maíz, pero esta vez de manera opuesta a las encontradas por Kolisko. En contraste, Opitz (1936) obtuvo mayores rendimientos de la cebada sembrada en una Luna creciente que de las sembradas en una Luna menguante, con fechas separadas solo un día. Breda, menciona un resultado análogo en 1960 para el centeno (*Secale cereale*), donde un análisis por promedios móviles, revela mayores rendimientos para las siembras de Luna llena que para las de Luna nueva.

Los ensayos sistemáticos a largo plazo, llevados a cabo por Maria Thun, permiten clasificar la estimulación o el estilo de crecimiento de las plantas en cuatro tipos diferentes (raíz, tallo, hoja y flor-fruto), según la posición de la Luna en el zodiaco en la siembra. Los resultados que desafortunadamente no se publicaron de acuerdo con los estándares científicos actuales, llevaron a este investigador a editar un Calendario de Siembra Anual. En la década de 1970, Abele atestigua con zanahoria, cebada de verano, avena y rábano (*Raphanus sativus*), la validez de los conceptos de Maria Thun, y confirma parcialmente la diferenciación mencionada anteriormente. Spiess utiliza ensayos que duran de cinco a seis años, más tarde, proporciona confirmación estadística de las variaciones lunares en el caso de plantas anuales cultivadas, centeno de invierno, rábano, zanahoria, papa, frijol y mostaza.

Spiess destaca algunas características interesantes:

- Un ritmo poco mencionado en la ciencia tradicional, también juega un papel vinculado a la revolución anómala con un período de 27,6 días, debido a la forma elíptica y descentrada de la trayectoria lunar. Por lo tanto, la Luna pasa alternativamente y a velocidades variables cerca de la Tierra, el perigeo, y luego a una distancia máxima, el apogeo. Para todas las especies probadas, las siembras durante el período de perigeo, muestran una reacción significativamente positiva en comparación con los otros períodos de siembra, una vez que el efecto de la temporada (tendencia anual) se ha eliminado matemáticamente.

- Aparece una influencia del ritmo sinódico (fases lunares) para todas las especies estudiadas, con una marcada diferencia entre las fases de aumento y disminución. Sin embargo, la dirección de esta diferencia es específica de la especie; mientras la zanahoria proporciona el máximo rendimiento para las siembras, tres días antes de la Luna llena, el rendimiento es mínimo para la papa plantada entre el primer trimestre y la Luna llena. Esto confirma los resultados de Kolisko, con la zanahoria y los de Popp con la papa.
- El ritmo tropical (Luna ascendente y descendente) solo parece afectar ciertas especies: el frijol, el más sensible con un número máximo de vainas para sembrar con la Luna en la culminación, en la constelación de Géminis, seguido de rábano y zanahoria.
- Se pueden observar claras diferencias de rendimiento de acuerdo con el ritmo sideral, dependiendo de la posición de la Luna en los 12 signos del zodiaco. Spiess señala que estas diferencias también podrían explicarse por los primeros tres ritmos mencionados. La agrupación de Thun en cuatro tipos de crecimiento, según el zodiaco, no puede confirmarse con esta metodología. Este análisis sería realizado, posteriormente, con un resultado positivo de los investigadores Kollerstrom y Staudenmaier, reinterpretando los datos de las especies.

Del mismo modo, los ensayos de Fritz muestran que el rábano germina más rápidamente cuando se siembra dos días antes de la Luna llena (ritmo sinódico). Al usar láminas de vidrio transparentes u opacas sobre los semilleros, el autor muestra estadísticamente el efecto de la luz de la luna en el desarrollo de la superficie de la hoja o en la relación tallo/raíz. En una tesis que pasó prácticamente desapercibida en 1974, Milton ilustra, para el maíz, la complejidad de las variaciones lunares sinódicas midiendo el desarrollo del brote joven (coleóptilo) una semana después de la siembra. Las series de siembras diarias en condiciones de laboratorio indican un ritmo semanal por trimestres lunares, dentro del cual el máximo encontrado antes de la Luna llena, contrasta con el mínimo encontrado entre el tercer trimestre y la Luna nueva, y con los mínimos de la Luna. Momento exacto del primer cuarto y de la Luna llena. Estas variaciones sistemáticas de corto período, podrían explicar la aparente divergencia entre los resultados de Kolisko y los de Popp para el maíz. Años anteriores, el científico francés B. Millet, había demostrado la complejidad de los ritmos de alargamiento de la haba (*Vicia faba*), los cuales, se pueden identificar al menos cinco ritmos de diferentes períodos simultáneamente. También destacan las variaciones lunares rítmicas en una escala mensual en anuales detectadas por Graviou, en el crecimiento en longitud de las raíces del berro (*Lepidium sativum*), mantenidas en temperatura y oscuridad constantes durante las primeras 72 horas después de la germinación.

Germinación y crecimiento inicial en árboles

Un vivero de árboles, situado en los trópicos de Ruanda, ofreció condiciones interesantes para experimentos sobre la germinación y el crecimiento inicial de especies leñosas de acuerdo con el factor lunar, ya que las temperaturas y las longitudes diurnas eran menos variables que en las latitudes más altas, y las estaciones secas, podrían compensarse con riego. El trabajo ocurrió durante tres años: ensayo preliminar, ensayo principal con 12 siembras de 4 repeticiones de 50 semillas, y, por último, el ensayo de control y complementario. Las siembras de la prueba principal se llevaron a cabo dos días antes de la Luna llena, alternando con siembras dos días antes de la Luna nueva, como sugiere el trabajo de Kolisko, mencionado anteriormente. Para los musizi africanos (*Maesopsis eminii*)

encontrados desde Liberia hasta Kenia, la velocidad y la tasa de germinación y los valores medios y máximos de crecimiento en los primeros meses, varían de manera claramente rítmica con valores superiores para las siembras justo antes de la Luna llena. Un ensayo independiente, llevado a cabo cinco años después en África occidental, utilizó el mismo método en cuatro especies de tierras secas (*Sclerocarya birrea*, *Adansonia digitata*, *Azizelia africana* y *Detarium microcarpum*), y confirmó el carácter rítmico y esencial para la etapa de desarrollo, dos meses después de la siembra.

Es importante en este tipo de prueba elegir la fecha con gran precisión, ya que cerca de los momentos favorables entre el primer trimestre y la Luna llena, el momento exacto de la Luna llena da resultados a veces inferiores a los de dos días antes de la Luna nueva. Sin embargo, es importante evitar simplificar en exceso esta relación entre los ritmos de las plantas y los ciclos lunares. De hecho, ciertas especies pueden mostrar el comportamiento opuesto y responder positivamente a una siembra antes de la Luna nueva, como el zarzo (*Acacia melanoxylon*) y el sesban/guisante egipcio (*Sesbania sesban*), un comportamiento que recuerda el de la papa, observada por Popp, y luego por Spiess. Estos primeros resultados positivos, con respecto a las especies forestales, demuestran la importancia que la cronobiología lunar puede tener para operar viveros que buscan producir árboles vigorosos.

Una prueba revisada

En su breve revisión de la investigación sobre los ritmos lunares en el mundo vegetal, Beeson basa su opinión generalmente escéptica en el trabajo de Rohmeder, llevado a cabo con un prejuicio visiblemente muy crítico. Este trabajo tuvo como objetivo probar los fenómenos recientemente revelados por Kolisko. Los experimentos se llevaron a cabo meticulosamente con un stock de semillas de abeto que tienen una alta tasa de germinación y una calidad uniforme, durante 1936 (4 meses) y 1937 (7 meses), que consta de 87 series de 1,200 semillas, o un total de 104,400 semillas, cuya velocidad y tasa de germinación, se determinaron después de 7, 10, 14 y 21 días. Se eligieron ocho fechas por mes lunar sinódico para la siembra: primer trimestre, Luna llena; último trimestre, Luna nueva; además de Luna creciente, gibosa creciente, gibosa menguante y Luna menguante (Figura). Las variaciones ocurrieron cada año dentro de un rango relativamente estrecho, el efecto del envejecimiento de las semillas durante la larga serie en 1937 fue más fuerte que el efecto Luna y las curvas que representan la tasa de germinación, en relación con la fecha de siembra lunar, presentaron caminos a veces divergentes. Esto llevó al autor, sin ningún análisis estadístico, a la conclusión definitiva de que estos ensayos "no proporcionan ningún argumento que indique que el cambio en las fases lunares podría influir en la germinación de las semillas de abeto".

Si aplicamos hoy, 73 años después, un análisis estadístico de varianza para los datos acumulados de los dos años de ensayos, obtenemos para las variaciones en la tasa de germinación sobre su media general, un rango que es de hecho estrecho pero que comprende diferencias claramente significativas (ver Figura). Estas diferencias nos devuelven a la pregunta inicial sobre los resultados de Kolisko, ya que, las siembras anteriores a la Luna llena ahora parecen dar resultados significativamente más altos (+ 2.8%) que los de antes de la Luna nueva y significativamente más altas que los del día exacto de la Luna llena, la Luna creciente y el primer cuarto. Los resultados de Kolisko, encuentran una confirmación tardía de una especie forestal de primer orden, similar a la de los musizi, donde se observó una caída abrupta en el crecimiento inicial de las siembras el día de la Luna llena.

Ritmos lunares en citología, fisiología y morfología

Las variaciones en la germinación, crecimiento y fructificación de las plantas en relación con los ciclos lunares, tienen su origen en una serie de fenómenos interesantes, que se enumeran aquí primero para las plantas herbáceas como pistas prometedoras para la investigación.

Plantas herbáceas

- Los análisis del ADN y la actividad mitótica del tejido de papa, cultivado en laboratorio, revelan variaciones a lo largo del ciclo sinódico. Una estructura de ADN vinculada a la acumulación de carbohidratos está más desarrollada en la Luna nueva, mientras que una estructura apropiada para el crecimiento y la floración está más marcada en la Luna a llena. La actividad mitótica es máxima en el primer y último trimestre, alternando con mínimos en la Luna llena y la Luna nueva. Sin embargo, los investigadores encuentran que ciertos tipos de células se reproducen fuera de sintonía con este ritmo.
- Varias algas siguen periodicidad lunar en su reproducción. Esto se expresa, por ejemplo, a través del nivel de ácido algínico en el alga marrón *Fucus virsoides*. Del mismo modo, las citoquininas, un grupo de hormonas de crecimiento vegetal, varían con los máximos en diferentes fases lunares en las algas *Ecklonia maxima* y *Sargassum heterophyllum*.
- En plantas probadas diariamente, como el frijol común, *Philodendron* (*Philodendron sagittifolium*) o geranio (*Geranium spp*), Rounds identifica una periodicidad semi-lunar en la síntesis de acetilcolina o noradrenalina, que puede medirse por el efecto sobre el ritmo cardíaco de la cucaracha americana *Periplaneta americana*. Estas observaciones ilustran el hallazgo de que el momento de la cosecha de plantas medicinales tiene un impacto en el efecto farmacológico. Esto sugiere una vez más la validez de ciertas prácticas tradicionales relacionadas con las fases lunares que eran actuales en los monasterios que producen este tipo de plantas.
- Una reinterpretación de los viejos registros sistemáticos del movimiento de las hojas del frijol espada (*Canavalia ensiformis*) en un entorno estable que lleva a cabo el trabajo del fundador de la cronobiología, E. Bünning, permite a P. Barlow, calculando las mareas gravimétricas correspondientes, revelar un ritmo de marea claramente marcado.
- Las variaciones en el intercambio gaseoso observadas por Graviou, en semillas de tomate en latencia aparente mantenidas en condiciones constantes de luz y temperatura, habían mostrado una absorción máxima de oxígeno en Luna llena y Luna nueva. Este resultado concuerda con el descubrimiento de Brown, donde la papa y la zanahoria siguen un ritmo lunar sinódico en su respiración. Para la papa, un ritmo lunar diario se superpone a este ritmo mensual. Los registros de laboratorio, mantenidos durante 10 años en condiciones oscuras constantes, muestran un máximo en la salida de la Luna y la culminación, pero solo de septiembre a febrero. Graviou, posteriormente, encontró un ritmo similar en la respiración de las semillas de girasol (*Helianthus annuus*).

El aire contaminado de las ciudades se ioniza positivamente en comparación con el aire puro de un bosque, Plaisance sugirió múltiples perspectivas de beneficios de la atmósfera forestal cargada negativamente para el cuerpo y el espíritu.⁴³ ¿Podría esto ser debido a un efecto más marcado de los ritmos lunares?

- Es posible que las diferencias rítmicas en la velocidad y la tasa de germinación estén relacionadas con variaciones cíclicas en la absorción de agua por las semillas, como lo demostraron Brown y Chow, usando una configuración experimental impresionante (7,931 series de 20 frijoles). Las semillas sumergidas en agua día tras día durante cuatro horas, absorben agua según un ciclo lunar sinódico circaseptan (período de 7,4 días). Es notable que las variaciones en la absorción observadas durante media semana lunar sean tan considerables, hasta un 20%. Esto sugiere que podría tratarse de variaciones en las propiedades del agua, fluctuaciones que ya se habían descubierto experimentalmente. A través de una serie de reacciones químicas estandarizadas (pruebas de precipitación de cloruro de bismuto), Piccardi y Cini, habían demostrado este fenómeno en experimentos que se extendieron durante más de 30 años. Este fenómeno ya había sido verificado por Burkard, quien mostró el papel de las variaciones en la presión atmosférica. Luego fue analizado estadísticamente por De Meyer y Capel-Boute, sobre la base de largas series complementarias.
- Las variaciones en la absorción de agua por las semillas según los ritmos sinódicos fueron confirmadas por Innamorati y Signorini, luego por Spruyt y otros, como una adición a la variación estacional. Curiosamente, estos últimos autores, sobre la base de 25 lunaciones (2 años) con pruebas de inmersión diaria en condiciones constantes de laboratorio, también obtienen un ritmo lunar circaseptano, pero fuera de fase con el de Brown & Chow (ver Figura).
- Abrami (1972) muestra otro fenómeno periódico lunar que influye en el crecimiento de las plantas.⁵¹ Esta investigación llevada a cabo al aire libre se refiere al papel del factor de "temperatura" en el alargamiento del brote de siete especies anuales herbáceas silvestres: campanilla de invierno (*Galanthus nivalis*), raíz hueca (*Corydalis cava*), anémona de madera (*Anemone nemorosa*), consuelda tuberosa (*Symphytum tuberosum*), ajo de oso (*Allium ursinum*), anciano molido (*Aegopodium podagraria*) y bellflower rastrero (*Campanula rapunculoides*). Obviamente, el crecimiento es más lento en climas fríos y más rápido en climas cálidos; sin embargo, estos experimentos muestran que la correlación entre estas dos variables fluctúa periódicamente y de manera diferente según la especie, según ritmos de 29.5, 14.7, 9.7 y 7.3 días. Por lo tanto, la tasa de crecimiento de la campanilla está más influenciada por la temperatura en la fase de Luna nueva que en la fase de Luna llena en marzo, abril y mayo.
- Con respecto al factor "luz", y contrario a las observaciones de Semmens (1923) y Kolisko (1939, 1953), se observó que los ritmos lunares sinódicos persistían. Esto parecería implicar la función del factor complementario a la luz polarizada.

Plantas leñosas

Las plantas leñosas también revelan en su fisiología fenómenos rítmicos vinculados con la Luna:

- Vogt y otros autores (2002) llevaron a cabo un estudio de la química secundaria de las plantas que buscaba probar una fitopráctica nativa de América Central, su conclusión dio como resultado que las diferencias significativas en el contenido de carbono, el contenido de calcio y la fracción de hemicelulosa, podrían explicar la mejor durabilidad en la fase de Luna llena. Sin embargo, se observaron diferencias marcadas entre las hojas de las tres especies analizadas: palma de sierra (*Prestoea montana*), garra de langosta (*Heliconia caribaea*) y palo de cachinibo (*Palicourea riparia*). Los períodos intermedios que resultaron ser interesantes en otros estudios, como los días entre el primer trimestre y la Luna llena, no se tuvieron en cuenta aquí.
- Cuando un equipo pluridisciplinario tomó los resultados del trabajo ya publicado por Cantiani et al. sobre las variaciones en el diámetro de los árboles mantenidos en condiciones constantes, demostraron la existencia de un ritmo lunar sinódico a nivel diario, correspondiente a las mareas gravimétricas. Detrás del ciclo foto-termo periódico de 24 horas conocido por la mayoría de los procesos fisiológicos y correspondiente a la influencia del sol, Zürcher et al. descubrieron que el diámetro de los troncos de los árboles también cambia según un ciclo lunar con un período de 24.8 horas. Esto plantea la pregunta sobre los procesos que conducen a estas fluctuaciones reversibles en el diámetro y sugiere que podría ser una alternancia en el contenido relativo de agua de la pared celular en comparación con el citoplasma.
- Este último fenómeno lunar se confirmó recientemente con elegancia y se le arrojó nueva luz, siguiendo el trabajo de Burr que se extendió desde 1944 hasta 1972. Holzknicht presenta un dispositivo extremadamente sensible para medir los potenciales bioeléctricos de los árboles en pie aplicado a los abetos y a los suizos, que permite la detección de ritmos en fase con mareas diarias gravimétricas y con el ciclo mensual lunar sinódico, durante el período de descanso de los árboles en invierno. Por otro lado, el período ordinario de 24 horas predomina mientras los árboles crecen.
- A diferencia de la papa, en el abeto la actividad mitótica del tejido poliembrionario que se mantiene en condiciones constantes de laboratorio, atraviesa máximos en Luna llena y nueva, mínimos en el primer y último trimestre.
- Recientemente, una nueva revisión de los datos de Cantiani de 1994, ya analizados por Zürcher et al. en 1998, y un análisis en profundidad de otros datos de los investigadores de Florencia sobre árboles que viven en condiciones abiertas, permitió una confirmación espectacular del papel de las mareas gravimétricas en la fisiología de los árboles. Estos mismos autores también presentan la hipótesis de un posible papel de la actividad del campo geomagnético.

La danza cósmica de las yemas

Edwards (1982) ya había descubierto los ritmos lunares en forma de órganos, análogos a los de los diámetros del tronco descritos anteriormente, gracias a una meticulosa serie de observaciones fotográficas de los brotes de los árboles. Con la ayuda de un factor de forma desarrollado en geometría proyectiva, cada brote, ya sea esférico, elíptico u ovoide, puede caracterizarse por un parámetro único, λ . Esta forma no solo cambia radicalmente en la ruptura del brote, también varía sutilmente alrededor del valor característico a lo largo de la existencia del brote, desde la formación hasta la ruptura del brote. El fenómeno consiste en una elongación rítmica y relajación de los brotes durante todo el invierno, como si hubiera respiración o un latido sutil, que ya insinuaba pequeños movimientos de apertura y cierre. Edwards también indica que esta fluctuación en la forma está sincronizada para algunas especies con la posición de la Luna con respecto al sol (ritmo sinódico), pero para otras con la alineación de la Luna con ciertos planetas, por ejemplo, Saturno para la haya (*Fagus sylvatica*) y Marte para roble. El análisis con el factor de forma, según Edwards, se aplicó a bayas translúcidas. Las medidas de las bayas cosechadas durante seis años, entre 1991 y 2001, revelaron fluctuaciones reversibles en una amplitud que va de $\lambda = 0.8$ a $\lambda = 1.2$. Estas variaciones muestran aquí una correlación significativa con la posición de la Luna en relación con las constelaciones fijas del zodiaco (ritmo sideral). Estos resultados concuerdan con los límites entre las constelaciones mencionadas desde la antigüedad y con sus agrupaciones mencionadas en relación con el trabajo de M. Thun.

Resumen del efecto del ciclo lunar en la planta

Esta descripción general de los ciclos lunares que se encuentran en el mundo vegetal, revela un fenómeno real que se suma a los principales ritmos exógenos de origen solar, cuya acción es bien conocida, tanto a nivel diario como estacional, e incluso el relacionado con el ciclo de actividad de las manchas solares con un período de alrededor de 11 años. La Luna modula este ritmo exógeno principal en una escala por hora, las mareas gravimétricas tienen lugar con dos reflujos y fluye por día, así como en el nivel de la semana y el mes lunar, después de lo sinódico, tropical, sideral o anómalo (con perigeo y apogeo). Parece que los ritmos lunares se hacen evidentes cuando se retira la influencia del Sol, ya sea de forma natural o con la ayuda de un dispositivo experimental. Ahora, está la cuestión de la naturaleza de las fuerzas involucradas. Con respecto a los ritmos sinódicos y anómalos, la fuerza gravitacional que causa las mareas es demasiado débil para explicar, incluso parte de los fenómenos lunares observados en las plantas; no es más de 80 mil millonésimas de la fuerza ejercida por la gravedad sobre un objeto en la superficie de la Tierra. Para el árbol más grande medido en Europa,⁷⁴ un abeto plateado (*A. alba*) de la Selva Negra con una altura de 68 metros, un diámetro de 380 cm, un volumen de tronco de 140 m³ y un peso de 100 toneladas, la fuerza de marea de la Luna representa un tirón y una liberación diaria de solo 8 g, es decir, el peso de dos terrones de azúcar. Las variaciones débiles pero distintas del campo geomagnético, con un período de medio día lunar (12 horas, 25 minutos) y causadas por las mareas gravimétricas, presentan un caso análogo. Baillaud comenta: "En asuntos lunares, el simpatizante [...] deseará que se le muestre el medio del vínculo entre la Luna y el ser vivo y que se diseccione la secuencia de fenómenos para él, o al menos, se presente una hipótesis."⁷⁵ Se vuelve más claro, como se ha mencionado varias veces, que este medio no es otro que el elemento esencial para cualquier proceso orgánico, el agua. Esta idea fue apoyada por las conclusiones de Piccardi confirmadas por Eichmeier & Büger, Tromp y el famoso

filósofo y teórico de la ciencia austríaco, Paul Feyerabend, quien demostró sus habilidades en matemáticas, física y astronomía. Ya en la década de 1920, se habían llevado a cabo experimentos sobre las variaciones de la tensión superficial del agua utilizando tubos capilares de vidrio extremadamente delgados. Pudieron demostrar que los ritmos lunares (ritmos de marea diarios) comenzaron a aparecer con cierta delgadez de los capilares. Mientras tanto, se estableció que estar en un sistema capilar, ya sea de vidrio u orgánico, como las células vegetales (con sus cavidades, pero también sus paredes finamente porosas), modifica significativamente las propiedades del agua, como la capacidad de permanecer líquido a temperaturas que alcanzan -15°C . Sería interesante analizar una vez más el efecto del factor tiempo en estas propiedades esenciales del agua utilizando la tecnología moderna. Una reciente doble publicación en física teórica realizada por Dorda, coautor con Von Klitzing, sobre el descubrimiento del efecto Hall cuántico que condujo al Premio Nobel de física de 1985, presenta un nuevo modelo astro geofísico del papel de la gravitación en los procesos vivos. Este modelo integra los aspectos estáticos y dinámicos de la gravitación en relación con el movimiento orbital de los cuerpos celestes, conduce a una "cuantización" de la gravitación y el tiempo, y demuestra un efecto reversible vinculado en parte al Sol y en parte a la Luna en el supramolecular estructura del agua. Por lo tanto, el modelo conduce a la determinación de agregación reversible o estados de coherencia (grupos) de agua, en una relación cuantitativa de considerable amplitud de variación, de 1 a 2.200, dependiendo de si la interacción es Sol-Tierra o Luna-Tierra, esta última interacción modulando de acuerdo con el día lunar pero también de acuerdo con la fase (aumento o disminución). Dorda considera que esta fluctuación rítmica del agua en un sistema de tres cuerpos celestes constituye el reloj buscado durante mucho tiempo en las estructuras orgánicas. Este modelo se pudo validar de forma independiente utilizando mediciones experimentales ya publicadas e interpretadas en la misma línea por los equipos de Cantiani y Zürche. Vallée desarrolló un método experimental nuevo y reproducible que demuestra que los campos electromagnéticos débiles y de baja frecuencia tienen una duración duradera, efecto sobre el agua. Este investigador destaca la importancia de las interfaces entre el agua y sus inclusiones sólidas o gaseosas, un aspecto esencial, ya que el agua interfacial desempeña un papel fundamental en el mundo orgánico. Rossignol enfatiza el papel de los fenómenos electromagnéticos vinculados a los ciclos lunares (polarización de la luz y presión atmosférica) y considera que puede haber un vínculo con la inducción de potenciales bioeléctricos a nivel celular. Sin embargo, todos estos descubrimientos e interpretaciones a nivel físico no explican por qué se observan tales diferencias entre ciertas especies de plantas vivas, anuales o leñosas. Paralelamente, a estas hipótesis que emanan de la investigación fundamental, se debe tomar en cuenta que la cronobiología lunar en el trabajo de campo con plantas abre perspectivas que, aunque inesperadas, ya fueron sugeridas por ciertas prácticas tradicionales:

- La producción y selección de plantas respetando la naturaleza fundamentalmente rítmica de cada especie, lo que permitió a Martin Schmidt desarrollar entre 1944 y 1964 una nueva variedad de centeno que todavía se cultiva en la actualidad. El método tiene en cuenta no solo los aspectos rítmicos, sino también la posición de los granos en el eje del oído de manera similar a las "Fitoprácticas" en las regiones tropicales.
- Reforestaciones de calidad superior con plantas robustas frente a enfermedades, derivadas de viveros que obtienen altos niveles de germinación, con "silvicultura de carbono y agroforestería" como perspectiva.

- Una tecnología de madera ecológica y biocompatible, gracias a la tala cronobiológicamente correcta, si la investigación a largo plazo confirma y completa los resultados ya obtenidos.

Una farmacología vegetal que aprovecha al máximo los ciclos de eficacia de los principios activos. Considerar el factor "tiempo" como un componente ambiental esencial permite desarrollar biotecnologías en el verdadero sentido del término, llevando a los organismos, en este caso las plantas y sus componentes específicos, a la plena expresión de su potencial.

La Luna llena afecta la fitoconstitución de las plantas de té verde y la recolección de la Luna llena proporciona una mayor cantidad de contenido de polifenoles en éstas.

3.2 COMPOSICIÓN DE BIOACTIVOS DEL TÉ VERDE

El té verde es una bebida popular hecha de las hojas de *Camellia sinensis* y *Camellia sinensis assamica* (familia Theaceae). Hace miles de años, se creía que beber té verde tenía una eficacia medicinal en la prevención y el tratamiento de muchas enfermedades, por lo que la longevidad a menudo se asociaba con el hábito de beber este té.

En los últimos años, numerosos estudios han revelado varias respuestas fisiológicas del té verde que pueden promover la salud y también pueden ser útiles para la prevención y el tratamiento de algunas enfermedades crónicas. Se ha informado que el galato de epigallocatequina de catequina del té verde (EGCG) es contra el cáncer, la antiobesidad, la efectividad antidiabética y la prevención de enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, la cafeína y las catequinas EGCG también se consideran sustancias activas del té verde, ya que se asocian con el gasto energético, la oxidación de grasas y la pérdida de peso en personas obesas. Se han informado otras catequinas y compuestos polifenólicos del té verde para diversas actividades farmacológicas que reflejan el creciente interés en los posibles beneficios para la salud.

