

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE POSTGRADO**



**Efecto de la ingesta inmediata y la
suplementación por 6 días con arándanos
(*Vaccinium corymbosum L*) sobre la glicemia,
insulinemia y estado redox en sujetos sanos**

Ximena Elizabeth Palma Molina

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGISTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
MENCION EN NUTRICIÓN**

Director de Tesis: Prof. Dr. Héctor Araya López

2013

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE POSTGRADO**

INFORME DE APROBACION TESIS DE MAGISTER

Se informa a la Comisión de Grados Académicos de la Facultad de Medicina, que la Tesis de Magister presentada por la candidata

XIMENA ELIZABETH PALMA MOLINA

ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito para optar al **Grado de Magister en Ciencias Biológicas con mención en Nutrición** en el Examen de Defensa de Tesis rendido el día 1 de Agosto de 2013

Prof. Dr. Héctor Araya López
Director de Tesis
Departamento de Nutrición
Facultad de Medicina, Universidad de Chile

COMISION INFORMANTE DE TESIS

Prof. Vilma Quitral R.
Presidente Comisión

Prof. Dra. Gloria López S.

Prof. Dr. Manuel Moreno

Prof. Dr. Faustino Alonso

Papás, familia, Felipe, amigos:

A todos ustedes que me han acompañado en este largo proceso....

por fin soy Magister!!!

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis no habría sido posible sin la ayuda, guía e inspiración de Juani Codoceo, Jorge Inostroza, Karla Vásquez y Héctor Araya. Muuuuuuchas gracias!!

A Paula J., Vilma Q. y Diego G., por hacer de mi paso por el laboratorio del Departamento de Nutrición la mejor experiencia académica, hasta el momento.

Y a mis amigos que, sin reclamar, participaron como conejillos. Les debo la celebración!!

ÍNDICE

I.- Introducción	9
II.- Hipótesis	15
III.- Objetivos	16
IV.- Materiales y Métodos	18
<i>Sujetos</i>	18
<i>Selección arándanos</i>	20
<i>Diseño Experimental</i>	22
<i>Procedimientos</i>	24
1.- <i>Caracterización de los arándanos</i>	24
2.- <i>Ensayos biológicos</i>	26
<i>Análisis estadístico</i>	30
V.- Resultados	31
VI.- Discusión	41
VII.- Conclusión	47
VIII.- Bibliografía	48
IX.- Anexos	61

RESUMEN

INTRODUCCIÓN. Las dietas occidentales, ricas en grasas y carbohidratos de rápida digestión, han sido asociadas con un incremento del riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles. Los arándanos han mostrado diferentes actividades biológicas, siendo una de las más importantes su efecto sobre la glicemia e insulinemia.

OBJETIVO. Evaluar el efecto de la ingesta inmediata de arándanos y de su suplementación por 6 días sobre la respuesta glicémica, insulinémica y estado redox en sujetos sanos.

METODOLOGÍA. Diez voluntarios (6 mujeres y 4 hombres, entre 22 y 31 años) consumieron 150 g de pan blanco solo (control), junto con una única porción de 150 g de arándanos sin procesar, previamente congelados, y luego de un periodo de suplementación con la misma cantidad de fruta diaria durante 6 días, con un mínimo de 2 semanas entre tratamientos. Muestras sanguíneas se obtuvieron antes y después de cada intervención en condiciones de ayuno, inmediatamente antes de ingerir el pan (tiempo 0) y posteriormente en intervalos de 30 minutos hasta completar 2 horas. Se determinó glicemia, insulinemia, capacidad antioxidante del plasma (FRAP), glutatión total y oxidado en eritrocitos y malondialdehído. El análisis estadístico incluyó ANOVA de muestras repetidas con test de Bonferroni, y correlación de Pearson.

RESULTADOS. Las concentraciones de glucosa plasmática fueron significativamente menores a los 60, 90 y 120 min luego de la dosis única de arándanos en comparación con el control ($p < 0,05$) y a los 60 y 90 min comparado con la suplementación ($p < 0,05$). El peak de glucosa también fue significativamente más bajo luego del consumo inmediato en comparación con el control y suplementación ($102,03 \pm 1,41$ versus $127,99 \pm 7,85$ y $130,39 \pm 7,48$ mg/dL, respectivamente, $p < 0,05$). Las concentraciones de insulina tendieron a ser más bajas luego de ambos tipos de daciones, pero no hubo diferencias significativas entre tratamientos. La capacidad antioxidante del plasma, y las concentraciones de glutatión y MDA no fueron estadísticamente distintas luego del consumo de arándanos.

CONCLUSIÓN. Estos resultados sugieren que la ingesta inmediata de arándanos modula las concentraciones de glucosa pero no las de insulina en respuesta a una carga de 75 g de carbohidratos disponibles en sujetos sanos. Las antocianinas y su acción sobre las enzimas que participan en la digestión de carbohidratos podrían ser responsables de estas respuestas.

ABSTRACT

BACKGROUND. Western diets, rich in fats and rapidly digestive carbohydrates have been associated with an increased risk of chronic diseases. Blueberries have shown different biological activities being one of the more important their effect on glycemic and insulinemic responses.

OBJECTIVE. The aim of this study was to evaluate the effect of two different ways to consume blueberries: an immediate intake and a 6-days supplementation on glycemic and insulinemic responses and redox state after a glucose load in healthy subjects.

METHODOLOGY. Ten volunteers (6 women and 4 men, aged 22 – 31 years) consumed 150-g of white bread alone (control), together with a single dose of 150-g of unprocessed frozen blueberries, and after a 6-days supplementation period with the same amount of fruit daily in a crossover design with a minimum 2 wks between sessions. Blood samples were collected at fasting and at 30 min intervals for 120 min from initiated bread ingestion, and they were used for analysis of glycemia, insulinemia, red blood cell glutathione, plasma malondialdehyde and antioxidant capacity (FRAP).

RESULTS. Plasma glucose concentrations were significantly lower at 60, 90 and 120 min after the single dose of blueberries compared to control ($p < 0,05$) and at 60 and 90 min compared to supplementation ($p < 0,05$). Blood glucose peak were

also significantly lower after immediate intake compared to control and supplementation ($102,03 \pm 1,41$ versus $127,99 \pm 7,85$ and $130,39 \pm 7,48$ mg/dL, respectively, $p < 0,05$). Insulin concentrations tended to be lower after both types of blueberries consumption, but there were no statistically significant differences between treatments. Plasma antioxidant capacity, red blood cell glutathione and MDA concentrations did not significantly differed after blueberries ingestion.

CONCLUSION. These results suggest that immediate intake of blueberries modulate glucose but not insulin concentrations in response to a 75-g glucose upload in healthy subjects. Anthocyanins and their action over carbohydrate digestion enzymes are likely to be responsible for this response.

INTRODUCCIÓN

El consumo de preparaciones altas en hidratos de carbono (CHO), fácilmente digeribles y rápidamente absorbibles, producen una elevación exagerada de la concentración plasmática de glucosa y triglicéridos post-prandiales (1). Cuando estas alteraciones metabólicas ocurren varias veces en el día, como sucede con las dietas occidentales, desencadenan una producción excesiva de radicales libres que pueden resultar en una cascada de cambios bioquímicos que alteran la estructura y funcionalidad celular y que están asociados a la fisiopatología de numerosas enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) como la obesidad, diabetes mellitus y enfermedades coronarias (2 - 4).

Estudios epidemiológicos han demostrado consistentemente la relación entre el consumo de alimentos vegetales, como por ejemplo frutas, verduras, granos integrales y frutos secos, con una disminución del riesgo de padecer algunas ECNT (5 – 8). El beneficio para la salud de estos alimentos sería atribuible al efecto antioxidante de algunos componentes específicos, principalmente las vitaminas C y E, y un amplio rango de compuestos bioactivos no nutrientes (fitoquímicos), entre los que destacan los carotenoides y polifenoles (9). Los polifenoles son un conjunto grande y heterogéneo de moléculas que se encuentran abundantemente distribuidos en una dieta habitual (800 – 1000 mg/día), y son ampliamente conocidos por su gran poder antioxidante, acción que ejercen ya sea modulando la actividad celular con efectos protectores frente al estrés oxidativo, o atrapando especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, lo que

favorece la actividad celular normal y la homeostasis de órganos y sistemas en las distintas etapas de la vida (10). En el último tiempo se ha descrito que los polifenoles tienen influencia sobre las vías que regulan la división y proliferación celular, las respuestas inflamatorias, y además poseen propiedades anticarcinogénicas (11 - 14).

Los berries son una fuente importante de polifenoles, particularmente de flavonoides, por lo que numerosos estudios epidemiológicos han asociado el consumo de estas frutas con una menor incidencia de factores de riesgo cardiovasculares en obesos con síndrome metabólico (15), con una disminución de la glicemia postprandial en sujetos sanos (16 - 17) y con la modulación del metabolismo de lípidos en cerdos (18) y ratas (19). En una revisión realizada por Hanhineva et al. (20) se demuestra que los polifenoles de los berries modulan la respuesta glicémica e insulinémica, ya sea por la inhibición de enzimas de la digestión de carbohidratos (21 - 22) o de la regulación metabólica de la glicemia postprandial (12). En este sentido, los arándanos han sido usados como medicina antidiabética por años. Un estudio realizado por Martineau et al. (23) probó la actividad anti-diabética de un extracto etanólico de raíz, tallo, hoja y fruto de arándano usando ensayos celulares, concluyendo que éstos tenían actividad similar a la insulina, incrementando el transporte de glucosa entre 15 – 25% en células musculares y en un 75% en células adiposas, y estimular la proliferación de células . En humanos, un estudio clínico de 4 semanas demostró el efecto hipoglicemiante y antiinflamatorio de un extracto de hojas de arándanos (24), y Nemes-Nagy et al (25) observaron que un suplemento dietético que contenía un

concentrado de arándano administrado en niños diabéticos tipo 1 tenía un efecto beneficioso sobre los valores de hemoglobina glicosilada, el péptido C y las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa (SOD y GPx). Sin embargo, aun cuando los resultados de estudios in vitro, epidemiológicos y ensayos clínicos aportan evidencia consistente sobre las acciones moduladoras de estos compuestos bioactivos, también existen otros trabajos en que la intervención a base de antioxidantes no ha resultado ser eficaz (26).

