

# EFECTOS DE LOS POLIFENOLES EN EL TRATAMIENTO DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

## EFFECTS OF POLYPHENOLS ON THE TREATMENT OF MULTIPLE SCLEROSIS

---

---

*Atalia Yatim Harkous<sup>a\*</sup>*

Fechas de recepción y aceptación: 30 de enero de 2019, 5 de febrero de 2019

### RESUMEN

*Introducción:* La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad autoinmune, incurable y neurodegenerativa, caracterizada por una inflamación crónica que causa la desmielinización de las vainas que recubren las células neuronales, lesiones axonales y pérdida axonal, lo cual causa lesiones focales en la sustancia gris y blanca tanto del cerebro como de la médula espinal que eventualmente causarán su atrofia. *Objetivos:* Se cree que la EM está relacionada con un desequilibrio en el estado redox celular. Los compuestos fenólicos son el grupo más extenso de elementos no energéticos presentes en los alimentos vegetales. En las demás enfermedades neurodegenerativas ejercen una actividad protectora que retrasa el inicio, reduce la sintomatología o frena el avance de la enfermedad. Por ello, el objetivo del estudio es determinar los posibles efectos que diferentes polifenoles pueden tener sobre la EM. *Material y método:* Se trata de un estudio descriptivo y transversal llevado a cabo mediante revisión bibliográfica de la literatura actual en las bases de datos Pubmed, Ebsco, Teseo, Scielo y Tesis en xarxa, referente a la utilización de polifenoles en modelos de experimentación de EM, tanto *in vitro* como *in vivo* o en clínica. *Resultados/Discusión:* Se observan resultados positivos sobre un tratamiento con polifenoles en EM. Con todos los polifenoles analizados en los diferentes trabajos rescatados, se ha visto una disminución de la neuroinflamación, con

<sup>a</sup> Centro Médico Mediterráneo de Puzol, (Valencia).

\* Correspondencia: Centro Médico Mediterráneo. Avenida Vicente Ros, 12. 46530 Puzol, (Valencia), España.

E-mail: centremedicmediterrani@hotmail.com



disminución de la producción de citoquinas proinflamatorias y no proliferación de células T, disminución de la desmielinización y aumento con ello de la viabilidad neuronal. Se encontraron más resultados con EGCG y resveratrol. *Conclusión:* Sobre la base de estos resultados, una posible intervención en pacientes de EM con una combinación de EGCG y resveratrol es factible y se podría mejorar la evolución de la enfermedad atendiendo a su patogenia.

*Palabras clave:* esclerosis múltiple, antioxidante, polifenol.

## ABSTRACT

*Introducción:* Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune, incurable and neurodegenerative disease characterized by chronic inflammation that causes demyelination of the sheaths that cover neuronal cells, axonal lesions and axonal loss which produce focal lesions in the gray and white substance of both the brain and spinal cord, eventually causing atrophy. *Objetivos:* MS is thought to be related to an imbalance in the cellular redox state. Phenolic compounds are the largest group of non-energetic elements present in vegetable aliments. In other neurodegenerative diseases, they exert a protective activity that delays the onset, reduces the symptomatology or slows the progression of the disease. Therefore, the aim of the study is to determine the possible effects that different polyphenols may have on MS. *Materials and methods:* This is a descriptive and transversal study, carried out through a bibliographic review of the current literature in the databases: Pubmed, Ebsco, Teseo, Scielo and Tesis en xarxa; it makes reference to the use of polyphenols in models of MS experimentation, both in vitro and in vivo or in clinic. *Results/Discussion:* Positive results are observed on a polyphenol treatment in MS. The different studies have shown a decrease in neuroinflammation as well as a decrease in the production of proinflammatory cytokines, a supresion of T cells proliferation, a decrease in demyelination and with it an increase in neuronal viability. More results were found with EGCG and resveratrol. *Conclusion:* based on these results, a possible intervention in MS patients with a combination of EGCG and resveratrol is feasible and could improve disease progression by addressing disease pathogenesis.

*Keywords:* multiple sclerosis, antioxidant, polyphenol.

## INTRODUCCIÓN

### *Radicales libres*

Un radical libre es una especie química que tiene en su estructura uno o más electrones desapareados, caracterizada por su elevada inestabilidad y una vida media corta, por lo que reacciona con facilidad con otros componentes químicos cercanos al sitio en que se forma para encontrar el electrón neces-



rio para lograr su estabilidad. Es muy reactiva y tiene la capacidad de formar otros radicales libres por reacciones químicas en cadena<sup>1</sup>.

El cuerpo combate a los radicales libres que se producen de forma natural, pero si su producción es excesiva, se producen importantes alteraciones funcionales, como la aterosclerosis, enfermedades neurodegenerativas, envejecimiento y cáncer, entre otros. Estos actúan alterando el ADN, las proteínas y los lípidos, dando lugar a diversas enfermedades y múltiples efectos negativos para la salud debido a su capacidad de oxidar<sup>2</sup>.

Todos los organismos aeróbicos, por el metabolismo normal generan moléculas oxidantes, denominadas especies reactivas, de las cuales existen dos tipos, las especies reactivas de oxígeno (que son las predominantes) y las especies reactivas de nitrógeno. Las especies reactivas de oxígeno más comunes son: el anión superóxido ( $O_2^-$ ), el radical hidroxilo (HO), el radical alcoxilo (RO), el óxido nítrico (NO), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el ácido hipocloroso (HOCl) y el peroxinitrito (ONOO-). Son contrarrestadas por los sistemas antioxidantes<sup>1,3</sup>.

En el proceso de respiración celular, existe una pequeña proporción del oxígeno metabolizado, que forman intermediarios altamente tóxicos como el anión superóxido. En cambio, el radical hidroxilo y el peróxido de hidrógeno no son radicales libres, pero se consideran como tal por su facilidad de disociación en presencia de metales de transición como el hierro, con la producción de moléculas con carga. Debido a esto, en situaciones de aumento de la demanda de oxígeno (inflamación, aumento de la temperatura, ejercicio excesivo) aumentará la síntesis de estas especies químicas<sup>4</sup>.

### *Estrés oxidativo*

El estrés oxidativo es el resultado de un desequilibrio entre los sistemas oxidantes (generadores de radicales libres) y los antioxidantes. Se desequilibra a favor de los primeros, por la producción excesiva de radicales libres o por el debilitamiento de los sistemas antioxidantes o por ambos<sup>5</sup>.

El estrés oxidativo está producido por las ROS y las RNS. Las RNS son las que derivan del óxido nítrico, y su especie más reactiva es el peroxinitrito,



el cual reacciona tanto con el  $O_2$  como con el  $CO_2$ <sup>6</sup>. Estas especies químicas pueden actuar de forma directa sobre las moléculas celulares oxidándolas o bien indirectamente produciendo sustancias dañinas tras su oxidación<sup>7</sup>.

### *Efectos del ROS/RNS en el cambio de la expresión genética*

Para que ocurran los cambios en la expresión genética, deben formarse unos factores de transcripción. Estos deben activarse e introducirse junto a algunas proteínas “Maf” formando heterodímeros en el núcleo de la célula, y unirse a la región ARE específica del ADN. De esta forma podrán ejercer su función de transcripción y transducción de proteínas antioxidantes<sup>3</sup>.

Los principales factores de transcripción implicados en la defensa del daño por estrés oxidativo son: el factor de transcripción nuclear eritroide (Nrf (1,2 y 3)) y el factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B)<sup>8</sup>. Los Nrf pertenecen a una familia de proteínas con una región bzip que le permite la unión con la región ARE del ADN. De los factores de transcripción Nrf, el más implicado en la defensa antioxidante es el Nrf-2. Este regula la expresión de genes que poseen los elementos de respuesta antioxidante defensiva (ARE) en sus promotores.

En condiciones redox normales, Nrf-2 se encuentra en el citosol celular y tiene una vida media corta (25 min), ya que se une al homodímero Keap-1, el cual secuestra a Nrf-2 y lo presenta a una E-3 ligasa que lo marca mediante ubiquitinación para degradación proteosomal. En condiciones de estrés oxidativo, Keap-1 será degradado por el proteosoma, mientras que Nrf-2 será estabilizado, quedando liberado para su traslocación al núcleo y, junto a las proteínas Maf, unirse a la región ARE para producir defensas antioxidantes. El factor de transcripción Nrf-2 regula la expresión de genes implicados en defensa frente al estrés oxidativo. También tiene efecto sobre la respuesta inflamatoria, modulando indirectamente la actividad de factores de transcripción proinflamatorios como NF- $\kappa$ B. Regula la síntesis de citoquinas, como las quimiocinas, y de moléculas de adhesión e inflamación, además de la protección frente a la apoptosis por estrés celular. En condiciones normales, NF- $\kappa$ B se encuentra en el citosol en forma inactivada homo o heterodimérica, con interacciones no covalentes con sus proteínas de inhibición, denominadas



I $\kappa$ Bs<sup>8</sup>. Sufre la misma situación que Nrf-2. I $\kappa$ B es marcado por la ubiquitina y el conjunto es degradado por el proteosoma. Pero en situaciones de estrés oxidativo, las ROS pueden activar el NF- $\kappa$ B. Este es estabilizado y no se degrada; de esta forma es capaz de trasladarse al núcleo y estimular la expresión de genes antiapoptóticos y genes reguladores de las respuestas inmune e inflamatorias<sup>9</sup>.