El té verde se produce a partir de hojas jóvenes recién cosechadas por vaporización inmediata para evitar la fermentación enzimática. Los procesos de vaporización inactivan la enzima oxidasa polifenólica, que es capaz de oxidar las catequinas del té en derivados oligoméricos y poliméricos. Sin embargo, se sabe que las hojas jóvenes procesadas para la oxidación completamente enzimática (fermentación completa), en la que las catequinas se convierten en aflavinas y arubiginas, son una característica del té negro, mientras que la oxidación enzimática limitada (semi-fermentación) es conocida por producir té oolong.

Todos los té se derivan de las hojas de *Camellia sinensis*, pero los diferentes métodos de procesamiento producen diferentes tipos de té. Las hojas de té frescas son ricas en polifenoles conocidos como flavan-3-ols, que incluyen (-) - Epicatequina, (-) - Epigallocatequina galato (EGCG), (-) - Epigallocatequina (EGC) y (-) - Epicatequina-3- Galato (ECG). Los tres tipos principales de té son el verde, el oolong y el negro, con diferentes grados de fermentación durante el procesamiento.

Durante la fermentación para fabricar té negro, los polifenoles monoméricos se convierten en polifenoles poliméricos llamados teaflavinas y tearubiginas, que no se absorben del tracto gastrointestinal como las catequinas más pequeñas y el galato de catequina de epigalo. BT contiene cantidades más bajas de polifenoles monoméricos (3–10% de sólidos) y concentraciones más altas de polímeros (23–25% de sólidos) en comparación con GT. Además, se encuentra una mayor concentración de ácido gálico en BT. La composición química de las arubiginas está bajo investigación. Los tés oolong están parcialmente oxidados, lo que lleva a un té intermedio con una concentración más baja de polifenoles poliméricos y concentraciones más altas de EGCG que el té negro.

Tabla. Composición fitoquímica del té verde.

COMPOSICION QUIMICA DEL TE VERDE
Teanina
Teobromina
Ácido gálico
Cafeína
(+) - Galocatequina
(-) - Epigalocatequina
(+) - Catequina
(-) - Epicatequina
(-) - Galato de epigalocatequina
(+) - Galacatequina galato
(-) - Galato de epicatequina
(+) - Galato de catequina

Se ha estudiado la relación entre la calidad y los componentes químicos del té verde y se ha demostrado que los aminoácidos libres, la cafeína y los polifenoles son componentes cualitativamente importantes. En especial las catequinas, el componente principal de los polifenoles, son bien conocidas por sus propiedades antioxidantes y se han llevado a evaluación en muchas enfermedades asociadas con los radicales libres como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas.

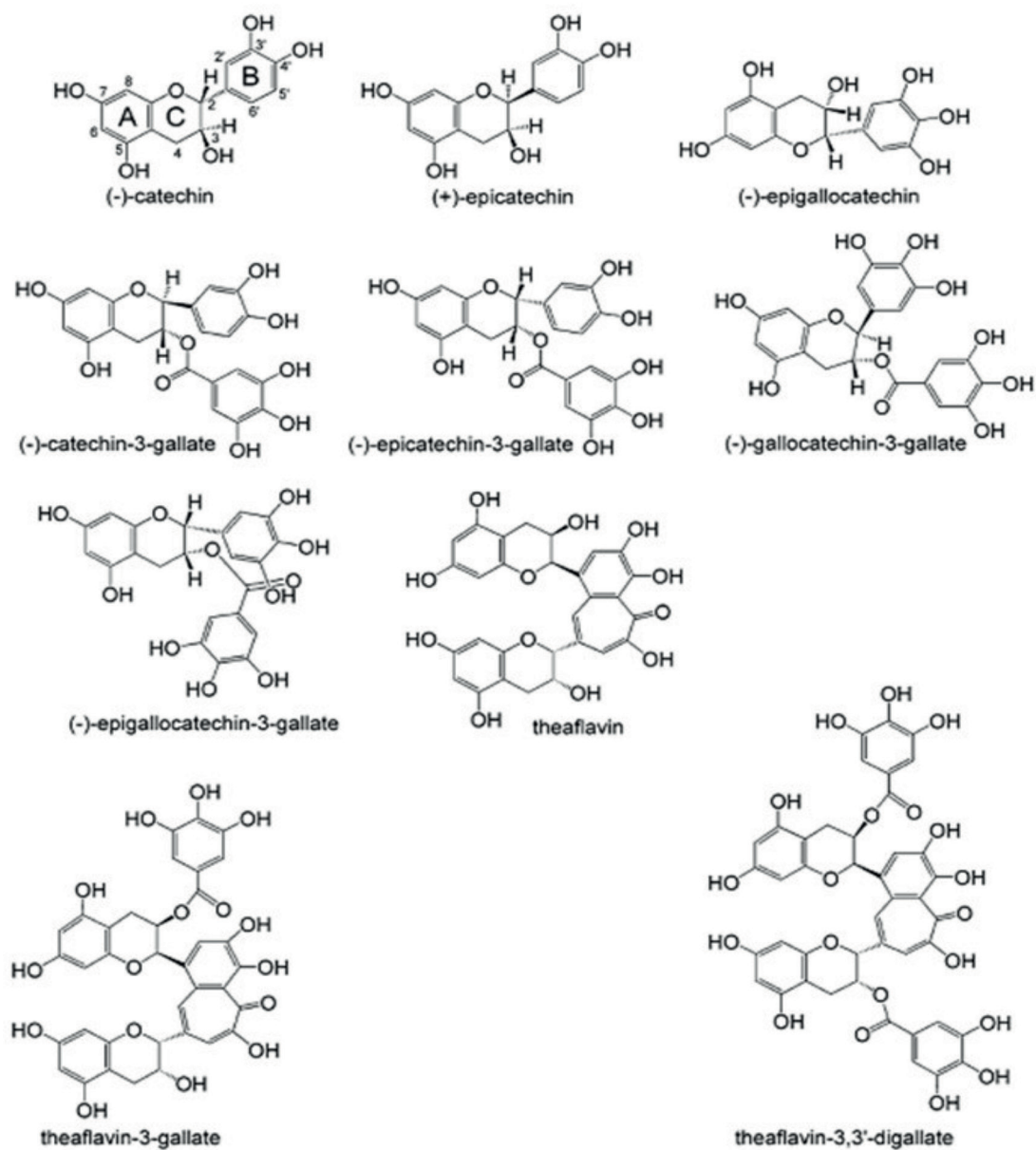


Figura. Estructura de algunos de los fitoquímicos bioactivos del té verde.

3.3 BENEFICIOS PARA LA SALUD DEL TÉ VERDE

EL TÉ VERDE QUEMA LOS DEPÓSITOS DE GRASA EN EL CUERPO. En ensayos controlados en humanos se ha demostrado que el té verde aumenta la quema de grasa e incrementa la tasa metabólica. En ensayos controlados en humanos se ha demostrado que el té verde aumenta la quema de grasa e incrementa la tasa metabólica.

El cancer es causado por el crecimiento descontrolado de las células y es una de las principales causas de muerte en el mundo. Es bien sabido que el daño oxidativo contribuye al desarrollo del cáncer y que los antioxidantes pueden tener un efecto protector. El té verde es una excelente fuente de antioxidantes potentes, por lo que tiene mucho sentido que pueda reducir el riesgo de cáncer.

CÁNCER DE MAMA. Un metaanálisis de estudios observacionales encontró que las mujeres que beben más té verde tenían un riesgo 22% menor de desarrollar cáncer de mama.

CÁNCER DE PROSTATA. Un estudio encontró que los hombres que beben té verde tenían un riesgo 48% menor de desarrollar cáncer de próstata.

CÁNCER COLORRECTAL. Un estudio de 69,710 mujeres chinas descubrió que los bebedores de té verde tenían un riesgo 57% menor de cáncer colorrectal.

Otros estudios observacionales mostraron que los bebedores de té verde son significativamente menos propensos a contraer varios tipos de cáncer. El té verde tiene poderosos antioxidantes que pueden proteger contra el cáncer.

EL TÉ VERDE MEJORA LA FUNCIÓN CEREBRAL A CORTO PLAZO. El té verde puede proteger el cerebro en la vejez. La enfermedad de Alzheimer es la enfermedad neurodegenerativa más común en humanos y una de las principales causas de demencia. El Parkinson es la segunda enfermedad neurodegenerativa más común e implica la muerte de neuronas productoras de dopamina en el cerebro. Múltiples estudios muestran que los compuestos de catequina en el té verde pueden tener varios efectos protectores sobre las neuronas en tubos de ensayo y modelos animales, reduciendo potencialmente el riesgo de Alzheimer y Parkinson. Los compuestos bioactivos en el té verde pueden tener varios efectos protectores sobre las neuronas y pueden reducir el riesgo de Alzheimer y Parkinson, los dos trastornos neurodegenerativos más comunes.

LAS CATEQUINAS EN EL TÉ VERDE TIENEN EFECTO ANTIMICROBIANO. Algunos estudios muestran que pueden matar bacterias e inhibir virus como la influenza, lo que puede reducir el riesgo de infecciones. *Streptococcus mutans* es la principal bacteria dañina en la boca, causa la formación de placa y es uno de los principales contribuyentes a las caries dental. Los estudios demuestran que las catequinas en el té verde pueden inhibir el crecimiento de estreptococos mutantes. El consumo de té verde se asocia con una mejor salud dental y un menor riesgo de caries. Las catequinas en el té verde pueden inhibir el crecimiento de bacterias y algunos virus. Esto puede reducir el riesgo de infecciones y conducir a mejoras en la salud dental, un menor riesgo de caries y una disminución del mal aliento.

DIABETES TIPO 2. Es una enfermedad que ha alcanzado proporciones epidémicas en las últimas décadas y ahora afecta a 300 millones de personas en todo el mundo. Esta enfermedad implica tener niveles elevados de azúcar en la sangre en el contexto de resistencia a la insulina o incapacidad para producir insulina. Los estudios demuestran que el té verde puede mejorar la sensibilidad a la insulina y reducir los niveles de azúcar en la sangre. Un estudio en individuos japoneses, encontró que aquellos que bebieron más té verde tenían un 42% menos de riesgo de desarrollar diabetes tipo 2. Según una revisión de siete estudios, con un total de 286,701 personas, observó que los bebedores de té verde tenían un 18% menos de riesgo de convertirse en diabéticos.

Algunos ensayos controlados mostraron que el té verde puede causar reducciones leves en los niveles de azúcar en la sangre y puede reducir el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 a largo plazo.

ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES. Las enfermedades cardíacas y los derrames cerebrales son las principales causas de muerte en el mundo. Estudios demuestran que el té verde puede mejorar algunos de los principales factores de riesgo para estas enfermedades, incluyendo colesterol total, colesterol LDL y triglicéridos.

El té verde también aumenta drásticamente la capacidad antioxidante de la sangre que protege las partículas de colesterol LDL de la oxidación, que es una parte del camino hacia la enfermedad cardíaca. No es sorprendente ver que los bebedores de té verde tienen hasta un 31% menos de riesgo de padecer enfermedad cardiovascular. Se ha demostrado que el té verde reduce el colesterol total y LDL, así como protege las partículas de LDL de la oxidación. Los estudios de observación muestran que los bebedores de té verde tienen un menor riesgo de enfermedad cardiovascular.

DISMINUCIÓN DE PESO. El té verde puede aumentar la tasa metabólica a corto plazo, tiene sentido que pueda ayudar a perder peso. Varios estudios muestran que el té verde conduce a la disminución de la grasa corporal, especialmente en el área abdominal. Uno de estos estudios fue un ensayo controlado aleatorio en 240 hombres y mujeres que se prolongó durante 12 semanas. En este estudio, el grupo de té verde tuvo una disminución significativa en el porcentaje de grasa corporal (circunferencia de la cintura y grasa abdominal). Sin embargo, algunos estudios no muestran un aumento estadísticamente significativo en la pérdida de peso con el té verde, por lo que debe tomarse con un grano de sal.

AUMENTA LA VIDA ÚTIL. Los bebedores de té verde tienen un menor riesgo de enfermedad cardiovascular y cáncer, tiene sentido que pueda ayudar a vivir más tiempo. En un estudio de 40,530 adultos japoneses, aquellos que bebieron la mayor cantidad de té verde (5 o más tazas por día) fueron significativamente menos propensos a morir durante un período de 11 años.

Muerte por todas las causas: 23% menor en mujeres y 12% menor en hombres.
Muerte por enfermedad cardíaca: 31% menor en mujeres y 22% menor en hombres.
Muerte por accidente cerebrovascular: 42% menor en mujeres y 35% menor en hombres.

Otro estudio en 14.001 personas japonesas, mayores de 65 a 84 años, encontró que aquellos que bebieron la mayor cantidad de té verde tenían un 76% menos de probabilidades de morir durante el período de estudio de 6 años.

Se cree que las dietas ricas en energía y pobres en nutrientes, con altas cantidades de grasas y carbohidratos refinados, junto con un estilo de vida sedentario, son los principales impulsores de la epidemia mundial de obesidad. Se demostró en numerosos ensayos clínicos que el consumo de té con polifenoles y cafeína afecta el peso corporal y el metabolismo de las grasas en humanos y en roedores alimentados con dietas altas en grasas y altas en sacarosa (HF/HS) 4.

OBESIDAD

La obesidad es una de las enfermedades crónicas más generalizadas que necesitan nuevas estrategias para el tratamiento y la prevención médica, ya que es una de las principales causas de mortalidad, morbilidad, discapacidad, utilización y costos de atención médica. La obesidad se define como exceso de tejido adiposo y existen varios métodos para determinar el exceso de grasa, el más común es el índice de masa corporal (IMC) (ver más abajo). Una célula grasa es una célula endocrina y el tejido adiposo es un órgano endocrino, como tal, el tejido adiposo segrega una serie de productos, incluidos metabolitos, citocinas, lípidos y factores de coagulación, entre otros. Significativamente, el exceso de adiposidad u obesidad provoca un aumento de los niveles de ácidos grasos circulantes y de la inflamación. Esto puede conducir a la resistencia a la insulina, que a su vez, puede conducir a la diabetes tipo 2.

La biología de la ingesta de alimentos es muy compleja e involucra olfato, sabor, textura, temperatura, respuestas cognitivas y emocionales e información metabólica/autónoma, que indican al cerebro que inicie o deje de comer. Estudios científicos recientes han identificado varias sustancias que actúan en el cerebro para indicar la necesidad de un aumento en la ingesta de alimentos. Asimismo, se han identificado varias sustancias que le indican al cerebro que disminuya la ingesta de alimentos. El alto índice de masa corporal se clasifica, actualmente, como uno de los principales problemas de salud mundial, como es el caso la desnutrición infantil y materna, la presión arterial alta, el colesterol alto, las relaciones sexuales inseguras, la deficiencia de hierro, el tabaquismo, el alcohol y el agua no segura.

Para las personas con obesidad, la pérdida de peso basada únicamente en cambios en el estilo de vida puede ser muy difícil de lograr y de mantener. Sin embargo, las estrategias de apoyo, como los medicamentos para la obesidad, pueden ser herramientas importantes para tratar eficazmente la obesidad en algunas personas.

Dada la naturaleza compleja de la enfermedad, es probable que ningún fármaco solucione la epidemia. Se necesitan esfuerzos adicionales de investigación y desarrollo para los tratamientos de la obesidad, ya que hay más de 100 medicamentos disponibles para enfermedades relacionadas, como la hipertensión, pero solo seis medicamentos aprobados para el tratamiento a largo plazo de la obesidad.

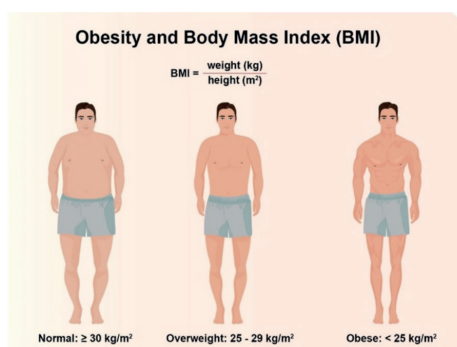


Figura. Índice de obesidad y masa corporal de personas normales, con sobrepeso y obesas.

La obesidad es una afección médica en la que el exceso de grasa corporal se ha acumulado en la medida en que puede tener un efecto adverso sobre la salud. Se define por el índice de masa corporal (IMC) y se evalúa en términos de distribución de grasa a través de la relación cintura-cadera y factores de riesgo cardiovascular total. El IMC está estrechamente relacionado tanto con el porcentaje de grasa corporal como con la grasa corporal total.



Figura. Obesidad y complicaciones médicas asociadas.

Básicamente, solo hay 2 formas de tratar la obesidad:

Reduzca la ingesta de energía o aumente el gasto energético (EE). Debido a que la termogénesis y la oxidación de grasas están en gran medida bajo el control del sistema nervioso simpático (SNS), los enfoques que imitan o interfieren con el SNS y su neurotransmisor norepinefrina, ofrecen un enfoque racional para el manejo de la obesidad. En este contexto, ha habido un renovado interés en los posibles efectos termogénicos de muchos compuestos extraídos de las plantas, por ejemplo, los polifenoles del té, efedrina de la efedra, cafeína del café y capsaicina de las especias picantes. Se ha demostrado que los polifenoles del té verde, como el Epi Galo Catechin Galate, estimulan la oxidación de grasas y la termogénesis en humanos, también pueden potenciar la termogénesis inducida por estímulos simpáticos, ya sea en respuesta al frío, ejercicio moderado o medicamentos simpaticomiméticos como EGCG. De hecho, los ensayos clínicos a largo plazo han demostrado mayores pérdidas de peso corporal y grasa corporal en pacientes obesos después de consumir los polifenoles del té verde.

EFFECTOS DEL TÉ VERDE EN LA COMPOSICIÓN CORPORAL

La mayoría de los investigadores informaron un efecto benéfico del té verde en la composición corporal, sin embargo, cada hallazgo no tiene un grado similar de efecto beneficioso, esto puede deberse a la diferencia en la dosis de té verde. Un estudio comparativo reveló que la baja dosis de extractos de té verde que contiene catequinas – 118.5 mg, de los cuales, 32 mg EGCG + 75 mg de cafeína; redujo ligeramente la composición corporal, mientras que un aumento de la dosis de té verde que contiene 483.0 mg de catequinas, de los cuales, 300 mg EGCG + 75.5 mg de cafeína; redujo significativamente el peso en 1.1 kg, el IMC en 1.48%, la circunferencia de la cintura en 1.68%, la proporción de grasa corporal en 6.53% y el nivel de colesterol en sangre en 13 mg/ mL, el nivel de glucosa en 3.5 mg/mL y la insulina nivel de 1.3 µg/mL, en hombres sanos después de 12 semanas de consumo. Los sujetos masculinos y femeninos con sobrepeso moderado que ingirieron cápsulas de té verde (AR25), las cuales contenían catequinas 375 mg (270 mg EGCG), durante tres meses, informaron una disminución del peso corporal en un 4,6% y un perímetro de cintura en un 4,48%. Sin embargo, la ingestión de 12 semanas de cápsulas de té verde, que contenían catequinas 491 mg (302 mg EGCG) y 27 mg cafeína, redujo ligeramente el peso corporal (0,12 kg) y la grasa corporal (0,05 kg) en mujeres obesas. Otro estudio informó una reducción significativa del peso corporal (2.7 kg), IMC (2.97 kg/m, 2), grasa corporal (3.82%) y circunferencia de la cintura (3.86 cm) en sujetos obesos, hombres y mujeres que ingirieron cápsulas de té verde que contenían pequeñas cantidades de catequinas - 140.8 mg (100 mg EGCG) + 27 mg cafeína, durante 12 semanas.

Los sujetos obesos, hombres y mujeres que ingirieron diariamente una bebida de té verde que contenía catequinas 444 mg o 665 mg, habían reducido significativamente el peso corporal en 1,4 kg, el IMC en 0,4 kg/m², la circunferencia de la cintura en 0,7 cm, el área de grasa total en 15 cm² y disminuyó el nivel de colesterol total en la sangre en 0.11–0.23 mmol/L, durante 12 semanas. En un estudio similar, un grupo de hombres sanos disminuyó el peso corporal en 1.7 kg, el IMC en 0.6 kg/m², la masa de grasa corporal en 2.3 kg, la circunferencia de la cintura en 2.5 cm, la circunferencia de la cadera en 2.3 cm, el área de grasa visceral en 10.3 cm² y área total de grasa en 16.0 cm², que estaban bebiendo 340 ml/día de bebida de té verde que contiene catequinas - 582.8 mg (29.5 mg EGCG) y 72.3 mg de cafeína, en comparación con un grupo de bebidas de control que contiene catequinas - 96.3 mg (4.9 mg de EGCG) y 75 mg de cafeína, durante 12 semanas. Además, el grupo de catequinas altas también disminuyó el nivel de colesterol LDL en mayor medida en comparación con el grupo de bebida de control. Los autores de este estudio aplicaron el mismo enfoque en sujetos con sobrepeso moderado, a quienes se les ofreció consumir 250 ml de bebida de té verde auto preparada. Bebida ingerida del grupo de control que contiene 30 mg de catequinas y 10 mg de cafeína; bebida del grupo GT1 que contiene 458 mg de catequinas y 104 mg de cafeína; bebida del grupo GT2 que contiene 468 mg de catequinas y 126 mg de cafeína; bebida del grupo GT3 que contiene 886 mg de catequinas y 198 mg de cafeína, al día durante 90 días. Encontraron que todos los grupos disminuyeron la composición corporal, excepto el grupo de control. Los grupos GT1 y GT2 disminuyeron el peso corporal en 1.1%, la circunferencia de cintura en 1.1–1.3%, el área de grasa intraabdominal en 5–4.2% y la grasa corporal en 2.7–3.1%. Sin embargo, el grupo GT3 redujo el peso corporal en un 1,7%, la circunferencia de la cintura en un 2%, el área de grasa intraabdominal en un 7,1% y la grasa corporal en un 2,4%.

Un estudio reciente mostró una disminución significativa del peso corporal en 1 kg, un IMC de 0,4 kg/m², un área de grasa visceral de 9,4 cm² y una grasa corporal de un 0,5%, en sujetos sanos con sobrepeso y obesidad que consumieron bebidas de té verde enriquecidas con catequinas que contienen 609,3 mg y 68,7 mg de cafeína, durante 12 semanas. Del mismo modo, el consumo continuo de bebidas de catequinas (catequinas –588 mg) durante un año, redujo significativamente el peso corporal, el IMC y las áreas de grasa visceral en comparación con el grupo de control que consumió catequinas –126 mg. Un estudio también informó que el consumo de 1.5 l de bebida de té verde preparada por día durante 25 días, redujo significativamente el peso corporal en 1.45 kg, el IMC en 0.63 kg/m² y la circunferencia de la cintura en 0.66 cm, en las mujeres obesas. También se asignaron sujetos con sobrepeso moderado para consumir bebidas de té verde (4 tazas/día) o suplementos de extracto (2 cápsulas/día) durante 8 semanas. Tanto la bebida de té verde que contiene catequinas - 928 mg (440 mg EGCG) + 8.96 mg de cafeína, como la cápsula de extracto de té verde que contiene catequinas - 870 mg (460 mg EGCG) + 3.6 mg de cafeína, redujeron significativamente el peso corporal en 2.5 y 1.9 kg , IMC en 0.9 y 0.7 kg/m², triglicéridos en 14.8 y 23.0 mg/dL, respectivamente. Esto sugiere el papel de los flavonoides del té verde junto con las catequinas en la mejora de las características del síndrome metabólico en sujetos obesos.

La ingesta diaria de bebida de té verde que contenía 540 mg de catequinas, redujo significativamente el peso corporal, la masa de grasa corporal, la cintura, la cadera, el área de grasa total abdominal, el área de grasa visceral abdominal y el área de grasa subcutánea abdominal en mujeres y hombres obesos, durante 12 semanas. En otro estudio, la bebida que contenía catequinas del té - 169.9 mg con un resto galoil, se suplementó (2 botellas/día) a las mujeres sanas durante 12 semanas y redujo significativamente el área de grasa visceral. De manera similar, una dosis alta (500 ml) de bebida de té verde que contiene 540 mg de catequinas, ingerida durante 12 semanas, disminuyó significativamente el área de grasa visceral, el peso corporal y la circunferencia de la cintura. En un estudio en hombres sanos asignados a consumir bebidas descafeinadas de GTE que contenían catequinas - 548 mg, durante 12 semanas, se encontró que redujeron el peso corporal, la circunferencia de la cintura y la grasa corporal, incluida el área de grasa visceral y el nivel de colesterol en la sangre. En otro estudio, el té verde suplementado a las personas obesas durante 12 semanas redujo el peso corporal en 6,8 kg, la grasa corporal total en un 7,6% y disminuyó el colesterol de lipoproteínas de baja densidad.

Un té oolong que también contenía 153.3 mg de EGCG, se complementó con los sujetos obesos y con sobrepeso inducidos por la dieta durante seis semanas. Se mostró una reducción significativa del peso corporal en 2,9 kg, el tamaño de la cintura en 2,58 cm y una disminución del nivel de colesterol y triglicéridos en un 20% en los sujetos con dislipidemia. Además, una encuesta informó que los 13,916 trabajadores japoneses que consumían té verde a diario tenían niveles significativamente más bajos de colesterol sérico total.

En general, se concluyó que el consumo de catequinas del té verde conduce a mejoras en la composición corporal, reducción de la grasa abdominal y trastornos metabólicos mejorados.