Estos resultados no concluyentes o contradictorios se pueden deber principalmente a diferencias en el diseño de la intervención (grupo de estudio, duración, forma de consumo) o en la selección de los biomarcadores más sensibles y adecuados. Por ejemplo, en cuanto al diseño experimental, la mayoría de los estudios in vivo corresponden a evaluaciones del efecto de una suplementación sobre sujetos susceptibles como insulino-resistentes, hemodializados o fumadores (27) y muy pocos se orientan al control de sujetos sanos como en el trabajo realizado por Kiokias & Gordon (28), en que suplementaron a sujetos sanos con una mezcla de carotenoides (α -carotenos, licopeno y luteína) durante 3 semanas, observando una disminución de la estabilidad oxidativa ex vivo de LDL y de la magnitud del daño sobre el DNA. Por otro lado, la duración de la intervención también suele ser muy distinta entre diseños, como ocurre en el caso de McNulty et al. (29) que evaluaron una suplementación con arándanos y vitamina C durante 1 semana en individuos sometidos a ejercicio intenso, y Kataja-Tuomola et al. (30) quienes observaron los efectos de la suplementación con α -tocoferol y α -caroteno durante 6 años en

hombres fumadores pertenecientes al estudio de Prevención del Cáncer Alfa-Tocoferol y Beta-Caroteno (ATBC). En relación a la selección de los biomarcadores idóneos, los estudios se fundamentan en la determinación de biomarcadores de defensa antioxidante y/o del daño oxidativo. Dentro del primer grupo, uno de los más utilizados es la capacidad antioxidante del plasma, destacándose el método FRAP (Ferric reducing ability of plasma) propuesto por Benzie & Strain (31), que se fundamenta en la reducción del complejo tripiridiltriazina (TPTZ) – Fe^{+3} a Fe^{+2} en condiciones de pH bajo, generando un intenso color azul. Esta técnica ha sido descrita en varios estudios con resultados diversos, entre los que se encuentran el de Dragsted et al (32), en que compararon la suplementación con 600g de frutas y verduras con la de un multivitamínico durante 25 días en sujetos sanos, no encontrando efectos significativos sobre la capacidad antioxidante del plasma determinada por FRAP; y los realizados por Torabian et al (33) y McKay et al (34), quienes ensayaron el efecto inmediato de dos preparaciones ricas en polifenoles y el de una suplementación con 2 dosis distintas de nueces durante 6 semanas, respectivamente, sobre biomarcadores de estado redox dentro de los que se incluyó FRAP, observándose un incremento en la capacidad antioxidante del plasma luego de las intervenciones. Por otro lado, también resulta frecuente determinar la concentración plasmática o en tejidos de los antioxidantes directamente, por ejemplo, carotenoides, polifenoles, o de manera aún más específica, como licopeno, antocianinas y glutatión (GSH). Este último es un tripéptido (-glutamilcisteinil-glicina) de bajo peso molecular, considerado el antioxidante más importante sintetizado en las células (35). Su metabolismo y

transporte juegan un rol importante en la homeostasis celular al ser capaz de regenerar diversos sistemas antioxidantes y servir directamente como tal, además de participar en la detoxificación y señalización celular (36). En este sentido, la relación GSH/GSSG ha sido señalada como un indicador del estado redox de la célula, tal como lo observaron Ballatori et al (37), quienes relacionaron bajas concentraciones de GSH o una disminución en el balance GSH/GSSG con una mayor susceptibilidad celular frente al estrés oxidativo, y el daño resultante se ha asociado a enfermedades como cáncer, Parkinson y Alzheimer, además de afectar el sistema inmune y acelerar el proceso de envejecimiento. Así mismo, se ha observado que las concentraciones de GSH se encuentran disminuidas en eritrocitos y plasma de sujetos diabéticos y con síndrome metabólico, lo que estaría relacionado con el incremento de especies reactivas de oxígeno descritas en estos pacientes (38), y estudios sugieren que sujetos con un consumo importante de antioxidantes, como en el vino, estarían mejor protegidos frente a los radicales libres, al observar una disminución de los niveles de GSH pero un aumento del estado antioxidante total (39). En cuanto a los biomarcadores que señalan la existencia de una alteración celular producida por efecto de los ROS, se destaca como uno de los más utilizados aún en la actualidad el malondialdehído (MDA), producto de la peroxidación lípidica. Existe numerosa evidencia que demuestra la sensibilidad de este indicador para evaluar el daño oxidativo en humanos, entre los que se encuentran un estudio de las concentraciones plasmáticas y urinarias de MDA en hombres sanos que consumieron una hamburguesa enriquecida con antioxidantes, y otro realizado en obesos con síndrome metabólico en que se evaluaron las concentraciones de

MDA frente a la suplementación con arándanos, observándose una reducción significativa en los parámetros luego de ambas intervenciones (15, 40); también destaca el trabajo de Hu et al (41), quienes demostraron una asociación positiva entre el índice y la carga glicémica de una dieta con la concentración de MDA plasmática en 292 sujetos sanos. Resultados contrapuestos se informan en un estudio llevado a cabo en hombres fumadores que consumieron una comida rica en frutas y verduras, en el cual no se observaron diferencias significativas en las concentraciones de MDA pre y post intervención (42).

Por lo tanto, y en función de los antecedentes antes expuestos en los que se evidencian las escasas investigaciones que han estudiado el efecto de alimentos altos en polifenoles sobre la respuesta glicémica e insulinémica en sujetos sanos, surge la necesidad de realizar trabajos que permitan obtener información concerniente a la participación de antioxidantes, en este estudio frutos de arándano, sobre el control metabólico de los carbohidratos, su relación con biomarcadores antioxidantes y su posible utilización en el tratamiento de enfermedades crónicas, principalmente resistencia a la insulina y diabetes. En este sentido, la comparación entre el efecto inmediato del consumo de alimentos antioxidantes y su suplementación también aportará información que permitirá elaborar modelos de evaluación de alimentos antioxidantes, nutrientes y funcionales sobre el metabolismo de los carbohidratos.

HIPÓTESIS

El consumo de arándanos en sujetos jóvenes sanos, junto con aumentar el potencial antioxidante, disminuye las respuestas glicémica e insulémica, medidas a través de sus respectivos biomarcadores plasmáticos.

El efecto agudo del consumo inmediato de arándanos, frente a un alimento alto en hidratos de carbono disponibles, ocasionará respuestas glicémica e insulinémica menos acentuadas que las provocadas con una suplementación por 6 días.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Determinar el efecto de la ingesta inmediata de arándanos y de su suplementación por 6 días sobre la respuesta glicémica, insulinémica y estado redox frente a un desafío de carbohidratos en sujetos sanos.

Objetivos Específicos:

1. Caracterizar los arándanos seleccionados para el estudio en términos de su capacidad antioxidante, contenido de polifenoles totales y antocianinas.
2. Evaluar las respuestas glicémicas e insulinémicas de sujetos sanos frente a un desafío de 75g carbohidratos disponibles a partir de 150g de pan blanco.
3. Evaluar los cambios en las respuestas glicémicas e insulinémicas de sujetos sanos frente al desafío de carbohidratos disponibles luego de ser sometidos a 2 tipos de dación de arándanos: consumo inmediato y suplementación de 6 días.
4. Determinar el estado redox de sujetos sanos frente a un desafío de 75g carbohidratos disponibles a partir de 150g de pan blanco.

5. Determinar los cambios en el estado redox de sujetos sanos frente a un desafío de 75g carbohidratos disponibles a partir de 150g de pan blanco luego de los dos tratamientos de dación de arándanos.

6. Correlacionar las respuestas glicémicas e insulinémicas con los biomarcadores de estado redox.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos experimentales

El tamaño muestral se estimó a partir de la información de varianza de la variable respuesta glicémica, considerando un nivel de error alfa de 0.05, un poder estadístico de 90% y una desviación típica de 16 mg/dL, de manera de detectar una diferencia entre grupos (control v/s suplementación) de 14% (17).

Esta determinación estimó en 10 el número mínimo de sujetos experimentales.

La convocatoria se hizo a través de un llamado abierto en la Facultad de Medicina, Universidad de Chile, donde se especificaba que quienes estuvieran interesados en participar debían cumplir los siguientes criterios de elegibilidad:

Criterios de Inclusión:

-) Estado nutricional normal (18,5 IMC 24,9 kg/m²)
-) Ausencia de enfermedades crónicas
-) Sin historia de patologías renales o desórdenes gastrointestinales
-) Sedentarios (< 60 min de actividad física a la semana)

Criterios de exclusión:

-) Bebedores (> de 2 vasos - 400 mL - a la semana)
-) Fumadores
-) Uso de medicamentos para la presión arterial, hipoglicemiantes o hipolipemiantes
-) Uso de suplementos con antioxidantes (un mes antes de la intervención)

Los datos se confirmaron a partir de un cuestionario que se aplicó al inicio del estudio. El estado nutricional se determinó a través del indicador Índice de Masa Corporal (IMC), que relaciona el peso con la estatura al cuadrado (kg/m^2), utilizando los puntos de corte definidos por la OMS (ver Anexo 1). Adicionalmente, se tomaron muestras sanguíneas para corroborar la normalidad en los parámetros metabólicos de glicemia e insulinemia en ayunas.

Por último, y con el fin de evaluar las características de consumo de compuestos bioactivos en la dieta habitual de los voluntarios, se aplicó una encuesta de frecuencia de consumo modificada en dos oportunidades, previo a cada tratamiento (ver Anexo 2). La ingesta de fibra, carotenoides, vitamina C y vitamina E se analizó a partir de la Tabla de Composición de Alimentos de consumo habitual en Chile (73), y la ingesta de polifenoles se definió a partir de la información de la USDA (62).

Selección de los Arándanos

La selección de los arándanos como el alimento a ensayar se fundamenta, en primer lugar, por su gran capacidad antioxidante y contenido de polifenoles, principalmente antocianinas (43 - 48); y en segundo lugar, porque Chile es el productor de arándanos más importante de Sudamérica y segundo a nivel mundial, con 56.000 toneladas producidas en el último año (ODEPA, 2012), por lo resulta interesante desde el punto de vista económico potenciar las características saludables de estos frutos.

Para este estudio se emplearon las variedades Jewel y Star, correspondientes a descartes de la Agrícola Santa Adriana (Quillota, Chile). Se entiende por descarte a los frutos de menor tamaño y “bloom” o pruina, recubrimiento ligero de aspecto ceroso que se encuentra en hojas, tallos o frutos de algunos vegetales, por lo que no pueden ser exportados. Los frutos se mantuvieron a -2°C en el packing de la agrícola, para luego ser trasladados al Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, donde fueron lavados, puestos en hielo y posteriormente almacenados congelados enteros a -20°C , de manera que se conservaran los compuestos fenólicos encontrados en la fruta fresca (49 - 50).

Con respecto a la cantidad definida para los tratamientos experimentales, ésta corresponde a una porción de consumo habitual (150 g), cuyo aporte se observa en la tabla 1. La fundamentación se sustenta en que la intervención no implique cambios importantes en los hábitos alimentarios de los sujetos en términos de la

ingesta diaria de frutas, de manera de lograr adherencia en la suplementación, pero sí que sea significativa en cuanto al aporte de compuestos bioactivos, ya que existe evidencia que sugiere que 150 g de arándanos reducirían la magnitud de la respuesta glicémica en sujetos sanos (17).

Tabla 1. Composición Nutricional de los Arándanos

Nutriente	Unidad	100 g	150 g (1 taza)
Agua	g	84.21	124.63
Energía	kcal	57	84
Proteínas	g	0.74	1.10
Lípidos totales	g	0.33	0.49
Carbohidratos totales	g	14.49	21.45
Azúcares totales	g	9.96	14.74
Fibra dietética	g	2.4	3.6
Fibra soluble	g	0.26	0.4
Fibra insoluble	g	2.13	3.2

National Nutrient Database for Standard Reference Release 25 (USDA)

Diseño de Estudio

El estudio fue del tipo experimental prospectivo, donde cada sujeto fue su control. El periodo de experimentación fue de 5 meses, durante los cuales los sujetos debieron asistir en 3 ocasiones al Departamento de Nutrición para poder participar de los tratamientos definidos:

- a) CONTROL, correspondiente a la determinación del estado basal de los voluntarios para las variables elegidas (glicemia, insulinemia y biomarcadores redox), para lo cual fueron sometidos a un desafío de hidratos de carbono, similar a un test de tolerancia oral a la glucosa pero utilizando 150 g pan de molde blanco (equivalentes a los 75 g de glucosa).
- b) SUPLEMENTACIÓN, correspondiente a una suplementación con 150 g/día de arándanos enteros por 6 días, los que debían ser consumidos durante la mañana, de una sola vez y sin procesamiento. Una vez finalizada la intervención, al 7° día, los voluntarios regresaron al laboratorio para un nuevo desafío de carbohidratos y así ensayar las respuestas glicémica, insulinémica y biomarcadores de estado redox en esta forma de consumo.
- c) CONSUMO INMEDIATO, correspondiente a la dación inmediata, y por una vez, de una porción de 150 g de los mismos arándanos enteros junto con el desafío de carbohidratos disponibles con el mismo propósito ya descrito para la etapa b.