### *Defensas naturales*

Pueden ser defensas antioxidantes generadas por las células, es decir, endógenas (tendríamos enzimáticas y no enzimáticas) y también antioxidantes obtenidos a través de la dieta.

### *Defensas celulares enzimáticas*

Estas defensas antioxidantes consisten en evitar la reducción del oxígeno mediante sistemas enzimáticos, neutralizando la actividad dañina de los radicales libres. Estos inactivan las ROS por diferentes mecanismos.

Son los antioxidantes como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión reductasa (GRd) y glutatión peroxidasa (GPx), glutatión S-transferasas, tioredoxina-reductasas y sulfoxi-metionina-reductasas<sup>10</sup>.

La SOD elimina los O<sub>2</sub><sup>-</sup> catalizando su dismutación, que junto con dos H<sup>+</sup> se reducirán y producirán H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> (oxidado)<sup>11</sup>.

Existen distintos tipos de SOD: Mn SOD o SOD<sub>1</sub> en la matriz mitocondrial, y Cu Zn SOD o SOD<sub>2</sub> en la membrana intermitocondrial y en el citosol.

Las enzimas GRd y el GPx son dos enzimas que trabajan simultáneamente y junto con otros sustratos no enzimáticos para eliminar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La GRd permite mantener concentraciones adecuadas de glutatión (GSH), que posteriormente, junto con la GPx y el selenio como catalizador, permitirá la reducción de peróxidos (incluido H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a alcoholes, aprovechando el potencial reductor de GSH, e inhibirá, por tanto, la síntesis de nuevos radicales libres<sup>11</sup>.



### *Defensas celulares no enzimáticas*

Algunos de los antioxidantes no enzimáticos son aportados en la dieta (véase el siguiente apartado), como las vitaminas, los minerales y algunos compuestos polifenólicos u otros compuestos químicos capaces de neutralizar los radicales libres o de activar rutas antioxidantes que protejan la célula del daño por estrés oxidativo. El principal antioxidante no enzimático que encontramos a nivel celular es el GSH. Tiene gran capacidad reductora (donante de electrones) del grupo sulfhidrilo de la cisteína que lo compone. En presencia de la GPx es capaz de reducir el  $H_2O_2$  a  $H_2O$  y  $O_2$ , oxidándose y formando glutatión oxidado (GSSH), que posteriormente será reducido por la GRd para devolverlo a su estado natural (GSH)<sup>10</sup>.

### *Antioxidantes exógenos*

Algunos de los compuestos químicos más estudiados en la actualidad y con gran carga antioxidante son polifenoles como los flavonoides, carotenoides y algunos metabolitos de bajo peso molecular, como el glutatión en su forma reducida (GSH), algunos minerales, como el selenio y el cinc, o vitaminas como la riboflavina (B2), el ácido ascórbico (vit. C), el tocoferol (vit. E) y la vitamina A<sup>12</sup>.

El ácido ascórbico o vitamina C debe ser absorbida de la dieta, ya que no la puede sintetizar el organismo humano. En células, es mantenida en su forma reducida por la reacción con el glutatión, que se puede catalizar por la proteína disulfuro isomerasa y las glutarredoxinas<sup>13</sup>.

La vitamina E es un antioxidante liposoluble, en el cual podemos destacar el alfa tocoferol que se absorbe y metaboliza por el cuerpo. Este estabiliza las membranas y las protege de la peroxidación lipídica. Actúa sinérgicamente con otros sistemas enzimáticos (glutatión, peroxidasa, catalasa y superóxido dismutasa)<sup>14</sup>.



## Polifenoles

Los polifenoles son fitoquímicos, es decir, compuestos derivados del metabolismo secundario de las plantas. Se encuentran en los alimentos vegetales y presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos<sup>15</sup>. Participan en funciones de defensa ante el estrés, regulando la función de las enzimas y la estimulación de los receptores de las células por sus propiedades antioxidantes, y son imprescindibles para las funciones fisiológicas vegetales, pues contribuyen a la resistencia de microorganismos e insectos y ayudan a preservar su integridad por su continua exposición a estresantes ambientales, incluyendo radiaciones ultravioletas y altas temperaturas relativamente, mediante las rutas del ácido siquímico y la de los poliacetatos<sup>15,16</sup>.

En cuanto a la clasificación, resumida en la figura 1, se realiza según el número de anillos de fenol que contengan, y en función de los elementos estructurales que los unan entre sí existen dos categorías de polifenoles: los flavonoides, que contienen un esqueleto de difenilpropano común (por ejemplo, flavonoides, flavonas, flavonoles, isoflavonas, proantocianidinas y antocianinas), y los no flavonoides, que comprenden principalmente monofenoles alcoholes (por ejemplo, hidroxitirosol) o estilbenos ácidos fenólicos (por ejemplo, resveratrol) (figura 2)<sup>17</sup>.

### 1. Flavonoides

Poseen una estructura química con tres anillos fenólicos. Se diferencian entre sí por el número y la posición de los grupos hidroxilos, y por los distintos grupos funcionales que pueden presentar, lo que nos permite la subdivisión de este amplio grupo<sup>16</sup>.

- Flavonas

Poseen un grupo ceto en el carbono C<sub>4</sub> y una insaturación entre los carbonos C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub>. El perejil y el apio contienen apigenina, que, junto a la luteonina, presente en los cereales, constituyen la única fuente comestible de flavonas.



La piel de las frutas también posee grandes cantidades de flavonas polimetoxiladas. Los glicósidos de flavonas están presentes en verduras y hortalizas<sup>16,18</sup>.

- Flavonoles

Se caracterizan por poseer un grupo ceto en el carbono  $C_4$  y una insaturación entre los carbonos  $C_2$  y  $C_3$ . Poseen, además, un grupo hidroxilo adicional en el carbono  $C_3$ . La quercetina es el compuesto más representativo y se presenta generalmente en forma de glicósidos. Las principales fuentes de flavonoles son las verduras y las frutas. El té y el vino son también alimentos ricos en flavonoles. Al igual que las flavonas, proporcionan color a los tejidos vegetales<sup>16</sup>.

- Flavanonas

También llamadas hidroflavonas. Son análogas de las flavonas con el anillo C saturado. Se glucosilan principalmente por la unión de un disacárido en el carbono  $C_7$ <sup>16,18</sup>.

- Flavanoles

Poseen el anillo C saturado y un grupo hidroxilo en el carbono  $C_3$ . Pueden aparecer como monómeros o como polímeros con distintos grados de polimerización. Las moléculas epicatequina y catequina y sus derivados, como las galocatequinas, son los flavonoides presentes en las hojas de té y en la semilla del cacao (chocolate). El más conocido es la epilocatequina-3-galato (EGCG), que se encuentra en el té verde<sup>16,18</sup>.

- Antocianinas

Son compuestos hidrosolubles y constituyen uno de los grupos más importantes de pigmentos vegetales. Algunos frutos con alto contenido de antocianinas son los arándanos, las moras, las uvas y la berenjena. El 90 % de las moléculas de esta familia son derivadas de la cianidina, delindina y pelargonidina<sup>16,18</sup>.



- Isoflavonas

Poseen un anillo bencénico lateral en posición C<sub>3</sub>. Su estructura química es muy similar a la de los estrógenos. Se presentan casi exclusivamente en las plantas leguminosas, siendo la soja y sus derivados la principal fuente de isoflavonas. La genisteína y la daidzeína son las moléculas principales de este grupo<sup>16,18</sup>.

- Chalconas

Son moléculas con un anillo abierto y podemos encontrarlas en frutas como las manzanas, el lúpulo o la cerveza.

- Neoflavonoides

No se encuentran a menudo en plantas comestibles. La dalbergina es su molécula más representativa<sup>16,18</sup>.

