2009B-2014A 209368716

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS.

EFECTOS DEL CONSUMO DE TORTILLA DE MAÍZ AZUL DE LA RAZA MIXTECO SOBRE LA CAPACIDAD DE MEMORIA VISOESPACIAL EN RATAS ADULTAS

TRABAJO DE TITULACIÓN EN LA MODALIDAD DE

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

LUIS OCTAVIO AGUIRRE LÓPEZ

LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JAL., JUNIO DE 2015

ÍNDICE GENERAL

Listado de abreviaturas---------- 3

Relación de figuras---------- 4

Relación de cuadros ---------- 5

Resumen---------- 6

Introducción---------- 7

Antecedentes generales---------- 9

Alimentos funcionales---------- 9

Antocianinas como parte de los alimentos funcionales------ 11

Características generales de los flavonoides---------- 11

Flavonoides como parte de la alimentación---------- 12

Metabolismo de los flavonoides---------- 13

Estructura y propiedades de las antocianinas---------- 15

Metabolismo de las antocianinas---------- 17

Transporte y absorción de las antocianinas---------- 18

Efecto neuroprotector de las antocianinas---------- 19

Propiedades nutricionales del Maíz azul (*Zea mays L.)*---------- 21

Proceso de Nixtamalización---------- 22

Efecto de los polifenoles sobre la integridad del tejido nervioso-- 25

Evaluación de la capacidad de aprendizaje y memoria---------- 26

Establecimiento del aprendizaje y memoria espacial en roedores-- 27

Planteamiento del problema---------- 31

Justificación---------- 32

Objetivo general---------- 33

Objetivos particulares---------- 33

Hipótesis---------- 34

Material y métodos---------- 35

Elaboración de tortillas---------- 35

Evaluación de la capacidad de aprendizaje y memoria en el laberinto de Barnes---------- 36

Procedimiento en la realización de la prueba, laberinto abierto de Barnes---------- 37

Resultados---------- 39

Consumo de tortilla---------- 39

Evaluación del peso corporal---------- 39

Tiempo de latencia, número de errores y tiempo de permanecía-- 40

Discusión---------- 45

Consumo de tortilla---------- 45

Evaluación del peso corporal---------- 45

Tiempo de latencia, número de errores y tiempo de permanecía-- 46

Diagramas de actividades---------- 47

Referencias bibliográficas---------- 48

LISTADO DE ABREVIATURAS

AF Alimentos funcionales

BTL Bilitraslocasa

CBG Citosol-β-glucosidasa

CTR Grupo control

EA Enfermedad de Alzheimer

EFSA *European Food Safety Authority*

EP Enfermedad de Parkinson

ILSI *International Life Science Institute*

LAB Laberinto abierto de Barnes

LAM Laberinto acuático de Morris

LPH Lactosa-florizin-hidrolasa

MA Grupo maíz azul

MB Grupo maíz blanco

SGLT1 Transportadores glicosídicos/Na^+-dependientes 1

RELACIÓN DE FIGURAS

Figura 1 Estructura básica de las antocianinas

Figura 2 Proceso tradicional de nixtamalización del maíz

Figura 3 Estructura básica de un grano de maíz

Figura 4 Esquema del laberinto abierto de Barnes

Figura 5 Esquema del sector más próximo a la caja de escape

Figura 6 Registro del peso corporal de la ratas, durante el tiempo de prueba

Figura 7 Registro de los tiempos de latencia

Figura 8 Registro de errores cometidos durante la prueba

Figura 9 Registro del tiempo de permanencia en el sector más próximo al objetivo

Figura 10 Porcentaje de los tiempos de permanencia con respecto al tiempo total.

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar el efecto del consumo de tortillas elaboradas con maíz pigmentado de la raza Mixteco variedad CIIDIR 125, obtenido de Chalcatongo región Mixteca del Estado de Oaxaca, sobre los parámetros cognitivos de memoria visoespacial a corto plazo. Para lo cual se utilizaron ratas hembras de 13 meses de edad, divididas de forma aleatoria en tres grupos; un grupo al que se le proporcionó tortilla de maíz azul, un segundo grupo que se alimentó con tortilla de maíz blanco variedad pozolero blanco; y un tercer grupo que solo consumió alimento comercial. La prueba de laberinto abierto de Barnes (LAB), no mostro diferencias significativas en los parámetros evaluados; sin embargo se observo un menor tiempo de latencia en el grupo alimentado con tortillas de maíz azul, con respecto al grupo tratado con maíz blanco. Así mismo el porcentaje de tiempo empleado en la búsqueda de la caja de escape, en el sector más próximo, fue mayor por parte del grupo de animales alimentados con tortillas azules. Estos resultados demuestran una tendencia hacia un mejor desempeño en la prueba y el mejoramiento en la retención de memoria durante la realización en el laberinto abierto de Barnes por parte del grupo tratado con tortilla azul respecto los grupos control y maíz blanco.

INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una tendencia mundial hacia el consumo de alimentos que además de un valor nutritivo, aporten sustancias que beneficien las funciones fisiológicas del organismo. En este grupo de alimentos se encuentra el maíz (*Zea mays L.)* y sus productos derivados. Se considera al maíz como uno de los cereales con mayor importancia a nivel mundial, recientemente, las variedades pigmentadas de maíz han despertado el interés de los consumidores, debido al aumento de estudios que muestran el alto contenido de antioxidantes naturales con efectos benéficos a la salud (Lizano, 2012).

México, ocupa el quinto lugar mundial en producción de maíz, principalmente de color blanco, seguido del amarillo y el azul. Este cereal es básico en la dieta de los mexicanos, y ha evolucionado con las civilizaciones desde tiempos precolombinos; a partir de él, se elaboran gran cantidad de productos con una demanda considerable entre los consumidores, la tortilla por ejemplo, es un subproducto ampliamente utilizado. Ahora bien, la tortilla es un alimento básico para la población mexicana. El INEGI (2010) reportó que en México el consumo anual de tortilla per cápita superó los 50 Kg.

La forma de elaboración de las tortillas ha sido transmitida de generación en generación. Para su preparación, el grano de maíz debe ser sometido a un tratamiento térmico alcalino llamado “nixtamalización”; tras lo cual, el maíz es molido hasta formar una pasta suave conocida como “masa” que se emplea para la elaboración de la tortilla. Cabe destacar, que casi cualquier variedad de maíz puede ser utilizada con este propósito aunque, las evidencias actuales muestran que las variedades de maíz azul además de su valor nutricional, pueden aportar pigmentos llamados antocianinas, haciendo de las tortillas un producto con potencial para el aporte de colorantes con capacidad antioxidante. Estudios epidemiológicos llevados a cabo en varios países han evidenciado que los frutos y vegetales que contienen estos pigmentos fenólicos reducen el riesgo de enfermedades coronarias y de algunos tipos de cáncer (Cuevas-Rodriguez, 2011; Acosa-Montoya, y cols., 2010; Salinas y cols., 2001).

A partir de los ochentas, en Japón se introdujo el término de alimento funcional (AF). Aun que actualmente no existe una definición universal para los alimentos funcionales ya que se trata, más de un concepto; que de un grupo de alimentos. A grandes rasgos pueden considerarse AF aquellos que tienen un efecto benéfico para la salud, al contener componentes biológicamente activos, que pueden reducir el riesgo de sufrir enfermedades; en adición al contenido de nutrimentos, y que se consumen como parte de una dieta normal. Entre algunos ejemplos, el pescado que contiene omegas, frutas y verduras ricas en minerales, vitaminas, ácidos grasos o fibra alimenticia, así como los alimentos a los que se han añadido sustancias biológicamente activas, como metabolitos secundarios de las plantas, otros antioxidantes y probióticos (Aranceta, y cols., 2003 Cadaval, y cols., 2005).

De acuerdo a lo anterior, resulta de especial interés realizar estudios que aporten información acerca del potencial que el maíz y la tortilla azul pueden ofrecer como un alimento funcional. Por ello, el presente trabajo tiene como objetivo valorar el efecto del consumo de tortilla elaborada con maíz azul de la raza mixteca, sobre los parámetros cognitivos de aprendizaje y memoria en ratas con 13 meses de edad.

ANTECEDENTES

Alimentos funcionales

No existe un consenso a nivel mundial sobre la definición de AF, sin embargo en 1999 la comunidad europea elaboró un primer documento de consenso sobre conceptos científicos en relación con éstos alimentos. En este documento el *International Life Science Institute* (ILSI) estableció que un AF es "aquel que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, con un efecto añadido por encima de su valor nutricional y cuyos efectos positivos justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional y saludable". Este concepto, evidencia tres aspectos importantes que deben presentar los alimentos funcionales; 1) que el efecto benéfico es independiente de las propiedades nutrimentales del alimento; 2) el beneficio sobre las funciones fisiológicas debe ser demostrado adecuadamente y; 3) que sus efectos benéficos se vean reflejadas en la disminución de enfermedades (Diplock, y cols., 1999; Cadaval, y cols., 2005).

Entre los ejemplos de AF es posible mencionar los productos que están enriquecidos con vitaminas y minerales, como los cereales o los lácteos. Otros alimentos tienen modificado alguno de sus componentes, como los ácidos grasos o la fibra, e incluso valores añadidos en base a su contenido en ácidos grasos omega 3, ácido linoleico conjugado, luteína, isoflavonas, entre otros (Cadaval, y cols., 2005).

Al no existir uniformidad en el concepto de alimento funcional, se ha dado pie al desarrollo de una amplia gama de acepciones entre las que sobresalen términos como: alimentos de diseño, nutracéuticos, alicamentos, farmalimentos, entre otros. Todos estos términos se han considerado como sinónimos por efectos prácticos, pero esta diversidad de términos ha dado lugar a confusión entre los profesionales y los consumidores. Por ello, se debe partir de la premisa de que los alimentos funcionales son el resultado de la aplicación del conocimiento científico básico a la nutrición (Culebras, y cols., 2004).

Ante el auge de los AF, la Comunidad Europea ha establecido una normatividad con relación a la publicidad y propiedades de los alimentos para ser considerados como funcionales, entre las que destacan:

1) Propiedades nutricionales; cuando su aporte de energía y/o nutrientes estén disminuidos, aumentados o modificados para el beneficio de la salud.
2) Saludables, cuando se afirme o sugiera que existe una relación entre un alimento o uno de sus constituyentes con la salud, o sobre funciones fisiológicas como crecimiento, desarrollo, funciones psicológicas o de comportamiento y control del peso corporal, entre otros.
3) Reducción de riesgo de enfermedades; hace referencia a un alimento con uno o varios compuestos que reduzcan significativamente la presencia de factores de riesgo para una determinada enfermedad (Franch, y cols., 2009).

A partir de esta normatividad, de acuerdo al reglamento europeo, un alimento puede ser considerado como nutritivo, saludable o con riesgo reducido de enfermedad cuando:

- Se haya demostrado científicamente el efecto benéfico derivado de la presencia, ausencia o contenido reducido de la sustancia sobre la que se hace la declaración.
- Se demuestra una relación causa-efecto entre el consumo del alimento y el efecto declarado en humanos.
- La sustancia objeto de declaración, debe estar presente en una cantidad significativa para producir el efecto benéfico.
- El ingrediente activo publicitado debe ser asimilado por el organismo.
- Debe aparecer en el etiquetado la cantidad del alimento que se deba consumirse para que el componente objeto de la declaración pueda producir el efecto benéfico. Este consumo no debe evitar la dieta habitual.

Así mismo, la normativa estipula que el proceso para poder acreditar un "*health claim*" (declaración de salud o de propiedades saludables) debe de ser igual de riguroso que el

que se sigue para acreditar un medicamento. Para poder promocionar los beneficios de un producto para la salud, las empresas tendrán que presentar estudios y evidencias científicas. Los estudios deben someterse a los rigurosos análisis de la *European Food Safety Authority* (EFSA), cuya valoración es esencial para que la Comisión Europea le otorgue la categoría de alimento funcional. Consecuentemente, si una empresa invierte en demostrar que su producto tiene propiedades benéficas para la salud, gozará de exclusividad en el uso de sus datos durante cinco años. Por ello, el área de alimentos tiene como reto aplicar las nuevas tecnologías para el desarrollo de alimentos funcionales (SEME, 2010; Simone y cols., 2011).

Antocianinas como parte de los alimentos funcionales

En años recientes, ha aumentado la búsqueda y el uso de alimentos que además del sabor y palatabilidad brinden efectos benéficos al ser humano. Por ello, ha crecido el interés por los pigmentos antociánicos, debido no solamente al color que confieren a los productos que las contienen, sino a su probable papel en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer, diabetes; a sus efectos antiinflamatorios, y como un mejorador de la agudeza visual y comportamiento cognitivo. Por lo tanto, además de su papel como colorantes, las antocianinas son un valor agregado en distintos productos para el consumo humano (Garzón., 2008).

Características generales de los flavonoides.

Los flavonoides comprenden una familia bastante amplia de compuestos polifenólicos; químicamente, estas sustancias son catalogadas como fenoles y se caracterizan por poseer dos anillos aromáticos bencénicos unidos por un puente de tres átomos de carbono, con la estructura general C_6-C_3-C_6. Poseen una estructura benzo-γ-pirona, presentan un peso molecular bajo, y son sintetizados por muchas plantas como metabolitos secundarios, vía fenilpropanoide. En la planta se pueden distribuir en las hojas, tallos, flores, semillas y frutos. Desde un punto de vista funcional, los flavonoides pueden participar como agentes protectores contra daño por radiación ultravioleta,

contra agentes patógenos y depredación por herbívoros. También, pueden forman parte de los pigmentos de las hojas de las plantas, de las flores, frutos y de la regulación de la síntesis de factores del crecimiento vegetal como la auxina (Agati y cols., 2005; Harborne y cols., 1992; Heim y cols., 2002; Mahomoodally., 2005; Vauzour., 2008).

Químicamente estos compuestos presentan una conformación generalizada de dos anillos y pueden presentar un tercer anillo. Los anillos son denominados A, B y C; los átomos de carbono individuales son referidos por un sistema numérico, el cual utiliza números ordinarios para los anillos A y C y números primos para el anillo B. Los flavonoides naturales suelen presentar al menos, tres hidroxilos fenólicos y se encuentran generalmente combinados con azúcares en forma de glicósidos, aunque también se presentan con relativa frecuencia como agliconas libres. Los anillos A y C pueden estar unidos a un anillo heterocíclico de pirona (Cartaya y Reynaldo., 2001; Vauzour., 2008).