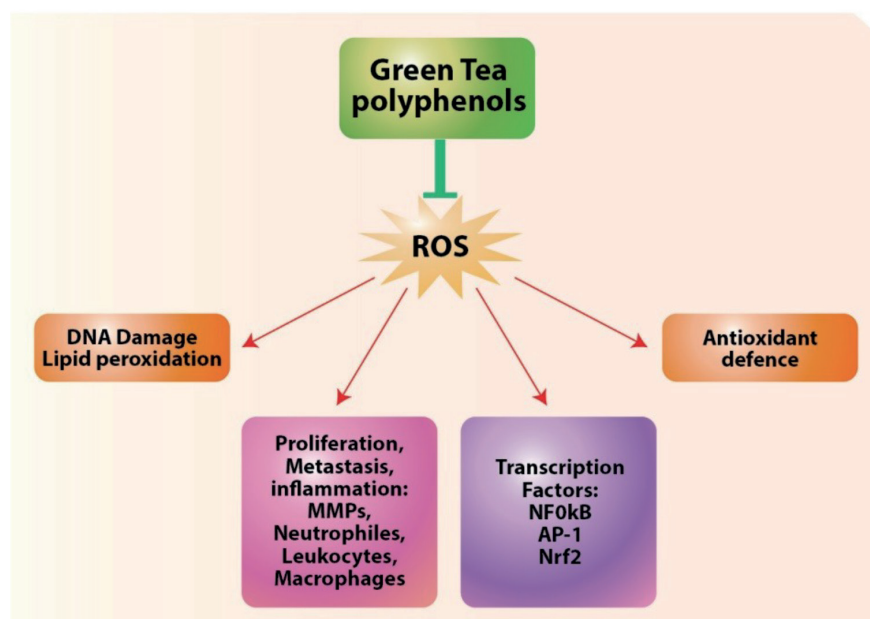
4. MECANISMO DE ACCIÓN

4.1 ANTIPOBESIDAD

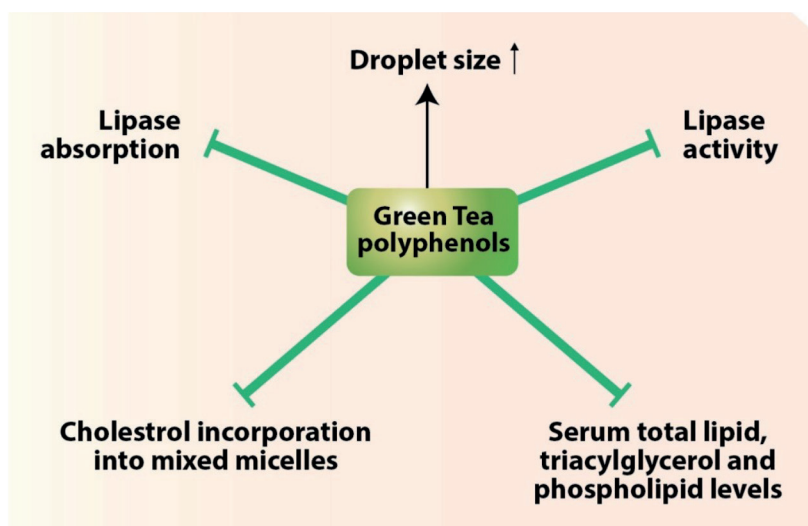
Hasta la fecha, la metabolómica ha establecido enormes posibilidades para la aparición de la obesidad. Los cambios en la red metabólica están especialmente preparados para aumentar la obesidad y las enfermedades relacionadas con ésta. El concepto de metabolómica de la obesidad es casi similar al antiguo concepto del modelo de equilibrio energético. En otras personas obesas, el nivel de gasto calórico total es menor que la ingesta calórica, lo que resulta en la acumulación de grasa en el tejido adiposo. Se ha informado que comer en exceso no solo acumula energía calórica, también mejora la capacidad del estómago, lo que activa los receptores de estiramiento gástrico y los mecanorreceptores que regulan las señales para comer una y otra vez. Adversamente, la tasa lenta de vaciamiento gástrico, la liberación duodenal tardía de colecistoquinina y las señales de saciedad retrasadas, mejoran con la alimentación. Por lo tanto, comer en exceso produce un aumento considerable de peso y la aparición de obesidad. Los polifenoles del té verde elevan la colecistocina en la hormona que disminuye la ingesta de alimentos y suprime el apetito. La bebida de té verde también ha alterado el equilibrio energético a través de su interferencia con el metabolismo de los lípidos y los carbohidratos en virtud de su efecto antioxidante y fisicoquímico, así como de su capacidad para activar las enzimas metabólicas.

La alta concentración de lactato en el plasma, puede ser un indicador de la producción de glucosa hepática y la síntesis de lípidos hepáticos, lo que también puede provocar la aparición de obesidad. Las moléculas complejas como el almidón y el glucógeno, se descomponen hidrolíticamente por la enzima α -glucosidasa en moléculas de glucosa. Las moléculas de glucosa, utilizadas como energía metabólica o en exceso, se convierten en lactato. Algunos estudios han informado que las teaflavinas y las catequinas retardan la digestión del almidón mediante la inhibición de las actividades de la α -glucosidasa, la amilasa salival y la amilasa pancreática. Por lo tanto, el papel del té verde como bloqueador de almidón minimiza la concentración de lactato y reduce la utilización de carbohidratos.

A)



B)



(A) Mecanismos generales contra la obesidad de los polifenoles del té verde. Los mecanismos detallados contra la obesidad de los polifenoles del té verde incluyen la inhibición de la digestión, absorción e ingesta de lípidos, reduciendo así la ingesta de calorías.

(B) Atenuando la lipogénesis, mejorando la lipólisis y disminuyendo la diferenciación y proliferación de preadipocitos

Las composiciones de ácidos grasos libres, especialmente los ácidos grasos saturados, se han asociado positivamente con el desarrollo de obesidad y enfermedades relacionadas con enfermedades cardiovasculares, como diabetes e hipertensión. Metabólicamente, los ácidos grasos libres se catabolizan en las mitocondrias para producir energía y exceso de lípidos almacenados en el tejido adiposo o en otros lugares como triglicéridos. Los estudios han demostrado que los extractos de té verde inhiben la sintasa de ácidos grasos, aumentan el metabolismo de los lípidos a través de la intervención en el proceso de adipogénesis y lipólisis.

Las catequinas del té verde inhiben la lipasa gástrica y la lipasa pancreática, que está implicada en la digestión de los lípidos. Apparently, esta inhibición se debe a que las catequinas reducen la lipólisis de los triglicéridos de cadena larga y la interferencia con la emulsificación, la digestión y la solubilización micelar de los lípidos que apoyan la absorción intestinal de los lípidos de la dieta. Esta noción sugiere que la reducción de la emulsión y la digestibilidad de los lípidos puede ser responsable de reducir la absorción intestinal de los lípidos de la dieta, incluidos los triglicéridos, el colesterol y otros compuestos lipofílicos. El té verde también reduce el colesterol en plasma al aumentar los ácidos biliares fecales y la excreción de colesterol.

Los factores neurológicos, particularmente, el sistema nervioso simpático (SNS) regulan el equilibrio energético en condiciones basales y estimuladas (ejercicio, ingesta de alimentos y estrés) a través de la interferencia con la tasa metabólica y la termogénesis facultativa. Esta baja actividad de SNS está asociada con el aumento de peso y el inicio de la obesidad. Un estudio demostró que una población obesa con baja actividad de SNS ganó más peso. El papel real de SNS es estimular la médula suprarrenal que secreta catecolaminas, epinefrina y norepinefrina que circula en el cuerpo a través de la sangre. La noradrenalina activa (NE) se une al receptor de la superficie de las células grasas y estimula la actividad de la lipasa sensible a las hormonas (HSL) para que la grasa pueda usarse como combustible. El Catecol O-metil-transferasa (COMT) es una enzima codificada por el gen COMT que degrada el NE y evita la descomposición de la grasa. Algunos estudios han

revelado que las catequinas del té verde, especialmente EGCG, inhiben la COMT. Esta noción indicaba que las propiedades termogénicas del té verde podrían residir principalmente en una interacción entre su alto contenido de catequinas y la presencia de cafeína que libera noradrenalina de forma simpática e inhibe las fosfodiesterasas transcelulares. Por lo tanto, dicha interacción sinérgica entre las catequinas y la cafeína, puede provocar un aumento de la actividad del SNC que prolonga la estimulación simpática de la termogénesis, el gasto de energía y la oxidación de las grasas, lo que podría ser útil en la intervención para el manejo de la obesidad.

Se han diseñado varios estudios piloto para evaluar los efectos beneficiosos de los extractos de té verde y las catequinas de éste especialmente (-) - galato de epigallocatequina (EGCG) en voluntarios con sobrepeso u obesos sanos. La concentración de EGCG en las bebidas o cápsulas de té verde, utilizadas en los diversos estudios, varió de 100 a 600 mg/día, mientras que la duración de los estudios varió de un día a un año. Los artículos de prueba se administraron en forma de cápsulas que contenían extracto de té verde, hasta seis cápsulas/día o bebidas de hasta 1500 ml/día. Sin embargo, no se informó ningún efecto adverso en estos estudios.

5. TERMOGÉNESIS

La termogénesis adaptativa, estimulada por frío en el tejido adiposo marrón (MTD) para aumentar el gasto energético, se sugiere como un posible objetivo terapéutico para el tratamiento de la obesidad. Recientemente, los científicos han demostrado una alta prevalencia de MTD en humanos adultos, lo que está inversamente relacionado con el índice de masa corporal (IMC) y el porcentaje de grasa corporal (% BF).

Los polifenoles del té verde estimulan la termogénesis del tejido adiposo marrón, mientras que la catequina es capaz de inhibir la catecol-O-metil-transferasa, la enzima que degrada la noradrenalina. Por lo tanto, los polifenoles del té verde son un auxiliar en el tratamiento de la obesidad al ser efectivos para estimular la termogénesis aliviando la inhibición en diferentes puntos de control a lo largo del eje noradrenalina-AMPC.

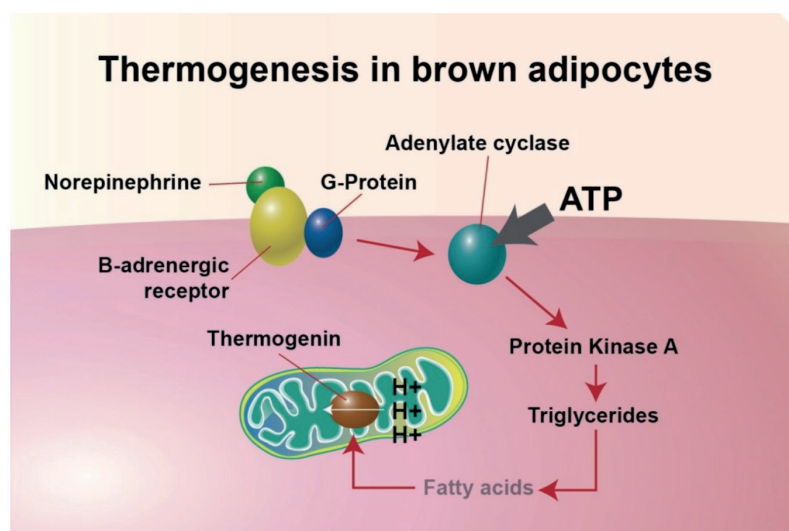


Figura. Mecanismo de termogénesis que quema los depósitos de grasa del cuerpo.

Los polifenoles TOG® tienen la capacidad de aumentar el calor a través de la estimulación metabólica. Los tejidos adiposos marrones (BAT) queman grasa activamente para generar calor, desperdiciando energía de manera efectiva. Es un método extremadamente efectivo para perder grasa abdominal.

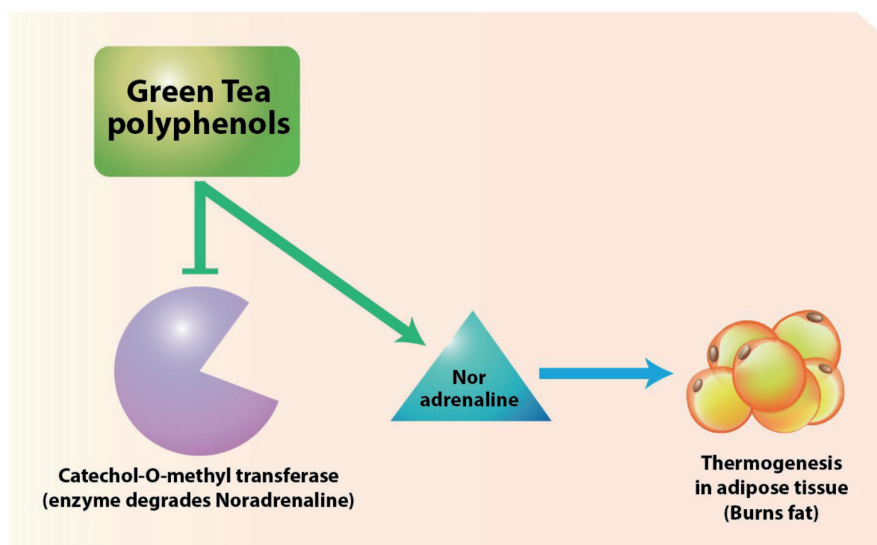


Figura. Los polifenoles del té verde inhiben la enzima involucrada en la descomposición de la noradrenalina (NA). NA juega un papel importante en la termogénesis en el tejido adiposo.

5.1 BALANCE DE AZÚCAR

La resistencia a la insulina, la diabetes y la obesidad se han estudiado ampliamente, pero la prevención y el tratamiento de la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 (DM tipo 2) no se han resuelto. La dieta juega un papel importante en el desarrollo de estas afecciones, sin embargo, las dietas ampliamente consumidas en los países desarrollados pueden aumentar la incidencia de diabetes. La combinación de un mayor contenido de azúcares y grasas refinadas y una menor ingesta de hierbas, especias y otros productos vegetales tradicionales, pueden contribuir a una mayor incidencia de diabetes y obesidad.

El tratamiento farmacológico para la diabetes en los países en desarrollo no es factible para la mayoría de las personas y es necesario evaluar terapias alternativas y económicas.

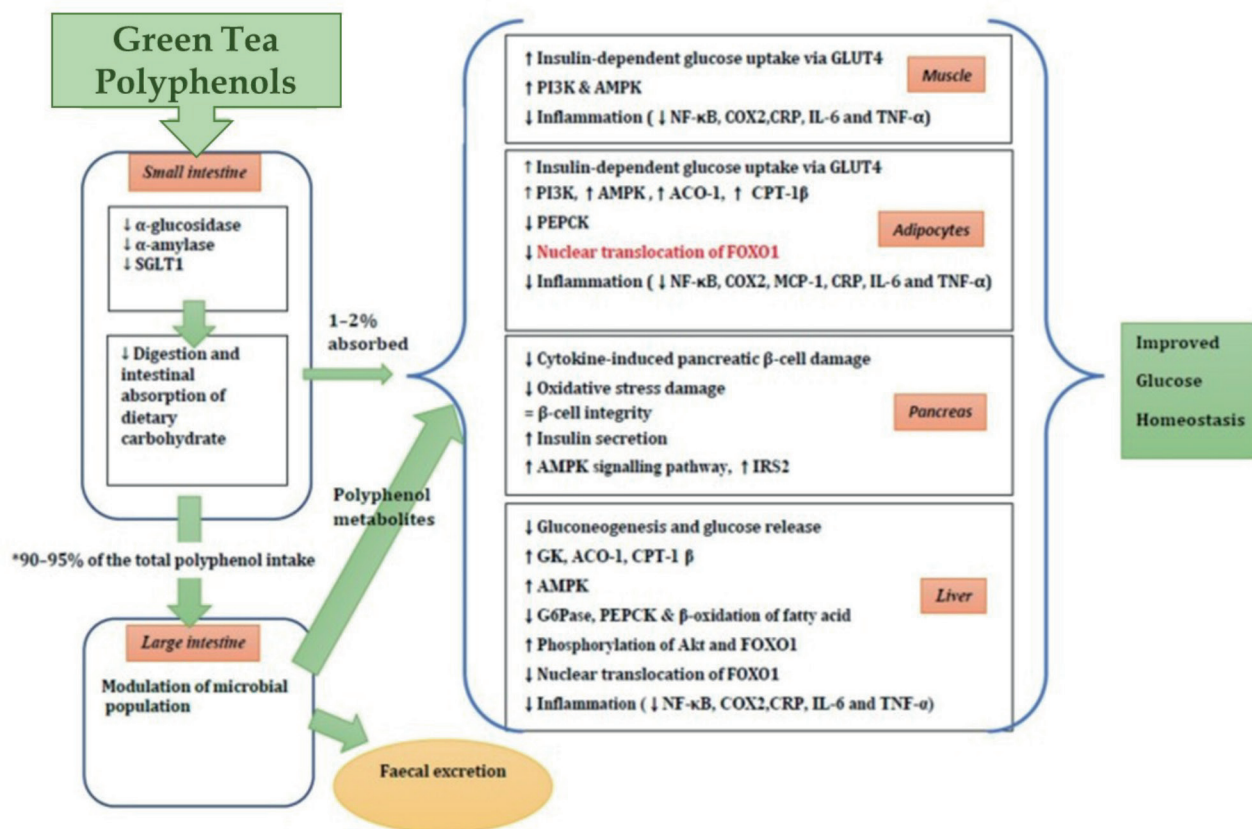


Figura. Resumen de los posibles mecanismos que vinculan los metabolitos de polifenoles de la dieta con una homeostasis de glucosa mejorada.

Las plantas medicinales se han utilizado para el tratamiento de la diabetes y los trastornos relacionados durante miles de años, éstas juegan un papel en la prevención y el control de la DM tipo 2 para las personas con niveles elevados de glucosa en sangre e intolerancia a la glucosa, ya que las semillas de plantas, frutas, hojas y corteza contienen compuestos polifenólicos. Estos compuestos son los productos finales de la ruta biosintética de flavonoides de las plantas y son utilizados por las plantas para la protección contra los depredadores. Los polifenoles vegetales también están ampliamente presentes en la dieta y se cree que son importantes para la salud humana.

El té *Camellia sinensis* es una bebida popular en todo el mundo. Estudios recientes indican que éste tiene una amplia gama de efectos preventivos sobre la diabetes y la obesidad para la salud animal y humana. Varios estudios han sugerido que los polifenoles del té verde imitan la acción de la insulina.

- Los ensayos de adipocitos epididimarios en ratas indican que el extracto de té verde tiene una actividad potenciadora de la insulina, en la utilización de glucosa, y su activo predominante es el galato de epigallocatequina (EGCG), el principal polifenol de éste.
- El polvo de té verde y sus polifenoles disminuyen los niveles plasmáticos en ayunas de glucosa, insulina, triglicéridos y ácido graso libre, y aumenta la absorción de glucosa estimulada por insulina en ratas alimentadas durante 12 semanas.

- EGCG inhibe la secreción de insulina estimulada por BCH y la glutamato deshidrogenasa.
- EGCG induce la fosforilación de la familia O del factor de transcripción de Forkhead por un mecanismo similar pero no idéntico a la insulina y al factor de crecimiento de insulina I (IGF-I).
- Tanto la insulina como el extracto de polifenol del té verde aumentan los niveles de ARNm que codifican la proteína desestabilizadora de ARNm antiinflamatoria tristetraprolina (TTP/ZFP36/TIS11) (21-23).

Sin embargo, un estudio reciente sugiere que el consumo de té verde no mejoró la glucosa en sangre, los perfiles de lípidos, la resistencia a la insulina o los niveles de adiponectina en suero en pacientes con diabetes tipo 2. Claramente se necesitan más estudios para demostrar la actividad similar a la insulina del té y los mecanismos moleculares subyacentes. Se utilizó una dieta rica en fructosa como modelo para el estudio de la resistencia a la insulina y el estrés oxidativo en ratas, lo que demostró que el té verde (0,5 g de polvo/100 ml), durante 12 semanas, disminuyó los niveles plasmáticos en ayunas de glucosa, insulina, triglicéridos y ácidos grasos libres y aumentó la absorción de glucosa estimulada por insulina y la proteína transportadora de glucosa 4 (GLUT4), en ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa por 12 semanas.

Estudios recientes exploraron los efectos del extracto de té verde en la expresión de múltiples genes que codifican para la familia GLUT y los componentes en la vía de transducción de señales de insulina. Se usó la reacción en cadena cuantitativa en tiempo real de la polimerasa (PCR) para investigar los perfiles y los efectos del extracto de polifenol del té verde sobre los niveles de expresión de la familia Glut y los genes de la familia de la vía de transducción de señales de insulina. Los resultados sugieren que el consumo de té verde regula la expresión génica en la absorción de glucosa y las vías de señalización de insulina en ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa. Así mismo, se percibe que beber cantidades adecuadas de té verde puede desempeñar un papel en la prevención de la diabetes y la obesidad.

El polifenol del té verde inhibió la actividad de la α -amilasa y la α -glucosidasa, y redujo el nivel de glucosa en plasma. En conclusión, el té verde reduce significativamente el efecto sobre la respuesta de insulina y glucosa en sangre posprandial en humanos.

La secreción de insulina por el páncreas, implica numerosas reacciones que son objetivos potenciales para la acción de los polifenoles. Con altas concentraciones de glucosa en la sangre, las células β pancreáticas responden a la mayor demanda de insulina por diversos mecanismos que incluyen una mayor secreción de insulina, hipertrofia y proliferación de células β existentes y la formación de nuevas a partir de células progenitoras. La liberación de insulina de las células β es una cascada que comienza a partir de la absorción de glucosa por los transportadores GLUT2. La glucosa entra en un ciclo de reacciones enzimáticas que implican la fosforilación, lo que conduce a un mayor contenido de ATP en las células y provoca la inactivación de los canales de potasio sensibles al ATP en la membrana celular. La membrana se despolariza y conduce a la apertura del canal de calcio y al flujo subsiguiente de Ca^{2+} hacia la célula. El aumento en la concentración de Ca^{2+} , promueve la liberación de insulina por exocitosis de los gránulos de almacenamiento existentes.

La hiperglucemia e hiperlipidemia prolongadas típicamente dentro del desarrollo del síndrome metabólico, conducen a la disfunción de las células β pancreáticas, que se refleja en la resistencia a la insulina autocrina, la secreción de insulina alterada, la expresión disminuida de los genes involucrados en la producción de insulina y, finalmente, la disminución de la masa de células β causada por apoptosis. Por lo tanto, la deficiencia de insulina relacionada con el síndrome metabólico en el páncreas se debe tanto al daño celular como a la eficiencia deteriorada en la síntesis de insulina.

Las fuentes más estudiadas de polifenoles en la dieta, en términos de función pancreática y secreción de insulina, son la soja y especialmente sus isoflavonoides, genisteína y daidzeína. Los enfoques más comúnmente aplicados para determinar el efecto de los polifenoles en el metabolismo de la insulina pancreática, son la medición de la secreción de insulina o el contenido en líneas celulares pancreáticas cultivadas (con o sin estimulación de glucosa) y el examen del páncreas perfundido, después del ensayo de alimentación/inyección intraperitoneal o aplicando directamente el compuesto de interés en los islotes aislados. Actualmente existen datos disponibles sobre el examen realizado para definir los mecanismos moleculares detrás de los efectos de los polifenoles.

5.1.1 REDUCCIÓN DEL AZÚCAR EN SANGRE CIRCULANTE

El té verde contiene epigallocatequina, epicatequina, epicatequina galato, epigallocatequin galato (EGCG), galocatequina galato, ácido cafeico, kaempferol, miricetina, quercetina, teaflavinas y terubiginas. Además, las catequinas del té verde mejoran la resistencia periférica a la insulina al actuar como ligandos receptores activados por el proliferador de peroxisomas, con efecto agonista. Los estudios experimentales en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina, mostraron que el té verde reduce el estrés oxidativo, revierte la diabetes, disminuye los niveles de tetrahidrobiopterina (BH4) y aumenta la biodisponibilidad de NO. Sundaram demostró en un estudio experimental en ratas diabéticas, inducidas por estreptozotocina, que el consumo oral diario de extracto de té verde (300 mg/kg de peso corporal) durante 30 días, produjo una disminución importante de los niveles de glucosa y HbA1c en plasma.

Además, un estudio experimental en células HepG2 demostró que los polifenoles del té verde eran capaces de mejorar el metabolismo de glucosa y lípidos mediado por insulina al regular las enzimas involucradas en la síntesis de glucógeno y la lipogénesis. Por su parte, un estudio clínico reveló que EGCG protegió a las células beta pancreáticas del daño de los radicales libres, aumentó la secreción de insulina, inhibió la absorción de glucosa al unirse competitivamente con el transportador de sodio-glucosa-1 (SGLT-1) y hubo una mayor absorción de glucosa en el músculo estriado y células adiposas por cambios en la expresión de glucosa GLUT-4. Otra investigación clínica en 236 pacientes con DM tipo 2, indicó que el extracto de té verde fue eficaz para mejorar la resistencia a la insulina y mejorar el HDL-colesterol y el péptido similar al glucagón-1.

Aunque los estudios de intervención humana con alimentos ricos en procianidina mostraron efectos biológicos, las concentraciones plasmáticas de procianidina B1 alcanzaron 10 nmol/L, después de la ingestión de extracto de semilla de uva con alto contenido de procianidina 2 g por voluntarios. Después del consumo de 0.375 g de cacao/kg de peso corporal, las concentraciones plasmáticas de procianidina

B2 alcanzaron solo 41 nmol/L. Los efectos pueden ser atribuibles a metabolitos no identificados de procianidinas u otro componente, como la catequina monomérica.

La mayoría de estos estudios clínicos demuestran una heterogeneidad metodológica significativa con respecto a las características de los pacientes (sexo, edad, estado de salud, comorbilidades y uso de diferentes medicamentos), así como la variabilidad en los tipos de intervenciones (dosis, tiempo de intervención y combinaciones de bioactivos).

Los polifenoles del té verde inhiben la acción de la actividad de la enzima alfa amilasa y alfa glucosidasa, reducen la absorción intestinal de la glucosa y disminuye los niveles circulantes de glucosa en la sangre.

a) El té verde rico en polifenoles reduce la absorción de glucosa.

b) El polifenol del té verde inhibe la actividad de la α -amilasa y la α -glucosidasa.

c) El nivel de glucosa en plasma se reduce después del consumo de polifenoles de té verde.

En resumen, reduce significativamente el efecto sobre la respuesta de insulina y glucosa en sangre posprandial en humanos, debido a la inhibición de la α -amilasa y la α -glucosidasa.

El almidón está compuesto de amilosa, que es un polímero lineal de glucosa unido a α -1,4, y amilopectina altamente ramificada que consiste en cadenas de glucosa lineal unida a α -1,4 con cadenas ramificadas unidas a-1,6. Las α -amilasas salivales y pancreáticas catalizan la endohidrólisis de los enlaces glucosídicos α -1,4 liberando principalmente maltosa, maltotriosa y α -1,6-oligómeros relacionados. La digestión adicional se lleva a cabo en el borde del cepillo del intestino delgado mediante α -glucosidasas que hidrolizan los residuos terminales de glucosa unidos a α -1,4 como el paso final en la digestión de carbohidratos en la dieta para liberar glucosa. Las actividades de la α -glucosidasa, descritas por primera vez como maltasas, están asociadas con la maltasa-glucoamilasa y la sacarasa-isomaltasa. Además de la actividad α -1,4-glucosídica, la sacarasa-isomaltasa muestra actividades específicas contra los enlaces α -1,2 de sacarosa y los enlaces α -1,6 de isomaltosa.

Se ha demostrado que una variedad de polifenoles presentes en el té verde, inhibe las actividades de α -amilasa y α -glucosidasa observadas en la saliva y el páncreas, respectivamente. Los polifenoles inhibidores incluyen flavonoides (antocianinas, catequinas, flavanonas, flavonoles, flavonas e isoflavonas), ácidos fenólicos y taninos (proantocianidinas y elagitaninos).