Durante el periodo de estudio, los sujetos debieron mantener el estilo de vida definido al inicio, con énfasis en el nivel de actividad física (< 60 min/sem) y hábitos alimentarios, de manera de no introducir estas variables como influyentes en los parámetros metabólicos evaluados.

Cabe mencionar que el aporte nutricional de los tratamientos no fue estandarizado, siendo igual en el control y la suplementación, pero distinto en el consumo inmediato. Esto se debe, fundamentalmente, porque en el consumo inmediato era necesario aportar la misma cantidad de CHO disponibles a partir del pan para que el estímulo se mantuviera constante en los tratamientos y así identificar de manera más clara el posible efecto del consumo de la porción de arándanos. Por lo tanto, considerando el aporte de carbohidratos disponibles del pan más el de los arándanos, durante la evaluación del consumo inmediato se entregaron un total de 93 g.

Las intervenciones se realizaron separadas por un periodo de tiempo mínimo de 2 semanas (wash out) y máximo de 3 meses, en función de la disponibilidad de los sujetos experimentales.

El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, y todos los sujetos firmaron un Consentimiento Informado al inicio del estudio (ver Anexo 3 y 4).

Procedimientos

Cada vez, los voluntarios fueron admitidos en ayunas a las 8:30 horas en la sala de toma de muestras del Departamento de Nutrición, donde se les instaló un catéter intravenoso en la vena antecubital para tomar, en primer lugar, las muestras sanguíneas a tiempo 0 (inmediatamente antes del consumo del pan); luego, los individuos consumieron 150g de pan molde blanco (FUCHS, Chile) equivalentes a 75g de CHO disponibles, los que deberán ser ingeridos en su totalidad en 15 minutos. Las siguientes muestras se tomaron a 30, 60, 90 y 120 minutos después del tiempo 0.

Cabe mencionar que la determinación de la cantidad de pan de molde a utilizar para completar los 75g de CHO disponibles se realizó a partir de la información que entrega el fabricante en el etiquetado nutricional, y no se corroboró por análisis proximal.

1.- Caracterización de los arándanos

Para la caracterización de los frutos del estudio, se prepararon extractos metanólicos utilizando arándanos molidos en mortero con un volumen de metanol en una proporción de 1:10 (1g de fruta por cada 10 mL de metanol). La mezcla se agitó por agitación magnética durante 2 horas para posterior centrifugación

durante 10 min a 3000 g, y el sobrenadante (extracto) se dispuso en un tubo falcon para almacenamiento a - 18 °C hasta las determinaciones.

a) Capacidad Antioxidante del extracto.

La determinación de la capacidad antioxidante se realizó por el método FRAP descrito por Benzie & Strain (31), ensayo que se fundamenta en la reducción del complejo tripiridiltriazina (TPTZ) – Fe⁺³ a Fe⁺² en condiciones de pH 3.6, generando un intenso color azul medible por espectrofotometría a una longitud de onda de 593 nm.

Los resultados se expresaron como milimoles (mmol) de Fe⁺² por 100 g de fruta fresca para así contrastar con la bibliografía existente.

b) Contenido de Polifenoles Totales.

El contenido de polifenoles totales de los extractos se determinó por el ensayo de Folin – Ciocalteu descrito por Slinkard & Singleton (51), que se fundamenta en la oxidación de los fenoles con una mezcla de ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico, conocida como reactivo de Folin-Ciocalteu. La reacción de oxido-reducción genera óxidos azules que es posible leer espectrofotométricamente a 765 nm, correspondiente al máximo de absorción del ácido gálico.

Los resultados se expresaron como miligramos (mg) de equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de fruta fresca.

d) Contenido de Antocianinas Totales

El contenido de antocianinas totales se determinó por el método de pH diferencial descrito por Giusti & Wrolstad (52), ensayo que se fundamenta en el coeficiente de extinción molecular de la cianidina 3-glucosido a distintos pH (1 y 4.5) y longitudes de onda (515 y 700 nm).

Los resultados se expresaron como miligramos (mg) de equivalentes de cianidina 3-glucósido por 100 g de fruta fresca.

2.- Ensayos biológicos

Cinco mililitros de sangre (por cada tiempo de toma de muestras) se obtuvieron desde el catéter intravenoso y dispusieron en tubos vacutainer en un baño de agua – hielo (4°C). En los tiempos 0, 30 y 120 se tomaron 5 mL adicionales para las determinaciones de capacidad antioxidante, glutatión (GSHt y GSSG) y malondialdehído (MDA), las que se dispusieron en tubos con EDTA. Las muestras sanguíneas para los ensayos de respuestas glicémica y insulinémica se dejaron reposar durante 15 minutos, para luego ser centrifugadas (3000 x g) durante 10 minutos. El sobrenadante (suero) fue extraído en alícuotas de 2 mL y congelado a -10°C en criotubos para su posterior análisis. En el caso de las muestras para FRAP, GSHt/GSSG y MDA, éstas fueron inmediatamente tratadas para evitar oxidación.

a) Determinación de la glicemia e insulinemia.

Las concentraciones de la glicemia se determinaron con el método GOD-PAD, ensayo colorimétrico que determina la glucosa después de la oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa (complejo rojo – violeta).

Para el cálculo de la concentración de glucosa se utilizó la siguiente fórmula:

$$C \text{ (mg/dL)} = 100 * (\text{Abs muestra} / \text{Abs estándar})$$

La respuesta glicémica se calculó como el área de incremento de la glicemia durante 2 horas, utilizando pan de molde blanco como alimento control. El área bajo la curva de respuesta glicémica se determinó aplicando el método del trapecioide, excluyendo aquellos valores de glicemia que se encuentren bajo el valor basal (53).

Las concentraciones de insulina se determinaron mediante un ensayo inmune por quimioluminiscencia. La quimioluminiscencia es un método de lectura que se basa en el principio de emisión luminosa a través de una reacción (enzima - sustrato). El área bajo la curva de la respuesta insulinémica se calculó de manera similar al de la glicemia.

b) Biomarcadores de estado redox.

i) Capacidad Antioxidante del plasma a los 0, 30 y 120 min por el método FRAP, previamente descrito.

ii) Concentración de GHSt, GSSG y relación GSH/GSSG en eritrocitos a los 0, 30 y 120 min. Las mediciones de GSht se realizaron con el método descrito por Rahman et al. (54), que se fundamenta en la reacción con 5,5-ditio-bis (ácido 2-nitrobenzoico) (DTNB) para formar un derivado amarillo 5-tio-2-ácido nitrobenzoico medible por espectrofotometría a 405 nm. Para la determinación de las concentraciones, se calculó la ecuación de la recta de las mediciones obtenidas para cada muestra (6 puntos). Con los datos resultantes se definió la tasa neta (o “Net rate”) restando el valor de la pendiente del blanco a cada pendiente de las muestras y se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{GSht} = \frac{\text{Net rate} - \text{intercepto}}{\text{Pendiente}} * \text{Factor de dilución}$$

siendo 0,0116 y 0,0012 los valores de la pendiente e intercepto, respectivamente, y el factor de dilución es de 90. Las concentraciones de GSht se expresaron en milimoles (mM) para los tiempos 0, 30 y 120 min.

Por otra parte, las mediciones de GSSG se llevaron a cabo por reducción de GSSG a GSH en presencia de NADPH. La determinación de las concentraciones

se realizó con el mismo método que para GSht, siendo 0.0197 y -0.002 los valores de la pendiente e intercepto de GSSG, respectivamente. El factor de dilución correspondiente es de 10.

Por último, la relación GSH/GSSH se determinó a partir de la ecuación:

$$\text{Relación GSH/GSSG} = \frac{\text{GSht} - 2 \text{GSSG}}{\text{GSSG}}$$

iii) Concentración plasmática de MDA a los 0, 30 y 120 min. Las concentraciones de MDA fueron determinadas mediante el ensayo de TBARS descrito por Okawa et al. (55). El método se basa en la reacción con ácido tiobarbitúrico (TBA) a pH 3.5 y posterior extracción con una mezcla de butanol:piridina de 15:1, que es posible medir colorimétricamente a 532 nm. La concentración de MDA se expresó en $\mu\text{mol/L}$.

Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados con el programa estadístico SPSS 17.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, USA).

La distribución normal de las variables se verificó con el test de Shapiro-Wilk. Siendo todas las variables cuantitativas continuas, los resultados se expresaron como promedio \pm error estándar.

Para evaluar el efecto de los tratamientos en comparación con el control, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de muestras repetidas para cada una de las variables de estudio, ajustados con el test de Bonferroni, y para identificar las relaciones entre respuestas glicémica, insulinémica y biomarcadores de estado redox se utilizó el factor de correlación de Pearson, siendo significativo un $p < 0,05$ para ambos análisis.

RESULTADOS

La muestra quedó constituida por 6 mujeres y 4 hombres, edad promedio de 26,3 \pm 3,2 años (22 – 31) e IMC de 22,59 \pm 1,91 kg/m² (20,19 – 24,2). En cuanto a parámetros metabólicos basales, la glicemia fue de 91,19 \pm 7,97 mg/dL en mujeres y 95,04 \pm 6,59 mg/dL en hombres, y la insulinemia fue de 7,34 \pm 4,17 y 6,54 \pm 1,25 uUI/mL en mujeres y hombres, respectivamente.

En relación a las características de la dieta de los sujetos, no se observaron diferencias estadísticas al comparar las ingestas de fibra, vitamina C, vitamina E, carotenos y polifenoles previa a cada tratamiento (tabla 2).

Tabla 2. Ingesta diaria de fibra y compuestos bioactivos de los sujetos (promedio \pm error estándar) antes de cada tratamiento

	Suplementación	C.Inmediato	<i>p</i>
Fibra dietética (g)	18,17 \pm 4,72	14,50 \pm 2,59	0,561
Vitamina C (mg)	191,93 \pm 35,33	150,74 \pm 33,50	0,562
Vitamina E (mg)	5,20 \pm 1,10	3,27 \pm 0,56	0,267
Carotenos (ug ER)	1080,84 \pm 261,15	729,85 \pm 205,07	0,472
Polifenoles (mg EAG)	726,55 \pm 256,64	401,23 \pm 152,20	0,469

No se observaron diferencias estadísticamente significativas

La caracterización de los arándanos utilizados en el estudio se resume en la tabla 3.

Tabla 3. Caracterización de los Arándanos del estudio

Indicador		DS
Capacidad Antioxidante (mmol Fe ⁺² /100 g peso fresco)	2,56	0,56
Polifenoles Totales (mg EAG/100 g peso fresco)	256,02	24,69
Antocianinas Totales (mg E Cia-3-glu/100g de peso fresco)	63	0,8

1.- Efecto de los tratamientos sobre las Respuestas Glicémica e Insulinémica

En la tabla 4 se muestran las respuestas glicémicas observadas. No se observaron diferencias significativas en las concentraciones de glucosa a nivel basal (tiempo 0). Sin embargo, los incrementos en las concentraciones de glucosa si tendieron a ser menores luego del consumo de arándanos, siendo estos aumentos significativamente más bajos en el consumo inmediato que en el control a los 60, 90 y 120 min, y significativamente más bajos en el consumo inmediato que en la suplementación a los 60 y 90 min (Fig. 1).