Factores como el nivel de oxidación de la pirona, glicosilación o alquilación y el patrón de los grupos oxidrilo (-OH) pueden provocar variaciones en la estructura de la molécula. Debido a esto, es posible reconocer seis clases diferentes de flavonoides: antocianinas, flavonoles, flavonas, flavononas, isoflavonas, flavonoles monoméricos y poliméricos. Además, se pueden presentar derivados aglicosilados, glicocilados y metilados aunque, la estructura básica de los flavonoides es aglicosilada (gliconas). Cabe resaltar que la funcionalidad de estas moléculas es dependiente de su estructura y composición. (Middleton 1998; Vauzour 2008; Kumar y Pandey, 2013,)

Flavonoides como parte de la alimentación.

Desde los años 30 cuando se sintetizó por vez primera una molécula de este tipo, hasta nuestro días se han podido identificar y caracterizar alrededor de 4000 estructuras diferentes de flavonoides, a partir de vegetales, semillas, frutas y productos manufacturados como vinos y cervezas. Esto permite considerar a los flavonoides como parte fundamental en la dieta de humanos y algunos animales. Los flavonoides en los alimentos son generalmente responsables de la coloración, sabor, efecto antioxidante y

protección a la desnaturalización de vitaminas y enzimas (Yao y cols., 2004; Koes y cols., 2005; Vauzour., 2008).

Sin embargo, se debe hacer notar que los procesos y forma de preparación de los alimentos pueden provocar la modificación y disminución en la concentración de flavonoides contenidos en estos. Por ejemplo, un estudio reciente llevado a cabo en el jugo de naranja, mostró que el contenido de estos elementos oscilaba entre 81-200 mg/L mientras que en el endocarpo del fruto no procesado se puede encontrar alrededor de 206-644 mg/L, sugiriendo que la mayor concentración de flavonoides es desechado durante el exprimido y procesamiento del jugo (Izquierdo y cols., 2001).

Debido a sus propiedades, en la actualidad ha crecido el interés por el estudio y conocimiento de los flavonoides, ya que existen evidencias que señalan los beneficios de los flavonoides a la salud humana, como potenciales compuestos terapéuticos y farmacéuticos, entre los que destacan; su capacidad antimutagénica, antimicrobiana, disminución del riesgo de enfermedades cardiacas y neurodegenerativas, su actividad antiinflamatoria, así como su posible participación en el mejoramiento de las funciones cognitivas y memoria a corto y largo plazo (Heim y cols., 2002; Kumar y Pandey, 2013).

Los efectos benéficos de los flavonoides han sido atribuidos a su capacidad antioxidante y quelante; no obstante, existen reportes que sugieren que pueden estar implicados en la modulación de señales intracelulares y en la modulación transcripcional de algunas proteínas (Carluccio y cols., 2003; Heim y cols., 2002; Vauzour, 2008).

Metabolismo de los flavonoides.

La absorción de los flavonoides ingeridos en la dieta depende de las propiedades fisicoquímicas de la molécula, así como de su tamaño, la configuración, solubilidad y permeabilidad. Otro factor que puede modificar la absorción, son los niveles de glicosilación de la molécula; se ha observado por ejemplo, que flavonoides aglicosilados son más fácilmente absorbidos por el intestino delgado, mientras que los glicosilados tienden a ser hidrolizados con la liberación de la aglicona y residuos glucosídicos o ácidos

para poder ser metabolizados. Es de resaltar que la mayoría de los flavonoides (a excepción de la subclase catequin) presentes en las plantas se encuentran asociados a azucares *b*-glucósidos (Daya y cols., 2000).

Trabajos realizados con una gran variedad de flavonoides han demostrado que, antes de su absorción, estos son transformados por la enzima lactosa floridizin hidrolasa (LPH) en las vellosidades del intestino delgado. En la reacción, los flavonoides glicosilados sufren el "corte y liberación" del grupo glicósido. La especificidad de esta enzima puede variar de acuerdo al tipo de azucares asociados a la molécula los cuales pueden ser glucósidos, galactósidos, arabinósidos, xylósidos y rhamnósidos unidos mediante enlaces -O-β-D-glucósidos. Una vez obtenido la aglicona, la molécula se vuelve más liposoluble y puede difundir mediante permeabilidad simple a través de las células epiteliales (Walle, 2004).

Otro mecanismo de hidrolisis es mediado por la actividad de la enzima citoplasmática citosol-β-glucosidasa (CBG) dentro de las células epiteliales. La actividad hidrolítica de esta enzima inicia con el transporte de los glicósidos polares hacia las células epiteliales; posiblemente efectuado a través de transportadores glicosídicos/Na^+-dependientes 1 (SGLT1). Recientemente, se ha venido proponiendo otro mecanismo el cual implica la participación de otras rutas enzimáticas y/o transportadores ATP dependientes (Del Rio y cols., 2013; Walle, 2004; Zhang y cols., 2009).

Los flavonoides glicosídicos que presentan poca afinidad por la LPH o CBG pasan al colon ya que pueden ser absorbidos en el intestino delgado. Ahí se ha demostrado, mediante el análisis de flujo ileal, que tras su ingesta, los polifenoles pueden ser absorbidos en la proximidad del tejido gastrointestinal, y cantidades substanciales pasan hacia los intestinos delgado y grueso donde la microbiota se encarga de romper las fracciones de glucosa adheridas a la molécula. Como resultado, la fracción aglucosilada es fragmentada en unidades pequeñas. Éstas pueden ser absorbidas y probablemente metabolizadas en el hígado antes de ser excretadas por la orina (Del Rio y cols., 2013; Jaganath y cols., 2006; Scheline, 1973).

Estructura y propiedades de las antocianinas

Las antocianinas son moléculas pertenecientes al grupo de los polifenoles conocidos como flavonoides; los cuales confieren pigmentación a las diferentes estructuras de la planta (frutos, semillas, flores, tallos, hojas, etc.) con tonalidades que van desde el rojo, azul y púrpura. Se les atribuyen una amplia variedad de funciones, entre las que destacan su papel en la protección al daño por radiación solar, defensa contra patógenos y/o depredadores naturales; se les puede encontrar en la solución vacuolar de las células epidermales, mientras que en algunas especies vegetales, se pueden almacenar también en vacuolas celulares denominadas antocianoplastos (Small y Pecket, 1982).

De acuerdo a su naturaleza química, las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace β-glucosídico. La estructura química básica de estas agliconas es un ión flavilio, también llamado 2-fenil-benzopirilio, que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (anillo A) y un anillo fenólico (B); el flavilio normalmente funciona como un catión (Fig.1). El grupo flavilio, presenta la cadena típica de un flavonoide C6-C3-C6, que contiene un anillo heterocíclico de benzopirano (anillo C), un anillo aromático fusionado (anillo A) y un constituyente de fenilo (anillo B); en su estado catiónico, tienen dos dobles enlaces en el anillo C (Fig. 1) (Stintzing y Carle, 2004; He y cols., 2010).

Las moléculas pueden presentar uno o más azucares ligados a carbonos en la posición C3, C5 o C7. El color de las antocianinas depende de varios factores intrínsecos, como son los sustituyentes químicos que contenga y la posición de los mismos en el grupo flavilio; por ejemplo, si se aumentan los hidroxilos del anillo fenólico se intensifica el color azul, mientras que la introducción de metoxilos provoca la formación del color rojo. Se conocen aproximadamente 20 antocianinas diferentes; las que se encuentran con mayor frecuencia en las plantas comestibles son la; pelargonidina, delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez; la combinación de éstas con los diferentes azúcares genera

aproximadamente 600 formas diferentes. Los carbohidratos que comúnmente se encuentran son la glucosa y la ramnosa, seguidos de la galactosa, xilosa y la arabinosa, ocasionalmente, la gentobiosa, la rutinosa y la soforosa (Stintzing y Carle, 2004; Pojer, 2013)

Se pueden encontrar también, di y trisacáridos formados por la combinación de los monosacáridos mencionados anteriormente. En cuanto a la forma acilada los ácidos aromáticos más comunes son él; coumarico, cafeico, ferulico, p-hidroxi benzonico, sináptico, malonico, acético, succínico oxálico y málico. Entre las formas de antocianidinas glicosiladas más comunes están: 3-monósidos, 3-biósidos, 3,5-diglucósido y 3,7-diglucósidos; la conjugación con este tipo de moléculas le confiere, a las antocianinas estabilidad y solubilidad. Las antocianinas presentan la capacidad de cambiar su estructura química en función del pH del medio, por ejemplo en pH que va de 1-3 están presentes en forma de un catión flavilium, resultando ser la forma más estable dando coloración roja. A un pH 5 disminuye su estabilidad formando una pseudobase de corbinol incolora, dentro de pH 7-8 se forma un base quinoidal con coloraciones de azul a morado e incluso tonos marrones (He y cols., 2010; Pojer, 2013).

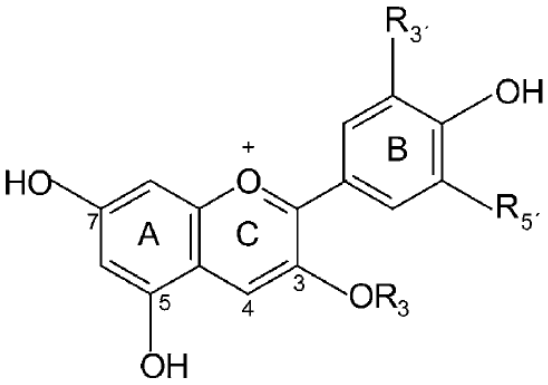

Figura 1. Estructura básica de las antocianinas.

Los miembros de este grupo de moléculas se pueden diferenciar de acuerdo a: 1) el número de grupos hidroxilo o metoxilo ligados al anillo B, 2) por el número de azucares ligados a la glicona, 3) por su posición dentro del anillo, y 4) por el tipo de azúcar que

contiene. También, el número de ácidos alifáticos o aromáticos pueden definir el tipo de antocianina, denominadas antocianinas aciladas (de Pascual y Sánchez, 2008).

Este grupo de moléculas, se ha vuelto cada vez más importante ya que ha demostrado tener potencial, en la reducción de enfermedades coronarias, cáncer y diabetes. Además, se han reportado sus efectos antiinflamatorios y su participación en el mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo. Por lo tanto, los alimentos que los contienen pueden ser considerados como productos con valor agregado para el consumo humano como fuente de colorantes naturales; mas allá de su probable papel en la industria de alimentos, como colorantes (Garzón, 2008).

Metabolismo de las antocianinas

Aunque se conocen bien la capacidad de las antocianinas para reducir la probabilidad de padecer un gran número de enfermedades, es escasa aún la información disponible en lo que respecta a su biodisponibilidad, metabolismo y farmacocinética. Aunque, las evidencias disponibles parecen indicar que las antocianinas pobremente no son absorbidas y metabolizadas al mismo grado que otros flavonoides como en el caso de los flavonoles, flavonas o isoflavonas. Aunque varios estudios han establecido que la absorción de la mayoría de los flavonoides ocurre en el intestino delgado (Hollman, y cols., 1996; Kay, 2006).

Durante las últimas décadas el grupo de las antocianinas ha adquirido un gran interés, ya que se han encontrado propiedades benéficas para la salud humana, sin embargo; aún no se conoce del todo la forma en que esta clase de moléculas es metabolizada una vez que se han consumido a través de la dieta. Por ello, se deben conocer sus mecanismos de degradación, absorción y metabolismo con el propósito de sugerir la mejor vía de aprovechamiento. Debido a esto, se han llevado a cabo estudios enfocados en determinar su biodisponibilidad y metabolismo.

En este sentido se ha reportado un bajo porcentaje en la absorción de antocianinas tras la administración oral, en el orden de 0.004% a 0.1% de la ingesta total; por otra parte se ha indicando una rápida absorción y excreción, alcanzando su nivel máximo en plasma en un tiempo promedio de 1.5 h; y en orina alcanza su concentración máxima a las 2.5 h. Los metabolitos de las antocianinas pueden persistir en la orina hasta 24 h después de la ingesta. Existen reportes que indican que las antocianinas son rápidamente absorbidas, tanto en el estómago como en intestino delgado y aparecen en la circulación y orina de forma intacta metilada, glucoronisada y/o sulfoconjugada. En ratas alimentadas con una dieta rica en antocianinas durante un periodo de 15 días, se han encontrado estas moléculas distribuidas en diversos órganos incluidos el estómago, intestino delgado, riñones, hígado y cerebro (Manach y cols., 2005; Mazza y cols., 2002).

Evidencias farmacológicas sugieren que la concentración de la forma glucosilada y sus derivados glucoronisados se pueden encontrar en sangre tras 0-5 h tras la ingesta de alimentos con alto contenido de antocianinas, mientras que los derivados metilados se pueden encontrar en el transcurso de tiempo 6-24 h. Lo anterior sugiere, que la bioactividad de las antocianinas se puede modificar en el tiempo como resultado de su transformación metabólica (Lucioli, 2012; Mazza y col., 2002).

Transporte y absorción de las antocianinas

Los flavonoides como las antocianinas, se caracterizan por ser moléculas altamente polares debido a la presencia de azucares en su estructura. Debido a esta propiedad, las antocianinas no pueden difundir mediante permeabilidad simple en el intestino delgado, por lo cual es necesaria la participación de acarreadores específicos como las proteínas de transporte sodio-glucosa. Por otro lado, se ha sugerido que las moléculas deben pasar por un proceso de hidrolisis a través del cual se transforma en una aglicona. Respecto a esto, a partir de la mucosa del intestino delgado humano, se han aislado dos enzimas que pueden participar en esta actividad, la β-glucosidasa que puede actuar sobre los flavonoides glicosilados, y la enzima LPH localizada en la membrana apical de células epiteliales, además de la CBG La enzima LPH es una β-glucosidasa ligada a la membrana; pertenece a

un grupo de proteínas similares, divididas en dos familias. El dominio 1-glicosil hidrolasa se encuentra expuesto hacia la superficie luminal de los enterocitos, presentan un dominio transmembranal y un pequeño dominio citosólico. Esta enzima es la principal responsable de la hidrolisis de la lactosa en, galactosa y glucosa, estos azúcares son fácilmente absorbidos vía transportadores de azucares. Mientras que la enzima CBG participa en la hidrolisis de un amplio rango de glicósidos entre los que se incluyen; glucósidos, galactósido, xilósidos, arabinósidos y fucósidos. Subsiguientemente, se ha comprobado que las antocianinas con poca afinidad a estas enzimas, presentan una reducida absorción en el intestino delgado (Arts y cols., 2004; Blaut y cols., 2003; Hollman y cols., 1999; Hollman y cols., 2004; Prior y Wu, 2006; Wilkinson y cols., 2003; Wu y cols., 2005).