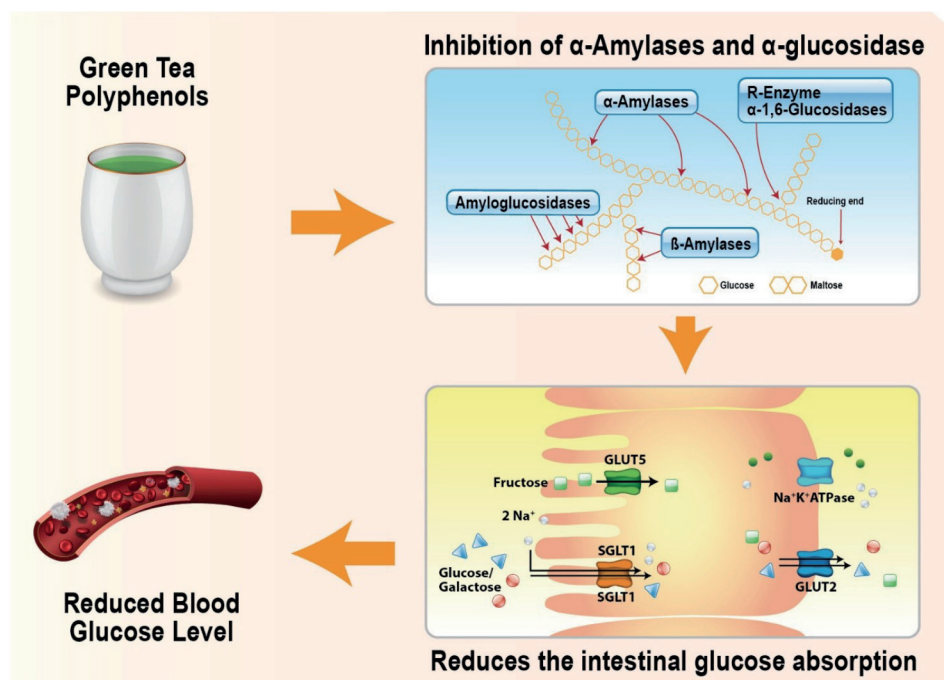


Figura. La inhibición de la enzima α -amilasa y α -glucosidasa, por los polifenoles del té verde, reduce la digestión, la absorción de glucosa en el intestino y el nivel de glucosa en sangre.

5.1.2 REDUCCIÓN INDUCIDA POR POLIFENOL DEL CONSUMO DE GLUCOSA EN EL TEJIDO

Los polifenoles de la dieta pueden influir en el metabolismo de la glucosa al estimular la absorción periférica de glucosa en tejidos sensibles a la insulina y no sensibles a ésta. La absorción de glucosa no mediada por insulina tiene lugar en todos los tejidos y es responsable del transporte básico de glucosa a las células en el estado post-absorción. Por el contrario, la absorción de glucosa mediada por insulina tiene lugar solo en tejidos sensibles. La insulina estimula la absorción de glucosa en el músculo esquelético, que es el sitio más grande para la eliminación de glucosa en la dieta y en el tejido adiposo, mientras que en el hígado, disminuye la tasa de producción de glucosa hepática al aumentar el almacenamiento de ésta como glucógeno.

La absorción de glucosa está mediada por la acción de los transportadores de glucosa (GLUT) en la superficie celular. Es importante señalar que entre los 13 GLUT identificados hasta ahora, solo GLUT4 es un transportador de glucosa sensible a la insulina. Según la comparación de secuencias, las isoformas de GLUT se pueden agrupar en tres clases: clase I comprende GLUT1–4; la clase II, GLUT6, 8, 10 y 12; y clase III, GLUT5, 7, 9, 11 y cotransportador de mio- inositol H + (HMIT). La expresión específica de tejidos y células de las isoformas de GLUT subyace a su papel específico en el control de la homeostasis de glucosa en todo el cuerpo. Numerosos estudios con ratones transgénicos o inactivados apoyan un papel importante para estos transportadores en el control de la utilización de glucosa, el almacenamiento de glucosa y la detección de ésta, no obstante, es necesario realizar más estudios para dilucidar los mecanismos detrás.

Los transportadores de glucosa de la clase I participan activamente en la movilización y absorción de glucosa. GLUT1 y GLUT3 son responsables de mantener la absorción basal de glucosa, contrario a GLUT4, estos son abundantes en varios tejidos. GLUT1 se distribuye ampliamente en los tejidos fetales y se expresa a altos niveles en eritrocitos y células endoteliales de tejidos barrera en adultos, mientras que GLUT3 se expresa principalmente en neuronas y placenta. La glucosa es transportada hacia adentro y fuera de las células del hígado por el GLUT2 impulsado por la concentración, que también se expresa en las células tubulares renales, células epiteliales del intestino delgado que transportan glucosa y las células beta pancreáticas. GLUT4 es expresado por las células musculares, adiposas y renales y permanece almacenado en compartimentos sensibles a la insulina dentro de las células hasta que la insulina media su localización en la superficie celular.

La vía de señalización de insulina más estudiada, que conduce a una mayor absorción de glucosa muscular, implica la unión de insulina a GLUT4, la fosforilación de sustratos receptores de insulina (IRS) y la activación de varias enzimas de señalización como fosfatidilinositol-3 quinasa (PI3K) y Akt-serina/treonina quinasa. La cascada promueve la translocación del transportador de glucosa GLUT4 desde un grupo intracelular a la membrana plasmática. Además de la actividad de PI3K, también existen otras rutas de señalización involucradas en la respuesta celular a la estimulación de insulina. Hace algunos años, Saltiel y Kahn revisaron una descripción detallada de la señalización de insulina básica y la regulación del metabolismo de la glucosa. En este sentido, se ha desarrollado recientemente un modelo matemático molecular de movilización de glucosa y absorción de glucosa considerando la cinética de GLUT2, GLUT3 y GLUT4, el proceso de movilización de glucosa por la glucógeno fosforilasa y la glucógeno sintasa en el hígado, así como la dinámica de la insulina. vía de señalización.

Entre los compuestos potenciales que estimulan la absorción de glucosa, varios alimentos y extractos de plantas ricos en polifenoles, han sido objeto de una extensa investigación durante los últimos años. La mayoría de los estudios reportados en la literatura hasta ahora están basados en los mecanismos de absorción de glucosa en vías mediadas por insulina, principalmente cAMP/proteína quinasa A (AMPK) y activación de PI3K. La absorción de glucosa, estimulada por insulina, muestra ser dependiente de la dosis en la mayoría de los casos.

5.1.3 REDUCCIÓN DE LOS RESULTADOS DE GLUCOSA EN SANGRE EN LA QUEMA DE GRASA

La investigación realizada por Mousumi Bose et. al. mostró que una dosis fisiológicamente relevante de epigallocatequina de polifenoles de té verde (EGCG), reduce el desarrollo de obesidad, hiperglucemia, resistencia a la insulina, hipercolesterolemia y esteatosis hepática en ratones alimentados con alto contenido de grasa. También sugieren que el tratamiento con EGCG puede revertir los efectos de una dieta alta en grasas en BW y glucosa en sangre. Estos efectos pueden estar relacionados con la disminución de la absorción de grasa y los efectos antiinflamatorios mediados por EGCG:

- a) Reduce de la absorción intestinal de glucosa.
- b) Disminuye la glucosa en sangre.
- c) Estimula la lipólisis
- d) Aumenta la secreción de glucagón.
- e) Moviliza la reserva de tejido adiposo para suministrar energía.
- f) Conduce a la beta-oxidación de lípidos.
- g) Quema la grasa corporal.

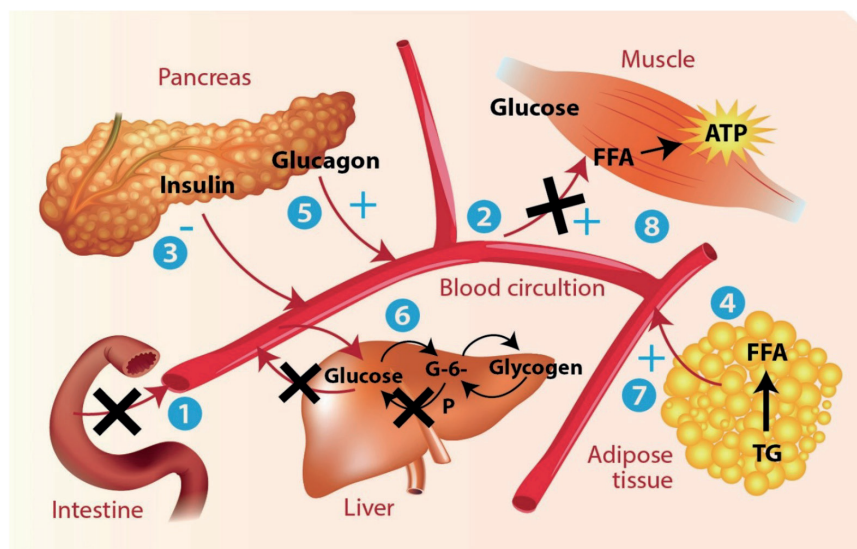


Figura. Reducción de los niveles circulantes de glucosa debido a la supresión de enzimas que degradan el azúcar por los polifenoles del té verde.

5.1.4 INFLUENCIA DE LOS POLIFENOLES EN LA FUNCIÓN HEPÁTICA PARA MANTENER LA HOMEOSTASIS DE LA GLUCOSA.

El hígado desempeña un papel importante en la regulación de los niveles de glucosa en sangre en estrecha cooperación con los tejidos periféricos. Como se estima, el hígado es responsable de absorber un tercio de la glucosa posprandial y almacena eficazmente la glucosa como glucógeno a través de la glucogénesis. En ayunas, el hígado es el principal regulador para mantener niveles estables de glucosa en la sangre y produce glucosa por dos vías diferentes, ya sea al descomponer el glucógeno (glucogenólisis) o al sintetizar glucosa a partir de otros metabolitos como piruvato, lactato, glicerol y aminoácidos (gluconeogénesis). Las enzimas clave responsables de la regulación de la glucogénesis son la glucoquinasa (GK) y la glucógeno sintasa (GS). La piruvato carboxilasa, la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK), la fructosa-1,6-bisfosfatasa y la glucosa-6-fosfatasa son las principales enzimas responsables de la regulación de la gluconeogénesis.

Varios factores influyen en el control homeostático de la glucosa hepática. A nivel hormonal, la insulina y el glucagón regulan directamente el metabolismo hepático de la glucosa. Por ejemplo, en estado alimentado, la insulina suprime la producción y la producción de glucosa en el hígado a través de la vía del receptor de insulina. Además, el sistema nervioso central media parte de los efectos de la insulina y de otras señales como los ácidos grasos de cadena larga (LCFA) para ejercer un mayor control sobre el metabolismo de la glucosa hepática. En la diabetes tipo 2 y el estado resistente a la insulina, se altera el control del metabolismo de la glucosa hepática y su producción. La incapacidad del hígado para responder a la insulina, produce defectos graves en la regulación de la homeostasis de la glucosa, como el aumento de la producción de glucosa hepática e hiperglucemia. La esteatosis hepática no alcohólica, la acumulación de triglicéridos en el hígado, que puede provocar fibrosis, está claramente asociada con la resistencia a la insulina hepática. Sin embargo, no está claro si la resistencia a la insulina causa la acumulación excesiva de triglicéridos (TG) en el hígado o si el aumento de TG en sí mismo juega un papel causal en el desarrollo de resistencia hepática o sistémica. En ratones, se ha demostrado que una dieta alta en grasas deteriora primero la sensibilidad a la insulina hepática en asociación con la acumulación hepática de acilcarnitinas grasas de cadena corta a media, antes de afectar la sensibilidad periférica. Varios estudios indican una mejora de la glucosa hepática y el metabolismo de los lípidos en modelos normales, obesos y diabéticos de ratones o ratas después del tratamiento con diferentes dietas ricas en polifenoles. La siguiente sección analiza los posibles mecanismos de los efectos de éstos sobre el metabolismo de la glucosa en el hígado.

5.1.5 REGULA LA EXPRESIÓN DE GENES IMPLICADOS EN LA ABSORCIÓN DE GLUCOSA Y LA SEÑALIZACIÓN DE INSULINA.

El té verde tiene actividades antidiabéticas, antiobesidad y antiinflamatorias en modelos animales. Investigaciones recientes explican los mecanismos moleculares de estos efectos, ya que se usó la reacción en cadena cuantitativa en tiempo real de la polimerasa (PCR) para investigar los niveles de expresión relativos y los efectos del té verde (1 y 2 g de extracto sólido/kg de dieta) en la expresión de los genes de la familia del transportador de glucosa (Glut1/Slc2a1, Glut2/Slc2a2, Glut3/Slc2a3 y Glut4/Slc2a4) y en los genes de la vía de señalización de insulina (Ins1, Ins2, Insr, Irs1, Irs2, Akt1, Grb2, Igf1, Igf2, Igf1r, Igf2r, Gsk3b, Gys1, Pik3cb, Sh, Pik3r, Pik3r, Pik3r, Pik3r Sos1) en hígado y músculo de sujetos con resistencia a la insulina inducida y estrés oxidativo. Glut2 y Glut4 son los principales ARNm de Glut en el hígado y los músculos, respectivamente.

El extracto de té verde (1 g) aumentó los niveles de ARNm de Glut1, Glut4, Gsk3b e Irs2 en un 110, 160, 30 y 60% en el hígado, respectivamente, y aumentó Irs1 en un 80% en el músculo. El extracto de té verde (2 g) aumentó los niveles de ARNm de Glut4, Gsk3b y Pik3cb en 90, 30 y 30%, pero disminuyó Shc1 en 60% en el hígado y aumentó Glut2, Glut4, Shc1 y Sos1 en 80, 40, 60, y 50% en el músculo. Este estudio muestra que el extracto de té verde con una dieta de 1 o 2 g/kg, regula la expresión génica en la absorción de glucosa y la vía de señalización de insulina en ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa.

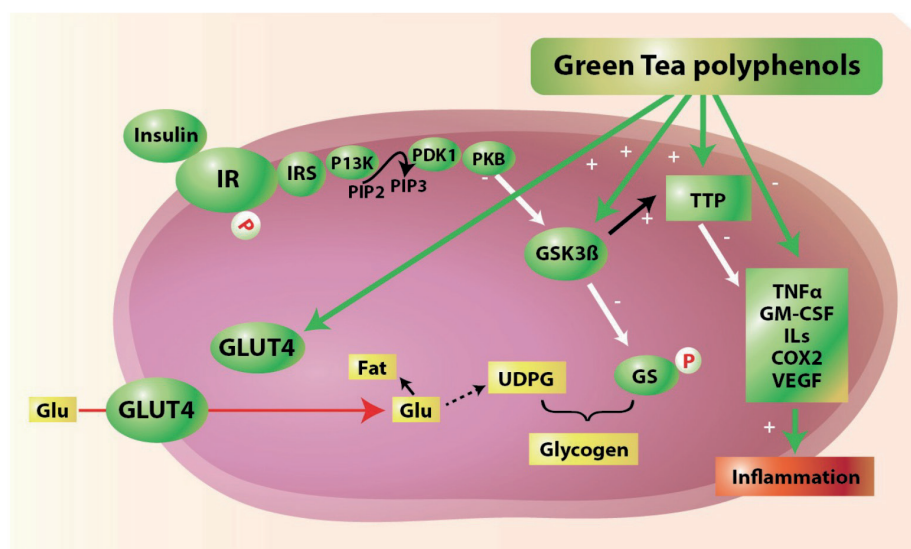


Figura. Actividades antidiabéticas, antiobesidad y antiinflamatorias de los polifenoles del té verde.

5.2 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

El té verde (*Camellia sinensis*, Theaceae) es la bebida más consumida después del agua y se cree que sus polifenoles son responsables de los efectos beneficiosos observados en los estudios de laboratorio y epidemiológicos. La ingesta diaria de polifenoles del té verde es alta en algunos países; aproximadamente el 34% del consumo total de polifenoles de las bebidas en Japón proviene del té verde.

Los compuestos fenólicos del té verde de mayor concentración son ácido gálico (GA), (-)- galocatequina (GC), (+)- catequina (C), (-)- epicatequina (EC), (-)- epigallocatequina (EGC), (-)- galato de epicatequina (ECG), (-) - galato de epigallocatequina (EGCG), ácido p- cumaroilquinico (CA) y (-)- galato de 3-galocatequina (GCG) (Figura). El té verde contiene taninos condensados e hidrolizables, además de tener la mayor concentración de polifenoles en comparación con otro tipo de tés, por lo tanto, puede inducir la muerte celular apoptótica en el cáncer mejor que otros tés.

La extracción de los polifenoles del té verde depende tanto del tiempo como de la temperatura. Su preparación es importante, ya que el agua caliente hace que el té sea mejor para eliminar los radicales oxidativos que las preparaciones de agua fría, esto probablemente se deba a una mayor extracción de polifenoles. Los polifenoles del té verde pueden actuar como prooxidantes al generar peróxido de hidrógeno. Agregar leche al té disminuye la formación de peróxido de hidrógeno, independientemente de la presencia de catalasa, que descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Podría ser que los polifenoles de éste se unan a las proteínas en la leche, inhibiendo así la producción de peróxido de hidrógeno. En condiciones oxidativas, también puede ocurrir la polimerización de polifenoles.

La evidencia de los posibles efectos anticancerígenos de los efectos del té verde in vivo se basa en estudios epidemiológicos. Por ejemplo, existe una asociación inversa entre el consumo de té y el cáncer de pulmón para los fumadores, pero no para los no fumadores, lo que sugiere que el consumo de éste puede ser más importante para la prevención del cáncer en poblaciones de alto riesgo. Esto también es evidente en las mujeres que tienen un mayor riesgo de cáncer de seno

debido a una predisposición genética. Otras relaciones inversas que existen entre el consumo de té verde y el riesgo de cáncer, incluyen el cáncer de estómago y de ovario. A pesar de estos numerosos estudios, el papel del consumo de té verde en la prevención del cáncer humano sigue sin estar claro, en parte porque faltan datos de los estudios de intervención controlada.

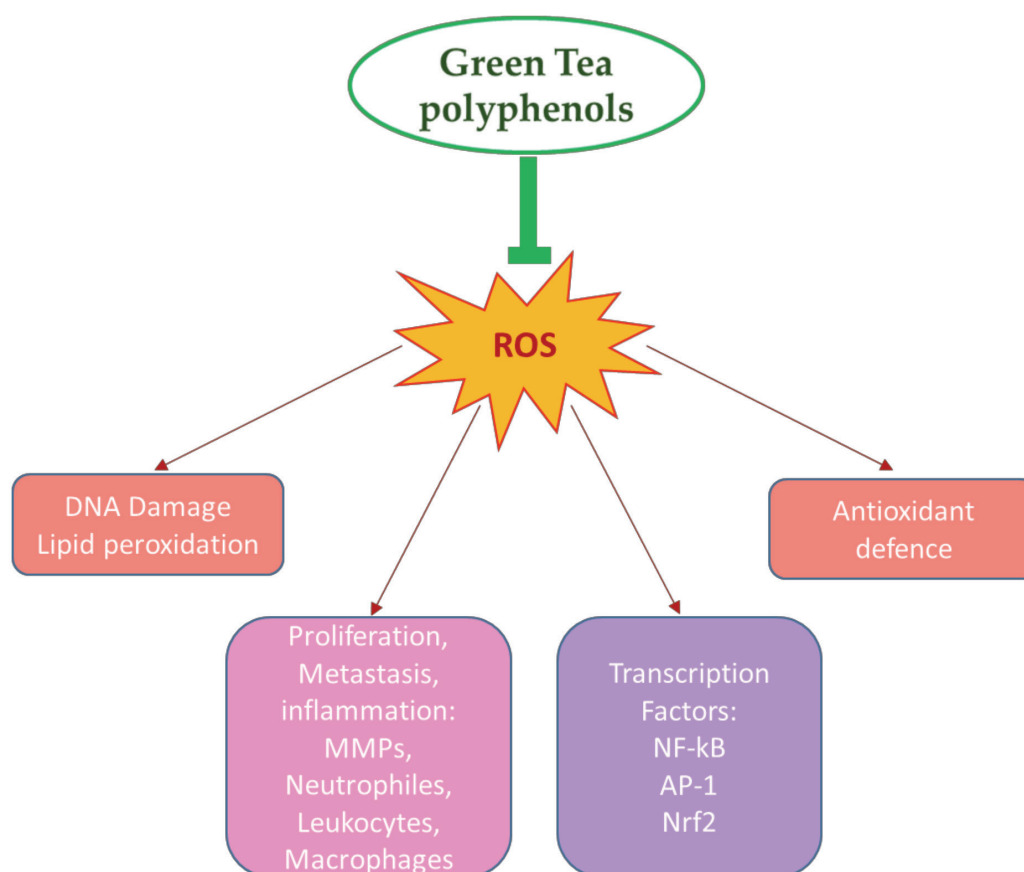


Figura. Efecto antioxidante del polifenol del té verde.

Se ha demostrado que el té verde y sus polifenoles tienen actividad anticancerígena en varios estudios de laboratorio, que podrían estar mediados por mecanismos antioxidantes o prooxidantes. Sus polifenoles, como el EGCG, inhiben la viabilidad celular e inducen la apoptosis en una serie de líneas celulares cancerosas, como el sarcoma osteogénico, las células linfoblastoides, las células de leucemia, las células de melanoma, los linfocitos T y el carcinoma de laringe. EGC puede inhibir la viabilidad de las células de cáncer de mama a través de la inducción de apoptosis, pero no en las células de mama normales. La apoptosis por los polifenoles del té verde puede ocurrir independientemente de la inducción de caspasa-3, a través de la activación de p53. También existe evidencia de modulación del ciclo celular. El EGCG causa una reducción en la viabilidad celular a través de la detención del crecimiento G1 en las células de cáncer de mama humano, lo que probablemente ocurre a través de la supresión de la ciclina D1. Los polifenoles del té pueden incluso causar la diferenciación de las células cancerosas en células de proliferación más lenta.

La inflamación es a menudo un precursor del cáncer. EGCG y ECG, pero no EGC o EC. Estos tienen efectos antiinflamatorios ya que inducen apoptosis en monocitos a concentraciones de 10 a 50 μM . Curiosamente, EGCG y ECG forman el radical hidroxilo medido por resonancia de espín electrónico (ESR) pero no por EC o EGC a pH neutro, lo que indica que el grupo galato desempeña un papel importante en la actividad. EGCG también inhibe fuertemente varias líneas celulares de cáncer más que otros polifenoles y parece no tener efecto en las células normales. Esto podría deberse a un mayor estrés oxidativo en las células cancerosas por EGCG que en las células normales, con base a niveles más bajos de catalasa en el cáncer celular. Otros efectos de los polifenoles del té verde incluyen la inhibición de la síntesis de ADN en las células cancerosas y la generación de radicales peroxilo. El selenio podría mejorar la actividad anticancerígena, posiblemente al aumentar la actividad antioxidante o incluso su actividad antioxidante.

Los polifenoles también han demostrado actividad anticancerígena in vivo, aunque la implicación de los mecanismos oxidativos o antioxidantes no está clara. El té verde reduce la carga tumoral en un modelo de rata con cáncer de mama y sus polifenoles pueden reducir la carga tumoral en él. Como en los estudios in vitro, EGCG es el foco principal de la actividad detrás del consumo de éste. EGCG puede inhibir el cáncer en modelos animales pero también puede reducir la inflamación en el colon, causando una disminución en los marcadores oxidativos e inflamatorios en un modelo de colitis en ratas.

La base de las propiedades anticancerígenas de los polifenoles del té verde in vitro e in vivo podría deberse a sus propiedades antioxidantes o prooxidantes. Debido a evidencia contradictoria, es probable que el mecanismo oxidativo específico dependa del tipo de cáncer y del entorno que rodea a las células cancerosas. Los mecanismos antioxidantes y prooxidantes de los polifenoles del té verde están bien establecidos a través de varios hallazgos experimentales in vitro e in vivo.

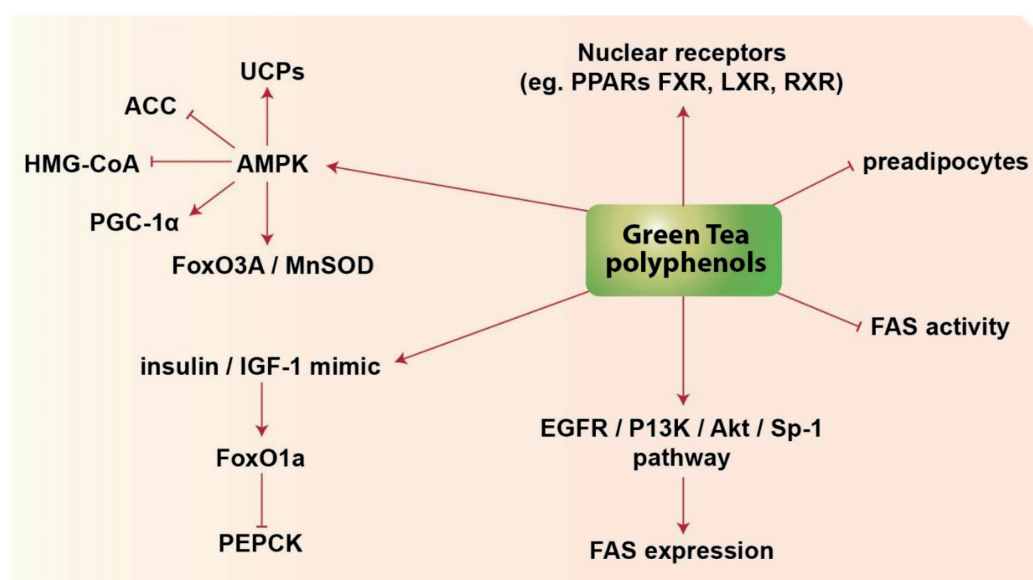


Figura. Los polifenoles del té verde suprimen el estrés oxidativo a nivel molecular.

5.2.1 EFECTO ANTIOXIDANTE A NIVEL CELULAR DEL POLIFENOL DEL TÉ VERDE

Los polifenoles del té verde eliminan especies reactivas de oxígeno (ROS) al generar radicales fenólicos más estables. La capacidad de eliminación de radicales de EGCG ha sido un foco de muchos estudios debido a las altas concentraciones relativas en el té y a la presencia del grupo galoilo en el anillo B y D. La espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica (EPR) ha revelado que EGCG reacciona con O₂, lo que conduce a la oxidación del anillo D. EPR también ha demostrado que EGCG puede eliminar OH y O₂.

Se ha desarrollado y utilizado ampliamente una colección de ensayos para evaluar las actividades de eliminación de radicales/antioxidantes de las soluciones. Uno de estos ensayos es el ensayo de poder reductor férrico/poder antioxidante (FRAP). Existe una correlación positiva entre el contenido fenólico en el té verde y la actividad antioxidante medida por FRAP. Además, éste posee más capacidad antioxidante en promedio que los té oolong y negro (medido por FRAP). El ensayo de capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (ORAC) también se utiliza comúnmente para medir su capacidad antioxidante. Las unidades se expresan como equivalentes de trolox y el té verde proporciona aproximadamente 1300 µmol de equivalentes de trolox por gramo de hojas de té secas. Al igual que en el ensayo FRAP, existe una correlación positiva entre los valores de ORAC y el contenido de polifenoles del té verde. El ensayo Folin-Ciocalteu para el contenido fenólico total, se ha utilizado para mostrar que el té verde contiene aproximadamente 300 mg/g (expresado como EGCG) de hojas secas. Existe una correlación positiva para otros métodos de capacidad antioxidante, como el poder reductor del cobre, la eliminación de DPPH y la eliminación de superóxido con el contenido total de polifenoles del té medido por Folin-ciocalteu. Estos ensayos, aunque son útiles para comparar las capacidades antioxidantes de una variedad de muestras químicas o biológicas, no brindan información sobre las reacciones antioxidantes que pueden ocurrir en modelos de cáncer in vitro o in vivo.