## 2. No flavonoides

- Estilbenos

El resveratrol, el cual es un estilbeno (presente en el vino), o el pterostilbeno son las moléculas más representativas de este grupo. El resveratrol inhibe la proliferación celular, induce apoptosis y disminuye la progresión de múltiples tipos de cáncer en humanos<sup>18</sup>.

- Ácidos fenólicos

Estos compuestos se pueden subdividir en los derivados del ácido benzoico y en los derivados del ácido cinámico. Se encuentran principalmente en granos y semillas (salvado)<sup>18</sup>.



- Curcuminoides

La curcumina, molécula presente en la especia del curri, es la principal de este grupo.

- Amidas polifenólicas

Son moléculas que contienen sustituyentes funcionales nitrogenados. Existe una molécula que se encuentra en plantas comestibles que es de relevancia: el capsaicinoide, que es responsable del picante de los chilis, y la capsaicina, que posee un gran poder antioxidante, además de efectos antiinflamatorios<sup>18</sup>.

- Otros polifenoles

Los lignanos son polifenoles presentes en las semillas de la calabaza, el brócoli o la soja<sup>18</sup>.

FIGURA 1  
*Clasificación de los polifenoles. Modificado de Estrela y cols.<sup>17</sup>*

<i>Flavonoides</i>		<i>No flavonoides</i>	
Flavanoles	Catequinas	Estilbenos	Resveratrol
Isoflavonas	Genisteina y daidzeina		Pterostilbeno
Flavonoles	Quercetina	Ácidos fenólicos	Ácido hidrobencenoico
	Kaempferol		Ácido hidroxicinnámico
Otros	Flavonas	Curcuminoides	Curcumina
	Flavanonas	Otros	Lignanos
	Antocianidinas		
	Chalconas		



### *Enfermedades neurodegenerativas*

Las enfermedades neurodegenerativas se originan por una pérdida de neuronas en el sistema nervioso central (SNC). Son incurables y debilitantes y producen la degeneración progresiva y/o la muerte de las neuronas. Esto provoca problemas con el movimiento (ataxias) o con el funcionamiento mental (demencias), manifestados por una pérdida de memoria, defectos cognitivos, disfunción motora o problemas de humor o comportamiento. Todos estos síntomas son el resultado de la evolución asintomática de estas patologías durante un largo tiempo, hasta que la gravedad de la pérdida neuronal los hace sintomáticos<sup>19</sup>.

Las principales enfermedades neurodegenerativas son la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, el corea de Huntington o la esclerosis lateral amiotrófica y la esclerosis múltiple. Se ha observado que algunas situaciones celulares y moleculares en la célula, como el estrés oxidativo, el daño mitocondrial, el depósito de agregados proteicos, la inflamación, la activación de la apoptosis neuronal o la alteración de la comunicación celular, son causas de la aparición de estas enfermedades<sup>20</sup>.

### *Esclerosis múltiple. Generalidades*

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad autoinmune, neurodegenerativa, caracterizada por una inflamación crónica que causa la desmielinización de las vainas que recubren las células neuronales, lesiones axonales y pérdida axonal<sup>21-23</sup>, lo cual provoca lesiones focales en la sustancia gris y blanca, tanto del cerebro como de la médula espinal y que, eventualmente, provocarán su atrofia. El resultado de esta atrofia es el retraso, tanto en la conducción como en el bloqueo, de los potenciales de acción de los axones<sup>23</sup>.

La causa y la patogenia de esta enfermedad siguen siendo desconocidas, aunque varios estudios han demostrado que es multifactorial (genético, ambiental e infeccioso).

Se han identificado diversos polimorfismos relacionados con el incremento del riesgo de padecer EM, genes tales como histocompatibilidad del haplotipo DR2, DRB1 1501-DQA1 0102-DQB1 0602<sup>22,23</sup>.



La reactividad cruzada con antígenos exógenos se considera uno de los posibles mecanismos de desencadenamiento de la EM. La exposición crónica o múltiple a antígenos virales puede provocar que los precursores de los anticuerpos virales produzcan autoanticuerpos que atacarán las células de mielina<sup>24</sup>. Varios estudios han demostrado la relación entre los siguientes virus: sarampión, varicela zoster, encefalitis por garrapatas, herpes 6 y Epstein-Bar, y la predisposición a padecer esta enfermedad<sup>22,23,25</sup>.

Por último, también existe un factor ambiental y geográfico asociado con la exposición al sol y la absorción de vitamina D<sup>22,23,26</sup>. Esta vitamina posee propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras a través de la inhibición de la diferenciación de células dendríticas, la inducción de células T reguladoras, el bloqueo de la diferenciación Th17 y la regulación negativa de las respuestas inmunitarias Th1<sup>26</sup>.

El resultado del daño neuronal causado por la EM es la debilidad muscular, que puede provocar dificultades de movilidad y temblores, e incluso incapacitar al paciente, siendo esta la principal causa de discapacidad no traumática<sup>22</sup>.

### *Importancia de los polifenoles en las enfermedades neurodegenerativas*

En todas las enfermedades neurodegenerativas, los polifenoles ejercen una actividad neuroprotectora, acción antiinflamatoria, modulación de vías de señalización intracelular, modulación de la expresión de proteínas, inhibición de las vías apoptóticas o acción antioxidante que retrasa el inicio, reduce la sintomatología o frena el avance de la enfermedad<sup>27</sup>.

La inflamación crónica y el estrés oxidativo elevado juegan un papel importante en la fisiopatología de enfermedades neurodegenerativas. En estas enfermedades, se ha observado un incremento de marcadores del daño oxidativo, los cuales involucran oxidación de proteínas, lípidos, ADN e incluso ARN. Los polifenoles protegen las neuronas por medio de la activación del FNDC (factor neurotrófico derivado del cerebro), una proteína que se encarga del crecimiento y la función de las neuronas, tanto en las células afectadas por placas de proteínas beta-amiloides como por oligómeros de beta-amiloides, contrarrestando la distrofia neural y previniendo así la apoptosis (muerte) de las células neuronales. Además, actúan modulando la actividad de diferentes



enzimas, e interfieren en mecanismos de señalización y en distintos procesos celulares de oxidación-reducción. Dicha actividad es llevada a cabo por la epilocatequina-3-galato o por la curcumina. Por otro lado, también se ha demostrado la actividad de otros polifenoles, como el resveratrol, el ácido tánico o el ácido ferúlico<sup>27</sup>.

Los polifenoles estudiados frente a la enfermedad del Parkinson son el resveratrol, EGCG, quercetina, baicaleína, hespiridina, kaempferol y cúrcuma<sup>21,28</sup>. En el caso del EGCG, su efecto protector en las enfermedades neurodegenerativas puede deberse a su actividad quelante de hierro y a la regulación de enzimas protectoras antioxidantes. Debido a los diferentes beneficios de los polifenoles obtenidos sobre las enfermedades neurodegenerativas, cabe la posibilidad de que puedan tener un papel importante en la EM como posible tratamiento para limitar o detener su progresión<sup>27</sup>.

En función de estos antecedentes, los objetivos del estudio son actualizar el conocimiento respecto a la utilización de polifenoles en modelos de experimentación de la EM, tanto *in vitro* como *in vivo* o en clínica, identificar qué polifenoles son los más estudiados y cuáles son los más eficaces.

## MATERIAL Y MÉTODOS

En este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica basada en la búsqueda y descripción documental de artículos científicos previamente seleccionados. En dicha búsqueda se ha incidido principalmente en aquellos artículos que relacionan los efectos beneficiosos de los polifenoles con una enfermedad neurodegenerativa como es la EM.

Se recopiló la información de los diversos estudios realizados en los últimos diez años (hasta febrero de 2019) de las principales fuentes y bases de datos biomédicas: MEDLINE (PUBMED), EBSCO, SCIELO, TESEO y TESIS EN XARXA. Además, se han incluido artículos y documentos publicados en los últimos diez años, todos relacionados con el tema de este estudio. La búsqueda ha sido realizada en inglés y en castellano.

La terminología empleada en la búsqueda ha sido limitada a diferentes tesauros (incluidos en la base MESH) y a palabras clave correspondientes al tema que se trataba. Las palabras clave utilizadas han sido las siguientes:



esclerosis múltiple (*multiple sclerosis*), polifenoles (*polyphenols*), flavonoides (*flavonoids*) y “no flavonoides” (*non-flavonoids*).

### *Criterios de inclusión y exclusión*

Los artículos encontrados en las búsquedas fueron seleccionados mediante los siguientes criterios de exclusión: de todos aquellos que fueran revisiones o no fuesen trabajos originales, aquellos trabajos que no estén indexados en JCR (*Jornal Citation Report*), es decir, que no formen parte de ninguno de los cuartiles del uno al cuarto en dicho indicador de calidad, aquellos que se encontraban repetidos en distintas bases de datos, aquellos en los que no se hubiesen estudiado los efectos de los polifenoles sobre esta enfermedad en concreto y aquellos documentos anteriores a febrero de 2009.