Por otra parte, se ha reportado que las antocianinas son absorbidas en el estómago de forma intacta, además se ha propuesto la participación de proteínas acarreadoras de aniones como las responsables de esta actividad. La proteína que se expresa en el epitelio gástrico es la bilitraslocasa (BTL), la cual es una permeasa aniónica que se localiza en la membrana basolateral del epitelio gástrico y en hígado. En algunos trabajos se ha reportado que tras la absorción estomacal de antocianinas, los niveles de agliconas no conjugadas en plasma, es nula. Se ha sugerido también, que los valores bajos registrados quizás se deban a la captación especifica en hígado, a partir del cual se pueden distribuir a los órganos periféricos (He y cols., 2009; Passamonti y cols., 2002; Passamonti y cols., 2003; Talavera y cols., 2005).

Efecto neuroprotector de las antocianinas

El interés por este grupo de moléculas ha venido aumentando de forma significativa desde hace varios años, al igual que el número de trabajos que buscan comprender los posibles beneficios tanto industriales como asociados a la salud humana. En el primero de los casos, se ha explotado la capacidad de las antocianinas como colorante orgánico, así mismo se ha empezado a utilizar por sus propiedades como conservador para alimentos; por otro lado a partir de estudios epidemiológicos y clínicos se ha mostrado una actividad preventiva para un gran número de enfermedades, así como su capacidad antioxidante,

antiinflamatoria, y antimutagénica. Existen reportes que muestran que las antocianinas provenientes de frutos rojos o de maíces con coloraciones que van desde el rojo al morado pueden ejercer efectos neuroprotectores y consecuentemente, beneficios a la salud mental (Duthie y cols., 2000).

Algunas líneas de investigación sugieren que dietas ricas en antocianinas o proantocininas tienen efectos neuroprotectores y neurotróficos que pueden disminuir el riesgo de padecer trastornos neurodegenerativos, incluyendo la enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP) y eventos isquémicos, así mismo; se les atribuye la capacidad de aminorar los procesos de degeneración neuronal asociados con la edad. Investigaciones realizadas tanto en cultivos celulares como *in vivo* han demostraron que la administración de estos pigmentos pueden prevenir el déficit de memoria y aprendizaje en modelos de EA y/o envejecimiento. En otros modelos, se ha mostrado que la administración de antocianinas previo a un evento isquémico previene el aumento intracelular de óxido nítrico, disminuyendo el estrés oxidativo generado durante la reperfución sanguínea cerebral (del Río, 2010; Giacomo 2012; Gutierres y cols., 2014; Lacueva y cols., 2005., Long 2009).

Strathearn y su grupo de trabajo (2014), reportaron que la suplementación con antocianinas y/o proantocianinas mostró tener efectos benéficos en un modelo de Parkinsonal al mostrar; i) una mejor capacidad neuroprotectora; ii) favorecer la viabilidad celular a través de la restauración de la actividad mitocondrial, tras la aplicación de retinona; y iii) ejercer un efecto modulador sobre la actividad glial, lo cual sugiere, que las antocianinas pueden suprimir el efecto neuroinflamatorio bajo ciertas condiciones. No obstante, el efecto parece estar asociado a la calidad, cantidad y fuente de la que provienen las antocianinas (Stromber, 2005).

Diversos hallazgos muestran que las antocianinas pueden disminuir los efectos neurotóxicos de la exposición al etanol en etapas tempranas del desarrollo embrionario. Otra propiedad que no ha sido esclarecida completamente es su actividad ansiolítica. Así mismo también se reportó que estos polifenoles pueden además, regular algunas

funciones metabólicas al inducir la liberación del neuropeptido Y, y consecuentemente, modular el metabolismo de los ácidos grasos (Badshah y cols., 2013; Gutierres, 2014 b; Kim, 2013; Shah, 2013).

Durante el envejecimiento, aumenta la liberación de especies reactivas de oxígeno (ERO), lo cual da lugar al desarrollo de estrés oxidativo, lo que a su vez favorece la actividad pro-inflamatoria, y el daño neuronal que pueden desencadenar en la degeneración neuronal, daño oxidativo e inflamación asociados a las enfermedades de Parkinson o Alzheimer. En este sentido, se ha propuesto que las antocianinas pueden ser utilizadas como un compuesto que favorecen la disminución de los efectos negativos asociados a las patologías asociada con la edad. Esto, debido a la capacidad antioxidante de las antocianinas, y por lo tanto en la reducción de ERO y de la peroxidación de lípidos, aunado a la reducción en la generación de radicales oxhidrilo (OH^-) vía hemo-oxigenasa (Lacueva, 2005; Giacomo, 2012; Strathearn, 2014; Long, 2009).

Propiedades nutricionales del Maíz azul (*Zea mays L.)*

En México, el maíz forma parte de la alimentación diaria, siendo el cultivo de mayor superficie sembrada en el país, así mismo resulta ser un insumo importante para la ganadería y para la obtención de subproductos industriales, por lo que, desde el punto de vista alimentario, económico, político y social, resulta ser el cultivo agrícola más importante del país. Además, México es centro de origen y diversidad del maíz, se reconocen 59 razas y se han reportado una variedad importante de subrazas y variedades locales las cuales, se pueden clasificar de acuerdo a sus características morfológicas, bioquímicas, citogenéticas y moleculares (Sánchez, 2011; Polanco y Flores, 2008.).

De entre las diferentes variedades de maíz, sobresale el maíz azul, que corresponde a diferentes razas como el chalqueño, el de Toluca, la variedad 42 de Veracruz, el arrocillo y el bolita. También existe variabilidad en tamaño, densidad y dureza del grano, así como en su composición química. Estas variables, pueden ser definidas por un factor genético, pero también dependen de las prácticas de cultivo, condiciones climáticas, tipo de suelo y la interacción entre estos factores (Salinas y cols., 2010).

En años recientes, ha crecido la demanda de maíces pigmentados esto, debido a las propiedades antioxidantes y los efectos benéficos de los colorantes naturales contenidos en estos, a la salud. Además, estas razas de maíz tienen cualidades de sabor, textura y consistencia que los hacen superiores desde el punto de vista organoléptico en comparación al maíz blanco o amarillo. Desde el punto de vista químico, el maíz azul con respecto al maíz blanco no muestra muchas diferencias (cuadro 1) (Hernández, 2008; Victores y cols., 2001).

Cuadro 1
Comparación de la composición química del maíz blanco y azul

Por 100 g	Maíz blanco	Maíz azul
Energía (Kcal)	343	398
Carbohidratos (g)	66.3	76.9
Proteínas (g)	9.4	10.4
Lípidos (g)	2.8	5.4
Fibra dietética (g)	9.4	8.7
Calcio (mg)	18	5

Fuente: Hernández, 2008

Proceso de Nixtamalización.

La Nixtamalización del maíz es un proceso muy antiguo desarrollado por las culturas Mesoamericanas para la producción de tortillas (Fig. 2). Durante el proceso de nixtamalización se producen transformaciones fisicoquímicas importantes en los almidones del maíz, en función de los efectos producidos por la interacción de los iones de calcio con el almidón. El proceso tradicional de nixtamalización, implica la adición de una porción de maíz entero a dos porciones de una solución de cal aproximadamente al 1%. La mezcla se calienta a 80°C durante un lapso de 20 a 45 minutos, posteriormente se deja reposar de 14 a 16 hrs. Transcurrido el tiempo, se decanta el líquido de cocción y el maíz

resultante ahora recibe el nombre de nixtamal el cual, se debe lavar dos o tres veces más con agua limpia para eliminar las cubiertas seminales, la cal sobrante y las impurezas del grano. La pérdida de materia seca es de alrededor del 15%, pero puede variar entre el 8.9 al 21.3% (Mondragón, 2004).

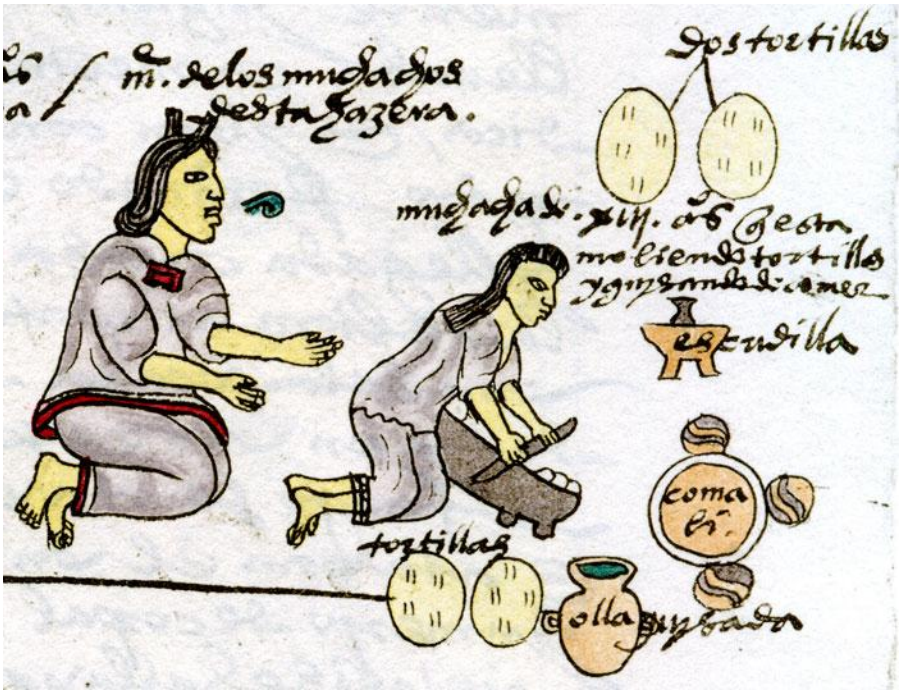

Figura 2. Proceso tradicional de nixtamalización del maíz. La nixtamalización es una práctica que se ha transmitido de generación a generación y aún se utiliza extensamente en México para la preparación de la masa de maíz. Esta masa se puede usar para preparar diferentes platillos. Sin embargo, el principal producto de este proceso es la tortilla.

Como se mencionó anteriormente, el uso de maíces pigmentados se ha incrementado debido al contenido superior de compuestos fenólicos, sobre todo por su contenido de antocianinas. En los maíces pigmentados los polifenoles más abundantes son las antocianinas aciladas destacando la cianidina 3-glucósido (70 %), pelargonidina 3-glucósido y peonidina 3-glucósido, las cuales poseen una alta capacidad antioxidante y actividad biológica. La nixtamalización tradicional es un proceso agresivo para las antocianinas contenidas en los granos pigmentados, ya que puede provocar pérdidas hasta del 100 % en los productos obtenidos mediante este proceso, sin embargo el

optimizar este proceso, puede aumentar en gran medida la cantidad de antocianinas. (Escalante-Aburto y cols., 2013).

Por otro lado, existen reportes que indican que el proceso de nixtamalización del maíz azul no altera la calidad de algunos atributos fisicoquímicos, entre los que se pueden mencionar la retención de polifenoles, por el contrario, algunos autores han reportado que este proceso incrementa la biodisponibilidad de algunos compuestos químicos presentes en el grano de maíz. Se debe recordar, que las antocianinas están presentes en diferentes estructuras de la planta que abarcan desde el tallo, vainas, hojas, e inflorescencias de la plana. En la mazorca se pueden encontrar en las brácteas, el raquis, y desde luego en la capa de aleurona del endospermo y en el pericarpio del grano o en ambas capas (Fig. 3) (Betrán y cols., 2001; Dickerson, 2003; Salinas y cols., 2005; Zazueta, 2001).

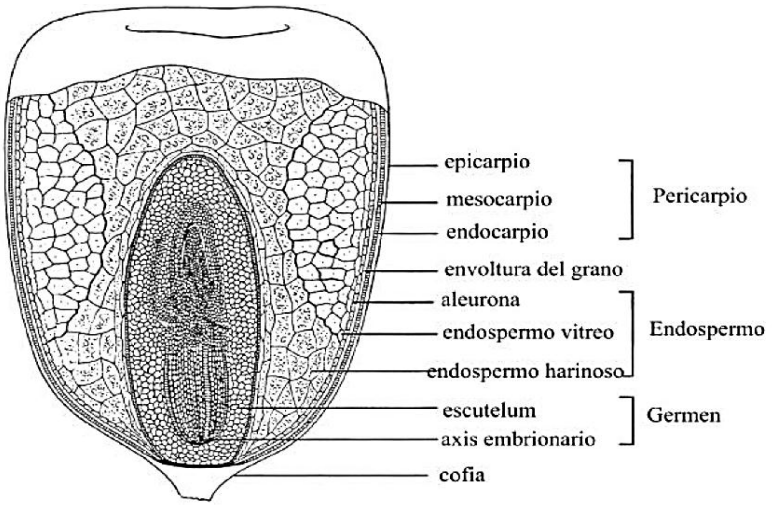

Figura 3. *Estructura básica de un grano de maíz (tomado de: Mondragón, 2004).*

La localización de los pigmentos en el grano determinan su uso potencial, por ejemplo, cuando se presenta una cantidad elevada de antocianinas en el pericarpio y en la región de la aleurona, los maíces resultan ser potenciales fuentes de pigmentos (maíz color rojo intenso); cuando los pigmento se localizan únicamente en la aleurona son adecuados para elaborar productos nixtamalizados (maíz de color morado, azul o negro); mientras que, los

granos con pigmento en el pericarpio no son adecuados para la nixtamalización ya que, con las condiciones de pH alcalino y temperatura elevada durante el proceso, las antocianinas son degradadas. En el maíz de color azul y morado se puede encontrar de manera abundante la antocianina cianidina 3-glucósido; mientras que la pelargonidina 3-glucósido y peonidina 3-glucósido son las más comunes en el maíz de grano rojo (Bustillos, 1997; Brouillard, 1982; Coe et al., 1955; Styles y Ceska, 1972).

Efecto de los polifenoles sobre la integridad del tejido nervioso

Investigaciones han demostrado que el consumo de polifenoles (flavonoides) de las frutas y verduras puede ejercer efectos con actividad antioxidante sobre los diferentes tejidos corporales. Lacueva y sus colaboradores (2005) reportaron, que la suplementación con extractos de flavonoides purificados de arándanos al 2%, por un periodo de 8-10 semanas a ratas de 19 meses de edad, fue eficaz en la reversión del déficit comportamental asociado a la edad, así mismo encontraron mejoras en la señalización neuronal. Estos autores, probaron su hipótesis mediante la evaluación conductual de los animales a través de la prueba de laberinto acuático de Morris, una medida de aprendizaje espacial y memoria; probaron también, la presencia de varias antocianinas en diferentes regiones encefálicas principalmente en cerebelo, corteza cerebral, hipocampo y estriado. Entre las antocianinas que reportaron se encuentra la cianidina-3-O-β-galactosidasa, cianidina-3-O-β-glucosidasa, cianidia-3-O-β-arabinosa, malvidina-3-O-β-galactosidasa, malvidina-3-O-β-glucosidasa, malvidina-3-O-β-arabinosa, peonidina-3-O-β-arabinosa y delfinidina-3-O-β-galactosido. Lo anterior sugiere que las antocianinas pueden atravesar la barrera hematoencefálica (Andres-Lacueva y cols., 2005; Tan y cols., 2014).