Tabla 4. Concentraciones plasmáticas de glucosa (mg/dL) de los sujetos a distintos tiempos

Tiempo (min)	Control	Suplementación	C. Inmediato
0	92,74 ± 2,32	93,69 ± 2,51	84,13 ± 1,28
30	114,13 ± 4,03	111,48 ± 4,92	102,03 ± 1,41
60	127,99 ± 7,85	130,39 ± 7,48	95,82 ± 4,27 ^{a,b}
90	114,46 ± 6,84	116,00 ± 4,99	87,78 ± 4,19 ^{a,b}
120	106,71 ± 5,34	102,56 ± 4,83	88,42 ± 4,02 ^a

a : significativamente diferente del grupo control

b : significativamente diferente del grupo suplementación

Estas diferencias se confirmaron al evaluar el peak de glucosa en cada tratamiento, ya que en el consumo inmediato fue a los 30 min, y en el control y en la suplementación fue a los 60 min, siendo significativamente más altos en estos últimos ($102,03 \pm 1,41$ versus $127,99 \pm 7,85$ y $130,39 \pm 7,48$ mg/dL, respectivamente; $p < 0,05$).

Las áreas bajo las curvas (AUCs) entre los 0 y 120 min, que representan la magnitud de la respuesta glicémica, fueron de $2560,6 \pm 454,8$ mg*min/dL en el control; $2437,3 \pm 464,3$ mg*min/dL en la suplementación y $1261,1 \pm 211,4$ mg*min/dL en el consumo inmediato, no observándose diferencias significativas entre los grupos (control – c.inmediato, $p = 0,69$ y suplementación – c.inmediato, $p = 0,107$).

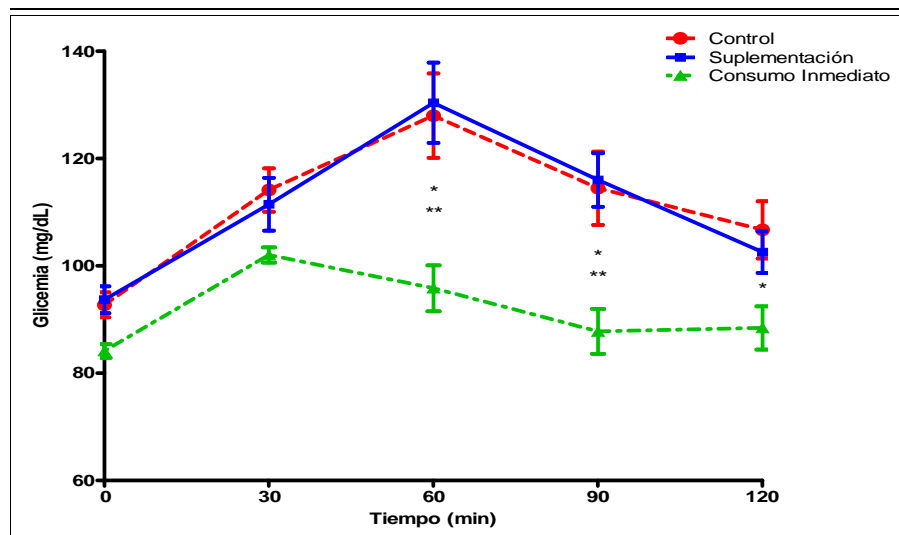


Figura 1. Concentraciones plasmáticas de glucosa expresadas como promedio \pm error estándar (Ver Anexo 2). * denota diferencias significativas entre control y consumo inmediato ($p < 0,05$) y ** diferencias significativas entre suplementación y consumo inmediato ($p < 0,001$) usando ANOVA de muestras repetidas en conjunción con el posttest de Bonferroni.

En cuanto a la respuesta insulinémica, en la tabla 5 se resumen los valores observados. Las concentraciones plasmáticas basales (tiempo 0) no difirieron significativamente entre grupos. En cuanto a los niveles plasmáticos de insulina posteriores a la ingesta, éstos tendieron a elevarse menos luego de la dación de arándanos, especialmente en la suplementación por 6 días, aunque no de manera significativa para ninguno de los tiempos estudiados. Al analizar el peak, los resultados fueron concordantes con los de glucosa, siendo a los 30 minutos en el consumo inmediato y a los 60 minutos en el control y la suplementación.

Tabla 5. Concentraciones plasmáticas de insulina (uUI/mL) de los sujetos a distintos tiempos

Tiempo (min)	Control	Suplementación	C. Inmediato
0	7,02 ± 1,02	8,30 ± 1,08	8,12 ± 1,23
30	46,06 ± 5,69	35,65 ± 7,17	60,49 ± 11,03
60	68,38 ± 11,07	61,09 ± 10,74	58,94 ± 7,89
90	58,38 ± 10,93	42,62 ± 7,23	36,23 ± 4,35
120	48,90 ± 7,43	34,59 ± 6,69	38,62 ± 5,88

De igual manera, al determinar las AUCs, se observó que ésta fue menor en la suplementación (3753,23 ± 707,27 uU*min/mL) en comparación con el control (5180,91 ± 813,91 uU*min/mL) y con el consumo inmediato (5746,95 ± 1440,57 uU*min/mL), aunque no de manera estadísticamente significativa (Fig. 2).

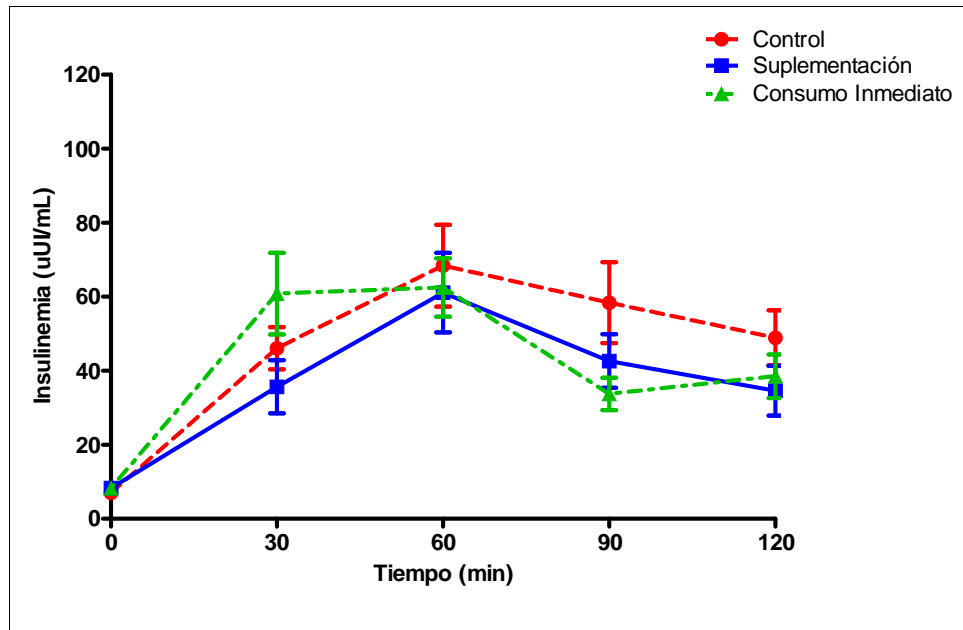


Figura 2. Concentraciones plasmáticas de insulina expresadas como promedio \pm error estándar (Ver Anexo 2). No se observaron diferencias significativas entre tratamientos.

2.- Efecto de los tratamientos sobre Biomarcadores de Estrés Oxidativo

Capacidad Antioxidante

En términos generales, no se observaron diferencias significativas en la capacidad antioxidante del plasma de los voluntarios luego del consumo de arándanos, independientes de la dación (figura 3). Tampoco se observaron diferencias al comparar los distintos tiempos evaluados.

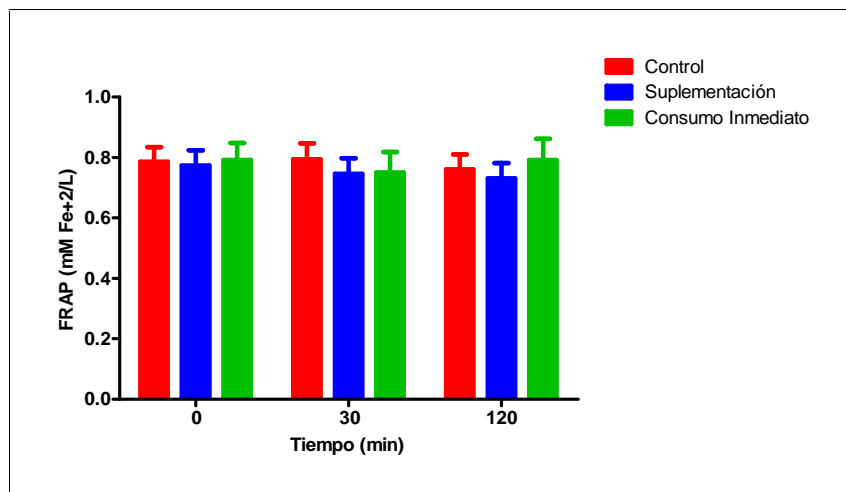


Figura 3. Capacidad antioxidante del plasma medida por FRAP, expresada como promedio \pm error estándar de mM Fe²⁺/L (ver Anexo 2). No se observaron diferencias significativas entre tratamientos.

GSHt, GSSG y relación GSH/GSSG

Las concentraciones basales (tiempo 0) de GSht fueron significativamente mayores en el consumo inmediato en relación con la suplementación ($p < 0,05$). Luego de la dación de arándanos, los niveles de GSht en eritrocitos fueron más elevados en el consumo inmediato, diferencias que fueron significativas al comparar con el grupo control a los tiempos 30 min ($p < 0,01$) y 120 min ($p < 0,05$), y con el grupo suplementación sólo en el tiempo 30 min ($p < 0,01$)(Figura 4).

En cuanto a las concentraciones de GSSG, en la figura 5 se aprecia que la suplementación con arándanos arrojó los niveles más bajos de glutatión oxidado, aunque no de manera significativa. Al analizar por tiempo, a los 30 min los niveles de GSSG disminuyeron en el control y en la suplementación, y aumentaron en el

consumo inmediato, diferencias que fueron estadísticamente significativas ($p < 0,01$ en ambas comparaciones).

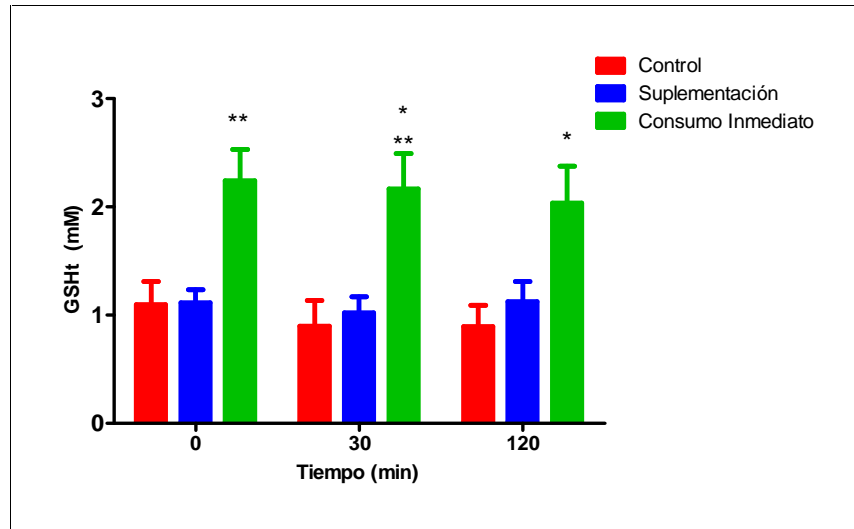


Figura 4. Concentración eritrocitaria de GSht, expresada como promedio \pm error estándar (ver Anexo 2). * denota diferencias significativas entre control y consumo inmediato ($p < 0,05$) y ** diferencias significativas entre suplementación y consumo inmediato ($p < 0,001$) usando ANOVA de muestras repetidas en conjunción con el posttest de Bonferroni.