En las siguientes tablas encontramos los resultados para las diferentes búsquedas en las bases de datos en función de las palabras claves empleadas relacionadas con el operador booleano AND.

TABLA 1  
*Búsqueda en PUBMED/MEDLINE con las palabras indicadas y aplicación de los criterios de inclusión y exclusión descritos previamente*

<i>Búsqueda</i>	<i>Palabras clave</i>	<i>Artículos encontrados</i>	<i>Artículos seleccionados</i>
1	“esclerosis múltiple” AND polifenoles	0	0
2	“mutiple sclerosis” AND polyphenol	23	5
3	“esclerosis múltiple” AND flavonoides	0	0
4	“mutiple sclerosis” AND flavonoid	72	28
5	“esclerosis múltiple” AND “no flavonoides”	0	0
6	“mutiple sclerosis” AND “non-flavonoids”	1	0



TABLA 2  
*Búsqueda en EBSCO y aplicación de los criterios de inclusión  
 y exclusión descritos previamente*

<i>Búsqueda</i>	<i>Palabras clave</i>	<i>Artículos encontrados</i>	<i>Artículos seleccionados</i>
1	“esclerosis múltiple” AND polifenoles	0	0
2	“mutiple sclerosis” AND polyphenol	4	0
3	“esclerosis múltiple” AND flavonoides	0	0
4	“mutiple sclerosis” AND flavonoid	10	2
5	“esclerosis múltiple” AND “no flavonoides”	0	0
6	“mutiple sclerosis” AND “non-flavonoids”	0	0

TABLA 3  
*Búsqueda en Scielo y aplicación de los criterios de inclusión  
 y exclusión descritos previamente*

<i>Búsqueda</i>	<i>Palabras clave</i>	<i>Artículos encontrados</i>	<i>Artículos seleccionados</i>
1	“esclerosis múltiple” AND polifenoles	0	0
2	“mutiple sclerosis” AND polyphenol	0	0
3	“esclerosis múltiple” AND flavonoides	0	0
4	“mutiple sclerosis” AND flavonoid	0	0
5	“esclerosis múltiple” AND “no flavonoides”	0	0
6	“mutiple sclerosis” AND “non-flavonoids”	0	0

TABLA 4  
*Búsqueda en TESEO y aplicación de los criterios de inclusión  
 y exclusión descritos previamente*

<i>Búsqueda</i>	<i>Palabras clave</i>	<i>Artículos encontrados</i>	<i>Artículos seleccionados</i>
1	“esclerosis múltiple” AND polifenoles	0	0
2	“mutiple sclerosis” AND polyphenol	0	0
3	“esclerosis múltiple” AND flavonoides	0	0
4	“mutiple sclerosis” AND flavonoid	0	0
5	“esclerosis múltiple” AND “no flavonoides”	0	0
6	“mutiple sclerosis” AND “non-flavonoids”	0	0



TABLA 5  
*Búsqueda en Tesis en Xarxa y aplicación de los criterios de inclusión  
 y exclusión descritos previamente*

<i>Búsqueda</i>	<i>Palabras clave</i>	<i>Artículos encontrados</i>	<i>Artículos seleccionados</i>
1	“esclerosis múltiple” AND polifenoles	0	0
2	“mutiple sclerosis” AND polyphenol	0	0
3	“esclerosis múltiple” AND flavonoides	0	0
4	“mutiple sclerosis” AND flavonoid	0	0
5	“esclerosis múltiple” AND “no flavonoides”	0	0
6	“mutiple sclerosis” AND “non-flavonoids”	0	0

## RESULTADOS

### *Efectos del resveratrol en la enfermedad de EM*

Tras analizar los efectos beneficiosos que han sido descubiertos hasta el momento, se han encontrado cinco estudios realizados con resveratrol que investigan el efecto de este antioxidante (tabla 6). De estos, cuatro son *in vivo* y solamente uno es *in vitro* (sobre astrocitos de rata primarios activados con LPS). *In vitro* se estudió una combinación de RESV con quercetina y catequinas. Se observó un efecto inhibitorio sobre las proteasas MMP (enzimas gelatinasas), disminuyendo la desmielinización y el proceso inflamatorio, cuyo efecto se ve potenciado cuando se aplican los tres polifenoles<sup>29</sup> sobre astrocitos.

Respecto a los estudios *in vivo*, se utilizaron ratones C57Bl/6 y ratones SJL/J como modelos experimentales. En dichos artículos, la mayoría postula que produce remielinización, aumentando la expresión de Olig1 (gen correspondiente a la proteína básica de mielina), revertiendo los efectos de la cuprizona (desencadenante de la generación de EAE en animales), mejorando la función mitocondrial, disminuyendo el estrés oxidativo en el cerebro (aumentando tanto GSH como la expresión de SOD1) e inhibiendo la señalización por el factor de transcripción NF- $\kappa$ B<sup>30</sup>. Aunque el resveratrol no modula el



fenotipo de la inflamación en el sistema nervioso central de forma estadísticamente significativa, reduce la pérdida neuronal, aumentando la viabilidad de las células ganglionares de la retina. Disminución de la neuroinflamación. A bajas concentraciones de resveratrol en la dieta (10 mg/kg/día) aumenta la producción de citoquinas y, por ello, de inflamación<sup>31</sup>; mientras que a concentraciones altas (por ejemplo, 40 mg/kg/día) disminuye la producción de interleuquinas IL6 e IL12, reduciendo la severidad de la EAE en los ratones<sup>32</sup>. Otros estudios indican que con la administración oral de este antioxidante no se alcanzan resultados significativos respecto a neuroprotección ni inflamación (e incluso observan un aumento en la inflamación)<sup>33</sup>.

TABLA 6

*Artículos científicos donde se han estudiado los posibles diferentes efectos del polifenol resveratrol en la enfermedad de EM*

<i>Tipo de estudio</i>	<i>Modelo experimental</i>	<i>Resultados</i>	<i>Ref.</i>
<i>In vitro</i>	Astroцитos de rata primarios activados con LPS	• Efecto inhibitorio sobre las proteasas MMP (enzimas gelatinasas), disminuyendo la desmielinización y el proceso inflamatorio, cuyo efecto se ve potenciado cuando se aplican sobre astroцитos los tres polifenoles.	29
<i>In vivo</i>	Ratones C57Bl/6	• Produce remielinización, lo que aumenta la expresión de Olig1 (gen correspondiente a la proteína básica de mielina). Ello revierte los efectos de cuprizona, mejora la función mitocondrial, disminuye el estrés oxidativo en el cerebro (aumentando tanto GSH como la expresión de SOD1) e inhibe la señalización de NF-κB.	30
		• Reduce la pérdida neuronal, aumentando la viabilidad de las células ganglionares de la retina.	31
	Ratones SJL/J	• No se encontraron resultados significativos respecto a neuroprotección ni inflamación (e incluso se observa un aumento en la inflamación en ambos casos).	33
		• Disminución de la neuroinflamación a bajas concentraciones de resveratrol en la dieta (10 mg/kg/día). • Aumenta la producción de citoquinas y, por ello, de inflamación. Mientras que a concentraciones altas (por ejemplo 40 mg/kg/día) disminuye la producción de interleuquinas IL6 e IL12, reduciendo la severidad de la EAE en los ratones.	32



### *Efectos del EGCG en la enfermedad de EM*

Se encontraron cinco estudios *in vivo* que observaban el efecto del polifenol EGCG sobre ratones hembra C57BL/6 con EAE (tabla 7). Los resultados indican que el EGCG es un nuevo agente antiinflamatorio que podría actuar como un fármaco útil para el tratamiento de la EM y otras enfermedades neuroinflamatorias en el futuro. Los resultados obtenidos tras el tratamiento con este antioxidante son muy positivos: reduce la inflamación del cerebro y el daño por desmielinización<sup>34-36</sup>, acompañado por respuestas de células T encefalitogénicas disminuidas y expresión reducida de citoquinas, como puede ser el interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ) e interleucina-17 (proteínas producidas por macrófagos y linfocitos que regulan el mecanismo de la inflamación, activando las células T) y quimiocinas inflamatorias<sup>37</sup>. Por otro lado, también es capaz de inhibir la sobreactivación de las enzimas NADPH oxidasa (NOX, la principal fuente enzimática de O<sub>2</sub><sup>-</sup>) en células periféricas CD11b (+)<sup>38</sup>.