Evaluación de la capacidad de aprendizaje y memoria.

Aprendizaje y memoria son dos procesos íntimamente relacionados, aunque constituyen dos momentos, en la serie de procesos a través de los cuales los individuos manejan e integran la información procedente de los sentidos. En primer lugar, el aprendizaje es un proceso a través del cual los organismos modifican su conducta para adaptarse a las

condiciones cambiantes e impredecibles del medio que los rodea; por ello, el aprendizaje es un proceso de “adquisición” mediante el cual se incorporan nuevos conocimientos y/o nuevas conductas y formas de reaccionar ante cambios del ambiente. Este proceso lleva implícita siempre alguna forma de adquisición de información y por lo tanto, alguna modificación del estado de la memoria del sujeto. Junto a las fuerzas selectivas de la evolución, el aprendizaje constituye el modo principal de adaptación de los seres vivos. Esto es, cuanto más cambiante el entorno más plástica debe ser la conducta, por lo que los organismos que son expuestos a diferentes medios, presentan también grados diferentes de plasticidad conductual (Aguado-Aguilar, 2001; Morgado, 2005).

En segundo lugar, lo que aprendemos es retenido o almacenado en nuestro cerebro y constituye lo que denominamos ‘memoria’. La memoria es siempre inferida del comportamiento. Hay que destacar, que por definición, no hay aprendizaje sin memoria ni memoria sin aprendizaje, aunque este último sea de naturaleza elemental. Sin embargo, ambos procesos están presentes en muchos procesos cerebrales entre los que destacan, la percepción sensorial y las emociones, por lo que es difícil referirse a alguno de ellos con independencia para discernir su presencia o participación especifica en una función cerebral o conductual. Desde un punto de vista estricto, la memoria es la capacidad de retener y de evocar eventos del pasado, mediante procesos neurobiológicos de almacenamiento y de recuperación de la información básica en el aprendizaje. Cabe señalar, que durante los primeros estadios de la vida, la memoria es de carácter sensitivo es decir, guarda sensaciones o emociones. Posteriormente, la memoria promueve modificaciones de la conducta; se efectúan movimientos, se repiten y poco a poco, se van adquiriendo. De esa forma, los seres vivos son capaces de aprender y retener las nuevas experiencias lo cual favorece la adaptación del individuo al entorno. Finalmente, se desarrolla la memoria del conocimiento, o capacidad de introducir datos, almacenarlos correctamente y evocarlos cuando sea oportuno (Aguado-Aguilar, 2001; Etchepareborda y Abad-Mas, 2005).

Establecimiento del aprendizaje y memoria espacial en roedores

La supervivencia de casi todas las especies es dependiente de la capacidad de maniobrar con seguridad a través del ambiente cambiante. La capacidad de hacer esto depende de aprender y recordar lugares. Esta capacidad está codificada en el cerebro a través de dos sistemas: 1) mediante la utilización de señales localizadas fuera del organismo (señales distales) o *'navegación alocéntrica'*, y 2) con movimiento propio es decir, mediante estímulos internos y señales proximales cercanas o *'navegación egocéntrica'* (Vorhees y Williams, 2014).

La Navegación alocéntrica implica la participación de estructuras cerebrales como el hipocampo, la corteza entorrinal, y las estructuras circundantes; en los seres humanos este sistema de codificación alocéntrica se asocia al aprendizaje semántico y la memoria episódica. Este tipo de memoria, es evaluado en animales de laboratorio (roedores) principalmente mediante el laberinto acuático de Morris (LAM). Por su parte, la navegación Egocéntrica implica la participación del cuerpo estriado dorsal y de las estructuras conectadas; en los seres humanos este sistema codifica rutas y caminos integrados y, cuando se aprende, se convierte en la memoria procedimental (Vorhees y Williams, 2014).

La prueba de LAM se lleva a cabo en una piscina circular dividida en cuatro cuadrantes imaginarios (designados como noroeste, suroeste, noreste y sureste). La piscina dispone de una plataforma de escape móvil invisible para el roedor y parcialmente sumergida. Alrededor de la piscina se colocan señales visuales para facilitar la orientación espacial del animal. Los animales se colocan en la piscina que contiene agua de color opaco y como el animal no puede depender de su olfato para encontrar la ruta de escape, debe utilizar las señales espaciales. Tras los ensayos, el animal se va familiarizando con la tarea, y puede ser capaz de encontrar la plataforma (Morris, 1981).

Se debe destacar, que la formación hipocampal desempeña un papel fundamental en la adquisición de aprendizaje y la memoria. Aunque, hay variables que no son consideradas

cuando se aplica la prueba de LAM y que están involucradas en el proceso de la memoria espacial; por ejemplo, no se toma en consideración el estrés al que es sometido el animal al ser forzado a nadar hasta entender la tarea, es decir, que en la "fuga" el animal debe encontrar la plataforma oculta, permanecer en ella hasta ser "rescatado", y aprender que no puede escapar de la tarea, lo cual puede provocar el desarrollo de desesperanza aprendida. Además, el desempeño del animal puede ser modificado de acuerdo a su percepción sensorial, factores motrices, de atención y motivaciones, los cuales en conjunto se describen como no asociativos. En la prueba de LAM, los cambios en la habilidad locomotriz y capacidad visual pueden afectar el desempeño del animal, lo cual no es reflejo de la capacidad cognitiva del animal (Sharma, 2009).

Por ello, para el presente trabajo se utilizará una prueba alternativa a la prueba de LAM, es decir, se utilizara el laberinto abierto de Barnes (LAB), el cual fue diseñado por la doctora Carol Barnes en la Universidad de Arizona (1979) y consiste en un laberinto circular, colocado sobre una plataforma, donde el animal es expuesto a la luz y ruido como estímulos aversivos. El refuerzo que recibe el animal es escapar de estos estímulos. A lo largo del perímetro del disco se distribuyen 20 agujeros de 5 cm de diámetro y debajo de uno de ellos se coloca un cajón de escape de plástico opaco (figura 4) (Barnes, 1979).

En la periferia del laberinto, se pueden situar diversas pistas espaciales, que permanecerán constantes durante todo el estudio. Se debe colocar un foco de luz de entre 150-200 Watts y puede utilizarse un estímulo aversivos en forma de un generador de ruido por arriba de 80 dB. De manera similar al LAM, el laberinto de Barnes permite evaluar la memoria espacial, de trabajo, de referencia, y de corto y largo plazo, pero disminuyendo la ansiedad e incomodidad inducida por el laberinto acuático de Morris, ya que la prueba se basa en la preferencia innata de los roedores por los espacios cerrados y obscuros (Attar, 2013; Harrison y cols., 2006).

En cuanto el déficit en el aprendizaje y la memoria experimentado comúnmente por el envejecimiento, al que también se le conoce como “discapacidad de memoria asociada a la edad”; el hipocampo ha sido una estructura al que se la ha puesto un gran interés, ya

que se tiene conocimiento, que esta estructura cefálica es crítica para las funciones de aprendizaje y memoria; debido a que está involucrada en el sistema medial del lóbulo temporal, el cual se encarga de la consolidación de la memoria declarativa.

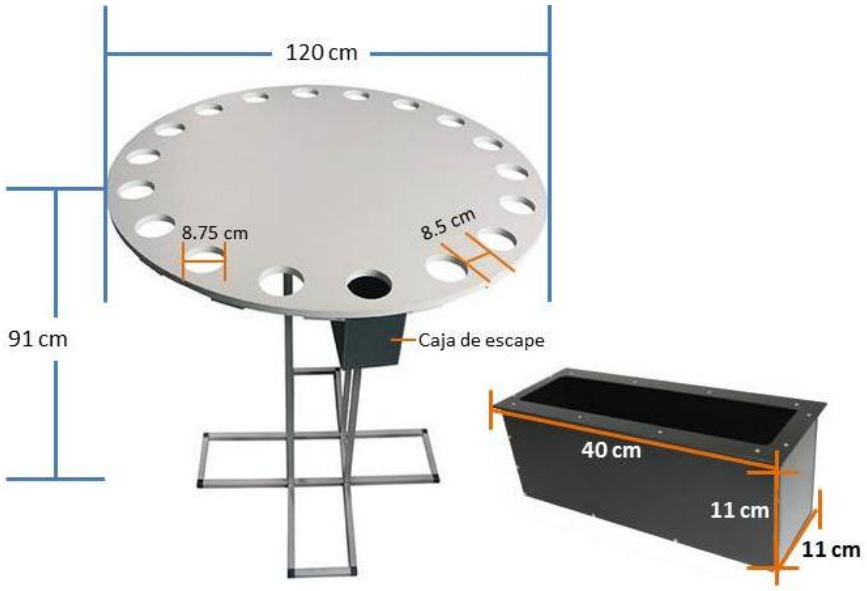

Figura 4. Muestra la estructura y las dimensiones del laberinto de Barnes y de la caja de escape utilizados.

Estudios enfocados en evaluar los efectos de lesiones en hipocampo, han arrojado resultados similares a los observados en trabajos dirigidos en problemas dados por el proceso de envejecimiento. Así mismo se ha contemplado al hipocampo, como una de las primeras estructuras en verse afectadas por los efectos de la edad tanto fisiológica como estructuralmente. De hecho, tanto la memoria de referencia (habilidad de mantener información a lo largo de un periodo constante de tiempo) y la memoria de trabajo (una de las formas de memoria explicita, es la habilidad para recordar y distinguir durante un periodo breve de tiempo, información similar previamente aprendida), se ven considerablemente disminuidas por la edad (Bizon y cols., 2009; Burke, 2006; Crook, 1986; Rosenzweig y Barnes, 2003).

En exámenes realizados a ratas seniles sometidas a la prueba de LAB, se ha observado una incapacidad en aprender sobre la ubicación de la caja de escape e incapacidad en

memorizar su locación, lo que se ve reflejado en el tiempo transcurrido entre que el animal es liberado en el laberinto y el encontrar la caja de escape, otro factor que también identifica las condiciones de estas habilidades cognitivas son, el tiempo de latencia y el numero de cavidades erróneas exploradas, así mismo el aprender sobre nuevas locaciones de la caja de escape (Bach y cols., 1999; Barnes, 1979).

Es por esto que el enfoque actual de la ciencia no debería ser del todo en conseguir una mayor esperanza de vida, sino en tratar de mejorar la calidad de vida que acompaña al proceso de envejecimiento, el esfuerzo por mantener las funciones cognitivas en un estado óptimo, puede conseguirse mediante una nutrición adecuada, según las evidencias adquiridas por diferentes investigadores. Sin embargo la información relacionada al consumo de ciertos productos sobre las facultades cognitivas, es escasa; por lo que en este trabajo se pretende valorar, la manera en qué el consumo de tortillas fabricadas con maíces pigmentados de la raza mixteco puede favorecer las cualidades de aprendizaje y memoria en ratas adultas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las complicaciones en la salud mental originadas en la senectud, merman la calidad de vida de los adultos mayores en nuestra sociedad, como un ejemplo a estas complicaciones son; la disminución en la capacidad de aprendizaje y la memoria a corto y largo plazo. Es probable que entre las causas, a este cada vez más frecuente problema, estén el incremento en la esperanza de vida la cual, en el caso particular de nuestro país se ha visto incrementado en tan solo trece años; para el caso de los hombres de 67 a 71 años y en el caso de las mujeres de 74 a 77 años (INEGI). A esto se suma la transición alimentaria observada en países industrializados, donde las dietas ricas en ácidos grasos, azucares refinados y alimentos procesados se ven generalizados, así como un ritmo de vida sedentario. Factores que justifican el incremento de adultos mayores con trastorno neurológico relacionado meramente a la edad, descartando algún problema crónico-degenerativo (Backman 2001;Crook et al., 1986; Shetty, 2013 y Willcox, 2014).

Entre las estrategias propuestas para conservar una vida saludable, se tiene la implementación de dietas ricas en polifenoles, esencialmente antocianinas, ya que estas han demostrado tener una gran eficacia en la prevención e inclusive la regeneración de los problemas neurológicos observados en personas de la tercera edad (Galli et al., 2002; Williams et al y 2008).

Por lo que encontrar fuentes naturales de antocianinas que permitan, a través de la nutrición, reducir el riesgo a padecer una disminución de las facultades cognitivas durante la vejez, es de vital importancia. El caso de los maíces pigmentados producidos en nuestro país, resulta ser una opción excelente como fuente natural de antocianinas; ya que está asociado a la cultura alimentaria mexicana. Sin embrago la necesidad de realizar estudios que demuestren los beneficios del consumo de maíces pimentados, resulta esencial para contribuir en la salud pública de la población senescente.

JUSTIFICACIÓN

Los resultados obtenidos en los estudios para la prevención, disminución y mejoramiento de los signos clínicos en enfermedades como algunos tipos de cáncer, deficiencias cardiacas, obesidad y enfermedades neurodegenerativas; a través del consumo de antocianinas contenidas en los pigmentos de ciertas frutas y vegetales, ha despertado el interés de un gran número de investigadores, cuyos trabajos se centran en encontrar fuentes para la obtención de estas moléculas y el reconocer los beneficios para el organismo. Por lo anterior, encontrar una fuente natural que pueda proveer las cantidades adecuadas de antocianinas para la población mexicana, dentro de los insumos que el país produce, representaría una mejora importante en las condiciones nutricionales e inclusive a la salud pública de la nación.

Una gran cantidad de evidencias ha surgido demostrando la presencia de antocianinas, en los maíces pigmentos producidos en nuestro país, los cuales podrían incorporar cantidades importantes de antocianinas a la dieta de los mexicanos. Sin embargo actualmente no hay estudios que demuestren los efectos del consumo de productos derivados de este tipo de maíces; de hecho la información existente sobre complicaciones neurológicas en la vejez y los efectos del consumo de productos derivados de maíces pigmentados resulta escasa.