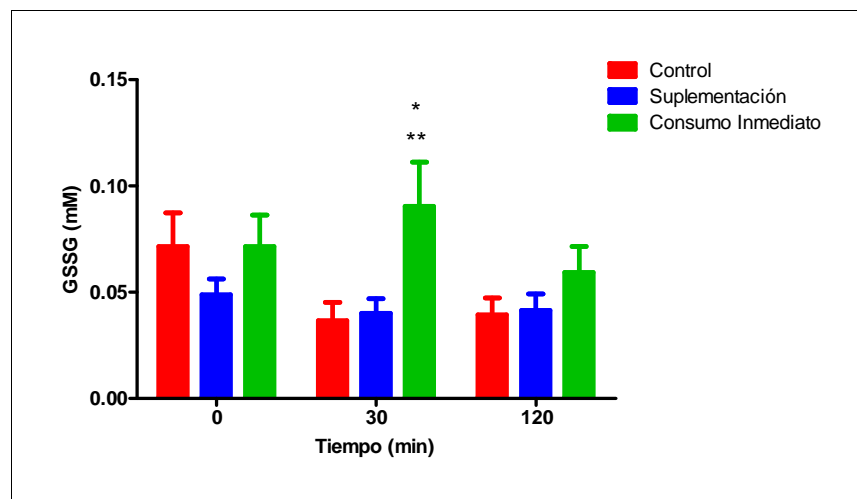


Figura 5. Concentración eritrocitaria de GSSG, expresadas como promedio \pm error estándar (ver Anexo 2). * denota diferencias significativas entre control y consumo inmediato ($p < 0,05$) y ** diferencias significativas entre suplementación y consumo inmediato ($p < 0,001$) usando ANOVA de muestras repetidas en conjunción con el posttest de Bonferroni.

La relación GSH/GSSG eritrocitaria tendió a ser mayor luego del consumo de arándanos, aunque las diferencias no fueron significativas al comparar tratamientos. De la misma manera, no se observó un efecto del tiempo al aplicar ANOVA de muestras repetidas con corrección por test de Bonferroni (Figura 6).

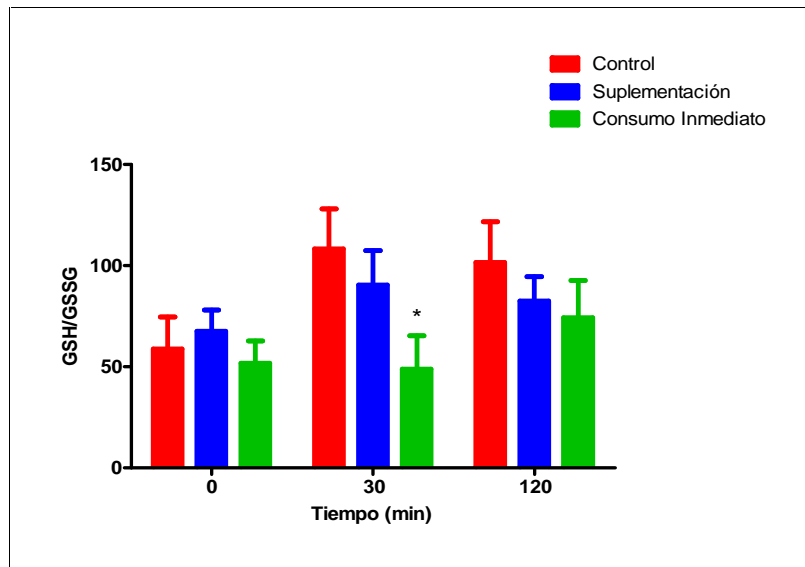


Figura 6. Relación GSH/GSSG, expresada como promedio \pm error estándar. No se observaron diferencias significativas entre tratamientos.

Malondialdehido

En el figura 7 se muestran las concentraciones plasmáticas de MDA de los sujetos en los tiempos estudiados para cada tratamiento. Se observó que la dación de arándanos, independiente del tipo, produjo una disminución de la concentración de MDA, aunque las diferencias no fueron significativas.

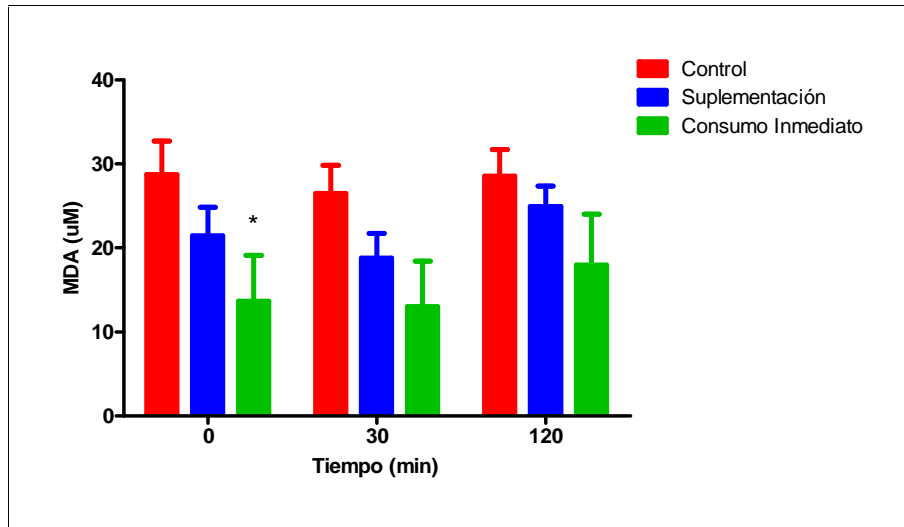


Figura 7. Concentración plasmática de MDA, expresada como promedio \pm error estándar (ver Anexo 2). * denota diferencias significativas entre control y consumo inmediato ($p < 0,05$) usando ANOVA de muestras repetidas en conjunción con el posttest de Bonferroni

3.- Correlaciones

En la tabla 6 se resumen las correlaciones entre las AUCs de glicemia, insulinemia y biomarcadores de estado redox. Se evidenciaron correlaciones positivas entre las variables glicemia e insulinemia ($r = 0,472$ y $p < 0,001$), glutatión total e insulinemia ($r = 0,256$ y $p < 0,05$) y entre glutatión total y glutatión oxidado ($r = 0,622$ y $p < 0,001$), siendo ésta última la correlación más importante. Por otro lado, se observó una correlación negativa entre glicemia y glutatión total ($r = -0,234$ y $p < 0,05$).

Tabla 6. Correlaciones de Pearson para todas las variables estudiadas

		Glicemia	Insulinemia	FRAP	GSht	GSSG	MDA
Glicemia	r	1	0,472(**)	0,018	-0,234(*)	-0,153	-0,016
	p		0,000	0,868	0,028	0,153	0,880
Insulinemia	r	0,472(**)	1	0,057	0,256(*)	0,088	0,008
	p	0,000		0,593	0,016	0,413	0,942
FRAP	r	0,018	0,057	1	0,037	-0,144	-0,033
	p	0,868	0,593		0,731	0,179	0,759
GSht	r	-0,234(*)	0,256(*)	0,037	1	0,622(**)	-0,121
	p	0,028	0,016	0,731		0,000	0,259
GSSG	r	-0,153	0,088	-0,144	0,622(**)	1	-0,073
	p	0,153	0,413	0,179	0,000		0,499
MDA	r	-0,016	0,008	-0,033	-0,121	-0,073	1
	p	0,880	0,942	0,759	0,259	0,499	

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

DISCUSIÓN

Los arándanos han sido ampliamente caracterizados como alimentos de gran capacidad antioxidante, ricos en polifenoles. En este estudio, los extractos de arándanos mostraron una capacidad antioxidante de 2,56 (1,93 – 3,74) \pm 0,56 mmol Fe⁺²/100 g peso fresco, valor que se encuentra cercano al límite inferior de los rangos comunicados por Moyer et al. (56) y Borges et al. (57), que fluctuaban entre 1,85 y 6,14 mmol Fe⁺²/100g de peso fresco. Algo similar ocurrió con el contenido de polifenoles totales, que fue de 256,02 \pm 24,69 mg EAG/100 g peso fresco, concordantes con los publicados por Szajdek & Borowska (58) (181,1 – 473 mg EAG/100 g peso fresco). Por otro lado, la concentración de antocianinas fue de 63,0 \pm 0,8 mg E Cia-3-glu/100 g de peso fresco, levemente más baja que la publicada por los mismos autores (73 – 430 y 62,6 – 235,4 mg/100 g peso fresco). Estas diferencias podrían deberse a que las concentraciones de fitoquímicos en berries se ven influenciadas por una serie de factores, incluyendo las condiciones ambientales, el grado de maduración, la variedad empleada (que en este caso era jewel y star), el sitio de cultivo y el almacenamiento (43, 47, 49, 50). Así mismo, el procesamiento también se ha descrito como un factor determinante de capacidad antioxidante y contenido de antocianinas. Estudios sugieren que la concentración de antocianinas sería mayor en la piel que en la pulpa de los frutos, y que la extracción sería más efectiva utilizando como solvente agua y/o acetona, lo que podría haber influido en los valores observados en este estudio, en que los frutos fueron molidos en mortero y sometidos a una extracción metanólica (68, 69).

Con respecto a los efectos saludables, los resultados de este estudio muestran que el consumo inmediato de arándanos modula la respuesta glicémica sin modificar de manera significativa la respuesta insulinémica en sujetos jóvenes sanos que consumieron un alimento alto en carbohidratos de rápida velocidad de digestión. En efecto, la dación inmediata de arándanos produjo curvas glicémicas post-prandiales caracterizadas por un incremento significativamente más bajo en el peak de la respuesta y concentraciones de glucosa significativamente menos elevadas entre los tiempos 60 y 120 min. Efectos similares se observaron en un estudio donde la ingesta de un puré de berries disminuyó la respuesta glicémica post-prandial frente a una carga de sacarosa (17), y en otro en el cual el consumo de polvo de arándanos liofilizados durante 8 semanas disminuyó el AUC de glucosa durante un test de tolerancia insulínica intraperitoneal en ratones alimentados con una dieta rica en lípidos (59). En ambos trabajos, el tipo de polifenoles de los alimentos ensayados correspondió principalmente a antocianinas. Está bien descrito que las antocianinas, que se encuentran en gran cantidad en los arándanos, actuarían como moduladores de la respuesta glicémica a través de la inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, claves en la digestión de los carbohidratos dietéticos y que determinan la liberación y absorción de glucosa a nivel intestinal (21 - 22). Esto podría explicar que el incremento en la respuesta glicémica luego del consumo inmediato haya sido menor que en la suplementación y el control, incluso a pesar de que la cantidad de carbohidratos disponibles en este tratamiento era mayor (la adición de la porción de arándanos significó un total de 93 gramos de CHO disponibles, versus los 75 gramos del pan solo).