Respecto a los resultados de algunos casos sobre pacientes con EM y MSA, se observa en tres estudios que el EGCG es capaz de inhibir la agregación de  $\alpha$ -sinucleína (una proteína tóxica para las neuronas cuando se produce en exceso)<sup>39</sup>. Aplicando una dosis diaria total de 800 mg durante seis meses, se observó que en concentraciones plasmáticas altas de EGCG (mayor en 1 ng/ml) se correlacionó con un aumento de los niveles de N-acetil-aspartato (NAA) (marcador para medir la pérdida neuronal), cuya función es proteger a la neurona en el cerebro<sup>40</sup>. Por último, se ha visto una mejora del metabolismo energético en reposo y durante el ejercicio, lo que mejora el metabolismo muscular, en mayor medida en hombres que en mujeres, posiblemente debido a su sistema endocrino<sup>41</sup>.



TABLA 7

Artículos científicos donde se han estudiado los posibles diferentes efectos del polifenol EGCG en la enfermedad de EM

Tipo de estudio	Modelo experimental	Resultados	Ref.
<i>In vivo</i>	Ratones hembra C57BL/6 con EAE	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduce la inflamación del cerebro y el daño por desmielinización.</li> <li>• Inhibe la producción de IFN-<math>\gamma</math> e interleucina-17 en células T CD4<sup>+</sup>. Inhibe la diferenciación de los linfocitos Th1 y Th17. Reduce la función coestimuladora de las células presentadoras de antígeno como resultado de la expresión alterada de las inmunoglobulinas CD80 y CD86.</li> </ul>	37
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inhibe la sobreactivación de las enzimas NOX en células periféricas CD11b (+) en fases avanzadas, tanto de la EM como de la EAE.</li> </ul>	38
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Atenúa los síntomas clínicos y las características patológicas (infiltración y desmielinización de leucocitos) en el sistema nervioso central.</li> <li>• Reduce la producción de IFN-<math>\gamma</math>, IL17, IL6, IL-1<math>\beta</math> y factor de necrosis tumoral-<math>\alpha</math>; disminuyen los tipos 1 y 17 de las células T auxiliares (Th1 y Th17, respectivamente).</li> <li>• Atenúa la respuesta autoinmune de la EAE inhibiendo la infiltración de células inmunes y modulando el equilibrio entre subconjuntos de células T CD4 (+) pro- y anti-autoinmunes.</li> </ul>	34
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Presenta efectos neuroprotectores y neuroregenerativos en el modelo <i>in vivo</i>: se observa un retraso en el inicio de la enfermedad.</li> <li>• Reduce fuertemente la gravedad clínica, incluso después de la aparición de los síntomas, y los infiltrados inflamatorios.</li> <li>• También se observan efectos protectores sinérgicos, tanto <i>in vitro</i> como en el modelo de EAE (EGCG y GA, acetato de glatirámico).</li> </ul>	35
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduce la proliferación de células T autorreactivas, atenuando los síntomas y la patología de la enfermedad.</li> </ul>	36



<i>Tipo de estudio</i>	<i>Modelo experimental</i>	<i>Resultados</i>	<i>Ref.</i>
Clínica	Pacientes con MSA (atrofia multisistémica)	• Inhibe la agregación de $\alpha$ -sinucleína, retrasando así la progresión de la discapacidad relacionada con la MSA.	39
	Pacientes con EM	• Aumenta los niveles de NAA en el cerebro. • Aumenta los niveles de creatinina (en músculos y neuronas).	40
		• Mejora el metabolismo energético en reposo y durante el ejercicio.	41

### *Efectos de la quercetina en la enfermedad de EM*

Se han publicado dos investigaciones (una con células microgliales y otra con pacientes con EM) donde se estudiaron los efectos de quercetina en la EM (tabla 8).

En el estudio *in vitro*, realizado sobre las células microgliales BV-2, se observó que regula negativamente los genes inflamatorios en la microglía. Regula negativamente la activación de NF- $\kappa$ B y no influye en la fagocitosis de las células BV-2<sup>42</sup>.

En el estudio clínico realizado sobre pacientes con EM y sujetos de control sanos, se observa que redujo la proliferación de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y moduló el nivel de varias citoquinas en cultivo, de una manera dosis-dependiente. Redujo la proporción de metalopeptidasa 9/inhibidor de la metalopeptidasa (MMP-9 / TIMP-1), disminuyendo la producción de MMP-9<sup>43</sup>.

### *Efectos de la hesperidina en la enfermedad de EM*

No se ha encontrado ningún estudio realizado con hesperidina *in vitro*. Los estudios encontrados con este antioxidante fueron dos *in vivo* con ratones con la mutación C57BL/6 con glicoproteína de la mielina de oligodendrocitos (MOG35-55) (véase tabla 9). En dichos estudios se observó la disminución tanto de células T como de citoquinas y la disminución de las oxidaciones<sup>44,45</sup>.



TABLA 8

*Artículos científicos donde se han estudiado los posibles diferentes efectos del polifenol queracitina en la enfermedad de EM*

<i>Tipo de estudio</i>	<i>Modelo celular</i>	<i>Resultados</i>	<i>Ref.</i>
<i>In vitro</i>	Células microgliales BV-2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Regula negativamente los genes inflamatorios en la microglía.</li> <li>• Regula negativamente la activación de NF-<math>\kappa</math>B.</li> <li>• No influye en la fagocitosis de las células BV-2.</li> </ul>	42
Clínica	Pacientes con EM y sujetos de control sanos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduce, de una manera dependiente de la dosis, la proliferación de PBMC.</li> <li>• Reduce la proporción de MMP-9/TIMP-1, disminuyendo la producción de MMP-9. Son respuestas inmunomoduladoras.</li> </ul>	43

TABLA 9

*Artículos científicos donde se han estudiado los posibles diferentes efectos del polifenol hespiridina en la enfermedad de EM. Efectos de la luteolina en la enfermedad de EM*

<i>Tipo de estudio</i>	<i>Modelo experimental</i>	<i>Resultados</i>	<i>Ref.</i>
<i>In vivo</i>	Ratones hembra C57BL/6 con MOG35-55	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumenta la producción de células Treg de interleucina IL10 y el factor de crecimiento transformante (TGF-<math>\beta</math>), pero al mismo tiempo reduce la producción de IL17 e IL6.</li> <li>• Reduce la incidencia y la gravedad de la enfermedad.</li> <li>• Inhibe el desarrollo de la EAE.</li> </ul>	44
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminuye las peroxidasas lipídicas y aumenta los elementos de los sistemas de defensa antioxidante en el tejido cerebral.</li> <li>• Disminuye los niveles elevados de TNF-<math>\alpha</math> e IL-1<math>\beta</math> en el suero de ratones con EAE y los déficits neurológicos a medida que los signos clínicos se revierten con el tratamiento de HP.</li> </ul>	45



Se encontraron cuatro estudios *in vitro* que investigaban el efecto del polifenol luteolina sobre determinadas células (tabla 10). En dichos estudios se observó un aumento en la expresión de genes implicados en la biogénesis lipídica<sup>46</sup>. Por otra parte, se redujo la proliferación de monocitos y linfocitos, además de inhibir la activación de mastocitos<sup>47,48</sup>.

TABLA 10

*Artículos científicos donde se han estudiado los posibles diferentes efectos del polifenol luteolina en la enfermedad de EM*

<i>Tipo de estudio</i>	<i>Modelo experimental</i>	<i>Resultados</i>	<i>Ref.</i>
<i>In vitro</i>	Cultivo de diferentes células cerebrales y de la médula espinal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Expresión aumentada de genes implicados en la biogénesis lipídica.</li> <li>• Promovió el desarrollo morfológico de células progenitoras de oligodendrocitos (OPC) y su maduración.</li> </ul>	46
	Células mononucleares (PBMC)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Redujo, de una manera dependiente de la dosis, la proliferación de la célula mononuclear de sangre periférica PBMC (linfocitos y monocitos), y moduló los niveles de IL-1beta y TNF-alfa liberados por las PBMC.</li> <li>• Redujo la relación MMP-9 / TIMP-1 al reducir la producción de MMP-9.</li> <li>• Cuando se combina con IFN-beta, tiene efectos aditivos en la modulación de la proliferación celular, IL-1 beta, TNF-alfa, MMP-9 y TIMP-1.</li> </ul>	47
	Mastocitos y células Jurkat T	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inhibe la activación de mastocitos, la activación de células Jurkat y la estimulación de células Jurkat dependientes de mastocitos.</li> </ul>	48

### *Efecto de la genisteína (GEN) en la enfermedad de EM*

Encontramos solamente un artículo realizado *in vitro* sobre motoneuronas (tabla 11). Se observó que el tratamiento con la GEN revirtió la muerte apoptótica y los cambios celulares después de la exposición a citoquinas, y se asoció con un aumento de la expresión del receptor de estrógenos  $\beta$ , lo que sugiere que la GEN puede promover la neuroprotección a través de vías mediadas por estos receptores<sup>49</sup>. Los dos estudios encontrados con este antioxidante *in*



vivo fueron con ratones C57Bl/6 inmunizados con péptido glicoproteico de oligodendrocitos de mielina (MOG) (35-55) y suplementados con *Mycobacterium tuberculosis* H37RA. En estos estudios se postula una disminución de las células productoras de IL17<sup>50</sup> y una mejora significativa de los síntomas clínicos, modulando las citoquinas pro y antiinflamatorias<sup>50,51</sup>.