Por lo que los resultados que se obtengan de esta investigación pueden evidenciar los beneficios del consumo de productos de maíces pigmentados, e inclusive los datos recabados en este estudio podrían dar inicio a una importante línea de trabajo, que resalte la actividad biológica de las antocianinas contenidas en los granos de maíces de color y de igual manera describir los mecanismos de acción de las antocianinas en el sistema nerviosos.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del consumo de tortillas de maíz azul de la raza mixteco sobre el aprendizaje y memoria visoespacial en ratas de 13 meses de edad.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Cuantificar el tiempo de latencia en la prueba.
2. Cuantificar el número de huecos erróneamente explorados.
3. Cuantificar el tiempo de permanencia, dentro del cuadrante próximo a la caja de escape.

HIPÓTESIS

El consumo de tortillas elaboradas con maíz azul de la raza Mixteco mejorará la capacidad de aprendizaje y memoria de ratas en la adultez. Y propiciara efectos benéficos en las capacidades de aprendizaje y memoria.

MATERIALES Y METODOS

Para el presente estudio se utilizaron un total de 18 ratas hembras de la cepa Wistar entre 50-60 g de peso (pubertad) las cuales fueron mantenidas en condiciones estándar de bioterio a temperatura controlada entre los 22°C ± 1°C y se les proporciono agua y alimento *ad libitum* durante todo el estudio. Al llegar a la adultez (13 meses de edad) se dividieron de manera aleatoria en tres grupos, distribuidos de la siguiente manera: Grupo Control (CTR/n=6). Animales a los que se les proporciono alimento comercial para roedores (pellets Purina Rodent Chow). Grupo maíz azul (MA/n=6). Animales a los cuales se les adiciono además de su dieta, con una porción de 6 gr al día de tortilla elaborado con maíz azul de la raza mixteco variedad CIIDIR 125. Grupo maíz blanco (MB/n=7). Animales a los cuales se les proporciono una ración diaria de 6 gr de tortilla elaborada con maíz blanco variedad pozolero blanco.

Elaboración de tortillas

Para la preparación de las tortillas, se estandarizó el proceso de nixtamalización y cocción de las mismas. Para la elaboración de tortillas de maíz azul se utilizaron granos de maíz pigmentado de la raza Mixteco variedad CIIDIR 125 (proporcionada por el Dr. José Luis Chávez Servia, con sede en el centro interdiscisiplinario de integración para el desarrollo integral regional. Unidad Oaxaca), obtenido de Chalcatongo región Mixteca del Estado de Oaxaca. Mientras que la elaboración de tortillas blancas se llevó a cabo con la utilización de maíz pozolero blanco (proporcionado por la colección de maíces criollos de occidente, en el centro universitario de ciencias biológicas y agropecuarias; a través del profesor Moisés Martínez Móreles Rivera). Para el proceso de nixtamalización se pesaron 180 g (azul o blando dependiendo el caso) el cual fue sometido a cocción en una solución de hidróxido de calcio al 0.7% (w/v) con una proporción 1:3, durante un tiempo de 40 minuto, a una temperatura controlada de entre 80-90 °C. Tras concluir el proceso de cocción se lavó para eliminar el residuo (najayote) con agua corriente. El maíz nixtamalizado (nixtamal) fue molido en un molino manual doméstico hasta formar una masa suave y cohesiva.

Las tortillas se elaboraron a partir de la masa obtenida de ambas razas de maíz (blanco y azul “Mixteco”) para tal efecto la masa fresca se redondeo manualmente, después se les dio forma de disco plano, usando una prensa domestica (tortillera) para elaboración de tortillas. Las tortillas se cocieron en una plancha eléctrica a una temperatura controlada de 165°C ± 2°C durante 2 minutos y/o hasta que la tortilla este bien cocida. Finalmente las tortillas se dejaron enfriar durante 30 min a temperatura ambiente antes de ser ofrecidas a los animales experimentales de acurdo al protocolo de trabajo.

Proceso experimental

Para evaluar el efecto sobre la capacidad de aprendizaje y memoria de la antocianinas contenidas en el maíz azul la raza Mixteco variedad CIIDIR 125, los animales (N=18) se dividieron de forma aleatoria en tres grupos, tras alcanzar 18 meses de edad. Grupo MA (n=6), a los cuales se les implemento, además de la dita comercial, una cantidad de 6 gr de tortilla elaborada con granos de maíz azul, equivalente a un total de 6.5 mg/kg de antocianinas diarias. Por otro lado al grupo MB al cual se le administro 6 gr de tortilla elaborada con granos de maíz blanco variedad pozolero blanco. Para ambos grupos la adición de tortilla, se llevo a cabo por un periodo de tiempo de 31 días. Para asegurarnos que las ratas consumieron la ración diaria de tortilla de acuerdo al protocolo experimental, estas fueron sometidas a un periodo de 3 horas de restricción de alimento (11:00-14:00 hrs), tras lo cual se les ofreció su ración de tortilla, blanca o azul, de acuerdo al grupo experimental. Por último el grupo CTR (N=6) el cual fue alimentado con una dieta comercial (pellets Purina Rodent Chow). Al finalizar la fase de dosificación con tortilla (día 32), las ratas fueron sometidas a la prueba de exploración en el laberinto de Barnes (proporcionado por el centro de enseñanza técnico industrial. Unidad Zapopán; a través del Dr. Jesús Beltrán Rámirez). Se obtuvieron los pesos corporales de todos animales semanalmente, durante el tratamiento.

Evaluación de la capacidad de aprendizaje y memoria en el laberinto de Barnes

Al finalizar la fase experimental, los animales de cada grupo fueron sometidos a la prueba de exploración en el LAB con el propósito de evaluar el efecto de cada condición experimental sobre la capacidad de aprendizaje viso-espacial, la memoria de trabajo espacial y la memoria de referencia retención a corto plazo (Locklear y cols., 2014; Zhang y cols., 2014).

La prueba conductual se realizó en una habitación anexa al animalario; todas la pruebas se efectuaron entre las 11:00 a 16:00 horas, los animales se manipularon siempre por el mismo personal encargado, en completo silencio. El laberinto se aisló mediante la utilización de cortinas blancas que impidió la visión del animal. Sobre el laberinto, a una altura de 1.5 m se colocaron una cámara de alta resolución; con la que se grabaron en formato digital cada uno de los ensayos para su posterior análisis y registro de las variables conductuales. Una bombilla de luz incandescente de 200 Watts situada a la misma altura que la cámara digital, proporciono una intensidad de luminiscencia de 20 lux, durante todas las pruebas.

Procedimiento en la realización de la prueba, laberinto abierto de Barnes

Para evitar el desarrollo de miedo contextual, los animales se colocaron en la habituación de prueba por un periodo de 6 hrs el día previo al primer ensayo. Antes de iniciar con el primer ensayo, las ratas fueron introducidas durante 1 min en el cilindro de inicio, una vez transcurrido este periodo de tiempo se retiraron del cilindro de inicio y se guiaron gentilmente a la caja de escape donde se les mantuvo 1 min para su habituación, tras lo cual se regresaran a su respectiva caja un lapso de 4 min, previo al inicio del primer ensayo.

Se realizaron dos ensayos por día durante cuatro días consecutivos, para lo cual se permitió que el animal explorará libremente durante un periodo de 3 min o hasta que aleatoriamente encontrará la caja de escape; si al transcurrir los 3 minutos la rata no

localizó la cala de escape, se le guió gentilmente a esta y se le dejó permanecer durante 1 minuto. Tras lo cual se regreso a su caja de alojamiento. Cada ensayo inició colocando un cilindro plástico de 15 cm de diámetro por 30 cm de alto (cilindro de inicio) al centro del laberinto, en el cual se colocó a la rata por la parte superior; retirando el cilindro de inicio tras un periodo de 10 segundos; esto con la finalidad de que los animales a prueba, tengan una posición aleatoria con respecto a la caja de escape durante cada ensayo. Aproximadamente 15 min después del primer ensayo se realizo una segunda evaluación, en las condiciones mencionadas anteriormente. Al final de cada ensayo la plataforma, la caja de escape y el cilindro de inicio fueron limpiados cuidadosamente con una solución de alcohol al 70% para evitar que las señales químicas procedentes de otros animales intervengan sobre ensayos posteriores. (Barnes, 1977; Trofimiuk y cols.,2015).

Parámetros a evaluar:

- Latencia; tiempo transcurrido desde el inicio de la prueba hasta que la rata halla ingresado a la caja de escape (las cuatro patas deben estar dentro de la caja).
- Errores; número total de orificios explorados incorrectamente, intromisión de nariz, cola y cuello en dentro de un orificio incorrecto (Barnes 1979).
- Tiempo de permanencia; se registro el tiempo de exploración en el cuadrante más próximo a la caja de escape según se muestra en la figura 5.

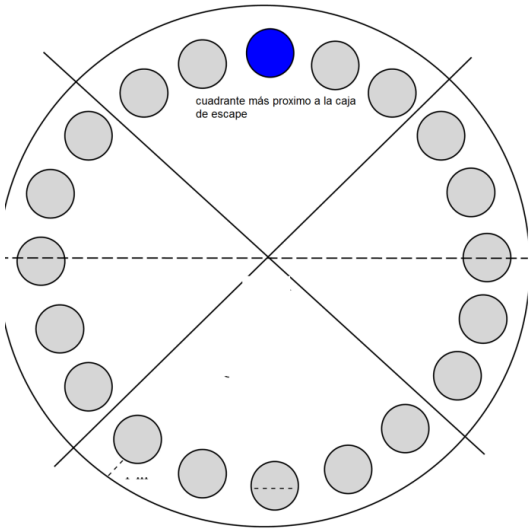

Figura 5 Se muestra el sector más próximo a la caja de escapa, se tomara el tiempo cada que alguna rata explore o se mantenga dentro de esta cuadrante.

Los datos obtenidos se trataron mediante un análisis de varianza de una sola vía con medias repetidas (ANOVA MR) donde los grupos corresponden al factor independiente, mientras que los parámetros a evaluar actuaron como medias repetidas. Al encontrar diferencias significativas se utilizó el análisis Bonferroni como prueba pos hoc ($\alpha = 0.05$). Todas las pruebas estadísticas fueron evaluadas en el programa estadístico SPSS versión 19.0.

RESULTADOS

Consumo de tortilla

Para los grupos a los que se les proporciono tortillas, la porción correspondiente se les ofreció individualmente dentro de un horario definido (a partir de las 14:00 hrs.). Este procedimiento se repitió durante todo el periodo de consumo de la tortilla. Al momento de ofrecerles la tortilla, los animales mostraron interés por tomar la porción de ambos tipos de tortilla y consumirla. En ambos casos la ingesta de 6 g diarios fue total. Sin embargo fue perceptible la tendencia por parte del grupo MA de consumirlas en menor tiempo, mientras que las ratas del grupo MB demoraron más tiempo para consumir la ración diaria. Durante el tiempo de tratamiento (5 semanas) los animales no mostraron rechazo tanto por la tortilla azul o blanca.

Evaluación del peso corporal

El peso corporal de cada animal fue tomado a partir del primer día de ingesta de la tortilla, y se repitió semanalmente durante todo el periodo de experimentación. Al inicio del experimento, los animales de los diferentes grupos mostraron un peso similar, el cual se mantuvo durante el transcurso de las siguientes semanas, y no se registraron cambios significativos ($F = 0.667$, $p > 0.05$). En la figura 6 se muestra el comportamiento del peso a través de las cuatro semanas del estudio.

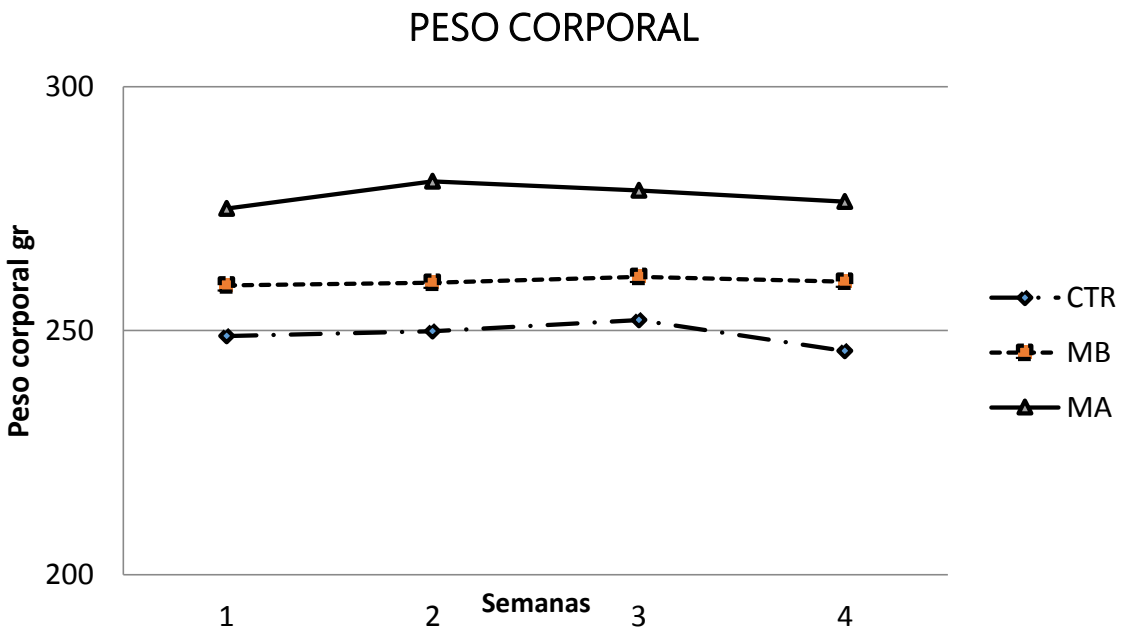

Figura 6. Efecto del consumo de tortillas elaboradas con distintos maíces, sobre peso corporal. Se muestran las medias ± la desviación estándar de los pesos obtenidos durante el tiempo de ingesta. El análisis de las medias no mostro diferencias significativas entre los grupos, asi mismo no se registraron diferencias significativas en las medias intragrupos.

Tiempo de latencia, numero de errores y tiempo de permanecía

El análisis estadístico con el ANOVA MR, mostro diferencias significativas en los tiempos de prueba en al menos dos de los tres grupos ($F = 4.102$, $p < 0.05$); los datos analizados por la prueba post hoc indicaron diferencia entre los grupos MA Y MB. En cuanto al número de errores, en la exploración de orificios, tras la aplicación del estadístico ANOVA MR no se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($F = 0.740$, $p > 0.05$). Por

último el tiempo de de permanencia, en el vector próximo al orificio de escape no mostro diferencias significativas ($F = 0.017$, $p > 0.05$). Por otro lado se observo que porcentaje del tiempo, empleado en explorar la zona más próxima a la caja de escape, fue mayor en el grupo MA (fig. 10). En las figuras 7,8 y 9 se muestra los efectos de los tratamientos con diferentes maíces, sobre el tiempo de duración de la prueba, el número de errores cometidos por las ratas y el tiempo de permanencia.