La absorción intestinal de glucosa Na^+ -dependiente mediada por SGLT1 también pudo verse afectada por la presencia de otros ácidos fenólicos presentes en los arándanos, ya que éstos actuarían como inhibidores competitivos de la captación de glucosa mediada por este receptor (60 - 61).

Es importante mencionar que si bien la fibra dietética podría ser otro factor involucrado en las diferencias entre las respuestas glicémicas observadas, la cantidad de aportada por los arándanos en el consumo inmediato fue de 3,6 g de fibra dietética total, de los cuales 3,2 g corresponden a fibra insoluble y sólo 0,4 g a fibra soluble (62), siendo esta última asociada a una atenuación de las respuestas glicémicas postprandiales luego de consumir alimentos ricos en carbohidratos (63).

La sensibilidad insulínica también se vería modulada por presencia de las antocianinas, incrementando el transporte de glucosa insulino - dependiente en células musculares y adiposas, y favoreciendo la proliferación y secreción de insulina en las células pancreáticas (23, 64). En este estudio, el consumo de arándanos a través de una suplementación produjo una tendencia a la disminución de los niveles post-prandiales de insulina en comparación con el control, lo que, sin ser estadísticamente significativo, podría resultar interesante desde el punto de vista clínico, ya que sugiere que la ingesta habitual de arándanos (aproximadamente 1 taza) contribuiría a mejorar la sensibilidad insulínica en sujetos resistentes o podría retardar el efecto deletéreo de las células pancreáticas en diabéticos. La misma tendencia fue observada por Stull et al (65),

quienes concluyeron que la suplementación con un batido de arándanos por 6 semanas mejoró la sensibilidad insulínica en sujetos obesos, insulinoresistentes. Con respecto al consumo inmediato, la tendencia fue similar, sin embargo destaca la mayor elevación de la concentración de insulina observada al tiempo 30 min, distinto de lo que ocurrió luego de la suplementación, y que podría atribuirse a la respuesta fisiológica frente a un estímulo superior de hidratos de carbono, ya que se ha descrito que la ingesta de CHO provoca un aumento rápido en la concentración de insulina, que ocurre antes que se eleve la concentración de glucosa arterial, de manera de aumentar la utilización de la glucosa durante la absorción y prevenir la hiperglicemia (63).

De los resultados discutidos, se infiere que al menos en las condiciones aplicadas en el estudio, la forma más adecuada para suministrar los polifenoles de los arándanos con el objeto de disminuir los niveles de glicemia es a través del consumo inmediato. Esto resulta especialmente interesante ya que la mayor parte de los trabajos que evalúan el efecto del consumo de polifenoles de arándanos han utilizado extractos o bien productos deshidratados con alta concentración de estos compuestos bioactivos, que sólo podría lograrse con alimentos funcionales o suplementos. En efecto, un aspecto positivo del estudio es la cantidad adicionada para evaluar el efecto del consumo inmediato y de la suplementación, correspondiente a una porción de consumo habitual definida para esta fruta (62), lo cual no implica cambios importantes en la dieta habitual.

La determinación de biomarcadores de estado redox luego de las distintas daciones de arándanos fue otro aspecto importante de este trabajo. En términos generales, el consumo de arándanos, ya sea a partir de una suplementación o de una dosis única, no se tradujo en modificaciones significativas en los biomarcadores estudiados. La capacidad antioxidante de la plasma, por ejemplo, no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, lo que podría estar explicado por la biodisponibilidad de los compuestos bioactivos presentes. Diversos estudios in vivo (humanos y animales) han sugerido que la eficacia antioxidante de los flavonoides in vivo estaría limitada por su baja absorción y compleja metabolización que ocurre en intestino e hígado (66 – 67). Manach et al (66) observaron que la concentración plasmática de flavonoides alcanza su nivel máximo entre 1 y 3 horas luego del consumo de alimentos ricos en estos compuestos, y no superan los 7.6 uM en el caso de los flavonoles, flavanoles y flavanonas, y los 0.16 uM en el caso de las antocianinas. Además, la matriz del alimento afecta significativamente la absorción de las antocianinas (70).

Por su parte, el sistema antioxidante dependiente de glutatión juega un rol fundamental en la defensa celular contra las especies reactivas de oxígeno. Las funciones citoprotectoras de GSH se deben a su habilidad de reaccionar directamente con electrófilos, y a su capacidad para regenerarse por acción de la enzima glutatión reductasa (GR), manteniendo el balance redox y la viabilidad celular (35, 3). En este trabajo, las diferencias observadas en las concentraciones de GSH y GSSG no pueden atribuirse a un efecto de la dación de arándanos, ya que las diferencias significativas ocurren a partir del tiempo 0, cuando los sujetos

aun no ingerían los frutos. Por lo mismo, fue necesario evaluar la relación GSH/GSSG, ya que, además de ser un claro indicador del estado redox celular, permitiría eliminar posibles errores metodológicos. En condiciones normales, esta relación es mayor que 10, con la forma reducida predominando (37), situación que se ve modificada en diabéticos (71). En este estudio, esta relación mostró una tendencia de valores mayores luego del consumo inmediato de arándanos que, a pesar de no ser estadísticamente significativa, podría sugerir que se mantuvo una mayor proporción de la forma reducida, probablemente asociado a un menor producción de especies reactivas producto de la respuesta glicémica atenuada descrita previamente, y que mantendría el balance redox de estas células. Pese a esto, y considerando que las mediciones para estos biomarcadores se realizaron en glóbulos rojos, es necesario mencionar que tales hallazgos podrían haberse visto influenciados por la situación eritrocitaria de los sujetos experimentales, principalmente en las mujeres, por lo que debe ser un factor a considerar en futuras investigaciones.

Por último, el consumo de antocianinas se ha relacionado en varios estudios con una disminución de las concentraciones de MDA en ratas diabéticas (71, 72) y mujeres con síndrome metabólico (15). Sin embargo, en este estudio las concentraciones de MDA tendieron a ser menores luego del consumo inmediato de arándanos, pero no de manera significativa, ya que la diferencia observada al tiempo 0 entre el control y el consumo inmediato no se pueden atribuir al efecto del consumo de tales frutos, puesto que aún no eran ingeridos por los sujetos.

CONCLUSIÓN

En síntesis, los resultados del presente trabajo enfatizan que la forma más adecuada de consumir los arándanos con respecto a las respuestas glicémicas e insulinémicas al ingerir un alimento alto en carbohidratos de rápida absorción es la forma de consumo inmediato, lo que estaría apoyado por las respuestas de algunos de los indicadores redox evaluados. Es necesario destacar que los hallazgos se observaron en sujetos sanos con una alimentación similar en cuanto al aporte de compuestos bioactivos antioxidantes. En estos sujetos, la disminución de los niveles de glicemia estaría sugiriendo un menor riesgo de glicosilación de proteínas y consecuente efecto inductor sobre el proceso de estrés oxidativo, asociado con un aumento del riesgo de desarrollar ECNT.

También los resultados están mostrando que no solamente hay que considerar la dación de estos compuestos bioactivos como protectores de la salud, sino que también son interesantes las formas de consumo de éstos, lo cual abre un interesante campo relacionado con la introducción de tales compuestos en la alimentación habitual, ya sea a través de técnicas culinarias adecuadas así como de enfoques gastronómicos que realcen el potencial saludable de los compuestos bioactivos en los alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Sies, H.; Stahl, W.; Sevanian A.; Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *J Nutr* 135: 969 – 972, 2005.
- 2.- Robertson, P.; Harmon, J.; Tran, PO.; Tanaka, Y.; Takahashi, H.; Glucose toxicity in cells: Type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes* 52: 581 – 587, 2003.
- 3.- Roberts, C.; Barnard, J.; Effect of exercise and diet on chronic disease. *J Appl Physiol* 98: 3 – 30, 2005.
- 4.- Vincent, HK.; Taylor, AG.; Biomarkers and potencial mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes* 30: 400 – 418, 2006.
- 5.- Ford, E.; Mokdad, A.; Giles, W.; Brown, D.; Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes* 52: 2346 – 2352, 2003.
- 6.- Wolfram, S.; Effects of green tea and EGCG on cardiovascular and metabolic health. *J Am Coll Nutr* 26: 373S – 388S, 2007.
- 7.- Agudo, A.; Cabrera, L.; Amiano, P.; Ardanaz, E.; Barricarte, A.; Berenguer, T.; et al. Fruit and vegetable intakes, dietary antioxidant nutrients, and total mortality in spanish adults: findings from the spanish cohort of the European Prospective

investigation into Cancer and Nutrition (EPICSpain). *Am J of Clin Nutr* 85: 1634 – 1642, 2007.

8.- Zunino, S.; Type 2 diabetes and glycemic response to grapes or grape products. *J Nutr* 139: 1794S – 800S, 2009.

9.- Liu, RH.; Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr* 78: 517S – 520S, 2003.

10.- Scalbert, A.; Manach, C.; Morand, C.; Remesy, C.; Jimenez, L.; Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr* 45: 287 – 306, 2005.

11.- Liu, S.; Manson, J.; Stampfer, M.; et al. Dietary glycemic load assessed by food-frequency questionnaire in relation to plasma high-density-lipoprotein cholesterol and fasting plasma triacylglycerols in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 73: 560 – 566, 2001.

12.- Anderson, R.; Polanski, M.; Tea enhances insulin activity. *J Agric Food Chem* 50: 7182 – 7186, 2002.

13.- Fresco, P.; Borges, F.; Diniz, C.; Marques, MPM.; New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols. *Medicinal Research Reviews* 26: 747 – 766, 2006.

14.- Neto, C.; Cranberry and blueberry: Evidence for protective effects against cancer and vascular diseases. *Mol Nutr Food Res* 51: 652 – 664, 2007.

15.- Basu, A.; Du, M.; Leyva, M.; Sanchez, K.; Betts, N.; Wu, M.; Aston, C.; Lyons, T.; Blueberries decrease cardiovascular risk factors in obese men and women with metabolic syndrome. *J Nutr* 140: 1582 – 1587, 2010.

16.- Wilson, T.; Singh, AP.; Vorsa, N.; Goettl, CD.; Kittleson, KM.; Roe, CM.; Kastello, GM.; Ragsdale, FR.; Human glycemic response and phenolic content of unsweetened cranberry juice. *J Med Food* 11: 46 – 54, 2008.

17.- Torronen, R.; Sarkkinen, E.; Tapola, N.; Hautaniemi, E.; Kilpi, K.; Niskanen, L.; Berries modify the postprandial plasma glucose response to sucrose in healthy subjects. *Br J Nutr* 103: 1094 – 1097, 2010.

18.- Kalt, W.; Foote, K.; Fillmore, SA.; Lyon, M.; Van Lunen, TA.; McRae, KB.; Effect of blueberry feeding on plasma lipids in pigs. *Br J Nutr* 100: 70 – 78, 2008.