TABLA 11

Artículos científicos donde se han estudiado los posibles diferentes efectos del polifenol genisteína en la enfermedad de EM

Tipo de estudio	Modelo experimental	Resultados	Ref.
<i>In vitro</i>	Motoneuronas de la médula espinal ventral 4.1	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Revierte la muerte apoptótica y los cambios celulares después de la exposición a citoquinas y se asocia con un aumento de la expresión del receptor de estrógenos <math>\beta</math>.</li> </ul>	49
<i>In vivo</i>	Ratones C57Bl/6	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminuye las células productoras de IL17.</li> <li>• Reduce IFN-<math>\gamma</math> e IL6.</li> </ul>	50
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tiene propiedades apoptóticas, antioxidantes y antiinflamatorias.</li> <li>• Mejora significativamente los síntomas clínicos, modulando las citoquinas pro y antiinflamatorias.</li> </ul>	51

### Efectos de la baicalina en la enfermedad de EM

Encontramos solamente un artículo realizado *in vitro* sobre microglía primaria y una línea celular de microglía, BV2 (tabla 12). Se observó que inhibe la migración de las células T autoinmunes en el SNC. Además, reduce la activación de la microglía, suprimiendo la fagocitosis y la producción disminuida de citoquinas proinflamatorias y quimioquinas en el SNC<sup>52</sup>. En los dos estudios *in vivo* con ratones con EAE se vio que es capaz de mejorar de forma efectiva, la gravedad de la enfermedad clínicamente hablando y de reducir la inflamación y la desmielinización del SNC. Redujo la infiltración de células inmunitarias en el SNC, inhibió la expresión de moléculas proinflamatorias y quimioquinas y evitó la diferenciación de las células Th1 y Th17 a través de



las vías de señalización STAT/NF- $\kappa$ B<sup>53</sup>. También se vio una atenuación de la pérdida de peso y la disfunción motora en ratones sometidos a cuprizona<sup>54</sup>.

TABLA 12

*Artículos científicos donde se han estudiado los posibles diferentes efectos del polifenol baicalina en la enfermedad de EM*

<i>Tipo de estudio</i>	<i>Modelo experimental</i>	<i>Resultados</i>	<i>Ref.</i>
<i>In vitro</i>	Microglía primaria y una línea celular de microglía, BV2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inhibe la migración de las células T autoinmunes en el SNC.</li> <li>• Reduce la activación de la microglía, suprimiendo la fagocitosis, y la producción disminuida de citoquinas proinflamatorias y quimioquinas en el SNC.</li> <li>• Inhibición de la activación de microglía que se asoció con disminución de la actividad de NF-<math>\kappa</math>B y MAPK.</li> </ul>	52
<i>In vivo</i>	Ratones con EAE	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reducción de la inflamación y la desmielinización del SNC.</li> <li>• Reducción de la infiltración de células inmunitarias en el SNC e inhibición de la expresión de moléculas proinflamatorias y quimioquinas.</li> </ul>	53
	Modelo de ratones expuestos a cuprizona	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ejerce efectos antiinflamatorios y antioxidantes.</li> <li>• Atenuó la pérdida de peso y la disfunción motora.</li> <li>• Atenuó la desmielinización inducida por cuprizona, la activación glial, la expresión de citoquinas proinflamatorias y la disfunción motora.</li> </ul>	54

### *Efectos de otros polifenoles menos estudiados*

Los polifenoles de los que solo se ha realizado una investigación relacionada con la EM son: antocianos, licocalona A, dihidroxiflavona, icarina, escutelarina, apigenina, daizeina y curcumina (tabla 13). Dichas investigaciones han dado como resultado nueve publicaciones. De estas, dos son *in vitro*<sup>55,56</sup> y siete son *in vivo*<sup>57-63</sup>. Se observaron efectos inmunomoduladores, antioxidantes y antiinflamatorios. Mejora así la EAE, disminuyendo la desmielinización, lo que se asocia con la diferenciación de células T suprimidas. Sin embargo, sus efectos en las células dendríticas (DC) y la EM siguen siendo desconocidos<sup>55-59</sup>.



TABLA 13

Artículos científicos donde se han estudiados los posibles diferentes efectos de polifenoles en la enfermedad de EM

Tipo de estudio	Modelo experimental	Resultados	Ref.
In vitro	Células de la protuberancia de las ratas	Antocianos • Restaura los niveles de IL10 y las actividades de la bomba de iones y, además, protege los componentes celulares contra los daños inflamatorios y oxidativos inducidos por la desmielinización.	55
	Esplenocitos extraídos de ratones con EAE	Licocalona A • Inhibición de la producción de IFN- $\gamma$ , IL17 y TNF- $\alpha$ , y los oxidantes H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> y NO	56
In vivo	Ratones C57BL/6 con EAE inducida por MOG	Dihidroxi flavona • Reduce la inflamación, desmielinización y pérdida axonal. • Inhibe la diferenciación, la maduración, la función y la expresión en células Th1 de las citoquinas polarizantes IFN- $\gamma$ e IL-12p35 de las CD.	57-58
		Icarina • Suprime la proliferación de las células T. • Modula la actividad de las células dendríticas. • Disminuye la producción de interleukinas como la IL17 y de IFN-g.	59
	Ratón C57BL/6	Escutelarina • Mejora significativa de la función motora. • Disminuye la desmielinización.	60
		Apigenina • Disminuye la infiltración de células inmunitarias y reduce la desmielinización en el SNC.	61
	Ratones C57BL/6 con EAE	Daizeina • Reduce el grado de desmielinización y la severidad de la enfermedad.	62
	Ratas hembras Lewis	Curcumina • Disminuye significativamente las cantidades de desmielinización, inflamación y desintegración de la barrera hematoencefálica.	63



## DISCUSIÓN

El trabajo realizado se ha centrado en el papel que pueden ejercer los polifenoles en la enfermedad de la EM, cuyos mecanismos moleculares que la desencadenan son aún desconocidos. Aunque, por lo que se conoce en la actualidad, el estrés oxidativo y sus respectivos radicales libres son los factores más influyentes y son capaces de desencadenar esta enfermedad. De ahí que se plantee que las moléculas antioxidantes pueden jugar un papel fundamental en el tratamiento de esta enfermedad.

Tras el estudio realizado, se encontraron 35 artículos. En el caso de los estudios *in vivo* encontrados, la mayoría utilizan el mismo modelo experimental desarrollado correspondiente a ratones C57Bl/6 con EAE<sup>30-35,38,44,45,50,51,57,60-62</sup>. De todos estos artículos, 13 corresponden a investigaciones sobre todo con dos polifenoles: resveratrol y EGCG. Ambos han sido extensamente estudiados en otras enfermedades neurodegenerativas. Este hecho los hace posibles candidatos para estudios *a posteriori* con pacientes de EM.

Centrándonos en el caso del resveratrol, destaca lo siguiente: *in vitro* tiene un efecto antioxidante, antiinflamatorio y neuroprotector, aumentando la viabilidad celular y la respuesta antioxidante<sup>29</sup>. *In vivo* se pudo comprobar que reduce la pérdida neuronal<sup>31</sup>, disminuye la neuroinflamación de manera muy destacable y reduce la severidad de la EAE en los ratones<sup>32</sup>. Todos los resultados obtenidos en estos estudios fueron francamente muy positivos.

Pero otros estudios indican que con la administración oral de este antioxidante no se alcanzan resultados significativos respecto a neuroprotección ni a inflamación (e incluso observan un aumento en la inflamación)<sup>33</sup>. Puede que este resultado sea debido a la utilización de baja concentración de resveratrol (20 mg/kg/día), cuando otros estudios indican que son necesarias concentraciones más altas para obtener concentraciones plasmáticas adecuadas<sup>64</sup>.

Por todo ello, aunque algunos autores indiquen su baja biodisponibilidad, a concentraciones elevadas se han obtenido buenos resultados con ratones. Hecho este que lo hace idóneo para su utilización en pacientes con EM<sup>65</sup>.