Se ha demostrado que los polifenoles del té verde actúan como antioxidantes en modelos in vitro de cáncer. Las células T Jurkat, sometidas a daño oxidativo mediante la adición de hierro II (Fenton), se protegieron con un extracto de té (10 mg/ml) que contenía altas cantidades de EGCG. El efecto protector se atribuyó a la capacidad antioxidante del extracto y probablemente a la donación de hidrógeno por los polipenoles del té. Su extracto, también previno la muerte celular inducida por H₂O₂ en el cáncer de vejiga y las células normales de urotelio e inhibió los niveles de NO producidos a partir de los macrófagos RAW 264.7, con una CI₅₀ de 113 µg/ml. Se demostró que EGCG inhibe la peroxidación de lípidos y el daño a ATP ases en eritrocitos a niveles de 1 a 15 µM, así como la formación de peróxido de hidrógeno en queratinocitos irradiados con luz ultravioleta (UV) A. De manera similar, se demostró que el extracto de té verde disminuye la formación de peróxido de hidrógeno y el daño del ADN inducido por la radiación UVB. El daño al ADN inducido por la bleomicina en los leucocitos se redujo mediante el tratamiento conjunto con EGCG, aunque EGCG no alteró la reparación del ADN. Estos resultados sugieren que EGCG elimina las especies reactivas de oxígeno inducidas por bleomicina. Los polifenoles, como EGC y EGCG, no solo eliminan los radicales, también experimentan la adición nucleofílica con electrófilos mutagénicos como la 2-hidroxiamino-3- metilimidazo [4,5-f] y quinolina, un carcinógeno derivado de la carne cocida.

Los factores de transcripción sensibles a Redox, que controlan la proliferación y supervivencia celular, también se ven afectados por los polifenoles del té verde. EGCG pareció activar los factores de transcripción factor nuclear (NF) $\kappa\kappa$ y proteína activadora (AP) -1 a bajas concentraciones micromolares; en otros estudios, EGCG también inhibió NF- $\kappa\kappa$ y AP-1 a estas concentraciones, estas diferencias podrían deberse a la composición de los medios o la sensibilidad de las células. EGCG inhibió la dosis de NF- $\kappa\kappa$ a concentraciones más altas de 50 a 300 μM . EC, por el contrario, activó NF- $\kappa\kappa$, AP-1 y factor nuclear (derivado de eritroides 2) - (Nrf2), un concentración de 10 μM . Los efectos de los polifenoles en los factores de transcripción, parecen ser específicos de las células y dependen de la concentración y la participación de los mecanismos oxidativos.

Se ha informado que los polifenoles del té verde tienen efectos antioxidantes in vivo. Se encontró un aumento del 4% en la capacidad antioxidante del plasma humano, medido por el ensayo FRAP, 40 minutos después de beber 400 ml de té. Además se encontraron valores máximos de FRAP en muestras de orina después de 1H. La capacidad antioxidante del plasma y la capacidad antioxidante, equivalente de Trolox (TEAC) después de consumir 150, 300 y 450 ml (2.5, 5.0, 7.5 g de hojas secas), aumentó en una dosis dependiente. Se encontró una capacidad antioxidante plasmática mejorada en un 15,6%, medida mediante un ensayo basado en fluorescencia en humanos que consumieron un extracto de té verde en la carne (18,6 mg/día), y se observó que el efecto fue mayor en los fumadores. Curiosamente, la capacidad antioxidante en el plasma de los sujetos, volvió a la línea de base después de volver a una dieta normal.

La capacidad antioxidante del plasma humano, medida por el ensayo TEAC, mejoró en un 1,4% por el consumo de polifenoles (461,9 mg/d) en tabletas, en comparación con la bebida de té verde (697,1 mg/d). Sugerir tabletas puede ser una forma efectiva de mejorar la capacidad antioxidante del plasma mediante los polifenoles del té verde. Los polifenoles en bebidas pueden ser ingeridos y absorbidos más lentamente que en tabletas. La elevación del poder antioxidante del plasma humano podría ser la base del papel del té verde en los efectos preventivos del cáncer, aunque es probable que los efectos se deban, principalmente, a los metabolitos de sus polifenoles.

Además de aumentar la actividad antioxidante del plasma, los polifenoles del té verde también pueden suprimir los marcadores de estrés oxidativo in vivo. El consumo de té verde (4 tazas/día durante 4 meses), redujo significativamente los niveles urinarios de 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG), un marcador de estrés oxidativo, en un 31% en un grupo de fumadores que poseían el polimorfismo activo para glutatión-S-transferasa. Las ratas que fueron alimentadas con té verde (100 mg/kg de peso corporal) durante 10 días, fueron protegidas contra la elevación del malondialdehído y catalasa inducida por paracetamol y el agotamiento de la vitamina C. Las ratas alimentadas con un extracto de polifenoles de té verde, equivalente a una dosis humana de 500 ml/día, durante 5 días, tuvo menos daño en el ADN en linfocitos, colonocitos y hepatocitos, debido al estrés oxidativo inherente en comparación con las ratas de control. En el páncreas de los hámster, el consumo de polifenoles del té verde (0.1% en agua potable) inhibió la peroxidación lipídica y el daño oxidativo del ADN inducido por la N-nitrosobis (2-oxopropil) amina. Una reducción de los tumores de fibromas leiomioma en el oviducto de codorniz por EGCG fue acompañada por disminuciones en el malondialdehído hepático y sérico (una indicación de estrés oxidativo) y factor de necrosis tumoral α (un mediador inflamatorio).

Los polifenoles del té verde inhibieron los marcadores de estrés oxidativo que son secundarios a una respuesta inflamatoria y redujeron la inflamación mediada por neutrófilos, inducida por la aplicación tópica de 12-O- tetradecanoilforbol-13-acetato, en los oídos de los ratones SENCAR. La aplicación tópica de EGCG de 1 mg/cm², inhibió la infiltración de leucocitos y marcadores de estrés oxidativo (H₂O₂ y NO) en la piel de ratones C3H/HeN tratados con UVB. Además, una aplicación tópica de EGCG en la piel humana irradiada con UVB, evitó la infiltración de macrófagos y neutrófilos.

5.2.2 EFECTO ANTIOXIDANTE A NIVEL CELULAR DEL POLIFENOL DEL TÉ VERDE

El polifenol de té verde (EGCG) tiene propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. Estudios han demostrado que el aumento de la osmolaridad eleva los niveles de citocinas y metaloproteasas de la matriz en las células epiteliales de la córnea y en las lágrimas de los pacientes con ojo seco. EGCG fue eficaz en la inhibición de múltiples citocinas inducidas por mediadores inflamatorios, lo que demuestra que puede tener potencial terapéutico en el tratamiento de enfermedades inflamatorias de la córnea. Los estudios demostraron que el EGCG tópico fue eficaz para el tratamiento de la enfermedad del ojo seco, además se demuestra que EGCG exhibe una potente actividad antioxidante en las células corneales al inhibir las especies reactivas de oxígeno generadas por la glucosa oxidasa prooxidante.

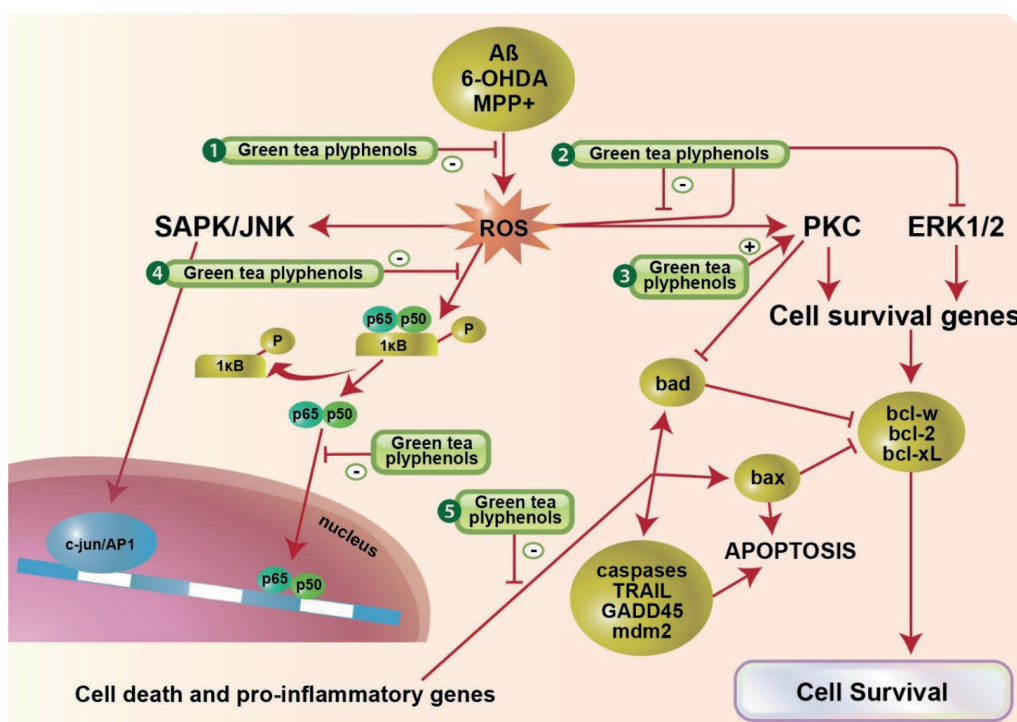


Figura. Los polifenoles del té verde intervienen en varias vías de señalización celular y afectan los genes en el estrés oxidativo. (Las flechas agudas indican entradas positivas, mientras que las flechas romas son para entradas inhibitorias. PKC, proteína quinasa C; ERK, quinasa regulada por señal extracelular; SAPK/JNK, proteína quinasa activada por mitógeno sensible al estrés/c-jun quinasa N-terminal; EGCG (-) - epigallocatequina-3-galato; ROS, especies reactivas de oxígeno; 6-OHDA, 6-hidroxidopamina; MPP+, 1-metil-4-fenilpiridinio; Aβ, péptido beta-amiloide

Los objetivos potenciales de los polifenoles del té verde, son:

1. Eliminación directa de ROS inducida por neurotoxinas.
2. Contrarrestar el efecto negativo de ROS en las vías PKC y ERK1/2. Alternativamente, ERK1/2 podría estar sujeto a regulación directa por PKC, por lo tanto, la activación de esta quinasa por EGCG puede conducir a la restauración de los niveles reducidos de ERK1/2 fosforilados.
3. Activación fosforilativa directa de PKC.
4. Inhibir la translocación de NF- κ B al núcleo.
5. Prevenir la expresión de genes de muerte celular.

Se informa que EGCG posee propiedades antiinflamatorias y antioxidantes in vitro e in vivo. En el ojo, el extracto de té verde protege el cristalino y la retina de la oxidación inducida por los rayos UV y reduce la toxicidad retiniana del glutamato oxidativo. Las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes de EGCG, están bien descritas en múltiples tipos de células oculares y no oculares. Se sabe que las MAPKs, activadas por el estrés p38 y JNK, desempeñan un papel clave en la regulación de la producción de citocinas proinflamatorias que conducen a la inflamación. Se ha demostrado que EGCG inhibe tanto JNK como p38 en múltiples tipos de células. Descubrimos que EGCG inhibía la fosforilación/activación inducida por IL-1 β e hiperosmolar de p38 y JNK en células corneales. EGCG fue comparablemente potente en la inhibición de la activación de p38 y JNK, inducida por IL-1 β , con una inhibición significativa a una concentración más baja de 3 μ M. Sin embargo, EGCG parecía más eficaz para inhibir la fosforilación de p38 inducida por hiperosmolar que JNK, con una inhibición significativa a 3 μ M para p38 en comparación con 30 μ M para JNK.

Dos factores de transcripción conocidos por mediar los aumentos en la producción de citocinas, tanto por IL-1 β como por hiperosmolaridad, son AP-1 y NF κ B. AP-1 está regulado por múltiples MAPK: los ERK activan AP-1 después de la estimulación mitogénica de las células, en contraste, e JNK y p38 activan AP-1 después de la exposición de las células al estrés ambiental o a las citocinas proinflamatorias. NF κ B se compone comúnmente de un heterodímero entre la subunidad p65 (también conocida como Rel A), que contiene un dominio de transactivación que media la inducción transcripcional y la subunidad p50. El NF κ B se activa predominantemente a través de la fosforilación por la proteína inhibidora kappa B ($I\kappa$ B) quinasa y la posterior degradación del $I\kappa$ B unido, lo que le permite translocarse al núcleo. Los estudios presentan que la inhibición de la expresión de citocinas inducida por IL-1 β y EGCG, está mediada, en parte, por la inhibición de las actividades transcripcionales de AP-1 y NF κ B.

La inhibición de la actividad AP-1 por EGCG se debe presumiblemente a su efecto sobre la señalización de MAPK y EGCG, también puede afectar la actividad de unión al ADN de AP-1 como se ha demostrado en otros tipos de células. Los efectos de EGCG sobre NF κ B en otros tipos de células son a través de múltiples mecanismos, incluida la inhibición de la quinasa $I\kappa$ B, la fosforilación de $I\kappa$ B, la fosforilación de p65NF κ B, la acetilación de p65NF κ B y la actividad de unión al ADN de NF κ B.

Mientras que la actividad AP-1 inducida por hiperosmolar fue inhibida por la hiperosmolaridad, la actividad de NFκB no se vio afectada por EGCG. La inhibición incompleta de la actividad AP-1 y la falta de efecto sobre la actividad de NFκB por EGCG, sugiere que EGCG inhibe los niveles de citocinas inducidas por hiperosmolar en etapas adicionales en la cascada de señalización inducida por hiperosmolaridad. Por ejemplo, el factor nuclear del factor de transcripción de la célula T activada 5 (NFAT5), se induce y activa en las células epiteliales del limbo por hiperosmolaridad. El transductor de señal y el activador de la transcripción (STAT1) es otro factor que se sabe que se activa por hiperosmolaridad en varios tipos de células, se expresa en células epiteliales corneales humanas y también es un objetivo de EGCG. Otra posibilidad es que EGCG podría regular a la baja la expresión del gen de citoquinas a nivel postranscripcional, a través de los efectos sobre la estabilidad del ARNm. Elucidar los mecanismos adicionales por los cuales EGCG afecta la liberación de citocinas inducidas por hiperosmolar es un área interesante para futuras investigaciones.

En resumen, EGCG actúa como un agente antiinflamatorio y antioxidante de las células corneales desafiadas con la citocina proinflamatoria IL-1β o con la hiperosmolaridad. Por lo tanto, EGCG tiene una aplicación terapéutica potencial para el tratamiento de trastornos oculares con un componente inflamatorio, por lo tanto, el polifenol del té verde tiene la capacidad de antiinflamatorio y antioxidante en todas las células corporales, incluidas las células oculares.

5.3 FUNCIÓN DEL CEREBRO

Un reciente informe de investigación ha revelado que la implementación de eliminadores de radicales quelantes de metales de transición (por ejemplo, hierro y cobre) y polifenoles antioxidantes naturales sin vitaminas en la clínica, son beneficiosos para ciertas enfermedades. Estas observaciones están en línea con la visión actual de que la suplementación dietética polifenólica puede tener un impacto en los déficits cognitivos en individuos de edad avanzada. Como consecuencia, los polifenoles del té verde ahora se consideran agentes terapéuticos en estudios epidemiológicos bien controlados, destinados a alterar los procesos de envejecimiento cerebral y a servir como posibles agentes neuroprotectores en trastornos neurodegenerativos progresivos como las enfermedades de Parkinson y Alzheimer. En particular, la literatura sobre el supuesto mecanismo neuroprotector novedoso del principal polifenol del té verde, (-) epigallocatequina-3-galato, ha sido examinada y discutida por los científicos de los centros de excelencia de la Fundación Nacional Parkinson de Eve Tops y la Fundación Nacional de Parkinson de EE.UU., para la Investigación de Enfermedades Neurodegenerativas y Desarrollo de Farmacología y el Instituto de Investigación de la familia Rappaport. Todos estos institutos han prosperado mucho en la comprensión del papel de los polifenoles del té verde en la neuroprotección y aún siguen llevando a cabo un excelente trabajo de investigación anticipada con respecto a ello.

El consumo de té verde se considera una fuente de componentes dietéticos dotados de actividades biológicas y farmacológicas con beneficios potenciales para los humanos. Varios de estos han estado sujetos, en los últimos años, a una investigación intensiva en diversas disciplinas médicas como cardiología, oncología, enfermedades inflamatorias y neurología. La mayoría de los estudios experimentales y epidemiológicos, sobre los efectos del té verde, se han dirigido a sus posibles efectos cardiovasculares, antiinflamatorios y anticancerígenos, que se han relacionado con las propiedades antioxidantes/prooxidantes de sus

constituyentes polifenólicos. Entre los diversos compuestos bioactivos, el extracto de té es particularmente rico en flavonoides, una familia de polifenoles que se encuentran en frutas y verduras, así como en bebidas vegetales como té, jugo de granada, frambuesa, arándanos y vino tinto. Las hojas de té fresco (*Camellia sinensis*) contienen una gran cantidad de catequinas, un grupo de flavonoides o flavanoles, que se sabe que constituyen el 30-45% del extracto sólido de té verde. Entre las catequinas del té, (-) - epigallocatequina-3-galato (EGCG) es el componente principal, que representa más del 10% del peso seco del extracto, seguido de (-) - epigallocatequina (EGC) > (-) - epicatequina (CE) ≥ (-) - epicatequina-3-galato (ECG).

Las catequinas del té ingerido se absorben principalmente en el intestino delgado y se metabolizan por reacciones enzimáticas de glucuronidación, sulfatación y O-metilación. Estas formas se detectan en plasma y se excretan en bilis y orina. Sin embargo, existen diferencias de especies con respecto a la biodisponibilidad de EGCG en relación con otras catequinas de té, ya que en ratones y humanos se ha encontrado que se conjuga menos que EGC y EC. Existe evidencia de que los metabolitos polifenólicos y sus compuestos originales tienen acceso al cerebro. Los estudios con EGCG marcado radiactivamente en ratones o en la detección de EGCG basada en quimioluminiscencia en ratas, demostraron su incorporación al cerebro, así como en varios órganos, incluidos riñón, corazón, hígado, bazo y páncreas. Además, un estudio reciente ha demostrado que los derivados metilados y glucuronidados de epicatequina se detectan en el cerebro de la rata después de la administración oral.

Se cree que los efectos beneficiosos atribuidos al consumo de té dependen de las acciones farmacológicas de las catequinas y sus componentes derivados. Actúan como captadores de radicales *in vitro* y ejercen efectos antioxidantes indirectos a través de la activación de factores de transcripción y enzimas antioxidantes. Además, se ha encontrado que el aumento del consumo de concentraciones relativamente altas de polifenoles del té, se correlaciona con una menor incidencia de ciertos tipos de cáncer, especialmente de piel, pulmón, esófago, estómago, hígado y próstata en modelos animales e induce apoptosis y detención del ciclo celular. en una amplia gama de líneas celulares como consecuencia de acciones prooxidantes y proapoptóticas. A pesar de estos resultados *in vivo* e *in vitro*, los estudios epidemiológicos sobre la ingesta de té y el riesgo de cáncer aún no son concluyentes. Una posible explicación de esta pobre correlación, puede ser el resultado de la falta de estudios *a priori* bien diseñados para evaluar el impacto del consumo de té en el riesgo de contracción del cáncer. Factores adicionales pueden incluir estilo de vida, mala correlación entre modelos animales y humanos, y diferencias en el sistema metabólico entre individuos. Una comprensión más profunda de los mecanismos moleculares involucrados contribuirá a un mejor conocimiento de las causas del cáncer y permitirá la revelación de nuevos objetivos para la intervención farmacológica.

Se han acumulado datos importantes durante los últimos años, sobre los efectos positivos de los nutrientes antioxidantes naturales en la disfunción cardiovascular, como resultado de múltiples factores, como placas ateroscleróticas, oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL), presión arterial, triglicéridos y metabolismo del colesterol. Estudios anteriores demostraron que el consumo de nutrientes ricos en flavonoides como el vino tinto, el regaliz (extracto etanólico) y el jugo de granada produce una reducción en la propensión de las LDL plasmáticas a sufrir la peroxidación lipídica en respuesta a los iones de cobre. Del mismo modo, la ingestión de té negro o té verde protege la oxidación de LDL en plasma en humanos y en ratas alimentadas con extracto de té verde. Sin embargo, los estudios

epidemiológicos no proporcionan evidencia concluyente de un efecto protector del té en enfermedades cardiovasculares como hipertensión, enfermedad coronaria, infarto de miocardio y accidente cerebrovascular. Esto enfatiza la importancia de estudios controlados bien diseñados para evaluar la reducción del riesgo en los consumidores de té verde y negro.

La intensa investigación sobre los mecanismos por los cuales mueren las neuronas, ha llevado al uso terapéutico de antioxidantes en el envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas. El daño oxidativo a las biomoléculas neuronales, el aumento de la acumulación de hierro en áreas específicas del cerebro y los procesos inflamatorios con proliferación de microglía reactiva, se consideran aspectos patológicos importantes del proceso de envejecimiento y trastornos neurodegenerativos como el Parkinson (EP) y las enfermedades de Alzheimer. Los procesos complementarios adicionales incluyen la liberación de citocromo c, aumento de la agregación de α -sinucleína, pérdida de tejido reducido glutatión GSH (un factor esencial para la eliminación de peróxido de hidrógeno), reducción de la actividad del complejo mitocondrial I y aumento de la peroxidación lipídica. También hay evidencia de una mayor expresión de proteínas apoptóticas, así como de disfunciones del sistema mitocondrial y ubiquitina-proteasoma, que pueden conducir a la descomposición del metabolismo energético y al calcio intraneuronal consecutivo. Por lo tanto, la neurodegeneración en la EP u otras enfermedades neurodegenerativas parece ser multifactorial, donde un conjunto complejo de reacciones conduce a la desaparición de las neuronas. Esto recibe más apoyo de estudios recientes de expresión de genes de microarrays de ADNc, que muestran la existencia de una cascada de eventos de genes que ocurren en la vía nigrostriatal de 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) y también en los modelos animales de 6-hidroxidopamina (6-OHDA) y metanfetamina de la enfermedad de Parkinson. Por lo tanto, las nuevas estrategias neuroprotectoras terapéuticas apoyan la aplicación de secuestradores de especies reactivas de oxígeno (ROS), quelantes de metales de transición (por ejemplo, hierro y cobre), anti-esteroides no esteroides fármacos inflamatorios (AINE), polifenoles antioxidantes naturales no vitamínicos, fármacos antiapoptóticos, como los inhibidores del canal de calcio y las caspasas y fármacos bioenergéticos, en monoterapia o como parte de la formulación de cóctel antioxidante para el tratamiento de estas enfermedades.

Los antioxidantes de la dieta, especialmente el té y los flavonoides del té, han atraído un interés creciente debido a su relativamente potente eliminación de radicales, quelato de hierro y actividades antiinflamatorias. Además de estas propiedades establecidas de los polifenoles del té verde, un número creciente de estudios proporcionó nuevos objetivos moleculares, posiblemente implicados en su acción neuroprotectora. Estos incluyen el control de la homeostasis del calcio, la activación de proteínas quinasas activadas por mitógeno extracelular, proteína quinasa C (PKC), enzimas antioxidantes, genes de supervivencia, así como el procesamiento de la vía de la proteína precursora amiloide (APP). Estos hallazgos sugieren que el extracto de té verde puede ser una fuente de neuroprotectores, con especial relevancia para la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades neurodegenerativas en las que el estrés oxidativo (OS) también ha sido implicado.

5.3.1 POLIFENOLES DEL TÉ VERDE AL RESCATE DE DEFECTOS CEREBRALES

Las personas con HSA21 parcial que contiene una copia adicional del gen DYRK1A, presentan diversas alteraciones en la morfogénesis cerebral y problemas de aprendizaje que modelan los encontrados en el síndrome de Down. Las imágenes de resonancia magnética y los análisis histológicos previos de ratones transgénicos generados usando una construcción YAC humana que contiene cinco genes, incluido DYRK1A, revelan que DYRK1A está involucrado, durante el desarrollo, en el control del volumen cerebral y la densidad celular de regiones cerebrales específicas.

La corrección de la dosis génica induce un rescate de las alteraciones del volumen cerebral. DYRK1A, también participa en el control de la plasticidad sináptica y la consolidación de la memoria. El aumento de la dosis de genes produce defectos de morfogénesis cerebral, niveles bajos de BDNF y déficits mnemónicos en las personas. El galato de epigallocatequina (EGCG), miembro de una familia de polifenoles naturales que se encuentra en gran cantidad en las hojas de té verde, es un inhibidor específico y seguro de DYRK1A. Se mantuvieron ratones de control y transgénicos que sobreexpresan DYRK1A en dos dietas diferentes basadas en polifenoles, desde la gestación hasta la edad adulta.

Estudios recientes han demostrado que la modulación del número de copia del gen DYRK1A puede corregir las alteraciones de la morfogénesis cerebral. Es posible compensar el déficit en el heterocigoto murino de Dyrk1a mediante la adición de una copia de DYRK1A humano; la corrección opera también en los fenotipos vistos en el modelo YACtg152F7 e inducidos por la sobreexpresión. Estos resultados establecieron a Dyrk1a como un jugador clave en el control del desarrollo cerebral y la morfogénesis cerebral. El volumen cerebral, como lo demuestran los experimentos de MRI, está fuertemente relacionado con el número de copias del gen Dyrk1a.

También se demostró que la administración crónica de polifenoles del té verde puede tener un efecto corrector similar, aunque menos eficiente que normalizar el número de copias del gen, sobre las alteraciones cerebrales que indican que la dieta está llevando el nivel de DYRK1A activo a un valor entre los valores producidos en las situaciones de tipo transgénico y salvaje. El efecto de los polifenoles también es visible al comparar animales alimentados con agua y con té verde: la dieta induce una reducción significativa del peso cerebral y el volumen del tálamo-hipotálamo, lo que sugiere que la reducción inducida por la dieta de Dyrk1a activo es equivalente a un contenido genérico.

El tratamiento con polifenoles no tiene ningún efecto en los resultados del paradigma de alternancia espontánea. Estudios han demostrado un efecto de los polifenoles en las funciones cerebrales, ya que al determinar si la cognición podría estar influenciada por una dieta rica en flavanol, se encontró que la memoria, la vascularización del hipocampo y la densidad de la columna neuronal eran mejoradas en sujetos que consumen (-) dieta que contiene epicatequina en comparación con la dieta normal. El tratamiento con polifenoles no modifica la cantidad de proteína DYRK1A, más bien, los resultados sugieren un efecto directo de EGCG sobre la actividad de DYRK1A o un efecto indirecto, actuando a través de un objetivo aguas abajo en la vía DYRK1A. La fosforilación de proteínas endocíticas DYRK1A se observó en cultivos celulares, esta fosforilación modifica las interacciones de la dinamina 1,

la sinaptojanina 1 y la anifisina 1 con otros miembros de las proteínas accesorias endocíticas y potencialmente regula el ensamblaje de los complejos de proteínas.