- 19.- Nagao, K.; Higa, K.; Shirouchi, B.; Nomura, S.; Inoue, N.; Inafuku, M.; Yanagita, T.; Effect of *Vaccinium ashei* reade leaves on lipid metabolism in Otsuka Long - Evans Tokushima fatty rats. *Biosci Biotech Biochem* 72: 1619 – 1622, 2008.
- 20.- Hanhineva, K.; Törrönen, R.; Bondia-Pons, I.; Pekkinen, J.; Kolehmainen, M.; Mykkänen, M.; Poutanen, K.; Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *Int J Mol Sci* 11: 1365 – 1402, 2010.
- 21.- Tadera, K.; Minami, Y.; Takamatsu, K.; Matsuoka, T.; Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by flavonoids. *J Nutr Sci Vitaminol* 52: 149 – 153, 2006.
- 22.- Lo Piparo, E.; Scheib, H.; Frei, N.; Williamson, G.; Grigorov, M.; Chou, C.J.; Flavonoids for controlling starch digestion: structural requirements for inhibiting human alpha-amylase. *J Med Chem* 51: 3555 – 3561, 2008.
- 23.- Martineau, LC.; Couture, A.; Spoor, D.; Benhaddou- Andaloussi, A.; Harris, C.; et al. Anti-diabetic properties of the Canadian lowbush blueberry *Vaccinium angustifolium* Ait. *Phytomedicine* 13: 612 – 623, 2006.
- 24.- Abidov, M.; Ramazanov, A.; Jimenez Del Rio, M.; Chkhikvishvill, I.; Effect of blueberries on fasting glucose, C-reactive protein and plasma aminotransferases, in female volunteers with diabetes type 2: double-blind, placebo controlled clinical study. *Georgian Med News* 141: 66 – 72, 2006.

25.- Nemes-Nagy, E.; Szocs-Molnar, T.; Dunca, I.; Balogh-Samarghitan, V.; Hobai, S.; Morar, R.; Pusta, DL.; Craciun, EC.; Effect of a dietary supplement containing blueberry and sea buckthorn concentrate on antioxidant capacity in type 1 diabetic children. *Acta Physiologica Hungarica* 95: 383 – 393, 2008.

26.- Jacob, R.; Aiello, G.; Stephensen, C.; Blumberg, JB.; Milbury, P.; Wallock, L.; Ames, B.; Moderate antioxidant supplementation has no effect on biomarkers of oxidant damage in healthy men with low fruit and vegetable intakes. *J Nutr* 133: 740 – 743, 2003.

27.- Spormann, T.; Albert, F.; Rath, T.; Dietrich, H.; Will, F.; Stockis, J-P.; Eisenbrand, G.; Janzowski, C.; Anthocyanin/Polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative cell damage in an Intervention Study with patients on Hemodialysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 17: 3372 – 3380, 2008.

28.- Kiokias, S.; Gordon, MH.; Dietary supplementation with a natural carotenoid mixture decreases oxidative stress. *Eur J Clin Nutr* 57: 1135 – 1140, 2003.

29.- McAnulty, S.; McAnulty, L.; Niemana, D.; Dumke, C.; Morrow, J.; Utter, A.; Henson, D.; Proulx, W.; George, G.; Consumption of blueberry polyphenols reduces exercise induced oxidative stress compared to vitamin C. *Nutr Research* 24: 209 – 221, 2004.

30.- Kataja-Tuomola, M.; Sundell, JR.; Männistö, S.; Virtanen, MJ.; Kontto, J.; Albanes, D.; Virtamo, J.; Effect of α -tocopherol and β -carotene supplementation on the incidence of type 2 diabetes. *Diabetologia* 51: 47 – 53, 2008.

31.- Benzie, I.; Strain, J.; The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Anal Biochem* 239: 70 – 76, 1996.

32.- Dragsted, L.; Pedersen, A.; Hermetter, A.; Basu, S.; Hansen, M.; et al. The 6-a-day study: effects of fruit and vegetables on markers of oxidative stress and antioxidative defense in healthy nonsmokers. *Am J Clin Nutr* 79: 1060 – 1072, 2004.

33.- Torabian, S.; Haddad, E.; Rajaram, S.; Banta, J.; Sabate, J.; Acute effect of nut consumption on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and lipid peroxidation. *J Hum Nutr Diet* 22: 64 – 71, 2009.

34.- McKay, DL.; Chen, C-Y.; Yeum, K-J.; Matthan, N.; Lichtenstein, A.; Blumberg, JB.; Chronic and acute effects of walnuts on antioxidant capacity and nutritional status in humans: a randomized, cross-over pilot study. *Nutr J* 9: 21, 2010.

35.- Forman, HJ.; Zhang, H.; Rinna, A.; Glutathione: Overview of its protective roles, measurement and biosynthesis. *Mol Aspects Med* 30: 1 – 12, 2009.

36.- Franco, R.; Schoneveld, OJ.; Pappa, A.; Panayiotidis, MI.; The central role of glutathione in the pathophysiology of human diseases. *Arch Physiol Biochem* 113: 234 – 258, 2007.

37.- Ballatori, N.; Krance, S.; Notemboom, S.; Shi, S.; Tieu, K.; Hammond, C.; Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. *Biol Chem* 390: 191 – 214, 2009.

38.- Giral, P.; Jacob, N.; Dourmap, C.; Hansel, B.; Carrié, A.; Bruckert, E.; Girerd, X.; Chapman, MJ.; Elevated gammaglutamyltransferase activity and perturbed thiol profile are associated with features of metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28: 587 – 593, 2008.

39.- Micallef, M.; Lexis, L.; Lewandowski, P.; Red wine consumption increases antioxidant status and decreases oxidative stress in the circulation of both young and old humans. *Nutr J* 6: 27 – 35, 2007.

40.- Li, Z.; Henning, S.; Zhang, Y.; Zerlin, A.; Li, L.; Gao, K.; Lee, R-P.; Karp, H.; Thames, G.; Bowerman, S.; Heber, D.; Antioxidant-rich spice added to hamburger meat during cooking results in reduced meat, plasma, and urine malondialdehyde concentrations. *Am J Clin Nutr* 91: 1180 – 1184, 2010.

41.- Hu, Y.; Block, G.; Norkus, EP.; Morrow, J.; Dietrich, M.; Hudes, M.; Relations of glycemic index and glycemic load with plasma oxidative stress markers. *Am J Clin Nutr* 84: 70 – 76, 2006.

42.- Van den Berg, R.; Van Vliet, T.; Broekmans, W.; Cnubben, N.; Vaes, W.; Roza, L.; Haenen, G.; Bast, A.; Van den Berg, H.; A Vegetable/Fruit concentrate with high antioxidant capacity has no effect on biomarkers of antioxidant status in male smokers. *J Nutr* 131: 1714 – 1722, 2001.

43.- Wang, S.; Lin, HS.; Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varieties with cultivar and developmental stage. *J Agric Food Chem* 18: 140 – 146, 2000.

44.- Mazza, G.; Kay, C.; Cottrell, T.; Holub, B.; Absorption of anthocyanins from blueberries and serum status in human subjects. *J Agric Food Chem* 50: 7731 – 7737, 2002.

45.- Ko, SH.; Choi, SW.; Ye, SK.; Cho, BL.; Kim, HS.; Chung, MH.; Comparison of the antioxidant activities of 9 different fruits in human plasma. *J Med Food* 8: 41 – 46, 2005.

47.- Rodarte Castrejón, A.; Eichholz, I.; Rohn, S.; Kroh, L.; Huyskens-Keil, S.; Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium*

corymbosum L) during fruit maturation and ripening. Food Chemistry 109: 564 – 572, 2008.

48.- Del Río, D.; Borges, G.; Crozier, A.; Berry flavonoids and phenolics: bioavailability and evidence of protective effects. Br J Nutr 104: S67 – S90, 2010.

49.- Smith, M.; Seigler, M.; Singletary, K.; Meline, B.; Bioactive properties of wild blueberry fruits. J Food Sci 65: 352 – 356, 2000.

50.- Lohachoompol, V.; Szrednicki, G.; Craske, J.; The change of total anthocyanins in blueberries and their antioxidant effect after drying and freezing. J Biomed and Biotech 5: 248 – 252, 2004.

51.- Slinkard, K. and Singleton, VL. Total phenolic analysis: automation and comparison with manual methods. Am J Enol Vitic 28: 49 – 55, 1997.

52.- Giusti, MM.; Wrolstad, RE.; Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. Current protocols in food analytical chemistry, 2001.

53.- FAO/OMS. Carbohydrates in human nutrition: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, 14 – 18 April 1997, Rome. FAO Food and Nutrition Paper No 66, Chap 4. The role of the glycemic index in food choice, 1998.

54.- Rahman, I.; Kode, A.; Biswas, S.; Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nature Protocols* 1: 3159 – 3165, 2006.

55.- Ohkawa, H.; Ohishi, N.; Yagi, K.; Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351 – 358, 1979.

56.- Moyer, A.; Hummer, E.; Finn, E.; Frei, B.; Wrolstad, E.; Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *J. Ag. Food Chem.* 50: 519 – 525, 2002.

57.- Borges, G.; Degeneve, A.; Mullen, W.; Crozier, A.; Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants and cranberries. *J Agric. Food Chem* 58: 3901 – 3909, 2010.

58.- Szajdek, A.; Borowska, E.; Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: A review. *Plant Foods Hum. Nutr.* 63: 147 – 156, 2008.

59.- DeFuria, J.; Bennett, G.; Strissel, KJ.; Perfield, JW II.; Milbury, PE.; Greenberg, AS.; et al.; Dietary blueberry attenuates whole-body insulin resistance in high fat-fed mice by reducing adipocyte death and its inflammatory sequelae. *J. Nutr.* 139: 1510 – 1516, 2009.

60.- Kobayashi, Y.; Suzuki, M.; Satsu, H.; et al. Green tea polyphenols inhibit the sodium-dependent glucose transporter of intestinal epithelial cells by a competitive mechanism. *J Agric Food Chem* 48: 5618 – 5623, 2000.

61.- Cermak, R.; Landgraf, S.; Wolfram, S.; Quercetin glucosides inhibit glucose uptake into brush-border-membrane vesicles of porcine jejunum. *Br J Nutr* 91: 849 – 855, 2004.

62.- Agricultural Research Service, USDA; National Nutrient Database for Standard Reference, release 25 (<http://fnic.nal.usda.gov/food-composition/usda-nutrient-data-laboratory>).

63.- Augustin, LS.; Franceschi, S.; Jenkins, D.; Kendall, C.; La Vecchia, C.; Glycemic index in chronic disease: a review. *Eur J of Clin Nut* 56: 1049 – 1071, 2002.

64.- Jayaprakasam, B.; Vareed, SK.; Olson, K.; Nair, MG.; Insulin secretion by bioactive anthocyanins and anthocyanidins present in fruits. *J. Agric. Food Chem.* 53: 28 – 31, 2005.

65.- Stull, AJ.; Cash, K.; Johnson, W.; Champagne, C.; Cefalu, W.; Bioactives in blueberries improve insulin sensitivity in obese, insulin-resistant men and women. *J. Nutr.* 140: 1764 – 1768, 2010.

66.- Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Remesy, C. & Jimenez, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79: 727 – 747, 2004.

67.- Clifford, MN.; Diet-derived phenols in plasma and tissues and their implications for health. *Planta Med.* 70: 1103 – 1114, 2004.

68.- Wang S.; Camp M.; Ehlenfeldt M. Antioxidant capacity and alpha-glucosidase inhibitory activity in peel and flesh of blueberry (*Vaccinium* spp.) cultivars. *Food Chem* 132: 1759 – 1768, 2012.

69.- Flores FP.; Singh R.; Kerr W.; Pegg R.; Kong F. Antioxidant and enzyme inhibitory activities of blueberry anthocyanins prepared using different solvents. *J. Agric. Food Chem.* 61: 4441 – 4447, 2013.