En cuanto al EGCG, se han encontrado estudios *in vivo* que indican una reducción de la inflamación del cerebro y del daño por desmielinización, acompañado por respuestas de células T encefalitogénicas disminuidas y por expresión reducida de citoquinas, como puede ser el IFN- $\gamma$  interleucina-17



(proteínas producidas por macrófagos y linfocitos que regulan el mecanismo de la inflamación, activando las células T)<sup>37</sup>.

También se ha realizado un estudio clínico en pacientes con MSA (atrofia multisistémica) a los que se les suministraba EGCG y donde se vio una mejora del metabolismo energético en reposo y durante el ejercicio, mejorando así el metabolismo muscular (en mayor medida en hombres que en mujeres)<sup>41</sup>. Debido a los resultados tan positivos encontrados con el EGCG y el estudio realizado con pacientes, hace que sea un candidato también idóneo para utilizarlo con pacientes de EM con la finalidad de mejorar su calidad de vida.

Como ya se ha indicado, algunos polifenoles como el resveratrol presentan una baja absorción, solubilidad y biodisponibilidad. Por ello, es necesario puntualizar además que, para alcanzar niveles que sean eficaces en tejido nervioso, la ingesta de polifenoles debe ser repetida periódicamente y a concentraciones suficientemente elevadas como para alcanzar concentraciones plasmáticas adecuadas.

El mayor problema de biodisponibilidad lo podemos ver en el caso del resveratrol. Aquí, una posible solución sería utilizar análogos como el pterostilbeno (estilbeno muy similar al resveratrol, pero con mayor biodisponibilidad que este y efectos parecidos). Dicho polifenol ha tenido efectos muy beneficiosos en el caso de otras enfermedades como el cáncer<sup>65</sup>.

Por último, podemos concluir que todos los polifenoles encontrados en la literatura tienen un potencial terapéutico frente a la EM, ya que muchos de los polifenoles testados, como en los casos de luteolin, queracitina, hesperidina, genisteína, tocoferol, 7,8-dihydroxiflavona o baicaleína, han arrojado resultados muy positivos, tanto en supervivencia y funcionalidad neuronal y disminución de los procesos inflamatorios ocasionados como en aumento de la esperanza de vida y la ejecución motora<sup>42-45,49,54</sup>.

Para la limitación en el caso de estos polifenoles pocos son los estudios encontrados, lo que hace que se dude de su eficacia clínica en la EM.

Por todo lo analizado anteriormente las conclusiones del estudio son que los polifenoles más estudiados en los últimos diez años han sido el resveratrol y el EGCG, tanto en modelos celulares como en animales y en clínica. Además, tanto con el resveratrol como con el EGCG se han obtenido unos resultados numerosos y muy positivos, siempre y cuando las dosis de los polifenoles sean mantenidas en el tiempo y a concentraciones suficientemente elevadas



como para alcanzar concentraciones plasmáticas adecuadas. También se observa que con todos los polifenoles hay disminución de la neuroinflamación, con disminución a su vez de la producción de citoquinas proinflamatorias y no proliferación de células T, disminución de la desmielinización, aumento con ello de la viabilidad neuronal y mejora del metabolismo energético muscular en algunos casos. Por todo ello, una posible intervención en pacientes con EM con una combinación de EGCG y resveratrol (o pterostilbeno, el análogo de fácil producción del resveratrol con mejor biodisponibilidad) es factible y se podrían obtener buenos resultados.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Núñez AJ. Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. *Revista Cubana Salud Pública*. 2011; 37 (Suppl 5):644-60.
2. Rodríguez JM, Menéndez JR, Trujillo Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Revista Cubana de Medicina Militar*. 2001; 30(1):15-20.
3. Martínez CD, Vargas CR, Arancibia SR. Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Revista de la Facultad de Medicina (Mexico)*. 2003; 46(6):229-35.
4. Venereo JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*. 2002; 31(2):126-33.
5. Cabrera TC, Serrano DS. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Revista Cubana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular*. 2014; 14(1).
6. Corrales LC, Ariza MM. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova*. 2012; 10(18):423-52.
7. Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan RT. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current neuropharmacology*. 2009; 7(1):65-74.
8. Innamorato NG. Papel del factor de transcripción nrf2 en neuroinflamación y neurodegeneración en modelos experimentales de enfermedad de parkinson (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Madrid).2011; 50(4): 212-222.



9. Mitsuishi Y, Motohashi H, Yamamoto M. The Keap-1-Nrf2 system in cancers: stress response and anabolic metabolism. *Frontiers in Oncology*. 2012; 2:200.
10. Montero M. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. Revisión. In *Anales de la Facultad de Medicina*. 1996; 57(4):278-81.
11. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2006; 141(2):312-22.
12. Ejealde JI. Oxidación, entre la vida y la enfermedad. *Anales de Medicina Interna*. 2001; 18:1-4.
13. Ríos MC. El estrés oxidativo y el destino celular. *Química Viva*. 2003; 217-28. Disponible en: <<http://udg.redalyc.org/articulo.oa?id=86320104>>.
14. Rubio JM. Diseño de una bebida con elevado contenido en polifenoles y estudio de su efecto sobre la evolución del estrés oxidativo en enfermos de Alzheimer. Universidad Católica de Murcia. 2015; 65 (5):552-57.
15. Abenavoli L, Milic N, Luzzza F, Boccuto L, Lorenzo A. Polyphenols treatment in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Translational Internal Medicine*. 2017; 5(3):320-50.
16. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*. 2012; 58 (4):178-189.
17. Estrela JM, Mena S, Obrador E, Benlloch M, Castellano G, Salvador R, Dellinger RW. J. Polyphenolic Phytochemicals in Cancer Prevention and Therapy: Bioavailability versus Bioefficacy. *Medicinal Chemistry*. 2017; 60(23):9413-36.
18. Tsao R. Chemistry and Biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2010; 2 (12):1231-46.
19. Solanki I, Parihar P, Parihar MS. Neurodegenerative diseases: From available treatments to prospective herbal therapy. *Neurochemistry International*. 2016; 100-8.
20. Tan L, Yu J, Tan L. Causes and Consequences of MicroRNA Dysregulation in Neurodegenerative Diseases. *Molecular Neurobiology*. 2014; 51(3):1249-62.



21. Reguera MM, Souza TF, Paz JA. Test-retest reliability of static postural control in people with multiple sclerosis. *Journal of Physical Therapy Science*. 2017; 29(8):1399-04.
22. Bhetariya PJ, Kriesel JD, Fischer KF. Analysis of Human Endogenous Retrovirus Expression in Multiple Sclerosis Plaques. *Journal of emerging diseases and virology*. 2017; 3(2):255-60.
23. Rice L, Kalron A, Berkowitz SH., Backus D, Sosnoff J. Fall prevalence in people with multiple sclerosis who use wheelchairs and scooters. *Medicine*. 2017; 96(35):e7860.
24. González L, Pérez JG, Flores M, Macías MN, Hernández GC. Antioxidant use as dietary therapy in patients with multiple sclerosis. *Medwave*. 2015; 15(1):e6065-e6065.
25. Lomakin Y, Arapidi GP, Chernov A, et al. exposure to the epstein-Barr Viral antigen latent Membrane Protein 1 induces Myelin-reactive antibodies *In Vivo*. *Frontiers in Immunology*. 2017; 8(2):152-70.
26. Miclea A, Miclea M, Pistor M, Hoepner A, Chan A, Hoepner R. Vitamin D supplementation differentially affects seasonal multiple sclerosis disease activity. *Brain and Behavior*. 2017; 51(8):416-23.
27. Garrancho MP. Análisis del papel protector de los polifenoles en enfermedades neurodegenerativas [TFG]. Jaén: Universidad de Ciencias Experimentales; 2014; 90(35):399-404.
28. Riancho J, Gonzalo I, Ruíz-Soto M, Berciano J. ¿Por qué degeneran las motoneuronas? Actualización en la patogenia de la esclerosis lateral amiotrófica. *Neurología*. 2015; 15 (3):95-9.
29. Liuzzi GM, Latronico T, Branà MT, et al. Structure-Dependent Inhibition of Gelatinases by Dietary Antioxidants in Rat Astrocytes and Sera of Multiple Sclerosis Patients. *Neurochemical Research*. 2011; 36(3):518-27.
30. Ghaiad HR, Nooh, MM, El-Sawalhi, MM, Shaheen AA. Resveratrol Promotes Remyelination in Cuprizone Model of Multiple Sclerosis: Biochemical and Histological Study. *Molecular Neurobiology*. 2017; 54(5):3219-29.
31. Fonseca KZ, Nassrallah M, Uribe J, et al. Resveratrol Neuroprotection in a Chronic Mouse Model of Multiple Sclerosis. *Frontiers in Neurology*. 2012; 3(84):2811-6.