Además, el tratamiento con EGCG en células HEK 293 produce una disminución de la fosforilación de la anifisina, un objetivo DYRK1A. Generalmente se cree que la modulación de estas proteínas de tráfico influye en la plasticidad sináptica. La LTP y su proceso opuesto, la depresión a largo plazo, se consideran ampliamente los principales mecanismos celulares que subyacen en el aprendizaje y la memoria. Se redujo la LTP y se incrementó la LTD en comparación con los controles diploides en el hipocampo aislado de Ts65Dn y Ts1Cje, dos modelos murinos DS que llevan una trisomía 16 parcial que abarca el gen DYRK1. Los niveles de LTP pueden rescatarse en cortes de hipocampo de ratones Ts65Dn mediante tratamiento con EGCG. Esto es consistente con nuestras observaciones sobre el rescate a largo plazo del deterioro de la memoria. Estos efectos pueden deberse a la acción de EGCG sobre DYRK1A que resulta en la modulación del aparato endocítico y/o la modulación de las vías relacionadas con BDNF. BDNF es una de las neurotrofinas involucradas en la regulación de la supervivencia y diferenciación neuronal; También tiene efectos agudos sobre la transmisión sináptica. Se ha propuesto que actúa como un modulador de la inhibición GABAérgica. En cortes del hipocampo, la inhibición sináptica se mejoró mediante la expresión reducida de BDNF en animales *bdnf* +/-.

Aunque la corrección de los defectos de morfogénesis puede requerir un tratamiento temprano, el tratamiento durante la edad adulta puede resultar en una mejora del rendimiento cognitivo; de hecho, esto se demostró recientemente usando antagonistas del receptor GABA_A. Sin embargo, también debe mencionarse que el EGCG es un potente antioxidante y un eliminador de radicales libres y tiene efectos protectores en la isquemia y en la aterosclerosis. Puede disminuir la amiloidosis en el cerebro al actuar en el procesamiento de la aplicación. Por lo tanto, otros objetivos de EGCG pueden explicar el rescate observado de fenotipos que son causados principalmente por la sobreexpresión de *Dyrk1a*. Sin embargo, los resultados de la investigación sugieren un papel central para *Dyrk1a* en el funcionamiento del SNC y destacan un beneficio clínico potencial de los inhibidores de DYRK1A, particularmente de los extractos de polifenoles naturales; Estos extractos ya se utilizan como suplementos dietéticos para el tratamiento de otros trastornos y se ha demostrado que se toleran bien a dosis similares a las utilizadas en los estudios. Tal tratamiento puede usarse potencialmente para mejorar el rendimiento cognitivo de los pacientes con síndrome de Down.

5.3.2 POLIFENOLES DEL TÉ VERDE AL RESCATE DE DEFECTOS CEREBRALES

La depresión mayor es un trastorno psiquiátrico común que afecta al 17% de las personas en todo el mundo. Se estima que la depresión causa que aproximadamente 1 millón de personas se suiciden cada año. Aunque los antidepresivos han estado clínicamente disponibles durante varias décadas, la mayoría de ellos no son completamente efectivos, solo el 33% de los pacientes deprimidos son sensibles al primer medicamento antidepresivo y están asociados con muchos efectos adversos graves. Investigaciones recientes se han centrado en las hierbas medicinales tradicionales para el desarrollo de fármacos antidepresivos. Los productos naturales, especialmente los polifenoles vegetales, han atraído progresivamente más atención como intervenciones complementarias para mantener la salud y tratar enfermedades.

La actividad biológica de los polifenoles en los trastornos neurodegenerativos, la inflamación, el cáncer y las enfermedades cardiovasculares, implica la regulación del crecimiento y la proliferación celular, la actividad enzimática y la modulación de las cascadas celulares.

El té verde es una de las bebidas saludables más populares del mundo. La evidencia creciente indica que el té verde tiene múltiples beneficios para la salud, como efectos antiestrés, anticancerígenos y antioxidantes. Los polifenoles del té verde están constituidos mayoritariamente con 30% de catequinas de peso seco de hojas frescas que contribuyen a la mayor parte de su actividad beneficiosa para la salud.

Ensayos clínicos recientes encontraron que un mayor consumo de té verde condujo a una menor prevalencia de síntomas depresivos en personas japonesas de edad avanzada. Además, estudios previos informaron que GTP inhibe la actividad de la enzima monoaminooxidasa, lo que aumenta los niveles de monoaminas en las células gliales. Los antidepresivos convencionales y más nuevos, ejercen su efecto predominantemente a través de un aumento en las concentraciones sinápticas de monoaminas, lo que indica que los sistemas de monoamina juegan un papel esencial en el mecanismo de acción de los antidepresivos y la depresión fisiopatológica. Por lo tanto, está bien establecido que GTP podría desempeñar un papel fundamental en el tratamiento de la depresión.

El estrés es uno de los factores responsables de los trastornos depresivos, sus respuestas desadaptativas causan hiperactividad del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA), a través de la estimulación de la liberación de la hormona adrenocorticotrófica (ACTH) y la posterior liberación periférica de esteroides/ cortisol desde la glándula suprarrenal. La exposición al estrés o a la depresión, induce atrofia neuronal del hipocampo adulto, lo que puede contribuir a los cambios moleculares observados en la fisiopatología de la depresión.

El consumo oral de polifenoles del té verde ejerce importantes efectos antidepresivos. Y se asocia con la normalización de la disfunción del eje hipotalámico inducida por el estrés. La ingesta dietética regular de té verde puede mantener una concentración estable de GTP en el cuerpo y puede tener efectos valiosos. Estas ventajas de GTP brindan ideas interesantes sobre el desarrollo de GTP como posible fármaco antidepresivo.

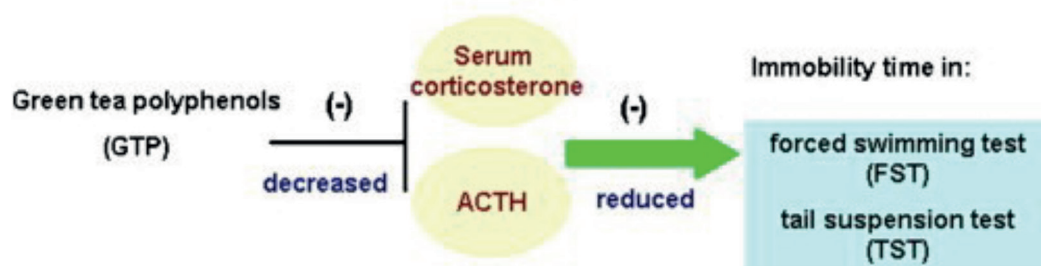


Figura. Los polifenoles del té verde disminuyen los signos de depresión en los animales experimentales.

Los polifenoles del té verde (GTP), que son los compuestos naturales extraídos de las hojas de té, poseen una serie de propiedades beneficiosas, como la reducción de los riesgos de cáncer y enfermedades cardíacas, el alivio de las deficiencias cognitivas y la actividad antidepresiva en la prueba de natación forzada (FST) y prueba de suspensión de cola (TST). El presente estudio fue diseñado para investigar el efecto protector de los TP en el modelo de depresión inducida por estrés leve impredecible crónico (CUMS) en ratones y para dilucidar los mecanismos subyacentes relacionados. Con la exposición diaria al estresor durante cinco semanas consecutivas, se administraron TP en ratones a una dosis diaria de 25 mg/kg o 50 mg/kg por sonda, durante tres semanas consecutivas a partir de la tercera semana. Nuestros resultados mostraron que CUMS disminuyó significativamente los niveles de serotonina sérica (5-HT) y norepinefrina (NE) en el hipocampo, la corteza prefrontal y el suero, y las actividades de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), con un aumento en el nivel de peroxidación lipídica, así como una reducción en el nivel de glutatión (GSH) y una elevación en la producción de malondialdehído (MDA) en el hipocampo y la corteza prefrontal. Los CUMS también redujeron la actividad en campo abierto, el consumo de sacarosa, así como una mayor duración de la inmovilidad en FST y TST. La administración de TP podría revertir efectivamente las alteraciones en las concentraciones de 5-HT y NE, elevar las actividades de SOD y CAT, así como el nivel de GSH, reducir el nivel de MDA e inhibir la peroxidación lipídica. Además, los TP podrían revertir efectivamente las alteraciones en la duración de la inmovilidad, el consumo de sacarosa y la actividad en campo abierto. En conclusión, la administración de polifenoles del té verde exhibió efectos similares a los antidepresivos en ratones con depresión inducida por CUMS. La actividad antidepresiva de los TP podría estar relacionada con la alteración de las respuestas monoaminérgicas y las defensas antioxidantes.

5.3.3 ACTIVIDAD NEUROGÉNICA

El té verde, la principal fuente de flavonoides en la dieta, particularmente las epicatequinas, significa la segunda bebida más consumida en todo el mundo, que varía su estado de una simple bebida cultural antigua a un componente nutritivo, dotado de posibles acciones beneficiosas neuro-farmacológicas. La evidencia acumulada sugiere que el estrés oxidativo, que resulta en la generación de especies reactivas de oxígeno, juega un papel fundamental en las enfermedades neurodegenerativas, apoyando la implementación de captadores de radicales y agentes quelantes de metales, como los polifenoles naturales del té, para la terapia. Grandes datos epidemiológicos indican una correlación entre la aparición de trastornos neurodegenerativos, como las enfermedades de Parkinson y Alzheimer, y el consumo de té verde. En particular, la literatura reciente fortalece la percepción de que diversas vías de señalización molecular, participando en la actividad neuroprotectora del polifenol principal del té verde, (-) - epigallocatequina-3-galato (EGCG), hace que este compuesto natural sea un agente potencial para reducir el riesgo de diversas enfermedades neurodegenerativas.

La epicatequina (compuesto flavan-3-ol) está comúnmente presente en el té verde y abundante con grupos hidroxilo fenólicos en sus anillos aromáticos, que confieren sus actividades antioxidantes y quelantes de hierro. La importancia de las catequinas del té verde en la mejora de la resistencia celular al estrés oxidativo o (OS), va más allá de las actividades simples de eliminación y quelación de hierro. En la última década, numerosos estudios han demostrado que las catequinas del té verde tienen actividades *in vitro* e *in vivo* para prevenir y/o reducir los efectos nocivos de los radicales libres derivados del oxígeno, asociados con varias enfermedades

humanas relacionadas con el estrés. Varias líneas de evidencia sugieren que la SG, que resulta en la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) de un proceso catalizado por enzimas o metales, juega un papel fundamental en los trastornos clínicos, como aterosclerosis, lesión por isquemia - reperfusión, cáncer, accidente cerebrovascular y trastornos neurodegenerativos. El daño oxidativo a las moléculas neuronales y el aumento de la acumulación de hierro en áreas específicas del cerebro, se consideran los principales aspectos patológicos de la enfermedad de Parkinson (EP), Alzheimer (EA) y esclerosis lateral amiotrófica (ELA). Por lo tanto, se ha asignado especial interés a la característica terapéutica de antioxidantes nutricionales y quelantes de hierro en enfermedades neurodegenerativas.

Una gran cantidad de estudios epidemiológicos sobre la EP y el deterioro cognitivo, describieron una reducción moderada del riesgo en los consumidores de té negro (fermentado), oolong (semi fermentado) y verde (no fermentado), en comparación con los que no beben té. Se cree que las propiedades favorables atribuidas al consumo de té se basan en sus catequinas bioactivas, relacionadas con la clase de flavanol y sus derivados, los cuales, actúan como captadores de radicales y ejercen efectos antioxidantes indirectos a través de la activación de factores de transcripción, reguladores de señalización y enzimas antioxidantes. En línea con esto, se ha prestado especial atención al estudio de la acción neuroprotectora de antioxidantes, quelantes de hierro y agentes antiinflamatorios, catequinas del té verde y, especialmente, el componente principal del té, (-)- epigallocatequina-3-galato (EGCG). La revelación de nuevos objetivos moleculares, posiblemente implicados en su acción neuroprotectora, incluye: homeostasis de calcio, proteínas quinasas activadas por mitógeno extracelular (MAPK) y vías de señalización de la proteína quinasa C (PKC), regulación de enzimas antioxidantes, elemento de respuesta antioxidante (ARE), células, genes y proteínas de muerte y supervivencia celular, asociados con la función mitocondrial, como los miembros de la familia Bcl-2, la ruta de procesamiento de la proteína precursora amiloide (APP) y los reguladores y sensores de hierro que codifican genes y proteínas, como el receptor de transferrina (TfR) e inducible por hipoxia factor (HIF)-prolil-hidroxilasas.

Esta revisión tiene como objetivo compilar estudios recientes sobre el mecanismo de acción molecular, implicado en las actividades neuroprotectoras y neuritogénicas inducidas por EGCG, que podría ser un resultado reflexivo de sus efectos sobre las vías de señalización de las células neuronales asociadas con las propiedades quelantes de hierro y antioxidantes.

EFICACIA NEURONAL DE LOS POLIFENOLES DEL TÉ VERDE

Estudio previo de la administración oral de té verde estableció la identidad química de dos metabolitos principales de catequina del té, (-)- 5- (3', 4', 5'-trihidroxifenil) - γ -valerolactona y (-) - 5- (3', 4'-dihidroxifenil) - γ -valerolactona, en orina y sangre humanas. Estos metabolitos parecían estar formados por la flora intestinal en el colon humano y luego absorbidos. Además, anteriormente, se informó que los metabolitos de la CE (glucurónido de epicatequina y glucurónido de epicatequina 3'-O-metilado) formados después de la ingestión oral de la CE por las ratas, habían ingresado al cerebro. Además, el estudio con EGCG marcado, demostró una amplia distribución de radiactividad en órganos de ratones, incluido el cerebro, después de la administración oral y una pequeña cantidad de excreción de [3H] EGCG en la orina después de la administración directa. Recientemente se observó que la absorción y farmacocinética de EGCG en diversas regiones del cerebro de ratas adultas y fetales, mediante administración oral e intravenosa, puede penetrar

potencialmente a través de la barrera hematoencefálica (BBB). El modelo in vitro de BBB demostró que varios flavonoides y algunos metabolitos podían atravesar la BBB y que el potencial de permeación era consistente con la lipofilia del compuesto.

Sobre la incertidumbre de la capacidad de las catequinas del té verde para penetrar en el cerebro, se observó que el té verde se correlaciona inversamente con la incidencia del envejecimiento cerebral, la demencia y la neurodegeneración, como la EP y la EA. Estudios epidemiológicos previos han demostrado un riesgo reducido de EP asociado con el consumo de dos tazas/día o más de té negro. En apoyo, Tan et al. encontró una asociación inversa entre el té negro y la EP, basada en un estudio prospectivo de 12 años de más de 63,000 hombres y mujeres, debido a sus ingredientes separados de su contenido de cafeína. En un estudio transversal, dirigido a investigar una asociación entre el consumo de té verde y la función cognitiva en sujetos japoneses de edad avanzada, se descubrió que un mayor consumo de té verde se asocia con una menor prevalencia de deterioro cognitivo. A pesar de que la prevalencia de la EP es mucho menor en los consumidores de té, la asociación del de que la prevalencia de la EP es mucho menor en los consumidores de té, la asociación del bien establecida. No se ha realizado ningún estudio de casos y controles que indique un efecto beneficioso asociado con el consumo de té en la EA, aunque recientemente Ng et al. realizó un análisis de la ingesta de té verde comparando los datos de referencia de 2.501 participantes y 1.438 participantes cognitivamente intactos de un seguimiento de dos años de la cohorte china en el Estudio de Envejecimiento Longitudinal de Singapur. El té verde se asoció inversamente con el deterioro cognitivo, posiblemente debido al pequeño número de bebedores de té verde en esta cohorte. Estos hallazgos enfatizan la importancia de estudios controlados bien diseñados para evaluar una reducción del riesgo de EP y EA en los consumidores de té verde. De hecho, se está completando un estudio aleatorizado, doble ciego y de eficacia en Beijing, China (2009), para determinar la seguridad, la tolerabilidad y los posibles efectos neuroprotectores de una preparación enriquecida con polifenoles de té verde, en pacientes con EP de novo sin tomar ninguna droga anti Parkinson (patrocinado por la Fundación Michael J. Fox para la Investigación del Parkinson). De acuerdo con esto, otro estudio de eficacia clínica (patrocinado por la Universidad Charite, Berlín, Alemania) tiene como objetivo evaluar si un extracto de té verde que contiene 95% de EGCG, administrado diariamente como medicamento oral durante un período de 12 meses, tiene propiedades antiinflamatorias y neuroprotectoras en pacientes con esclerosis múltiple recurrente-remitente evaluada por resonancia magnética y examen clínico.

MECANISMO DE ACCIÓN DE NEUROPROTECCIÓN

Estudios preclínicos

Aunque la evidencia en estudios en humanos es limitada, hay investigaciones e informes acumulados sobre modelos in vitro y animales de enfermedades neurodegenerativas relacionadas con el envejecimiento, demostraron efectos protectores de las catequinas del té verde. Los estudios neuroprotectores in vivo que emplean la neurotoxina inductora del parkinsonismo, han demostrado que tanto el extracto de té verde como el EGCG poseen actividades muy potentes para prevenir la dopamina estriatal de ratones (DA) depleción y pérdida de neurona dopaminérgica de sustancia negra (SN). Un posible mecanismo subyacente a la efectividad del té verde y EGCG contra la neurotoxicidad de MPTP, puede involucrar su estructura similar a catecol, ya que se sabe que los compuestos que contienen catecol son potentes antioxidantes radicales y quelantes de iones férricos, como

la R-apomorfina (R- APO). La semejanza estructural del catecol puede explicar un efecto inhibitorio recientemente informado de los polifenoles del té verde sobre la absorción de [3H] DA por los transportadores presinápticos. Se sugirió que esta inhibición bloquea el producto metabólico de MPTP (la captación de neurotoxina 1- metil-4-fenilpiridinio, MPP +) debido a la competencia por el transportador vesicular, protegiendo las neuronas que contienen DA contra la lesión inducida por MPP +. Los estudios in vitro también demostraron la inhibición de la neurotoxicidad inducida por MPP + y 6- hidroxidopamina (6-OHDA) por EGCG. Además, EGCG, a una concentración baja de CI50 (0.2 μ M), inhibió la actividad de la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT) en homogeneizados de citosol de hígado de rata. La DA y las catecolaminas relacionadas son sustratos fisiológicos de COMT. Los inhibidores de la COMT, entacapona y tolcapona, Además, EGCG, a una concentración baja de CI50 (0.2 μ M), inhibió la actividad de la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT) en homogeneizados de citosol de hígado de rata. La DA y las catecolaminas relacionadas son sustratos fisiológicos de COMT. Los inhibidores de la COMT, entacapona y tolcapona, prescritos clínicamente a individuos afectados de EP, inhibieron la formación del metabolito principal de levodopa (3-O-metildopa) dependiente de la dosis, mejorando así su biodisponibilidad en el cerebro. Además, la acumulación de hierro se ha implicado en una variedad de trastornos neurodegenerativos y se ha informado que el hierro se acumula en las neuronas y en la microglía en pacientes con EP de SN. Por lo tanto, la implicación de la propiedad de quelación de hierro de EGCG en la neuroprotección se ha visto reforzada por las observaciones de que, tanto MPTP como 6-OHDA, aumentaron significativamente los niveles de hierro en SN pars compacta (SNPC) de ratones, ratas y monos.

Aunque los estudios epidemiológicos de AD no informaron ningún resultado establecido en relación con el consumo de té verde, las observaciones in vitro mostraron que EGCG previno la neurotoxicidad inducida por los péptidos beta amiloides ($A\beta$) y la CE redujo las fibrillas $A\beta$ nacientes, el alargamiento de las fibrillas y la desestabilización de los conjuntos formados. Además, EGCG pudo regular el procesamiento proteolítico de APP en condiciones in vivo e in vitro, lo que sugiere que los polifenoles del té verde podrían ser agentes terapéuticos potencialmente prometedores para la EP y la EA. EGCG promovió la vía de la α -secretasa no amiloidogénica de APP en cultivos de células neuronales, lo que resultó en un aumento consecuente de APP α soluble (sAPP α). Además, el tratamiento a largo plazo de ratones con EGCG dio como resultado disminuciones en los niveles de APP de longitud completa asociados con las células, así como aumentos en los niveles de sAPP α en el hipocampo. Los nuevos datos de apoyo provienen de un estudio realizado en un modelo de ratones transgénicos de Alzheimer (sobreexpresión de APP mutante "sueca", APP^{swTg}), que muestra que EGCG promovió la generación de sAPP α y disminuyó los niveles y placas de $A\beta$, a través, de la promoción de la ruta proteolítico α -secretasa no amiloidogénico. Recientemente, la administración a largo plazo de EGCG proporcionó beneficios profilácticos en el deterioro del aprendizaje cognitivo espacial en ratas causado por la infusión de ventrículo cerebral $A\beta$, también evitó la muerte celular neuronal mediada por lipopolisacáridos y el deterioro de la memoria de los ratones, posiblemente mediante la reducción de los niveles de $A\beta$ a través de la inhibición de β - y γ -secretasas.

Los modelos preclínicos suplementarios de otras enfermedades neurodegenerativas, demostraron que EGCG indujo la prolongación del inicio de los síntomas y la esperanza de vida, y atenuó las señales de muerte en el modelo de ratones con ELA, expresando el gen de la dismutasa Cu/Zn-superóxido dismutasa (SOD1) humana G93A mutada. Además, se ha demostrado que EGCG es neuroprotector en ratas ancianas y en modelos animales de isquemia cerebral focal y global.

Regulación de ROS y actividades de quelación de hierro

Está bien establecido que las catequinas poseen propiedades de eliminación de radicales libres y actúan como antioxidantes biológicos. Las catequinas pueden eliminar los radicales superóxido e hidroxilo, así como el radical 1,1-difenil-3-picrilhidrazilo, radicales peroxilo, óxido nítrico, radicales libres de centro de carbono, radicales libres de oxígeno y lípidos singlete, y peroxinitrito; al prevenir la nitración de tirosina. Estos compuestos pueden quelar los iones metálicos, como el cobre (II) y el hierro (III) para formar complejos inactivos y evitar la generación de radicales libres potencialmente dañinos. Se ha descubierto que las catequinas son captadoras de radicales más eficientes que la vitamina E y C. En la mayoría de los informes, se demostró que EGCG es más eficiente como eliminador de radicales que sus homólogos ECG, EC y EGC, lo que puede atribuirse a la presencia del grupo trihidroxilo en el anillo B y el resto de galato en el 3' posición en el anillo C. En la mayoría de los informes, se demostró que EGCG es más eficiente como eliminador de radicales que sus homólogos ECG, EC y EGC, lo que puede atribuirse a la presencia del grupo trihidroxilo en el anillo B y el resto de galato en el 3' posición en el anillo C. En el tejido cerebral de rata, se demostró que los extractos de té verde y negro inhiben la peroxidación lipídica promovida por el

ascorbato de hierro en las membranas mitocondriales cerebrales. También se informó un efecto similar utilizando sinaptosomas cerebrales, en los que se demostró que las cuatro

catequinas principales del té verde, inhiben la peroxidación lipídica inducida por hierro. Con respecto a ello, se demostró que EGCG atenuó la peroxidación lipídica microsómica inducida por paraquat y aumentó la

tasa de supervivencia de envenenado con paraquat. Además, Higuchi et al. sugirió que EGCG inhibió la producción de malondialdehído, inducido por paraquat en el sistema de microsoma hepático de rata, a través de dos posibles mecanismos:

1. Mediante la eliminación de radicales superóxido, los cuales fueron responsables de la reducción de férrico (Fe^{3+}) a ferroso (Fe^{2+}), catalizado por la reacción de Fenton.

2. A través de la actividad quelante de hierro, donde la inhibición desapareció cuando se añadió una cantidad excesiva de FeSO_4 a la reacción.

Esto indica que EGCG inhibió la peroxidación lipídica impulsada por hierro al extraer el hierro disponible. Por lo tanto, el efecto protector de EGCG, contra enfermedades neurológicas, puede implicar su eliminación de radicales y actividades quelantes de hierro. Además, la inhibición de las enzimas, cuya actividad promueve la SG o un aumento de las actividades enzimáticas antioxidantes, podría tener una importancia beneficiosa para la neuroprotección de EGCG. De hecho, informes anteriores demostraron que se encontró que EGCG eleva la actividad de dos enzimas antioxidantes principales, la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa en el cuerpo estriado de los ratones.

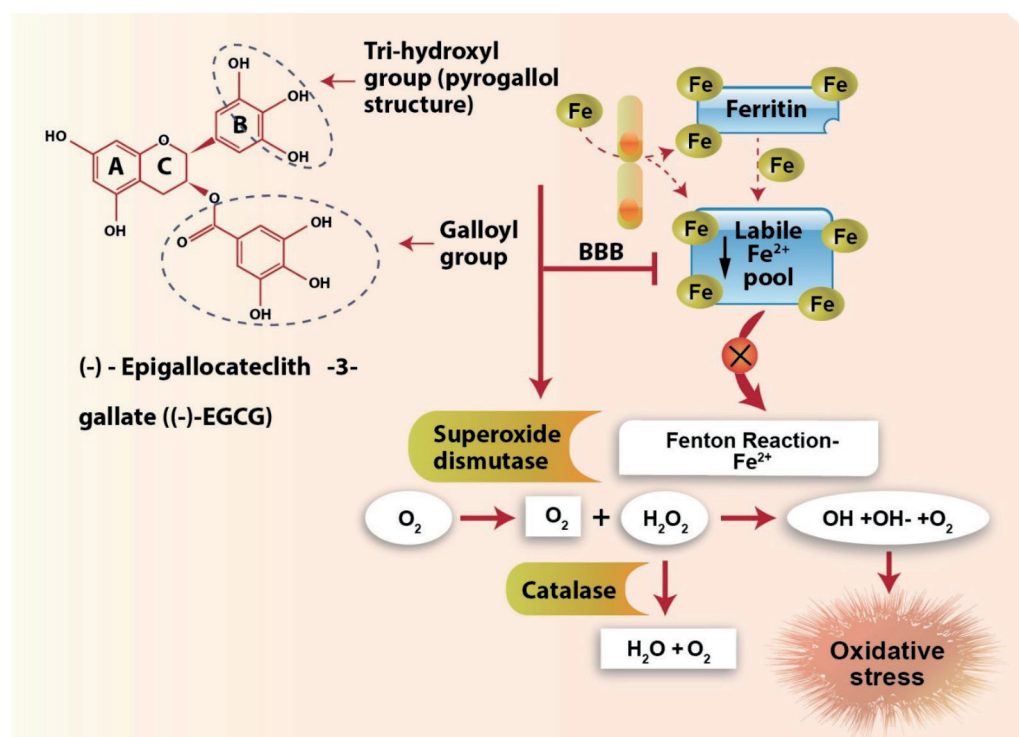


Figura. Mecanismo de acción del polifenol del té verde, EGCG en neuroprotección, actividades antioxidantes y quelantes de hierro de EGCG. Los efectos neuroprotectores de EGCG pueden implicar la inhibición de la reacción de Fenton y la regulación positiva de las enzimas antioxidantes, como la superóxido dismutasa y la catalasa.