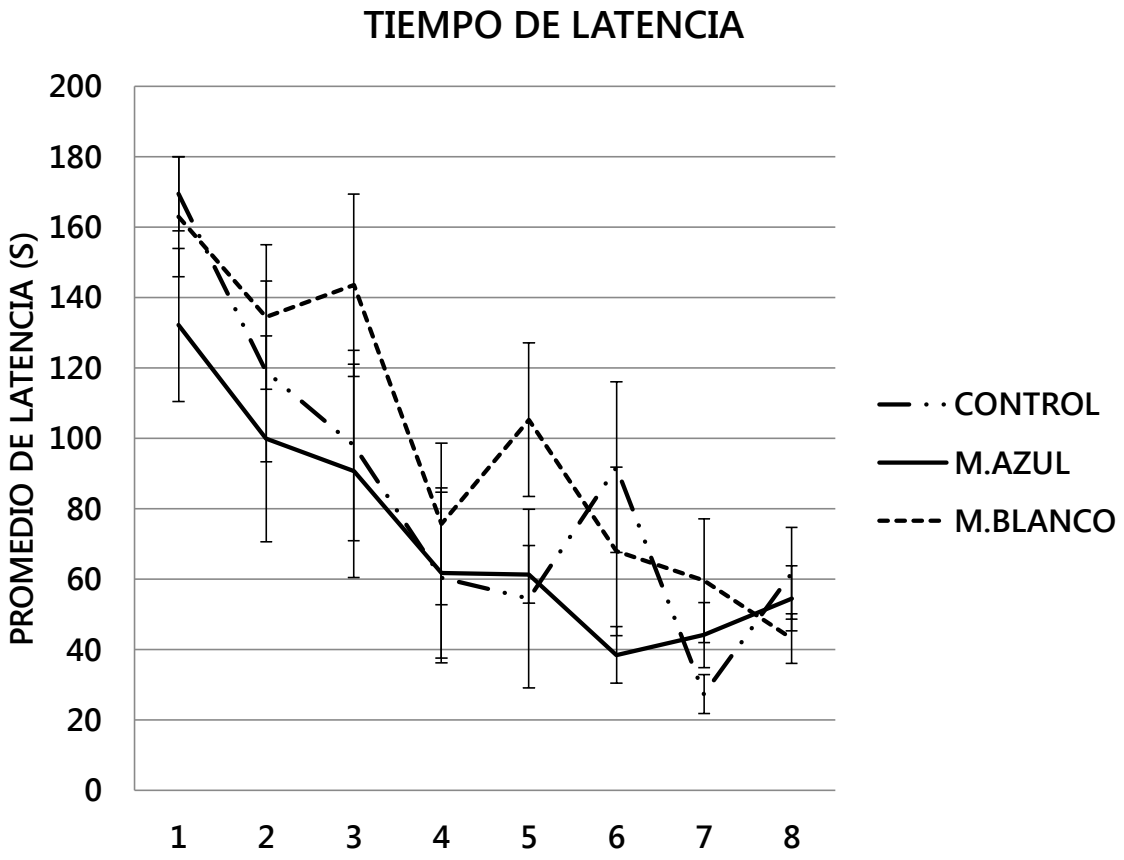

Figura 7. Efectos del consumo de tortillas elaboradas con distintos maíces, sobre el tiempo total de realización a través de los ensayos en la prueba de LAB. Se muestran las medias ± el error estándar de los tiempos registrados. El análisis entre las medias mostro diferencias significativas entre los grupos maíz blanco y maíz azul.

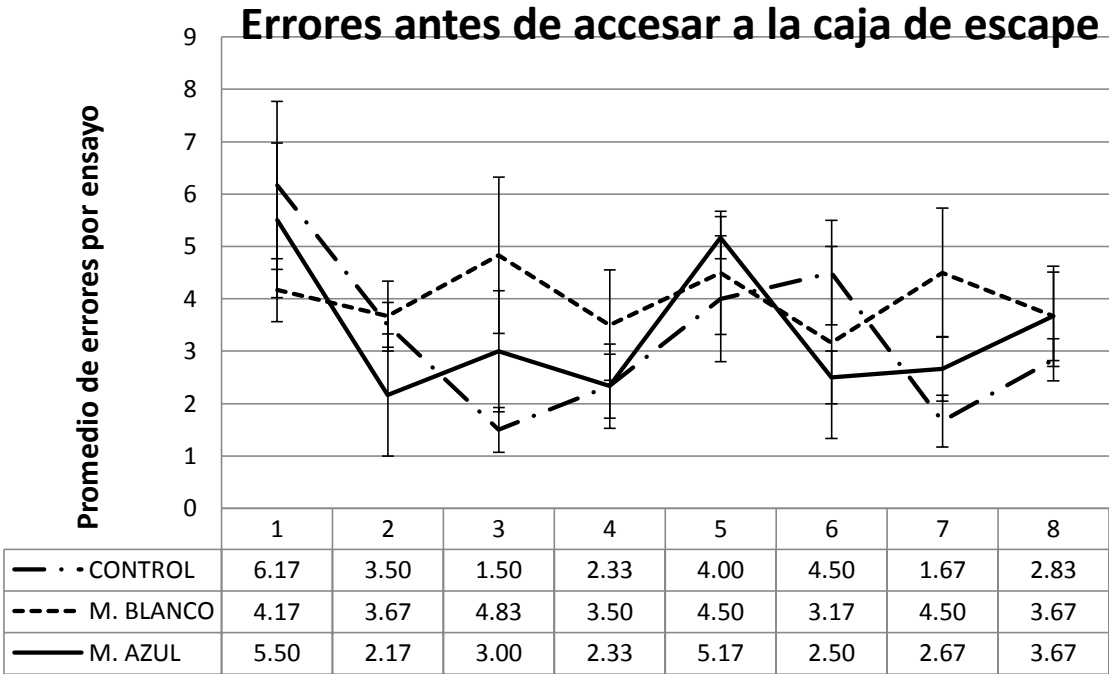

Figura 8. Efecto del consumo de tortillas elaboradas con distintos maíces, sobre el número de orificios explorados de forma errónea. Se muestran las medias ± el error estándar durante el transcurso de los ensayos. El análisis de las medias no mostro diferencias significativas.

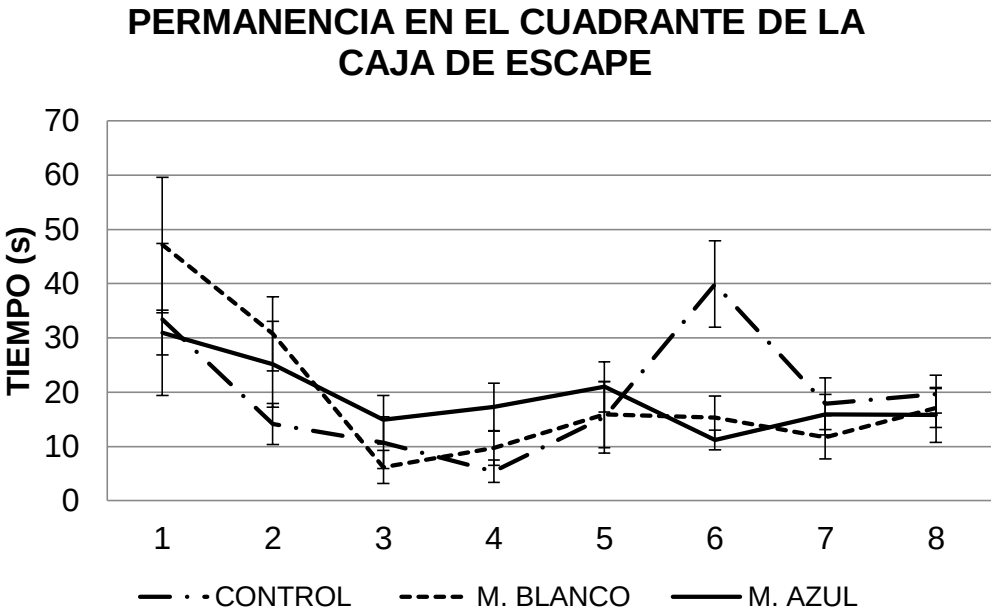

Figura 9. Efecto del consumo de tortillas elaboradas con distintos maíces, sobre el tiempo de búsqueda empleado en el sector más próximo a la caja de escape. Se muestran las medias ± el error estándar durante el transcurso de los ensayos (datos expuestos en la barra horizontal). El análisis de las medias no mostro diferencias significativas.

Figura 10. Porcentaje del tiempo total, empleado en la exploración del LAB dentro del cuadrante más próxima a la caja de escape. El porcentaje fue tomado del tiempo promedio de latencia, con respecto al tiempo de permanencia. Se observa un mayor porcentaje de tiempo de exploración en este sector, por parte del grupo alimentado con tortillas elaboradas con maíz azul.

DISCUSIÓN

Para el presente trabajo nos propusimos evaluar el efecto de la adición de tortilla azul a la dieta de ratas adultas, sobre la capacidad de aprendizaje y memoria visual-espacial. Cabe mencionar que en la fase de administración de tortilla, las ratas del grupo MA no mostraron cautela o desconfianza por el consumo de la tortilla, por el contrario, el consumo en este grupo fue en menor tiempo comparado con el grupo MB, lo cual puede mostrar, una mayor preferencia por las tortillas elaboradas con maíz pigmentado. Aunque, no hay suficiente información disponible acerca de la palatabilidad del maíz azul (tortilla), Victores (2001) realizo un estudio en el cual comprobó la preferencia de un grupo de catadores por tortillas elaboradas con maíz azul o blanco. Durante su estudio, los voluntarios fueron vendados de los ojos antes de catar la tortilla de maíz azul o blanco. Los voluntarios mostraron preferencia por la tortilla elaborada con maíz azul. Esto debido a que la tortilla de maíz azul posee un sabor más dulce y por lo tanto más agradable, según lo observado en este trabajo.

Peso corporal

Por otro lado, el consumo de tortilla de maíz, azul o blanca no contribuyo de manera importante al aumento de peso corporal, lo cual fue comprobado al comprobar los pesos de los animales alimentados con tortillas, con los pesos de los animales del gripo control. Al respecto solo contamos con los datos de un trabajo previo publicado por Tsuda (2003), en el que se reporta que la administración de maíces pigmentados ricos en cinidin-3-glucido a ratones, puede contribuir a la disminución en la acumulación de tejido adiposo y por lo tanto de su peso. Este efecto no se observo en el grupo al que se le proporciono tortilla, ya sea blanca o pigmentada. Pero, además; resulta un dato interesante, ya que en el dominio popular se tiene la creencia de que el consumo de tortilla conlleva a la ganancia de peso, sin embargo en el presente estudio se demostró que el consumo con tortilla, aproximado al 20% de la dieta en una rata adulta no propicio el incremento en su peso. Por lo que son necesarios más estudios que aborden este aspecto.

Tiempo de latencia, numero de errores y tiempo de permanecía

Debido a que el objetivo del presente trabajo fue evidenciar el efecto del consumo de tortilla de maíz azul sobre la capacidad de aprendizaje y memoria viso-espacial, en ratas adultas; se llevaron a cabo pruebas en el laberinto abierto de Barnes en el cual se registraron parámetros conductuales que evidencian el desempeño de los animales durante los diferentes ensayos. Las variables estudiadas fueron; el tiempo de latencia, numero de errores y el tiempo de permanencia

Los resultados obtenidos en la prueba de laberinto abierto de Barnes, indicaron que la alimentación con tortillas elaboradas de granos del maíz azul de la raza mixteco variedad CIIDIR, ó el equivalente a 6.5mg/kg de antocianinas por día, disminuyo el tiempo de latencia en relación con el grupo MB e incremento el porcentaje de tiempo empleado en la búsqueda del objetivo dentro de la zona más próxima a la caja de escape, en comparación con los grupos MB y CTR.

A este respecto, trabajos previos como los de Williams y cols. (2008) han mostrado que la adición de arándanos ricos en antocianinas a la dieta, de ratas adultas, ha demostrado prevenir la perdida de las capacidades cognitivas de aprendizaje y memoria en modelos animales de envejecimiento. En este sentido se han mostrado evidencias sobre las principales regiones en el cerebro, donde las antocianinas ejercen su actividad biológica. Entre estas están; hipocampo, corteza, cerebelo y estriado. Se ha propuesto que la capacidad de mantener la capacidad de aprender y recordar estable, aún en la vejes; está ligada al efecto antioxidante ejercido por la antocianinas, a la modulación en la liberación de neurotransmisores y en la estimulación de la neurogénesis hipocampal; o más recientemente a través de la modulación de la señalización celular (Joseph y cols., 1999; Tan y cols., 2014; Lacueva y cols., 2005; Ramírez et la., 2005;).

Cabe señalar que el grupo MA registro un menor del tiempo de latencia, con respecto al grupo de ratas alimentadas con tortilla de maíz blanco; y una tendencia con respecto al grupo control, que puede ser explicado por la capacidad ansiolítica de las antocianinas reportada en diferentes estudios. Este efecto, al parecer permitió una adaptación más

eficiente de los animales a un ambiente novedoso, lo que genero un menor efecto del estimulo lumínico y un incremento en la conducta de acicalamiento (datos no presentados); el que se ha comprobado que desempeña un papel importante durante la respuesta de afrontamiento ante situaciones de riesgo o estresante. A si mismo se ha reportado que la disminución locomotriz observada en ratas, está asociado al aumento en el tiempo empleado en conductas de acicalamiento. Lo anterior se refleja en los resultados registrados a partir del ensayo seis, en donde se observó un incremento gradual del tiempo de latencia en las ratas del grupo MA, dado principalmente por el tiempo de acicalamiento en comparación con el grupo CTR. Respecto a esto se percibió una tendencia irregular en los promedios para el tiempo de latencia registrado en el grupo CTR, lo que indica menor adaptación a ambientes novedosos. Por otro lado existe la posibilidad que la modificación del paradigma inicial en el cual se considera la distancia que la rata recorre, antes de encontrar la caja de escape; pudo haber restado sensibilidad a la prueba utilizada y haber sido la causa de que no se apreciaran diferencias entre la dieta con tortilla azul y el grupo control (Barnes, 1979; Barros, 2006; Brenes y col., 2008; Guitierrez y cols., 2014; Kaleuff y Tuohimaa, 2005; La Cueva y cols., 2005; Wiedenmayer, 2009)

Otra observación que arrojo el análisis de los datos, fue la nula diferencia en los tiempos de permanencia entre los grupos. Una posible explicación a este resultado se relaciona con la conducta exploratoria, ya que mientras el grupo MA mostro una búsqueda y exploración sistematizada, con errores de exploración seriados; es decir, la exploración de los orificios era consecutiva. En los grupos CTR y MA esta conducta fue azarosa, con un mayor porcentaje de errores de búsqueda aleatorios (datos no mostrados). Lo que se traduce en la dispersión de los datos obtenidos en los ensayos. Sin embargo es de interés destacar el incremento en el porcentaje del tiempo que utilizaron en la búsqueda del objetivo, dentro del cuadrante más próximo a la caja de escape las ratas del grupo MA. Esto se relaciona directamente con la capacidad de recordar la ubicación espacial de la caja de escape dentro del laberinto con respecto a los marcadores espaciales (aprendizaje de lugar), el cual esta mediado por el hipocampo. Este comportamiento es equivalente al

observado en la prueba de laberinto acuático de Morris en la fase de retención de memoria. Donde los animales a prueba tienden a pasar un mayor periodo de tiempo en el cuadrante donde se coloco la plataforma de escape (Locklear, kritzer, 2014; Morris, 1984; Shukiytt, 1999)

Por último y con respecto a la falta de diferencias en los errores de exploración, es importante destacar el hecho que a pesar de no presentar los datos referentes a la conducta de inmovilidad (freezing), las observaciones referentes a este comportamiento, indicaron una mayor presencia de esta conducta, en los grupos CTR y MA (datos no presentados). Por lo que el hecho de observar un menor número de errores en el grupo control, no representa la actividad cognitiva y puede estar asociado a una mayor inactividad durante la prueba de LAB (Arakawa, 2007).