32. Toby J, Imler Jr, Thomas MP. Decreased severity of experimental autoimmune encephalomyelitis during resveratrol administration is associated with increased IL-17+IL-10+ T cells, CD4<sup>-</sup> IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> cells, and decreased macrophage IL-6 expression. *International Immunopharmacology*. 2009; 9(1):134-43.
33. Sato F, Martinez NE, Shahid M, Rose JW, Carlson NG, Tsunoda I. Resveratrol exacerbates both autoimmune and viral models of multiple sclerosis. *American Journal of Pathology*. 2013; 183(5):1390-6.
34. Junpeng W, Zhihong R, Yanmei X, Sheng X, Simin N, Meydani Dayong Wu. Epigallocatechin-3-gallate ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis by altering balance among CD4<sup>+</sup> T-cell subsets. *The American Journal of Pathology*. 2012; 180 (1):221-34.
35. Herges K, Millward JM, Hentschel N, Infante DC, Aktas O, et al. Neuroprotective Effect of Combination Therapy of Glatiramer Acetate and Epigallocatechin-3-Gallate in Neuroinflammation. 2011; 6(10):e25456.
36. Wu D. Green tea EGCG, T-cell function, and T-cell-mediated autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Investigative Medicine*. 2016; 64(8):12-3.
37. Kai-Chang Z, Jia-ju L, Xiao-Lin X, Jian-mei S. Novel immunoregulatory properties of EGCG on reducing inflammation in EAE. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*. 2013; 18:332-42.
38. Mossakowski AA, Pohlan J, Bremer D, Lindquist R, Millward JM, Bock M, Radbruch H. Tracking CNS and systemic sources of oxidative stress during the course of chronic neuroinflammation. *Acta Neuropathologica*. 2015; 130(6):799-814.
39. Levin J, Maaß S, Schubert M, et al. The PROMESA-protocol: progression rate of multiple system atrophy under EGCG supplementation as anti-aggregation-approach. *Journal of Neural Transmission*. 2016; 123(4): 439-45.
40. Lovera J, Ramos A, Devier D, et al. Polyphenon E, Non-futile at Neuroprotection in Multiple Sclerosis but Unpredictably Hepatotoxic: Phase I Single Group and Phase II Randomized Placebo-Controlled Studies. *Journal of the Neurological Sciences*, 2015; 358(0):46-52.
41. Mähler A, Steiniger J, Bock M, et al. Metabolic response to epigallocatechin-3-gallate in relapsing –remitting multiple sclerosis: a randomized



- clinical trial-. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2015; 101(3):487-95.
42. Mrvová N, Škandík M, Kuniaková M, Račková L. Modulation of BV-2 microglia functions by novel quercetin pivaloyl ester. *Neurochemistry International*. 2015; 90:246-54.
  43. Sternberg Z, Lieberman A, Hojnacki D, Drake A, Zamboni P, Munschauer F. Quercetin and interferon- $\beta$  modulate immune response (s) in peripheral blood mononuclear cells isolated from multiple sclerosis patients. *Journal of Neuroimmunology*. 2008; 205(1):142-47.
  44. Haghmorad D, Mahmoudi MB, Salehipour Z, et al. Hesperidin ameliorates immunological outcome and reduces neuroinflammation in the mouse model of multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*, 2017; 302:23-33.
  45. Ciftci O, Ozcan C, Kamisli O, Cetin A, Basak N, Aytac B. Hesperidin, a citrus flavonoid, has the ameliorative effects against experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in a C57BL/J6 mouse model. *Neurochemical Research*. 2015; 40(6):1111-20.
  46. Barbierato M, Facci L, Marinelli C, et al. Co-ultramicrosized palmitoylethanol amide/luteolin promotes the maturation of oligodendrocyte precursor cells. *Scientific Reports*. 2015; 5(5):166-76.
  47. Sternberg Z, Chadha K, Lieberman A, et al. Immunomodulatory responses of peripheral blood mononuclear cells from multiple sclerosis patients upon in vitro incubation with the flavonoid luteolin: additive effects of IFN- $\beta$ . *Journal of Neuroinflammation*. 2009; 6(1):28.
  48. Kempuraj D, Tagen M, Iliopoulou BP, et al. Luteolin inhibits myelin basic protein-induced human mast cell activation and mast cell-dependent stimulation of Jurkat T cells. *British Journal of Pharmacology*. 2008; 155(7):1076-84.
  49. McDowell ML, Das A, Smith JA, Varma AK, Ray SK, Banik NL. Neuroprotective effects of genistein in VSC4. 1 motoneurons exposed to activated microglial cytokines. *Neurochemistry International*. 2011; 59(2):175-184.
  50. Castro SB, Junior CO, Alves CC, et al. Immunomodulatory effects and improved prognosis of experimental autoimmune encephalomyelitis after



- O-tetradecanoyl-genistein treatment. *International Immunopharmacology*, 2012; 12(2):465-70.
51. Paula ML, Rodrigues DH, Teixeira HC, Barsante MM, Souza MA, Ferreira, AP. Genistein down-modulates pro-inflammatory cytokines and reverses clinical signs of experimental autoimmune encephalomyelitis. *International Immunopharmacology*. 2008; 8(9): 1291-7.
  52. Xu J, Zhang Y, Xiao, Y, et al. Inhibition of 12/15-lipoxygenase by baicalin induces microglia PPAR $\beta/\delta$ : a potential therapeutic role for CNS autoimmune disease. *Cell Death & Disease*. 2013; 4(4): e569.
  53. Zhang Y, Li X, Ciric B, et al. Therapeutic effect of baicalin on experimental autoimmune encephalomyelitis is mediated by SOCS3 regulatory pathway. *Scientific Reports*. 2015; 4(5):174-87.
  54. Hashimoto M, Yamamoto S, Iwasa K, et al. The flavonoid Baicalein attenuates cuprizone-induced demyelination via suppression of neuroinflammation. *Brain Research Bulletin*. 2017; 135:47-52.
  55. Carvalho FB, Gutierrez JM, Bohnert C, et al. Anthocyanins suppress the secretion of proinflammatory mediators and oxidative stress, and restore ion pump activities in demyelination. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2015; 26(4):378-90.
  56. Fontes LB, Santos DD, Carvalho LSA, et al. Immunomodulatory effects of licochalcone A on experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2014; 66(6):886-94.
  57. Makar TK, Nimmagadda VK, Singh IS, et al. TrkB agonist, 7, 8-dihydroxyflavone, reduces the clinical and pathological severity of a murine model of multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. 2016; 292:9-20.
  58. Zhang K, Ge Z, Xue Z, et al. Chrysin suppresses human CD14+ monocyte-derived dendritic cells and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neuroimmunology*. 2015; 288:13-20.
  59. Shen R, Deng W, Li C, Zeng G. A natural flavonoid glucoside icariin inhibits Th1 and Th17 cell differentiation and ameliorates experimental autoimmune. *International Immunopharmacology*. 2015; 24(2):224-31.
  60. Wang WW, Lu L, Bao TH, et al. Scutellarin alleviates behavioral deficits in a mouse model of multiple sclerosis, possibly through protecting neural stem cells. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2016; 58(2):210-20.



61. Ginwala R, McTish E, Raman C, et al. Apigenin, a natural flavonoid, attenuates EAE severity through the modulation of dendritic cell and other immune cell functions. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2016; 11(1):36-47.
62. Jahromi SR, Arrefhosseini SR., Ghaemi A, Alizadeh A, Tabriz HM, Togha M. Alleviation of experimental allergic encephalomyelitis in C57BL/6 mice by soy daidzein. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*. 2014; 13(4):256.
63. Mohajeri M, Sadeghizadeh M, Najafi F, Javan M. Polymerized nano-curcumin attenuates neurological symptoms in EAE model of multiple sclerosis through down regulation of inflammatory and oxidative processes and enhancing neuroprotection and myelin repair. *Neuropharmacology*. 2015; 99:156-167.
64. Ghaiad HR, Nooh MM, El-Sawalhi MM, Shaheen AA. Resveratrol Promotes Remyelination in Cuprizone Model of Multiple Sclerosis: Biochemical and Histological Study. 2017; 54(5):3219-29.
65. Benlloch M et al. Pterostilbene decreases the antioxidant defenses of aggressive cancer cells *in vivo*: a physiological glucocorticoids- and Nrf-2-dependent mechanism. *Antioxid Redox Signal*. 2016; 24(17): 974-90.