La capacidad de las catequinas del té verde y, en particular, el EGCG, para quelar iones metálicos, como el hierro y el cobre, puede contribuir a su actividad antioxidante/neuroprotectora, al inhibir la formación de radicales libres catalizados por metales de transición. Los dos puntos de unión de los iones de metales de transición a las moléculas flavonoides son: los grupos o-difenólicos en las posiciones 3', 4'-dihidroxi en el anillo B, la estructura ceto 4-ceto, 3-hidroxi o 4-ceto y 5-hidroxi en el anillo C de los flavonoles. La capacidad de las catequinas del té verde, para actuar como quelantes de metales relativamente potentes, puede ser de gran importancia para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, ya que se ha demostrado la acumulación de hierro en áreas cerebrales neurodegenerativas. Lo más importante es que se informó que el té verde no afecta la absorción de hierro en sujetos humanos sanos. La localización de hierro y ferritina en pacientes con EP, está restringida a áreas cerebrales específicas en el SNPC, pero no a la retina. De manera similar, la patogénesis de AD está asociada con la acumulación de hierro y está relacionada con el depósito neocortical característico de A β , la fosforilación de tau y la formación de enredos, que puede estar mediada por una interacción anormal con exceso de hierro quelable libre. El hierro iónico puede, a su vez, participar en la reacción de Fenton con la generación posterior de ROS, iniciando los procesos de OS y la cascada inflamatoria, lo que resulta en la producción de citocinas citotóxicas (necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleukins-1 y -6) en la microglia y las neuronas circundantes y la activación de factores de transcripción y factor nuclear-kappa B (NF- κ B). De hecho, se encontró un marcado aumento en la inmunoreactividad NF- κ B en el núcleo de las neuronas dopaminérgicas de la SNPC Parkinsoniana, en comparación con los cerebros normales. Se descubrió que EGCG inhibía la translocación nuclear de NF- κ B en sistemas in vitro: los ensayos de inmunofluorescencia y cambio de electromovilidad, mostraron que la introducción

del extracto de té verde, antes de 6-OHDA, inhibía tanto la translocación nuclear de NF- κ B como la actividad de unión en las células SH-SY5Y del neuroblastoma humano. Además, esta actividad reducida de NF- κ B por EGCG y el polifenol de digalato de teflavina-3,3' del té negro, se asoció con la inhibición de la producción de TNF- α , inducida por lipopolisacárido (LPS), y la sintasa de óxido nítrico, inducible por enzimas (iNOS), responsable de la producción del radical libre de vida corta, óxido nítrico, en macrófagos activados.

Curiosamente, estudios recientes han identificado un nuevo vínculo entre el hierro y la EA, asociado con una mejora de la traducción endógena de APP y la posterior formación de A β , a través de la activación de un elemento sensible al hierro (IRE-tipo II) en la región 5' no traducida (UTR) de APP mRNA. Cabe destacar que un estudio reciente demostró un aumento significativo de la astrocitosis reactiva y la inmunoreactividad de iNOS, que se acompañó de daño neuronal en la corteza temporal y el hipocampo de las ratas inyectadas con A β (25-35). Estos hallazgos abrieron una nueva vía terapéutica potencial dirigida a reducir la amiloidosis con un eliminador de radicales y medicamentos quelantes de hierro que modulan la traducción de ARNm de APP. En apoyo, un reciente estudio in vitro, demostró que EGCG redujo la APP de longitud completa en células SH-SY5Y sin alterar los niveles de ARNm de APP, acompañado por un aumento dependiente de la dosis en el nivel de la proteína relacionada con el metabolismo del hierro, TfR, que también comparte el secuencia de consenso para una IRE en el 3'-UTR de su ARNm. La suplementación con hierro exógeno revirtió los efectos de EGCG, lo que sugiere una acción postranscripcional, presumiblemente por el mecanismo de quelación de los depósitos de hierro intracelular. Esto se ve respaldado por la observación de que EGCG suprimió la traducción de un gen indicador de luciferasa dirigido por las secuencias de APP que contienen IRE-tipo II. Además, se descubrió que EGCG redujo notablemente los niveles de A β secretada en el medio acondicionado de células de ovario de hámster chino, sobreexpresando la APP mutada "sueca" (CHO/ Δ NL) y en células neuronales primarias derivadas de ratones transgénicos que llevan la APP mutada "sueca".

Recientemente, Friedlich et al. han descrito una IRE putativa en el 5'-UTR del ARNm de α -sinucleína, relacionado con la EP y predijeron que esta estructura de ARN puede tener el potencial de funcionar como un regulador postranscripcional de su síntesis de proteínas en respuesta a eventos redox y de hierro parecidos. Este hallazgo puede explicar, en parte, la observación previa que demuestra que EGCG previno la regulación positiva de α -sinucleína dependiente de hierro en el SNPC de ratones tratados con MPTP, lo que resulta en neuroprotección de neuronas dopaminérgicas SN. Por lo tanto, las actividades de eliminación de radicales y quelato de hierro libre de las catequinas del té verde, pueden influir directamente en la agregación y la deposición de A β o α -sinucleína en los cerebros de pacientes con AD y PD, respectivamente.

Regulación de la vía alfa del factor inducible por hipoxia (HIF) -1

Un objetivo emergente para la neuroprotección asociada con la quelación de hierro, implica la activación de una vía de transducción de señales de hipoxia que culmina en la estabilización del activador transcripcional HIF-1 y una mayor transcripción de genes que median los procesos de supervivencia compensatoria en respuesta a la SG. La presencia de HIF-1 dentro de las células, está bajo el estricto control de una clase de enzimas sensores de oxígeno y dependientes de hierro denominadas las proli-4-hidroxilasas de HIF. En el siguiente esquema se observa que los quelantes de hierro estabilizan HIF-1 alfa, que a su vez, se

heterodimeriza con su compañero HIF-1 beta en el núcleo, se une a un elemento sensible a la hipoxia en genes reguladores y transactiva la expresión de genes protectores establecidos, incluyendo el factor de crecimiento endotelial vascular angiogénico (VEGF), eritropoyetina, p21waf1/cip1, transportador de glucosa-1 y las enzimas glucolíticas aldolasa y enolasa-1. De hecho, se demuestra que EGCG y ECG inducen la proteína alfa HIF-1 y la actividad HIF-1, aumentan los niveles de expresión de ARNm del transportador de glucosa 1 (GLUT-1), VEGF y p21waf1/cip1, y bloquea por hierro y ascorbato, lo que indica que estas catequinas pueden activar HIF-1 a través de la quelación de hierro. Aplicando un paradigma de neuro rescate en el cultivo neuronal, recientemente se descubrió que EGCG disminuyó los niveles de transcripción de ARNm, las proteínas de la subunidad beta de la prolil-4-hidroxilasa y los niveles de proteína de dos chaperonas moleculares, asociadas con la regulación/degradación de HIF, la proteína de unión a la cadena pesada de inmunoglobulina y la proteína de choque térmico 90 (HSP90). En apoyo, el hallazgo anterior demostró que EGCG se une e inhibe directamente HSP90 en células de hepatoma de ratón. Ésta inhibición es considerado un requisito para la rápida estabilización hipóxica de HIF-1 alfa. Por lo tanto, es posible que el efecto protector de EGCG, en condiciones de OS/hipóxico, pueda combinar la supresión de la formación de radicales hidroxilo a través de la química de Fenton, así como la inhibición de la prolil hidroxilasa dependiente de hierro.

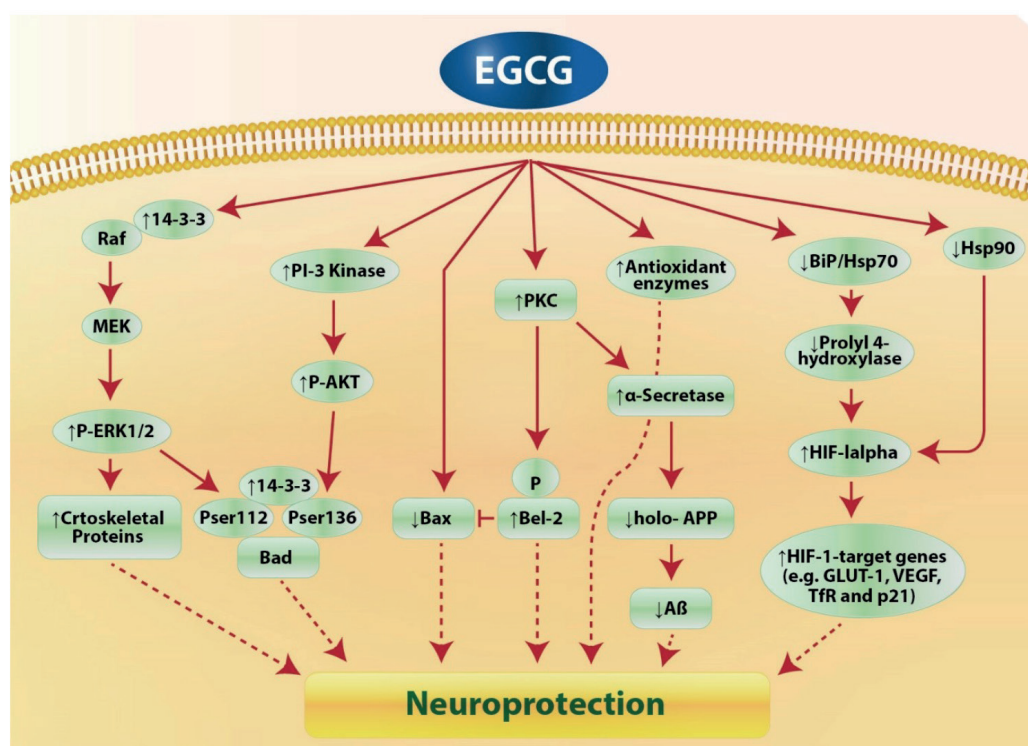


FIGURA. Modelo esquemático propuesto del mecanismo de acción neuroprotector de (-)- epigallocatequina-3-galato (EGCG). El diagrama muestra las posibles vías moleculares involucradas en los efectos multifuncionales de EGCG en los tejidos neuronales.

Otro vínculo entre la hipoxia y el hierro se refleja en la regulación positiva mediada por hipóxico de las proteínas reguladoras de hierro, IRP1 e IRP2, y la consecuente transactivación de sus ARNm diana, ferritina y TfR. y la consecuente transactivación de sus ARNm diana, ferritina y TfR. Curiosamente, la degradación de IRP2 mediada por proteasomas e inducida por hierro libre, implica la activación de una prolil hidroxilasa e inhibe por los quelantes de hierro. Por lo tanto, es posible que IRP2 sea un sustrato para esta enzima, de manera similar a HIF, lo que indica la degradación de la proteína.

La reducción en el grupo de hierro quelable por EGCG, puede dar como resultado la inhibición de la actividad de la prolil hidroxilasa y, en consecuencia, la activación concertada de HIF e IRP2. Como HIF-1 e IRP coordinan la expresión de una amplia gama de genes, implicados en la homeostasis celular del hierro, la supervivencia y la proliferación, su activación podría ser de gran importancia en la nueva estrategia terapéutica de las enfermedades neurodegenerativas. En apoyo, hallazgos recientes sugieren la aplicación de inhibidores peptídicos o de bajo peso molecular de las 4-hidroxilasas de prolil HIF como terapia neurológica novedosa.

Regulación de las vías de señalización celular que promueven el crecimiento neuronal

La evidencia emergente sugiere que las actividades quelantes de hierro y antioxidantes de las catequinas del té verde no pueden ser el mecanismo exclusivo responsable de su acción neuroprotectora, sino que su capacidad para alterar las vías de señalización puede contribuir significativamente al efecto de supervivencia celular. La modulación de la supervivencia celular y las vías de transducción de señales, tiene importantes consecuencias biológicas que son importantes para comprender las diversas respuestas farmacológicas y toxicológicas de los fármacos antioxidantes. Se ha descrito que varias vías de señalización intracelular desempeñan funciones centrales en la protección neuronal promovida por EGCG contra una variedad de lesiones extracelulares, como las rutas MAPK, PKC y fosfatidilinositol-3-quinasa (PI-3 quinasa -Akt) (Figura). Dado el papel crítico de las vías de MAPK, en la regulación de los procesos celulares que se ven afectados en enfermedades neurodegenerativas, la importancia de las MAPK, como transductores de estímulos extracelulares en una serie de fosforilación intracelular es reconocida cada vez más. El sistema operativo parece ser un estímulo importante para la cascada MAPK, lo que podría conducir a la supervivencia/muerte celular. Estudios in vitro demostraron la potencia de EGCG para inducir genes defensivos mediados por ARE y vías de MAPK, incluyendo varios reguladores de señalización de supervivencia celular p44/42 ERK 1/2, JNK y p38 MAPK. El papel de la señalización ERK1/2 parece estar relacionado con la atenuación de la muerte neuronal y la lesión celular por el sistema operativo. EGCG contrarrestó la disminución de ERK1/2 inducido por 6-OHDA e indujo la fosforilación de ERK1/2 en células SH-SY5Y privadas de suero.

La actividad de EGCG también involucra al mediador de señalización intracelular PKC, el cual se cree tiene un papel esencial en la regulación de la supervivencia/muerte celular programada. Una pérdida rápida de la actividad neuronal de PKC es una consecuencia común de la neurodegeneración cerebral. Se cree que la inducción de la actividad PKC, en las neuronas por EGCG (1–10 μ M), es un requisito previo para la neuroprotección contra varias neurotoxinas, como A β , extracción de suero y 6-OHDA, ya que la inhibición de la fosforilación de PKC abolió por completo la protección inducida por EGCG y por el activador PKC, forbol 12-miristato 13-acetato (PMA). Estos resultados in vitro fueron respaldados por un informe anterior, que demuestra que EGCG causó un aumento significativo

de los niveles de isoenzimas PKC α y ϵ , en las fracciones de membrana y citosólicas del hipocampo de ratones. Estas isoformas desempeñan un papel crucial en la supervivencia celular y las vías de diferenciación y pueden estar involucradas en el procesamiento regulador de APP asociado con la patogénesis de la EA. De hecho, estudios previos en cerebros de pacientes con EA demostraron una reducción de la actividad de PKC ϵ .

El mecanismo, por el cual, la activación de PKC conduce a la neuroprotección comienza a dilucidarse, ya que los estudios con tejidos extraneuronales apoyan un papel para PKC α como una quinasa del Bcl-2 antiapoptótico, a través de la fosforilación directa o indirecta de esta proteína de supervivencia celular. Los estudios experimentales neuroprotectores demostraron que el efecto protector de EGCG estaba asociado con niveles reducidos de los marcadores apoptóticos, caspasa 3 cortada, puesto que su sustrato fue escindido aguas abajo poli-ADP-ribosa-polimerasa (PARP) y Bad. Esto se ve respaldado por la observación de que EGCG no pudo superar la muerte neuronal bajo el bloqueo de la vía PKC, lo que sugiere que esta cascada es esencial para los efectos neuroprotectores y de neuro-rescate de EGCG.

Recientemente, se identificó una nueva vía en el mecanismo de acción neuroprotector de EGCG, que implicó una degradación rápida mediada por PKC de la proteína Bad por la ubiquitina UPS en las células SH-SY5Y. Se sugirió que Bad vincula las señales de supervivencia a la maquinaria de muerte celular mitocondrial. Por lo tanto, el papel recientemente descrito de Bad durante la respuesta inicial a la señalización celular inducida por EGCG, puede iluminar el mecanismo de acción neuroprotectora de rescate neurológico de EGCG. Además, se demostró que EGCG indujo una translocación rápida de la isoforma PKC α al compartimento de la membrana en células de astroglioma humano o feocromocitoma PC12 de rata, así como la regulación positiva de la expresión de ARNm de PKC ϵ , y una activación dependiente de la concentración de PKC ϵ en suero privado de SH - SY5Y células. Estos hallazgos fueron respaldados por estudios en animales que mostraron que el consumo oral de EGCG durante dos semanas, evitó el agotamiento extenso de PKC α y contrarrestó el fuerte aumento de la proteína Bax en el cuerpo estriado y SNPC de ratones intoxicados con MPTP.

Un estudio previo en queratinocitos epidérmicos humanos, indicó que EGCG promueve la supervivencia celular al aumentar la proporción de Bcl-2 pro-supervivencia a Bax proapoptótico e indujo la fosforilación de Bad a través de las vías de señalización ERK y AKT. Usando el inhibidor de la proteína quinasa 1 activada por mitógeno MEK1, PD98059 y EGCG, indujo solo la fosforilación de la serina (Ser) 136 de Bad, mientras el inhibidor de la quinasa PI-3 (LY294002) y EGCG solo indujo la fosforilación de Ser112 de Bad. Estos resultados indicaron que EGCG afecta tanto la ruta ERK, que está involucrada en la fosforilación de Bad en Ser112, como la ruta PI-3 quinasa/AKT, involucrada en la fosforilación de Bad en Ser136. No obstante, un estudio con altas concentraciones con EGCG, informó la detención de la proliferación celular de las células tumorales y la inhibición de la fosforilación de ERK1/2 y AKT, que se asoció con una fosforilación reducida de Bad. Este modo bifásico de actividad biológica de EGCG, se basa en su ventana de acción farmacológica dependiente de la concentración. EGCG exhibe actividad prooxidante y proapoptótica a altas concentraciones, que son responsables de su efecto de muerte celular contra el cáncer, mientras que las dosis más bajas ejercen neuroprotección contra un amplio espectro de compuestos neurotóxicos. Se ha descrito un modo de acción bifásico para la mayoría de los eliminadores de radicales y antioxidantes típicos, como el ácido ascórbico (vitamina C) y los quelantes de hierro, como el R-APO. Cuando las células SH-SY5Y se desafiaron

con 6-OHDA o contenido reducido de suero, una baja concentración de EGCG (<10 μ M) abolió la inducción de ARNm relacionados con proapoptóticos y la disminución de Bcl-2, Bcl-w y Bcl-xL. Se cree que el efecto neuroprotector de EGCG está mediado por la regulación negativa de los genes proapoptóticos, como se muestra para mdm2 caspasa-1, inhibidor de cinasa dependiente de ciclina p21 e inductor de apoptosis relacionado con TNF TRAIL. En apoyo, un estudio reciente demostró que a concentraciones nanomolares y la EC, estimuló la ruta de señalización de la quinasa MAPK y PI-3, la fosforilación de la proteína de unión al elemento de respuesta a AMPc (CREB) y la actividad del elemento sensible a AMPc, dependiente de ERK en neuronas corticales primarias. Por su parte, el micromolar y la activación mediada por la CE de las rutas de la proteína quinasa, se perdieron y hubo una inhibición de la fosforilación de CREB.

Además, un estudio proteómico reciente demostró que EGCG aumentó los niveles de la proteína de unión a la señalización celular 14-3-3 gamma. Mediante su interacción, con más de 100 parejas de unión, los miembros de la familia de proteínas 14-3-3 modularon la acción de las proteínas que participaron en el ciclo celular y el control transcripcional, transducción de señales, el tráfico intracelular, la regulación de los canales iónicos y la expresión de los componentes del citoesqueleto. En este sentido, la actividad neurorescatada/neuroprotectora de EGCG puede estar asociada con la inducción de 14-3-3 gamma, interactuando con quinasas de la vía PKC y Bad y, en consecuencia, evitando la muerte neuronal. Un estudio anterior demostró que la sobreexpresión de 14-3-3 gamma contribuyó a la regulación de la dinámica de los filamentos de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP), lo que puede facilitar la estabilidad del citoesqueleto y, por lo tanto, desempeñar un papel neuroprotector específico en el cerebro de pacientes con EA. De hecho, un análisis proteómico reciente mostró que EGCG aumentó de forma dependiente de la dosis los niveles de expresión de varias proteínas estabilizadoras de la organización de la cromatina y el ADN, el miembro 4 de la histona H1 y las proteínas del citoesqueleto, como la proteína de unión a la actina, tropomiosina 3 y beta-tubulina IV. Dado que las proteínas del citoesqueleto desempeñan un papel crucial en la promoción del crecimiento de neuritas, estos resultados sugieren que la inducción de proteínas estructurales, por EGCG, está asociada con sus características de diferenciación, incluida la extensión de neuritas, el alargamiento del cuerpo celular y la regulación positiva de la proteína asociada al crecimiento-43 (GAP -43). Estos hallazgos respaldan la suposición de que, además de las actividades antioxidantes y quelantes de hierro, los mecanismos complementarios están involucrados en el efecto neuroprotector de EGCG.

Las bajas concentraciones, tanto de polifenoles del té verde como de EGCG, potencian el factor de crecimiento neuronal, acción a través de la inducción de niveles subletales de ROS, como lo demuestra el bloqueo de estos efectos por los antioxidantes. Estudios anteriores han demostrado una inducción de apoptosis en células tumorales por GTPP y EGCG a altas concentraciones mediadas por ROS, generadas por autooxidación de estos agentes. Por lo tanto, es posible que bajas concentraciones de GTPP puedan inducir la producción de un nivel subletal de ROS que luego actúa como un segundo mensajero. Recientemente hemos demostrado que los niveles subletales de ROS inducen neuritogénesis. Si bien, el mecanismo preciso aún no se ha dilucidado, nuestros resultados sugieren fuertemente una relación causal entre la señalización celular inducida por oxidantes y la potenciación por GTPP de la neuritogénesis inducida por NGF. Estudios elegantes anteriores han demostrado las propiedades antioxidantes de EGCG. Nuestra sugerencia de un papel para las especies reactivas de oxígeno, en la acción de GTPP y EGCG,

no se contradice con estos estudios previos ya que varios antioxidantes también son prooxidantes. Además, se sabe que el estrés oxidativo subletal induce una respuesta celular antioxidante.

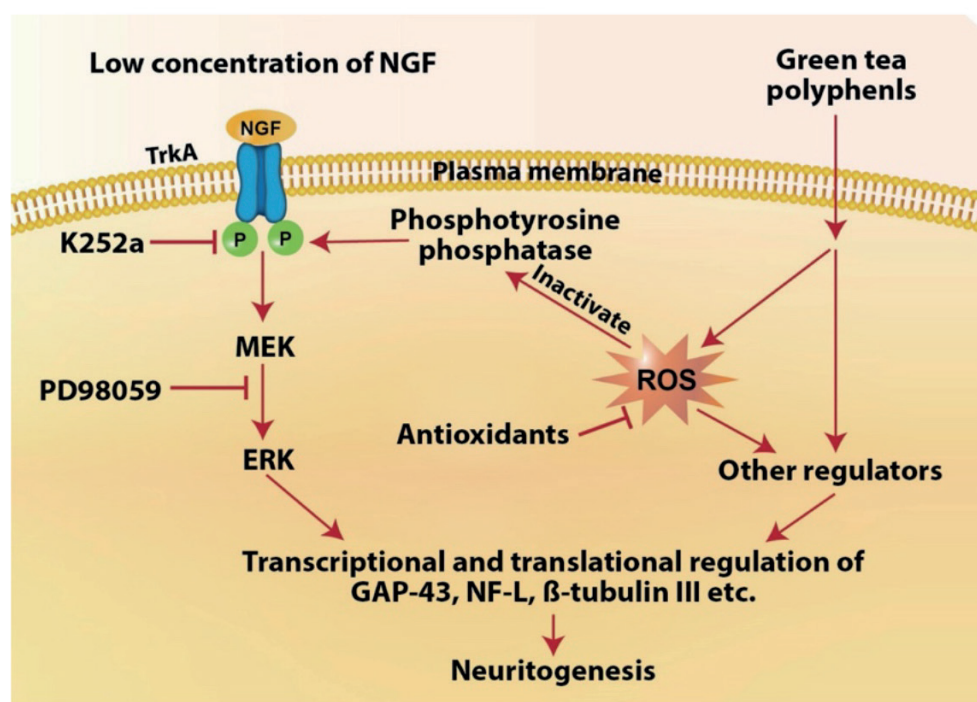


Figura. Presentación esquemática de un posible mecanismo, por el cual, los polifenoles del té verde potencian el crecimiento de neuritas inducidas por NGF.

Se ha informado previamente que los oxidantes inactivan la proteína fosfatasa 1B de fosfotirosina y, por lo tanto, activan la tirosina quinasa asociada a TrkA, desencadenando la activación aguas abajo de ERK. Es intrigante que esto esté de acuerdo con nuestras observaciones actuales, ya que la activación de ERK y la expresión génica están inhibidas tanto por los antioxidantes como por K252a.

Se ha identificado una variedad de productos naturales que pueden potenciar la acción del NGF para inducir el crecimiento de neuritas en el cultivo celular. Sin embargo, no se han establecido datos farmacocinéticos para muchos de estos compuestos. Además, se desconoce si estos agentes pueden cruzar la barrera hematoencefálica, puesto que no se ha determinado la seguridad de estos agentes para los humanos. Mientras tanto, los datos farmacocinéticos sobre los componentes de GTPP, están bien establecidos en humanos, ya que se ha demostrado que los componentes de té verde, como EGCG, cruzan la barrera hematoencefálica. Además, se ha demostrado que el té verde y el EGCG son seguros para los humanos. Actualmente se están realizando ensayos clínicos para examinar el uso de estos agentes en la prevención del cáncer. Como tal, el GTPP se puede evaluar de manera fácil y segura en humanos para promover la recuperación después de lesiones neuronales, así como para revertir la pérdida de plasticidad neuronal relacionada con la edad.

5.3.4 ATENÚA LA EXCITOTOXICIDAD

Los polifenoles del té verde son un producto natural que tiene efectos antioxidantes y antiapoptóticos. Se ha demostrado que el estrés oxidativo inducido por excitotoxicidad por glutamato está relacionado con enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson. En este estudio exploramos el efecto neuroprotector de los polifenoles adolescentes verdes contra la excitotoxicidad del glutamato en las neuronas corticales primarias cultivadas. Los polifenoles del té verde protegen contra la neurotoxicidad inducida por glutamato en las neuronas corticales medidas por los ensayos MTT y TUNEL. Luego se demostró que los polifenoles del té verde inhiben la liberación de ROS inducida por glutamato y la reducción de la actividad de SOD en las neuronas. Nuestros resultados demostraron que los polifenoles del té verde restauraron la disfunción de las proteínas mitocondriales pro o antiapoptóticas Bax, Bcl-2 y caspasa-3, causadas por el glutamato. Curiosamente, el efecto neuroprotector de los polifenoles del té verde se derogó cuando las neuronas se incubaron con siBcl-2. Tomados en conjunto, estos resultados demostraron que los polifenoles del té verde protegen contra la excitotoxicidad del glutamato a través de vías antioxidantes y antiapoptóticas.