Los parámetros evaluados en la prueba de LAB intentan valorar el estado de la memoria alocentrica, la cual es dependiente de la integridad hipocampal; por lo que es posible relacionar el estado en la integridad de esta estructura cefálica con respecto al desempeño en la prueba de LAB. Pese al no existir diferencias significativas en alguno de los parámetros evaluados, es importante resaltar las manifestaciones conductuales en el grupo alimentado con tortilla azul, ya que estas evidencian que el consumo de antocianinas provenientes del maíz pigmentado de la raza mixteco variedad CIIDIR, puede favorecer el desarrollo de estrategias de aprendizaje y la capacidad de retención espacial, lo cual se evidencia con el incremento en el porcentaje de tiempo, de exploración en el sector más próximo a la caja de escape y una mejor adaptación a un ambiente novedoso.(Barnes y cols., 1978; Joseph, y cols., 1999; Packard, 1992.)

Finalmente es importante resaltar que la dosis estimada de antocianinas contenidas en la tortilla pigmentada proporcionada a las ratas, fue de 6.5mg/kg diarios. Dosis que resulto benéfica en un experimento previo con ratones, sin embargo, en nuestro estudio donde se utilizó como modelo ratas, al parecer la dosis fue insuficiente, ya que se obtuvieron valores con tendencia a ser diferentes en los resultados obtenidos mediante la prueba de LAB. Con respecto a esto es posible mencionar que trabajos en los que se aplicó una dosis

elevada de 200mg/kg diarios a ratas de la sepa wistar, durante siete días con antocianinas demostró una mejora sobre la memoria, en animales tratados con scopolamina. Lo que en comparación a la cantidad de antocianinas empleadas en el presente trabajo, es considerablemente mayor. Por otro lado Giacomo y cols. (2012), observaron que una única dosis con 10mg/kg de extractos de antocianinas administrado de forma intraperitoneal a ratas, previo a un proceso isquémico parcial. Puede disminuir el índice de hidroperoxidación de lípidos e incrementar la expresión de heme oxigenasa, permitiendo una mayor viabilidad neuronal. Lo anterior refleja dos aspectos importantes ligados a la dosis de antocianinas administrada; 1) los efectos neurotróficos y neuroprotectores son dosis-dependientes, 2) los efectos benéficos de las antocianinas sobre las células nerviosas, puede apreciarse a dosis muy bajas en el tejido nervioso, sin embargo las consecuencias sobre la conducta no se observan a dosis pequeñas, este hecho se ve reflejado con los resultados obtenidos en este trabajo, que pese a mostrar una tendencia hacia un mejor desempeño cognitivo no existieron diferencias significativas en los parámetros evaluados (Alarcón, 2013; Gutierres y cols, 2014).

CONCLUSIONES

1. El consumo de tortillas elaboradas con maíz azul, no mostró una disminución significativa del tiempo de latencia con respecto al grupo CTR, pero si con respecto al grupo MB.
2. El número de errores cometidos por los animales durante la exploración de orificios, no mostro diferencias significativas, entre los diferentes grupos de estudio.
3. El tiempo de permanencia dentro del cuadrante próximo a la caja de ecape no mostro diferencias significativas entre los diferentes grupos de estudio.

PERSPECTIVAS

En trabajos futuros resulta de interés el evaluar la cantidad necesaria, de tortilla a ingerir para conseguir la dosis de antocianinas, que presente la mejor efectividad para el mejoramiento de las habilidades cognitivas de aprendizaje y memoria visoespacial; debido a la relación dosis-dependiente del efecto biológico en el organismo de estas moléculas. Por otro lado es importante caracterizar el efecto del consumo de tortilla elaborada con maíces pigmentados sobre la ganancia de peso corporal, en periodos de tiempo prolongados y en cantidades más elevadas. Por último y con la observación de un incremento en la adaptación a un ambiente novedoso en las ratas tratadas con tortillas azules con respecto a los otros dos grupos, se sugiere la realización de más trabajos que traten de demostrar la capacidad ansiolítica de las antocianinas contenidas en las tortillas pigmentadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Acosta-Montoya, O., Vaillant, F., Cozzano, S., Mertz, C., Perez, M. A., Castro V. M. (2010) Phenolic content and antioxidant capacity of tropical highland blackberry (Rubus adenotrichus) during three edible maturity stages. Food Chem. 119 1497-1501.

Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. y Tattini M. (2012) Flavonoidsas antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Science*; 196: 67–76.

Agudo- Aguilar, L., (2001). Aprendizaje y memoria. Rev neurol. 32(4): 373-381.

Aranceta, J., Mataix, J., Gil, A., Fontecha, J., Muriana, F.G., Mata, P., Entrala, A., Martínez, J.R., Boza, L. y Baró, L. (2003) Guía de alimentos funcionales. *Instituto Omega 3; Puleva Food y SENC:* 6-13.

Alarcon A.E., (2013). Polifenoles, antocianinas, actividad antioxidante y actividad biológica de la tortilla y maíz azul de la raza mixteco. (tesis doctoral). Instituto de ciencias básicas. Universidad veracruzana.

Arakwa, H., (2007) Age-Dependent Change in Exploratory Behavior of Male Rats Following Exposure to Threat Stimulus: Effect of Juvenile Experience. Developmental Psychobiology. 49: 522–530

Arts, I.C., Sesink, A.L., Faassen, M., Hollman, P.C. (2004) The type of sugar moiety is a major determinant of the small intestinal uptake and subsequent biliary excretion of dietary quercetin glycosides. *Br J Nutr;* 91: 841–847.

Attar, A., Liu T., Chan, W. C., Hayes, J., Nejad, M., Lei, K., (2013) A shortened barnes maze protocol reveals memory deficits at 4-months of age in the triple-transgenic mouse model of alzheimer's disease. *plos one*; 8-11.

Bach, M.E., Barad, M., Son., Zhuo, M., Lu, Y.F., Shih, R., Mansuy, I., Hawkins, R.D., Kandel, E.R., (1999). Age-related defects in spatial memory are correlated with defects in the late phase of hipocampal long-term potentiation in vitro and are attenuated by drugs that enhance the cAMP signaling pathway. *Proc. Natl. Acad*; Sci. 96: 5280–5285.

Backman, L., Small, B.J., Wahlin, A., (2001) Aging and memory: cognitive and biological perspectives. In: Birren, J.E., Schaie, K.W. (Eds.), *Handbook of the Psychology of Aging. Academic Press,* San Diego; pp. 349–377.

Barnes, C.A., (1979) Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J Comp Physiol Psychol*; 93: 74–104.

Badshah, H., Ullah, I., Kim, S.E., Kim, T., Lee, H.Y., Kim, M.O., (2013) Anthocyanins attenuate body weight again via modulating neuropeptide Y and GABAB1 receptor in rats hypothalamus. *Neuropeptides*; 47 347-353.

Betrán F. J., A. J. Bockholt and L. Rooney. (2001). Blue corn In: specialty corns. Hallauer, A. R. Edition speciality Conrs. CRC. Press: Boca Raton, Florida. 1:393–301.

Bitan, A., Agrawal, M., (1995) Physiological responses of field grown Zea mays L. plants to enhanced UV-B radiation. *Biotronics*; 24: 15-23.

Bizon, J.L., LaSarge, C.L., Montgomerya, K.S., McDermottb, A.N., Setlowa, B., Griffith W.H., (2009) Spatial reference and working memory across the lifespan of male Fischer 344 rats. *Neurobiology of Aging; 30: 646–655.*

Brene, J. C., Rodriguez, O., Fornaguera, J. (2008) Differential effect of environment enrichment and social isolation on depressive-likebehavior, spontaneous activity and serotonin and norepinephrine concentration in prefrontal cortex and ventral striatum. Pharmacology, Biochemistry and Behavior (89) 85–93.

Bonanb, C.D., Spanevello, R., (2014) Anthocyanins restore behavioral and biochemical changes caused by streptozotocin-induced sporadic dementia of Alzheimer's type**.** *Life science*; 96: 7-17.

Brouillard, R., (1982). Chemical structure of anthocyanins. In: Anthocyanins as food colors. P. Markakis, 1-40. Ed. Academic Press New York,

Burke SN., Barnes CA., 2006. Neural plasticity in the ageing brain. *Nat. Rev. Neurosci*. 7, 30–40.

Bustillos E. P., (1997). Cuantificación y elucidación estructural de compuestos pigmentados presentes en maíces criollos azul y rojo. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Chihuahua. México. 101 p.

Brouillard, R., (1982) Chemical Structure of anthocyanins. In: Anthocyanins as Food Colors. (P. Markakis) *ed. Academic Press*; pp.1-38.

Blaut, M., Schoefer, L., Braune, A., (2003) Transformation of flavonoids by intestinal microorganisms. *Int J Vitam Nutr Res*; 73: 79–87

Cadaval, A., Artiach Escauriaza, B., Garín Barrutia, U., Pérez Rodrigo, C., Aranceta, J. y Serra, L. (2005) Alimentos funcionales Para una alimentación más saludable*. Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC)*; pp. 7-48.

Carluccio, M.A., Siculella, L., Ancora, M.A., Massaro, M., Scoditti, E., Storelli, C., Visioli, F., Distante, A., De Caterina, R., (2003**)** Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: Antiatherogenic properties of Mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 23: 622–629.

Cartaya, O., Reynaldo, I., (2001) Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*; 22(2): 5-14.

Coe E.H., (1955). Anthocyanin synthesis in maize, the interaction of A2 and Pr in leucoanthocyanin accumulation. Genetics. 40:568 .

Crook, T., Bartus, R.T., Ferris, S.H., Whitehouse, P., Cohen, G.D., Gershon, S., (1986). Age-associated memory impairment: proposed diagnostic criteria and measures of clinical change. *Dev. Neuropsychol;* 2: 261–276.

Cuevas, E.O., (2011). *Evaluación del potencial nutraceutico de zarzamora silvestre y mejorada* (tesis doctoral inédita). Facultada de química. Universidad de Queretaron

Cummings, J.A., Mulkey, R.M., Nicoll, R.A., Malenka, R.C., Cuevas, E., Antezana, A. Winterhalter P., (1998) Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) boliviano. Memorias red-alfa lagrotech comunidad europea, Cartagena. 79-95.

Culebras, J.M., García de Lorenzo, A., González-Gross, M., (2004) Alimentos funcionales. Nutr Hosp**.** 19:1. Disponible en URL [http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v19n1/editorial.pdf).

Daya, A.J., Cañadab, F.J., Díaz, J.C., Kroona, P.A., Mclauchlana, R., Fauldsa, C.B., Plumba, G.W., Morganc, R.A., Williamsona, G., (2000) Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase. *FEBS Letters*; 468: 166-170.

de Pascual, T. S., Sánchez B., (2008). Anthocyanin's: from plant to health. Phytochem. 7: 281-299.

Del Rio, D., Mateos, A.R., Spencer, J., Tognolini, M., Borges, G., Crozier, A., (2013) Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. *Antioxidants and Redox signaling*; 18 (14):1819-1872.

Dickerson W. G. 2003. Nutritional analysis of New Mexico blue corn and dent corn kernels. Cooperative extension service, College of agriculture and home economics. New Mexico State University. Las Cruces, NM.

Diplock, A.T., Aggett P., Ashwell, M., Bornet, F., Fern, E., Roberfroid M., (1999). Scientific concepts of functional food science in Europe: Consensus document. British Journal of Nutrition. 1:1–28.

Duthie, G.G., Duthie, S.J., Kyle, J.M., (2000) Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. *Nutr Res Rev* ; 13:79-106

Escalante-Aburto, A., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P.I., Barrón-Hoyos, M., Figueroa-Cárdenas, J. López-Cervantes. J., (2013) La nixtamalización y su efecto en el contenido de antocianinas de Maíces pigmentados, una revisión. *Rev. Fitotec. Mex*. 36 (4): 429 – 437.

Franch A. 2009. Los alimentos funcionales a la luz de la normativa Europea. Bolpediatr. 348-354.

Etchepareborda, M. C., Abad-Mas, L., (2005). Memoria de trabajo en los procesos del aprendizaje. Rev neurol. 40 (1): 78-83.

Garzón, G.A., (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta Biológica Colombiana; 13*(3), 27-36.

Galli R.L., Shukitt-Hale B., Youdim K.A., Joseph J.A., (2002) Fruit polyphenolics and brain aging nutritional interventions targeting age-related neuronal and behavioral deficits. *Ann. N.Y. Acad. Sci;* 959: 128–132.

Giacomo, C.D., Acquaviva, R., Santangelo, R., Sorrenti, V., Vanella, L., Volti, G.L., D'Orazio, N., Vanella, A., Galvano F., (2012) Effect of Treatment with Cyanidin-3-O-β-D-Glucoside on Rat Ischemic/Reperfusion Brain Damage. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.