70.- Yang M.; Koo SO.; Song WK.; Chun O. Food matrix affecting anthocyanin bioavailability. *Curr Med Chem* 18: 291 – 300, 2011.

71.- Sugimoto E.; Igarachi K.; Kubo K.; Molineux J.; Kubomura K. Protective effects of boysenberry anthocyanins on oxidative stress in diabetic rats. *Food Science and Technology Research* 9: 345 – 349, 2003.

72.- Guo H.; Ling W.; Liu C.; Hu Y.; Xia M.; Feng X.; Xia X. Effect of anthocyaninrich extract from black rice (*Oryza sativa* L. indica) on hyperlipidemia

and insulin resistance in fructose-fed rats. *Plant Foods for Human Nutrition* 62: 1 – 6, 2007.

73.- Jury G.; Urteaga C.; Taibo M. *Porciones de Intercambio y Composición Química de los Alimentos de la Pirámide Alimentaria Chilena*, Universidad de Chile, Instituto y Tecnología de los Alimentos (INTA), Centro de Nutrición Humana, Facultad de medicina, 1999.

ANEXO 1: CUESTIONARIO DE ELEGIBILIDAD

Datos Personales

Nombre:

Fecha de Nacimiento:

Edad:

Fono contacto:

E-mail:

Datos Antropométricos

Peso:

Talla:

IMC:

Estado nutricional:

Actividad física

Realización de actividad física (si/no):

Cuántas veces a la semana:

Cuánto tiempo por vez:

Nivel de actividad física:

Otros antecedentes

Hábito tabáquico, si/no:

Cantidad/Frecuencia:

Consumo de alcohol, si/no:

Cantidad/Frecuencia:

Consumo de medicamentos, si/no:

Cuales:

Consumo de suplementos, si/no:

Cuales:

Patologías Crónicas Asociadas, si/no:

Cuales:

Glicemia ayunas:

Insulinemia ayunas:

ANEXO 3: CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL PROYECTO: “Efecto de la ingesta inmediata versus la suplementación por 6 días con arándanos (*Vaccinium corymbosum* L) sobre la glicemia, insulinemia y estado redox en sujetos sanos”

Nombre del Investigador principal: Ximena Palma Molina

Institución: Depto de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Teléfonos: 02 978 6129 – 09 5372830

Invitación a participar: Le estamos invitando a participar en el proyecto de investigación “*Efecto de la ingesta inmediata versus la suplementación por 6 días con arándanos (Vaccinium corymbosum L) sobre la glicemia, insulinemia y estado redox en sujetos sanos*”.

Objetivos: Esta investigación tiene por objetivos evaluar el efecto del consumo de arándanos de manera inmediata y a través de una suplementación sobre la glicemia, insulinemia y estado redox en personas adultas y sanas. El estudio incluirá a un número total de 10 voluntarios sanos, estudiantes universitarios, con estado nutricional normal de acuerdo a índice de masa corporal (IMC).

Procedimientos: Si Ud. acepta participar será sometido en 2 oportunidades, separadas por 3 meses, a los siguientes procedimientos:

- Instalación de un catéter intravenoso para la extracción de muestras sanguíneas.
- Extracción de 5 cc de sangre venosa antes y luego del consumo de 150g de pan blanco (5 cc cada 30 minutos hasta completar las 2 horas, es decir, 25cc por vez).
- En la primera instancia, se entregarán de 6 porciones de 150 g de arándanos para ser consumidas durante los 6 días siguientes, en la mañana y sin procesamiento. En la segunda instancia, se entregarán 150 g de arándanos al momento de consumir los 150 g de pan blanco, para ser ingeridos en conjunto.
- Repetición del proceso de extracción de sangre y consumo de pan blanco para identificar las diferencias luego del consumo de arándanos.

Riesgos: El consumo de arándanos no tiene asociados efectos indeseados. De la misma manera, el procedimiento de toma de muestras de sangre implica muy pocos riesgos asociados, entre los que se pueden encontrar: sangrado excesivo, desmayo o sensación de mareo, hematoma (acumulación de sangre debajo de la piel) e infección (un riesgo leve cada vez que se presenta ruptura de la piel). Si Ud. observa alguno de estos signos, deberá comunicarlo a Ximena Palma en el teléfono 09 – 5372830.

Costos: La participación en este estudio no tendrá costo alguno para Ud.

Beneficios: Además del beneficio que este estudio significará para el progreso del conocimiento, Ud. recibirá una compensación económica por su participación en el estudio consistente en un incentivo de \$10000 por una vez.

Confidencialidad: Toda la información derivada de su participación en este estudio será conservada en forma de estricta confidencialidad, lo que incluye el acceso de los investigadores o agencias supervisoras de la investigación. Cualquier publicación o comunicación científica de los resultados de la investigación será completamente anónima.

Voluntariedad: Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria y se puede retirar en cualquier momento comunicándolo al investigador, sin que ello signifique modificaciones en el estudio. De igual manera, el investigador podrá determinar su retiro del estudio si consideran que esa decisión va en su beneficio.

Complicaciones: En el improbable caso de que Ud. presente alguna complicación directamente dependiente de la administración de la suplementación y/o en la toma de muestra de sangre, Ud. recibirá el tratamiento médico completo de dicha complicación, financiado por Departamento de Nutrición de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile, y sin costo alguno para Ud. o su sistema previsional.

Derechos del participante: Si Ud. requiere cualquier otra información sobre su participación en este estudio puede llamar a:

Investigador: Ximena Palma Molina 09 - 5372830
Autoridad de la Institución: Héctor Araya López 02 - 9786129

Conclusión:

Después de haber recibido y comprendido la información de este documento y de haber podido aclarar todas mis dudas, otorgo mi consentimiento para participar en el proyecto *“Efecto de la ingesta inmediata versus la suplementación por 6 días con arándanos (Vaccinium corymbosum L) sobre la glicemia, insulinemia y estado redox en sujetos sanos”*.

_____ Nombre del sujeto	Firma	Fecha
_____ Nombre de informante	Firma	Fecha
_____ Nombre del investigador	Firma	Fecha

ANEXO 2: APROBACIÓN COMITÉ DE ÉTICA



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS

CONSTANCIA

El Comité de Ética para la Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile certifica que ha recibido para su estudio el siguiente proyecto:

"EFECTO DE LA INGESTA INMEDIATA VERSUS LA SUPLEMENTACIÓN POR 4 DÍAS CON ARANDANOS (*Vaccinium corymbosum* L) SOBRE LA GLUCEMIA, INSULINEMIA Y ESTADO REDOX EN SUJETOS SANOS". Sra. Ximena Palma M., Proyecto de Tesis Programa de Magister en Ciencias Biológicas mención en Nutrición, Depto. Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Fono: 09-5372830, Email: xpalmamolina@gmail.com

El presente documento sólo informa de la recepción de los antecedentes. Posteriormente a su análisis, la Comisión emitirá su opinión al respecto.

Santiago, 13 de julio de 2011.



María Elena A.
Secretaría

Atte.
C.C.: Archivo Proy. N°076-2011

Teléfono: 5786923 Fax: 5786189 Email: cetha@med.uchile.cl

ANEXO 5: OTROS RESULTADOS

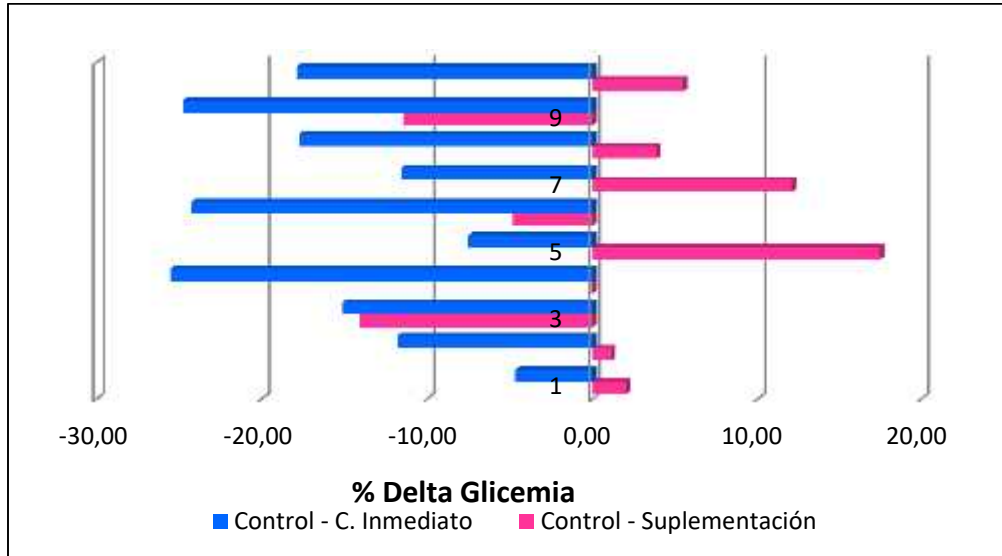


Tabla 7: Delta porcentual de las áreas bajo la curva de glicemia en los 10 sujetos. En rosado, relación entre control y suplementación, y en azul, relación entre control y consumo inmediato. %D = $[(\text{tratamiento} - \text{control}) / \text{control}] * 100$.

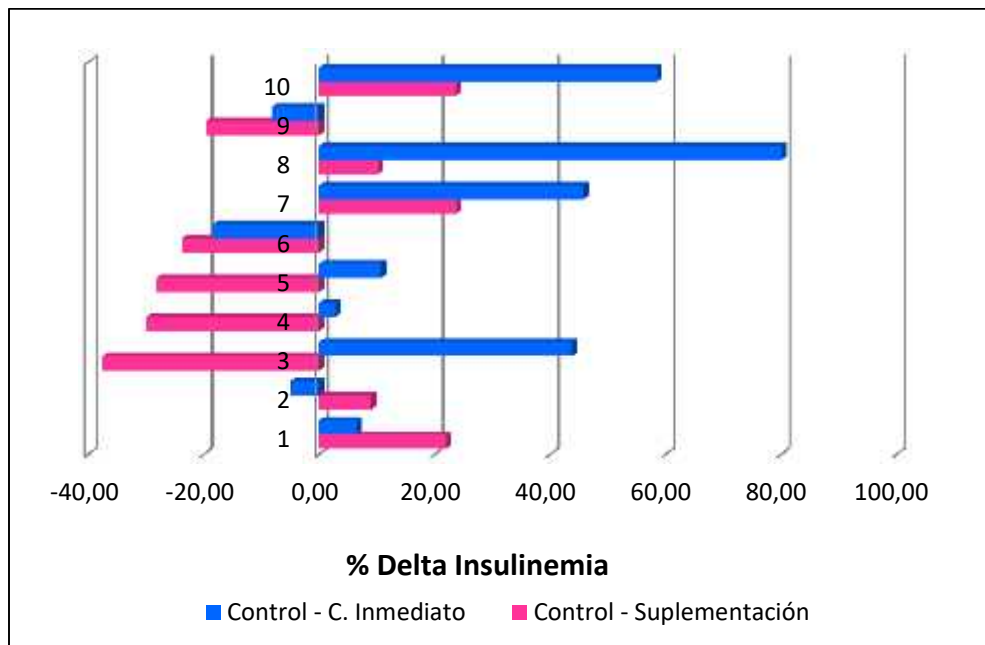


Tabla 8: Delta porcentual de las áreas bajo la curva de insulinemia en los 10 sujetos. En rosado, relación entre control y suplementación, y en azul, relación entre control y consumo inmediato. %D = $[(\text{tratamiento} - \text{control}) / \text{control}] * 100$.