El glutamato es un neurotransmisor importante en el sistema nervioso central de los mamíferos. Las neuronas glutamatérgicas forman el sistema excitador principal en el cerebro y juegan un papel fundamental en muchas funciones neurofisiológicas. Sin embargo, la liberación excesiva de glutamato puede conducir a la disfunción neuronal y la muerte celular en un proceso que ahora se conoce como excitotoxicidad. Sorprendentemente, se ha demostrado que la excitotoxicidad del glutamato desempeña un papel importante en muchas enfermedades neurodegenerativas, incluida la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Parkinson (EP) y la enfermedad de Huntington (HD). La evidencia creciente sugiere que la disfunción mitocondrial mediada por el estrés oxidativo inducido por excitotoxicidad por glutamato, se asoció con trastornos neurodegenerativos agudos y crónicos. Se ha demostrado que la excitotoxicidad del glutamato estaba implicada en la patogénesis del dolor inflamatorio. De hecho, las especies reactivas de oxígeno también se han implicado en la cascada de eventos resultantes del dolor inflamatorio. Dado que la excitotoxicidad del glutamato y el estrés oxidativo son dos características comunes para diversas enfermedades neurodegenerativas y dolor inflamatorio, la búsqueda de medicamentos o productos naturales dirigidos a la excitotoxicidad del glutamato y el estrés oxidativo es una buena estrategia para posibles tratamientos de enfermedades neurodegenerativas y dolor inflamatorio.

Recientemente, se ha descrito un número cada vez mayor de compuestos polifenólicos con efectos neuroprotectores. Los efectos más discutidos de los polifenoles son las propiedades antioxidantes. Se sabe que la ingesta dietética de polifenoles atenúa el estrés oxidativo y reduce el riesgo de enfermedades neurodegenerativas relacionadas, como AD, PD y HD. Curiosamente, se ha descubierto que los polifenoles del té verde son más activos antioxidantes que la vitamina C y la vitamina E, ya que estos protegen contra la toxicidad beta-amiloide en las neuronas corticales primarias cultivadas. Otros estudios confirmaron el posible efecto beneficioso de los polifenoles del té verde en la EA, puesto que demostraron la inhibición de la acetilcolinesterasa. Sin embargo, sus efectos sobre la excitotoxicidad aún no se conocen bien.

Los estudios exploraron la protección potencial de los polifenoles del té verde contra la excitotoxicidad del glutamato. Se descubrió que la neurotoxicidad inducida por glutamato en las neuronas corticales primarias cultivadas, es inhibida por los polifenoles del té verde. También se demostró que estos rescataron el estrés oxidativo inducido por glutamato. Por otra parte, se observó que estos polifenoles restauraron la disfunción de las proteínas pro y/o antiapoptóticas Bax, caspasa-3 y Bcl-2, causadas por la excitotoxicidad del glutamato. Se demostró que la neuroprotección de los polifenoles del té verde fue anulada con el tratamiento de SiBcl-2 en las neuronas. Por lo tanto, los polifenoles del té verde atenúan la excitotoxicidad del glutamato a través del estrés antioxidante y la vía antiapoptótica.

Las enfermedades neurodegenerativas son una amplia clase de afecciones hereditarias y esporádicas caracterizadas por una disfunción progresiva del sistema nervioso. Estos trastornos incluyen la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Parkinson (EP), la enfermedad de Huntington (HD) y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) que son causadas por una combinación de factores genéticos y ambientales. La AD por sí sola afecta a 4.5 millones de estadounidenses, aproximadamente, y se proyecta que aumente a 11 o 16 millones para 2050. Con una amplia investigación y ensayos clínicos en todo el mundo, las enfermedades neurodegenerativas permanecen sin tratamientos curativos, y las terapias disponibles, solo proporcionan mejoras en los síntomas. En la EA, se han estudiado diversos factores neurotróficos, como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), el factor de crecimiento de fibroblastos 2 (FGF2), el factor neurotrófico $\alpha 1$ (NF- $\alpha 1$) y la proteína neuroprotectora dependiente de la actividad (ADNP), para tratar la enfermedad maliciosa, sin embargo, no hay fármacos exitosos desarrollados con base a estos factores tróficos. Por lo tanto, se necesitan nuevos neuroprotectores para el control de enfermedades neurodegenerativas. Los enfoques más adecuados para diseccionar los factores y estudiar a fondo los mecanismos celulares y moleculares de estas enfermedades, son los enfoques globales "ómicos". De hecho, se ha obtenido mucha información del perfil genómico de las neuronas corticales después de la exposición al beta-amiloide. Además, los enfoques de proteómica son las herramientas más innovadoras para monitorear a nivel de proteoma la extensión del insulto oxidativo proteico y las modificaciones relacionadas con la identificación de proteínas específicas. Los productos naturales como los polifenoles han surgido como nuevos objetivos terapéuticos para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas. En nuestro estudio, demostramos que la neurotoxicidad inducida por el glutamato fue atenuada por los polifenoles del té verde en las neuronas corticales primarias cultivadas; nuestros datos, son consistentes con los hallazgos previos del efecto antioxidante de estos polifenoles.

La muerte neuronal inducida por glutamato se asocia con la producción de ROS en las neuronas. En este estudio, demostramos que el glutamato indujo la liberación de ROS en las neuronas corticales primarias cultivadas, lo cual, es consistente con la literatura previa. El pretratamiento con polifenoles del té evitó la liberación excesiva de ROS, causada por el glutamato en las neuronas, lo que confirma su neuroprotección. Además, demostramos que la actividad de la enzima antioxidante SOD estaba regulada negativamente por la excitotoxicidad del glutamato y los polifenoles rescataron la actividad de la SOD. Estos resultados sugieren que su papel antioxidante podría desempeñar un papel crítico contra la neurotoxicidad inducida por glutamato.

5.3.5 EFECTO NEUROPROTECTOR

Uno de los aspectos más importantes de la investigación actual sobre polifenoles es el enfoque en la capacidad neuroprotectora que es un rasgo característico de esta amplia familia de compuestos. Existe un mayor interés en descubrir antioxidantes eficientes para reducir el riesgo de EA, EP y otros trastornos neurodegenerativos, ya que los enfoques terapéuticos actuales son meramente sintomáticos, sin ninguna actividad modificadora de la enfermedad. Debido a que muchas enfermedades del envejecimiento pueden estar directamente relacionadas con el estrés oxidativo repetido y la inflamación crónica, las terapias que pueden disminuir tales efectos se han convertido en una herramienta importante para buscar tratamientos más efectivos para enfermedades como el Alzheimer y el Parkinson.

La investigación continua, destaca la capacidad dinámica de los polifenoles para proteger contra los trastornos asociados a la edad a través de una variedad de mecanismos importantes. La actividad antioxidante química de los polifenoles está correlacionada con el número de grupos hidroxilo presentes en los anillos aromáticos A y B, y con la presencia de un doble enlace C2-C3, los más activos que contienen entre 3 y 6 grupos hidroxilo. El mecanismo antioxidante se basa en la donación de un hidrógeno y la formación de un radical fenoxilo que se estabiliza, ya sea por la liberación de hidrógeno adicional o por reacción con otro radical. En general, los polifenoles tienen la capacidad de quelar iones metálicos y de extinguir especies de radicales libres. La capacidad de las flavonas y los polifenoles de flavan3-ol para quelar los iones de metales de transición activos redox, como el hierro o el cobre, depende de la presencia de sus grupos carboxílicos e hidroxílicos y puede contribuir a su actividad antioxidante, ya que evita que los metales catalicen formación de radicales libres.

El té verde es una bebida extremadamente popular en los países orientales y sus polifenoles, conocidos como catequinas, son flavonoides vegetales naturales que se encuentran en sus hojas. Sus principales catequinas incluyen epicatequina (EC), epigallocatequina (EGC), galato EC (ECG) y galato EGC (EGCG). Otros compuestos son los flavonoles (quercetina, kaempferol y rutina), cafeína, ácidos fenólicos y teanina. Las catequinas se concentran especialmente en el té, lo que representa el 30-40% del peso seco de las hojas. Se ha demostrado que las cuatro catequinas son potentes antioxidantes, como resultado de sus propiedades de eliminación directa de especies de oxígeno y nitrógeno, la inducción de enzimas antioxidantes endógenas y la capacidad de unir y quelar el exceso de metales divalentes, como el hierro y el cobre. El orden de rango de las capacidades antioxidantes de los componentes del té verde es EGCG > ECG > EGC > EC. Las catequinas se absorben después de la administración oral y se biotransforman en el hígado a sus metabolitos conjugados, es decir, derivados glucuronidados, metilados, sulfatados. Simplemente bebiendo té verde, los polifenoles pueden cruzar el BBB y tener efectos neuroprotectores. Los estudios tradicionales demostraron que su consumo podría tener un papel beneficioso para reducir el riesgo de EP. Los mecanismos subyacentes a este papel beneficioso, fueron la capacidad de EGCG para actuar como quelante de hierro y aumentar la actividad de dos enzimas antioxidantes principales, como el superóxido dismutasa y catalasa, lo que ayuda a disminuir el daño de los radicales libres. También se ha demostrado que EGCG, inhibe competitivamente la absorción por los transportadores presinápticos o vesiculares de metabolitos de la neurotoxina MPTP (N-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina). Esta competencia podría proteger las neuronas dopaminérgicas contra la lesión inducida por MPTP.

En AD, se ha informado que EGCG interfiere con un primer paso en la cascada de formación de amiloide al unirse directamente a los polipéptidos α -sinucleína y A β nativamente desplegados, inhibiendo así su fibrillogénesis y redirigiéndolos a una alternativa "fuera de ruta" antes de que se vuelvan tóxicos. Recientemente se ha encontrado que .105 EGCG convierte fibrillas α -sinucleína y A β , grandes y maduras, en agregados proteicos no tóxicos amorfos más pequeños. Además, EGCG ejerce neuroprotección mediante la modulación de vías de señalización intracelular, como MAPK, 107PKC, 108-110 y PI-3K/Akt111, e inhiben la activación del factor nuclear kappaB112 (NF- κ B) y pro vías apoptóticas.

Se ha informado que varios estudios que usan suplementos dietéticos con extractos de espinacas, fresas o arándanos, reducen algunos déficits neurológicos en animales de edad avanzada (rendimiento del laberinto de agua de Morris). Además, la suplementación de arándanos también fue eficaz para revertir las disminuciones cognitivas en el reconocimiento de objetos. La catequina, la epicatequina y las antocianidinas son los principales polifenoles presentes en los arándanos, y existe una correlación positiva significativa entre su contenido sérico y el estado antioxidante postprandial. Las ratas envejecidas con una dieta suplementada con arándanos tenían niveles significativamente más bajos de NF- κ B que las ratas de dieta de control envejecidas, revelando que la neuroprotección admitida, podría involucrar más que las acciones antioxidantes del extracto de estos. La suplementación con extracto de arándanos también podría reducir el volumen de infarto en la corteza cerebral y aumentar la actividad locomotora posterior al accidente cerebrovascular, inducida por isquemia/reperfusión, además de proteger contra la pérdida neuronal en las regiones CA1 y CA2 del hipocampo después de la isquemia cerebral. Los ratones APP/PS1, suplementados con arándanos, exhibieron mayores niveles de quinasa regulada por señal extracelular del hipocampo (ERK), así como PKC α estriatal e hipocampal, en comparación con los ratones transgénicos mantenidos con una dieta de control.

El resveratrol es el principal polifenol no flavonoide que se encuentra en las uvas y el vino tinto, y se ha informado que posee efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antimutagénicos y anticancerígenos, así como un efecto beneficioso contra la patología de la EA al promover mecanismos anti-amiloidogénicos. Varios estudios epidemiológicos indican que un consumo moderado de vino se asocia con una menor incidencia de EA. El resveratrol no solo posee la capacidad de eliminar directamente las especies de radicales libres, sino que también regula los efectos citotóxicos de los oligómeros y fibrillas, A β a través de la fosforilación de PKC, que activa la proteína α -secretasa transmembrana. La α -secretasa cataliza la formación de una proteína soluble, no amiloidogénica (sin formación de placa) a partir de APP, y por lo tanto, no permite la formación de placas neuríticas. La modulación de la actividad NF- κ B o la ruta NF- κ B/SIRT1, también podría estar implicada en el efecto neuroprotector del resveratrol, ya que la activación de SIRT1, por el resveratrol, inhibe la señalización de NF- κ B al promover la desacetilación de lys310 de RelA/p65130, protegiendo así las células contra el péptido A β .

La genisteína, el componente más activo de la isoflavona de soja, es un fitoestrógeno capaz de cruzar el BBB, manifestando potentes propiedades antioxidantes y actividad neuroprotectora. Se ha demostrado que la genisteína protege a las neuronas de los daños inducidos por A β , en gran medida, a través de una vía mediada por el receptor de estrógenos, así como por sus propiedades antioxidantes.

Se ha revelado que la curcumina, utilizada durante siglos en Asia como un aditivo alimentario y una medicina herbal tradicional, posee propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, y exhibe efectos anti-amiloidogénicos. Los estudios

epidemiológicos han planteado la posibilidad de que las propiedades de esta molécula sean responsables de la prevalencia significativamente reducida (4,4 veces) de la EA en la India en comparación con los Estados Unidos de América. Estas observaciones podrían explicarse por la capacidad de la curcumina para reducir IL-1 β 138, una citocina proinflamatoria, inhibir la agregación de β -secretasa y A β 7 y unir a los metales redox-activos de hierro y cobre. Es probable que los efectos neuroprotectores de la curcumina, relevantes para la EP, estén asociados con sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. La administración oral aguda de curcumina, produce una biodisponibilidad deficiente debido a su rápida conversión a glucurónidos, lo que sugiere que se necesitan dosis muy pequeñas para su efecto neuroprotector. Además, vale la pena señalar que la aplicación excesiva de curcumina puede producir efectos prooxidativos. El Ginkgo biloba, rico en flavonoides, se ha utilizado durante 5000 años en la medicina tradicional china. EGb 761 es un extracto estandarizado de éste, cuyo contenido de flavonoides está compuesto de quercetina, kaempferol e isorhamnetin. Varios estudios han destacado el potencial de EGb 761 y sus componentes para prevenir la oxidación de lípidos y actuar como antioxidantes y eliminadores de radicales libres. El Ginkgo biloba también ejerce una combinación de efectos antiamiloidogénicos y antiapoptóticos, particularmente, en relación con las demencias relacionadas con la edad y la EA. EGb 761 es capaz de inhibir la formación de fibrillas A β debido a sus propiedades quelantes de hierro y puede rescatar las neuronas primarias del hipocampo y las células PC12 contra la toxicidad del péptido A β .

Los polifenoles mejoran la memoria

Con el envejecimiento, las poblaciones neuronales y las conexiones sinápticas se pierden con el tiempo, lo que resulta en una disminución de la eficiencia en el procesamiento y almacenamiento de información sensorial, sin embargo, la evidencia emergente sugiere que los polifenoles pueden inducir mejoras en la adquisición, consolidación, almacenamiento y recuperación de la memoria. Existe una fuerte evidencia de que la ingesta de flavonoides se asocia con una mejor evolución cognitiva, es decir, la preservación del rendimiento cognitivo con el envejecimiento. Además, los flavonoides que se encuentran en las frutas y los jugos de frutas (especialmente flavan-3-ols, flavanonas y antocianinas) tienen la capacidad de mejorar la memoria. Varios estudios de intervención en animales, utilizando dietas que contienen entre 1 y 2% (p/p) de fruta liofilizada/jugo de fruta, han indicado que la uva, la granada, la fresa y el arándano, así como los flavonoides puros (epicatequina y quercetina), son capaces de afectar varios aspectos de la memoria y el aprendizaje, en particular la adquisición de memoria rápida y lenta, la memoria de trabajo a corto plazo, la memoria de referencia a largo plazo, el aprendizaje inverso y la retención/recuperación de memoria. Por ejemplo, frutas como la fresa, el arándano y la mora (todos ricos en antocianidinas y flavan-3-ols) han demostrado ser beneficiosos para retardar el sistema nervioso central funcional y relacionado con la edad y los déficits cognitivos del comportamiento. También existe una amplia evidencia de que los arándanos son efectivos para revertir los déficits relacionados con la edad en la memoria de trabajo espacial.

La capacidad de los polifenoles para revertir las disminuciones de la memoria relacionadas con la edad, depende de su potencial para interactuar con la arquitectura celular y molecular del cerebro. En general, el almacenamiento a corto plazo de la memoria implícita y explícita implica cambios funcionales en la fuerza de las conexiones sinápticas preexistentes, mientras que su almacenamiento a largo plazo requiere la síntesis de nuevas proteínas y el crecimiento de nuevas conexiones. La capacidad de los polifenoles para interactuar y modificar eficazmente las vías

dentro de las neuronas y las sinapsis que conducen a cambios en la eficiencia de la síntesis de proteínas de novo, permitirá la probabilidad de afectar el proceso de la memoria. La potenciación a largo plazo (LTP) es ampliamente considerado como uno de los principales mecanismos por los cuales el cerebro aprende y mantiene recuerdos. Se refiere a un aumento persistente en la fuerza química de una sinapsis y se sabe que contribuye a la "plasticidad sináptica" o al aumento de la fuerza de la conexión entre dos neuronas, un proceso que se cree subyace en la memoria. Se han vinculado varias vías de señalización con el control de la síntesis de proteínas de novo en el contexto de LTP, plasticidad sináptica y memoria, tales como: proteína A, proteína quinasa B (PKBAkt), PKC, calcio-calmodulina quinasa (CaMK) y ERK. Las cinco vías convergen para señalar a la proteína de unión al elemento respuesta a AMPc (CREB), un factor de transcripción que se une a las regiones promotoras de muchos genes asociados con el modelado de sinapsis, la plasticidad sináptica y la memoria (Figura). La importancia de la activación de CREB, en la inducción de cambios duraderos en la plasticidad sináptica y la memoria, se destaca en estudios que muestran que la interrupción de la actividad de CREB bloquea específicamente la formación de memoria a largo plazo, mientras que los agentes que aumentan la cantidad o actividad de CREB, aceleran el proceso.

Además, se sabe que CREB es un factor de transcripción crítico que vincula las acciones de las neurotrofinas, como BDNF, con la supervivencia neuronal, la diferenciación y la función sináptica. BDNF pertenece a la familia de factores de crecimiento neurotrofina y afecta la supervivencia y la función de las neuronas en el sistema nervioso central. Su secreción de las neuronas está bajo control dependiente de la actividad y es crucial para la formación de conexiones sinápticas apropiadas durante el desarrollo para el aprendizaje y la memoria en adultos. Se han reportado disminuciones en BDNF y pro BDNF en AD, la importancia de pro-BDNF ha sido enfatizada por el hallazgo de que un polimorfismo, que reemplaza a la valina por metionina en la posición 66 del pro dominio, está asociado con defectos de memoria e hipocampo anormal. En última instancia, la activación de CREB y la síntesis de neurotrofina pueden inducir plasticidad sináptica y representan una etapa vital en la conversión de breves señales aferentes en una memoria duradera. El aumento en el receptor sináptico y la densidad y morfología de la columna neuronal, son características de la plasticidad sináptica, lo que constituyen eventos integrales en la LTP.

Se cree que los flavonoides, a través de las interacciones dentro de las vías MAPK, como la vía ERK, influyen en la memoria, ya que ERK se asocia con la señalización de la neurotrofina y la supervivencia a través de la activación de CREB. Se ha demostrado que la fisetina, un flavonoide que se encuentra en las fresas, mejora la LTP y aumenta el reconocimiento de objetos en ratones por un mecanismo dependiente de la activación de ERK y CREB. Del mismo modo, la epicatequina flavan-3-ol (-) induce la activación de ERK $\frac{1}{2}$ y CREB en las neuronas corticales y, posteriormente, aumenta la expresión génica regulada por CREB, mientras que las concentraciones nanomolares de quercetina son eficaces para mejorar la activación de CREB. La hesperetina cítrica flavanona, también es capaz de activar la señalización ERK $\frac{1}{2}$ en las neuronas corticales, y EGCG es capaz de restaurar las actividades PKC y ERK $\frac{1}{2}$ en las neuronas tratadas con 6hidroxidopamina y privadas de suero. Estos efectos sobre la vía ERK dependen en gran medida de la concentración, con acciones similares a las del agonista del receptor de alta afinidad a bajas concentraciones y la inhibición directa de la enzima a altas concentraciones.

Además, el hallazgo de que las antocianidinas y los flavan-3-ols aparecen en el hipocampo, después de la suplementación con arándanos, puede indicar que los

cambios en la memoria están directamente relacionados con los flavonoides y su acción en la vía ERK-CREB-BDNF.

Otro mecanismo que puede ejercer efectos beneficiosos sobre la memoria, consiste en la capacidad de los flavonoides para activar la vía Akt/PKB, que también tiene el potencial de activar CREB. Hesperetina puede activar la vía Akt/PKB, así como inhibir proteínas proapoptóticas como ASK1, Bad, caspase-9 y caspase-3 en neuronas corticales. La activación inducida por flavonoides de CREB y la mejora de la expresión de BDNF en neuronas, conducirán finalmente a la activación de la vía de señalización de PI3 quinasa/Akt mediante la unión de BDNF a receptores TrkB pre o post sinápticos. Estos eventos desencadenan la activación de la vía mTOR y el aumento de la traducción de subpoblaciones específicas de ARNm, incluida la proteína asociada al citoesqueleto regulada por actividad (Arc/Arg3.1). Se ha observado que la expresión Arc/Arg3.1, que está bajo el control regulador de la señalización BDNF210 y ERK, facilita los cambios en la fuerza sináptica y estimula el crecimiento de pequeñas espinas dendríticas en espinas grandes en forma de hongo, a través de un mecanismo que depende de la polimerización de actina. En apoyo de esto, se ha demostrado que la suplementación dietética con arándanos aumenta el arco/Arg3.1,4 del hipocampo y que los flavan-3-ols específicos pueden inducir el crecimiento neuronal de la dendrita.

Por su parte, la nobiletina, una flavona polimetoxilada que se encuentra en la cáscara de los cítricos, también induce el crecimiento de neuritas y la transmisión sináptica 214 a través de su capacidad de interactuar directamente con las vías de señalización de MAPK y PKA.

Los alimentos ricos en flavonoides también pueden influir en la memoria al mejorar el flujo sanguíneo cerebral (CBF) y es significativamente menor en pacientes con EA. Tales efectos vasculares parecen estar mediados por el potencial de los flavonoides para inducir la producción de óxido nítrico en el endotelio, junto con una vasodilatación rápida que conduce a un mejor flujo sanguíneo periférico. Se sabe que el aumento de la función cerebrovascular facilita la neurogénesis adulta en el hipocampo, con nuevas células que aparecen agrupadas cerca de los vasos sanguíneos, los cuales proliferan en respuesta a factores de crecimiento vascular. Con respecto a ello, se ha demostrado que los alimentos ricos en flavonol causan un aumento significativo de CBF en humanos, una o dos horas posteriores a la intervención y con un aumento en CBF, después del consumo de flavan-3-ol-cacao, a través del ultrasonido Doppler transcraneal.

Los polifenoles inhiben la neuroinflamación

Los procesos neuroinflamatorios sostenidos pueden contribuir a la cascada de eventos que culminan en el daño neuronal progresivo observado en muchos trastornos neurodegenerativos, especialmente AD y PD, y también con lesiones neuronales asociadas con un accidente cerebrovascular. Por lo tanto, se ha propuesto el uso de medicamentos antiinflamatorios no esteroideos, como el ibuprofeno, para retrasar o incluso prevenir la aparición de tales trastornos neurodegenerativos. Los estudios epidemiológicos, han indicado que el riesgo de desarrollar EA se redujo en los usuarios habituales de antiinflamatorios. Las células gliales median el sistema inmunitario endógeno dentro del microambiente del SNC, y su activación que aumenta en el envejecimiento normal del cerebro, es el sello distintivo de su inflamación. La microglía activada produce moléculas proinflamatorias como las citocinas IL-1, IL-6 y TNF- α , factores de crecimiento y proteínas complementarias que activan otras células para producir moléculas

de señalización adicionales y que activan aún más la microglía en un circuito de retroalimentación positiva para perpetuar y amplificar la cascada de señalización inflamatoria. Existe una creciente evidencia que sugiere que los flavonoides y los alimentos ricos en flavonoides pueden ser capaces de contrarrestar dicha lesión neuronal, retrasando así la progresión de estas enfermedades. Hasta la fecha, la evidencia relacionada con la inhibición de la neuroinflamación por flavonoides, indica que pueden actuar a través de (1) un papel inhibidor en la liberación de citocinas, como IL-1 β y TNF- α , de la glía activada; (2) una acción inhibitoria contra la inducción de iNOS y la posterior producción de óxido nítrico en respuesta a la activación glial; (3) la capacidad de inhibir la activación de la NADPH oxidasa y la posterior generación de ROS en la glía activada; y (4) una capacidad para regular a la baja la actividad de factores de transcripción proinflamatorios, tales como NF- κ B. Así mismo, el potencial para influir en estos eventos parece estar mediado por sus influencias en una serie de vías de señalización gliales y neuronales, como la cascada MAPK. Se ha demostrado que EGCG atenúa la neurodegeneración inducida por la toxina parkinsoniana 6-hidroxidopamina y MPTP, y la lesión del hipocampo inducida por isquemia global transitoria; EGCG interactúa y modula las vías de señalización involucradas en la neuroprotección, especialmente PKC y PI3-quinasa. Los estudios in vitro también han indicado que los flavonoides que se encuentran comúnmente en naranjas, bayas, manzanas y uvas, podrían actuar para prevenir la patología de la EP debido a su capacidad para prevenir la formación de la neurotoxina 5-S-cisteinildopamina endógena. Se ha demostrado que las ratas Fischer 344 machos de edad avanzada, alimentadas con una dieta suplementada con arándanos, mostraron reducciones de los aumentos inducidos por la edad en la expresión de NF- κ B, en comparación con los controles no suplementados de edad avanzada en la corteza frontal, el hipocampo y el cuerpo estriado. Se ha encontrado que es altamente eficaz para reducir la activación de las células gliales, inducida por lipopolisacárido/interferón- γ , mediante la inhibición de p38 y los transductores de señal y activadores de la familia de transcripción 1, y para reducir la expresión inducible de óxido nítrico sintasa. Se ha demostrado que otros flavonoides alivian parcialmente la neuroinflamación, mediante la inhibición de la producción de TNF- α , y los flavonoides presentes en los arándanos, inhiben la producción de NO $\cdot$, IL-1 β y TNF- α en células de microglía. Por su parte, la quercetina de flavanol, la catequina de flavan-3-ols y EGCG253, atenúan la microglía y/o neuroinflamación mediada por astrocitos.

Cabe mencionar que gran parte de los datos in vitro han utilizado concentraciones no fisiológicas de polifenoles, lo que dificulta la extrapolación de estos resultados al escenario in vivo, sin embargo, la evidencia in vivo y los datos seleccionados in vitro, han indicado claramente un potencial de los polifenoles para inhibir la neuroinflamación y la neurodegeneración asociada con ella.