G.J.J. (2011). Diversidad del Maíz y el Teocintle. Informe preparado para el proyecto: "Recopilación, generación, actualización y análisis de información acerca de la diversidad genética de maíces y sus parientes silvestres en México". Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Manuscrito. Disponible en: http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/pdf/proyecto/Anexo9_Analisis_Especialistas/Jesus_Sanchez_2011.pdf

Gutierres, J.M., Carvalho, F.B., Schetingera, M.R., Agostinho, P., Marisco, P.C., Vieira, J.M., Rosa, M.M., Bohnerta, C., Rubina, M.A., Morscha, V.M., Spanevello, R., Mazzanti, C.M., (2014) Neuroprotective effect of anthocyanins on acetylcholinesterase activity and attenuation of scopolamine-induced amnesia in rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*; 33: 88-98.

Gutierres, J.M., Carvalhoa, F.B., Schetinger, M.R., Marisco, P., Agostinho, P., Rodrigues, M., Rubina M.A., Schmatz, R., da Silva, C.R., Cognato, G.P., Farias, J.G., Signor, C., Morscha, V.M., Mazzanti, C.M., Bogo, M., Harborne, J.B. y Williams, C.A. (1992) Advances in flavonoid research since. *Phytochemistry*; 55: 481–504.

Harborne y Self. 1967. Comparative biochemistry of the flavonoids. IV. Correlation between chemistry, pollen morphology and systematics in the family Plumbaginaceae. Phytochemistry. 6:1415–1428.

Harrison, F.E., Reiserer, S.R., Tomarken, A.J., (2006) Spatial and nonspatial esape strategies in the Barnes maze. *Learning and memory*; 13: 809-819.

He, J., Wallace, T.C., Keatley, K.E., Failla, M.L., Giusti, M.M., (2009) Stability of black raspberry anthocyanins in the digestive tract lumen and transport efficiency into gastric and small intestinal tissues in the rat., *J Agric Food Chem*.;57(8):3141-8.

He, F., Mu, L., Yan, G.L., Liang, N.N., Pan, Q.H., Wang, J., Reeves, M.J. y Duan, C.Q. (2010) Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules;* 15(12): 9057-91.

Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., (2002) Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The journal of nutritial biochemistry*; 13: 572-584.

Hernández U. J. P. (2008). Tortilla de maíz pigmentado: digestibilidad del almidón, aspectos fisicoquímicos y moleculares. Tesis. IPN.

Hollman., P.C., Gaag, M., Mengelers, M.J., van Trijp, J.M., de Vries, J.H. y Katan, M.B., (1996) Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. *Free Radic Biol Med;* 21(5):703-7.

Hollman, P.C., Bijsman, M.N., van Gameren, Y., Cnossen, E.P., de Vries, J.H., Katan, M.B., (1999)The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radic Res*; 31:569–573.

Hollman, P.C., (2004) Absorption, bioavailability, and metabolism of flavonoids. *Pharm Biol*; 42:74–83.

Izquierdo, A.G., Gil, M.I., Ferreres, F.,. Tom´as-Barber´an, F.A.,(2001) In vitro availability of flavonoids and other phenolics in orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 49 (2) 1035–1041.

Jaganath, I., Mullen, W., Edwards, C.A., Crozier, A., (2006) The relative contribution of the small and large intestine to the absorption and metabolism of rutin in man; *Free Radic Res*; 40: 1035–1046.

Joseph, J.A., Shukitt-Hale, B., Denisova N.A., Bielinski D., Martin A., McEwen, J.J., Bickford, P.C. (1999). Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive, and motor behavioral deficits with blueberry, spinach, or strawberry dietary supplementation. J Neurosci. 19(18):8114-21

Kay, C.D., (2006) Aspects of anthocyanin absorption, metabolism and pharmacokinetics in humans. *Nutr Res Rev*; 19(1):137-46.

Kaleuff A. V., Touhimaa, P. (2005). Contrasting grooming phenotypes in three mouse strains markedly different in anxiety and actinity (129S1, BALB/c and NMRI). Behavioural Brain Research (160) 1–10.

Kim, S.M., Chung, M.J., Ha, T.J., Choi, H.N., Jang, S.J., Kim, S.O., Chun, M.H., Do, S., Choo, Y.K., Park, Y.I., (2012) Neuroprotective effects of black soybean anthocyanins via inactivation of ASK1–JNK/p38 pathways and mobilization of cellular sialic acids. *Life Sciences*; 90: 874-882.

Koes, R., Verweij, W., Quattrocchio, F., (2005) Flavonoids: a colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. *Trends in Plant Sciences*; 10 (5) 236–242.

Kumar, S., Pandey, A.K., (2013) Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview., *The Scientific World Journal*.

Lacueva, C.A., Hale, B., Galli, R., Jauregui, O., Lamuela, R.M., Joseph, J., (2005) Anthocyanins in aged blueberry-fed rats are found centrally and may enhance memory. *Nutritional Neuroscience;* 8 (2): 111-120.

Long, J., Gao, H., Sun, L., Liu, J., Zhao-Wilson, X., (2009). Grape Extract protects mitochondria from oxidative damage and improves locomotor dysfunction and extends lifespan in a drosophila Parkinson's disease model. Rejuvenation Research. 12 (5): 321-331.

Lucioli S., (2012) Anthocyanins: Mechanism of action and therapeutic efficacy. *Medic Plants as Antioxidant Agents;* 27-57.

Mahomoodally, M.F., Gurib-Fakim, A., Subratty A.H., (2005) Antimicrobial activities and phytochemical profiles of endemic medicinal plants of Mauritius. *Pharmaceutical Biology*; 43 (3) 237–242.

Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Rémésy, C; (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in human. *Am J Clin Nut*; 230- 242.

Mazza, D.K., Tony, C., Bruce, J.H., (2002) Absorption of Anthocyanins from Blueberries and Serum**.** *Agric. Food Chem; 50:* 7731-7737.

Middleton, E.J.**,** (1998) Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function**.** *Advances in ExperimentalMedicine and Biology*; 439: 175–182.

Mondragón, M., Pérez, L. A., Agama, E., Melo, A., Betancur, D., Peña, L., (2004). Effect of nixtamalization on the modification of the crystalline structure of maize starch. Carbohydrate Polymers. 55 (4): 411–418.

Morgado I. (2005) The psychobiology of learning and memory: fundamentals and recent advances. *Rev Neurol*. 40(5): 289-97.

Morris, G.M., (1981). Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation;* 2(2): 239–60.

Morris R. (1984) Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods.*11(1): 47-60.

Németh, K., Plum, G.W., Berrin, J.G., Juge, N., Hassan, R.J., Gary, Y.N., Dallas, W., Paul, S., Kroon, A., (2003) Deglycosylation by small intestinal epithelial cell β-glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans. *Eur J Nutr;* 42: 29–42.

Passamonti, S., Vrhovsek, U., Vanzoa, A., Mattivi, F., (2003) The stomach as a site for anthocyanins absorption from food. *FEBS Letters*; 544: 210-213.

Passamonti, S., Vrhovsek, U., Mattivi, F., (2002) The interaction of anthocyanins with bilitranslocase. *Biochem Biophys Res Commun*; 296: 631-636.

Packard, M. G.; McGaugh, J. L. (1992). Double dissociation of fornix and caudate nucleus lesions on acquisition of two water maze tasks: further evidence for multiple memory systems. Behav. Neurosci. 106:439–446; 1992.

Prior, R.L., Wu, X., (2006) Anthocyanins: Structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radical Research*; 40(10): 1014–1028.

Polanco-Jaime, A., Flores-Méndez, T., (2008) Bases para una política de I&D e innovación de la cadena de valor del maíz, Foro Consultivo y Científico, a.c., México. Disponible en: http://www.biodiversidad.gob.mx/usos/maices/maiz.html.

Pojer, E., Mattivi, F., Johnson, D., Stockley, C.S., (2013) The Case for Anthocyanin Consumption to Promote Human Health: A Review. Comprehensive *Reviews in food science and food safety*; 12: 483-508.

Rengel, Z., Kordan, H.A., (1988) Effects of N-deficiencies, P-deficiencies, y K- deficiencies on light-dependent anthocyanin formation in Zea mays. *Journal of plant physiology*; 132: 126-128.

Rosenzweig, E.S., Barnes, C.A., (2003) Impact of aging on hipocampal function: plasticity, network dynamics, and cognition. *Pro. Neurobiol*; 69(3): 143–179.

Salinas-Moreno, Y., Bustos, F., Hernández, M., Pakza, R., Vázquez, J.L. (2003) Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. Agrocienciás 37 (6): 617-628.

Salinas M. Y., Soria R. J. y Espinosa T. E. 2010. Aprovechamiento y distribución de maíz azul en el estado de México. Disponible en www.sagarpa.gob.mx.Sánchez,

Salinas M. Y., Rubio H., Díaz V., (2005). Extracción y uso de pigmentos del grano de maíz (Zea mayz L.) como colorantes en yogur". Depto. de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo.

SEME 2010. Sociedad española de cirugía estética. Demostrar la eficacia de los alimentos funcionales antes de 2011, un reto para la industria. www.seme.org.

Shetty, P., (2013) Nutrition Transition and Its Health Outcomes. *Indian J Pediatr*; 80(1): 21–27.

Simone, R.B.M., Verhagen, H., Klungel, H. O., Garssen, J., Loveren, H., Kranen, H. J.,Rompelberg, J.M. (2011). Functional foods and dietary supplements: Products at the interface between pharma and nutrition. European Journal of Pharmacology. 668 2–9.

Styles E., Ceska O., (1972). Flavonoid pigments in genetic strains of maize. Phytochemistry. 11:3019-3021.

Stintzing, F.C., Carle, R., (2004) Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology;* 15:19–38.

Scheline, R.R., (1973) Metabolism of foreign compounds by gastrointestinal microorganisms. *Pharmacological Reviews*; 25(4): 451–532.

Shah, S., Ullah, I., Lee, H.Y., Kim, M.O., (2012) Anthocyanins protect again ethanol-induced neuronal apoptosis via $GABA_{B1}$ receptor intracellular signaling in prenatal rat hippocampal neurons. *Molecular neurobiology*; 48: 257-269.

Sharma, K.V., (2009) Morris water maze a versatile cognitive tool. *J Biosci Tech*; 11: 15-19.

Shukitt-Hale (1999) The effects of aging and oxidative stress on psychomotor and cognitive behavior. Age, Vol. 22, 9-17,

Small, C.J., Pecket, R.C., (1982) The ultrastructure of anthocyanoplats in red cabbage. *Planta;* 154: 97-99.

Stapleton, A.E., Walbot, V., (1994) Flavonoids can protect maize DNA from the induction of ultraviolet-radiation damage; *Plant Physiol*; 105: 881-889.

Strathearn, K.E., Yousef, G.G., Grace, M.H., Roya, S.L., Tambe, M.A., Ferruzzi, M.G., Wud, Q.L., Simon, J.E., Lilab, M.A., Rochet, J.C., (2014) Neuroprotective effects of anthocyanin and proanthocyanidin rich extracts in cellular models of Parkinson's disease. *Brain research*; 1555: 66-77.

Stromberg, I., Cemma, C., Vila, J., Bickford, P.C., (2005) Blueberry- and spirulina-enriched diets enhance striatal dopamine recovery and induce a rapid, transient microglia activation after injury of the rat nigrostriatal dopamine system. Exp Neurol 196:298–307.

Talavera, S., Felgines, C., Texier, O., Besson, C., Gil-Izquierdo, A., Lamaison, L.J., Remesy, C., (2005) Anthocyanin metabolism in rats and their distribution to digestive area, kidney, and brain. *J. Agric. Food Chem*; 53: 3902–3908.

Tan, L., Yang, H.P., Pang W, Lu, H., Hu, Y.D., Li, J., Lu, S.J., Zhang, W.Q. Jiang. Y.G., (2014) Cyanidin-3-O-galactoside and blueberry extracts supplementation improves spatial memory and regulates hippocampal ERK expression in senescence-accelerated mice. *Biomed Environ Sci.* 27(3):186-96.

Tsuda, T., Horio, F., Uchida, K., Aoki, H., Osawa, T., (2003) Dietary Cyanidin 3-*O*-_-D-Glucoside-Rich Purple Corn Color Prevents Obesity and Ameliorates Hyperglycemia in Mice. J. Nutr. 133: 2125–2130.

Vauzour, D., Vafeiadou, K., Rodriguez, M.A., Rendeiro, C., Spencer, J., (2008) The neuroprotective potential of flavonoids: a multiplicity of effects. *Genes Nutr*; 3: 115–126.

Victores, E.M.N., (2001) La producción, transformación, y comercialización de maíz azul (zea mays L.) en la zona Nor-oriente del Estado de México y sus pespectivas. Departamento de ingeniería agroindustrial UACh Chapingo. México. 92p

Vorhees, C.V. y Williams, M.T. (2014) Assessing spatial learning and memory in rodents. *ILAR J.* 55(2): 310-32.

Walle, T., (2004) Serial review: flavonoids and isoflavones (phytoestrogens: absorption, metabolism, and bioactivity): absorption and metabolism of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine;* 36 (7): 829–837.

Wiedenmayer, C.P. (2009). Plasticity of defensive behavior and fear in early development. Neuroscience and Biobehavioral Reviews. (33) 432–441.

Wilkinson, A.P., Gee, J.M., Dupont, M.S., Needs, P.W., Mellon, F.A., Williamson, G., Johnson, I.T., (2003) Hydrolysis by lactase phlorizin hydrolase is the first step in the uptake of daidzein glucosides by rat small intestine in vitro. Xenobiotica; 33: 255–264.

Williams, C.M., Mohsen, M.A., Vauzour, D., Rendeiro, C., Butler, L.T., Ellis, J.A., Whiteman M., Spencer J. P.E., (2008). Blueberry-induced changes in spatial working memory correlate with changes in hippocampal CREB phosphorylation and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels. *Free Radical Biology & Medicine*; 45: 295–305.

Willcox, D.C., Scapagnini, G., Willcox, B.J., (2014) Healthy aging diets other than the Mediterranean: A focus on the Okinawan diet. *Mechanisms of Ageing and Development*; 136: 148–162.

Zazueta M. J. J., Martínez, F., Jacobo, N., Ordorica, C., Parede, O., (2001). Effect of addition of calcium hydroxide on some characteristics of extruded products from blue maize (Zea mays L.) using response surface methodology. Journal of the Science of Food and Agriculture. 81:1397- 1386.

Wu, X., Pittman, H.E., McKay, S., Prior, R.L., (2005) Aglycones and sugar moieties alter anthocyanin absorption and metabolism after berry consumption in weanling pigs. *J. Nutr*; 135(23): 2417–2424.

Yao, L.H., Jiang, Y.M., Shi, J., (2004) Flavonoids in food and their health benefits**.** *Plant Foods for Human Nutrition*; 59 (3): 113–122.

Zhang, W., Han, Y., Lim, S.L., Lim, L.Y., (2009) Dietary regulation of P-gp function and expression. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*; 5(7): 1744-7607.