

**Evaluación comparativa de los efectos del consumo del agraz colombiano
(*Vaccinium meridionale* Swarz) en la resistencia a la insulina, capacidad
antioxidante y marcadores de oxidación e inflamación, entre hombres y
mujeres con síndrome metabólico**

Trabajo de investigación para optar al título de magister en Ciencias
Farmacéuticas y Alimentarias

Por

Yeisson Galvis Pérez

Tutora

Jacqueline Barona Acevedo, Ph.D

Comité tutorial

Vitelbina Nuñez Rangel Ph.D

María Luz Fernández Ph.D

Juan Carlos Aristizábal Ph.D

**Facultad de Ciencias farmacéuticas y alimentarias
Universidad de Antioquia
Medellín, Colombia
2018**

Contenido

Presentación	4
Objetivo general.....	4
Objetivos específicos	4
Pregunta de investigación.....	4
Formato de presentación del trabajo de investigación.....	4
Resumen.....	5
Palabras claves	6
Abstract	7
Keywords.....	8
Introducción.....	9
Materiales y métodos:	11
a. Población de estudio	11
b. Criterios de exclusión	12
c. Diseño experimental.....	12
d. Néctar de agraz.....	12
e. Recolección de muestras.	13
I. Sangre total y suero.	13
II. Aislamiento de células mononucleares	13
f. Variables del SM	13
I. Presión arterial (PA).....	13
II. Medidas antropométricas.....	14
III. Glucosa en ayunas.	14
IV. Colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (cHDL, del inglés <i>High-Density Lipoprotein</i>).....	14
V. Triglicéridos.....	15
g. Resistencia la insulina	15
I. Insulina.....	15
II. HOMA-IR (del inglés, <i>Homeostatic model assessment of insulin resistance</i>).....	16
h. Marcadores de inflamación.....	16
I. Proteína C reactiva ultrasensible (PCR-us).....	16

II. Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NFkB).....	16
i. Marcadores de oxidación	17
I. Sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	17
II. Lipoproteína de baja densidad (LDL, del inglés <i>Low-Density Lipoprotein</i>) oxidada - LDLox.....	17
j. Contenido de fenoles y capacidad antioxidante	18
I. Desproteínización del suero	18
II. Fenoles totales.....	18
III. FRAP (<i>ferric reducing antioxidant power</i>).....	19
k. Análisis estadístico.....	19
I. Consideraciones éticas	20
Resultados y discusión.....	21
Caracterización de la población.....	21
Efectos del consumo de agraz en las variables del estudio.....	22
Componentes del SM	22
Capacidad antioxidante y fenoles totales.....	23
Marcadores de oxidación.....	24
Resistencia a la insulina	24
Marcadores de inflamación.....	25
Correlaciones entre las variables.....	26
Efectos según el aumento versus no aumento en el contenido de fenoles y capacidad antioxidante después del consumo de agraz	28
Limitaciones y fortalezas.....	30
Conclusiones.....	31
Agradecimientos.....	32
Bibliografía	33

Presentación

Objetivo general. Comparar entre hombres y mujeres con síndrome metabólico (SM), los efectos del consumo del agraz colombiano en la resistencia a la insulina, capacidad antioxidante y marcadores de oxidación e inflamación.

Objetivos específicos.

- Determinar los efectos del consumo de un néctar de agraz, comparado con placebo, en la capacidad antioxidante y el nivel de oxidación de lípidos en el suero de hombres y mujeres con SM.
- Evaluar los efectos del consumo del néctar de agraz, comparado con placebo, en la resistencia a insulina y algunos marcadores inflamatorios en la población de estudio.
- Establecer si se presentan diferencias entre hombres y mujeres con este síndrome para las variables estudiadas, después de consumir néctar de agraz comparado con placebo.

Pregunta de investigación.

¿Existen diferencias entre hombres y mujeres con Síndrome metabólico, en cuanto a los efectos del consumo de un néctar de agraz colombiano en la capacidad antioxidante, resistencia a la insulina y marcadores de oxidación e inflamación?

Formato de presentación del trabajo de investigación.

Siguiendo el reglamento del posgrado en Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias de la Universidad de Antioquia, en el artículo 19 “Trabajos de investigación para maestrías” y específicamente el párrafo 1 sección b, se presenta el documento en formato tipo artículo.

Resumen

ANTECEDENTES. El síndrome metabólico (SM) es un conjunto de factores relacionados que aumentan el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares. El agraz colombiano *Vaccinium meridionale* Swartz, contiene polifenoles que podrían modular algunos componentes del SM. Estudios epidemiológicos, clínicos y de intervención han mostrado diferencias entre hombres y mujeres en los componentes del SM y en la capacidad antioxidante. Por lo tanto, es importante determinar si existen diferencias entre géneros en la respuesta a intervenciones dietarias para tratar el SM. **OBJETIVO.** Comparar entre hombres y mujeres con SM, los efectos del consumo del agraz colombiano (mortiño) en la resistencia a la insulina, capacidad antioxidante y marcadores de oxidación e inflamación. **METODOLOGÍA.** Cincuenta y dos hombres y mujeres (n=26 en cada grupo) diagnosticados con SM según los criterios del ATP III, participaron en este estudio doble ciego, de diseño cruzado y 12 semanas de duración. Los participantes fueron asignados para consumir un néctar de agraz o un placebo por 4 semanas y después de 4 semanas de lavado fueron cambiados al tratamiento alternativo. Al final de cada período de tratamiento (agraz y placebo) se obtuvieron muestras de sangre en ayunas y se evaluaron los componentes del SM, resistencia a la insulina, capacidad antioxidante y algunos marcadores de oxidación [Lipoproteína de baja densidad (del inglés, Low-density lipoprotein-LDL) oxidada-LDLox] e inflamación (proteína C-reactiva ultrasensible- PCR-us). **RESULTADOS.** Después de consumir la dosis de agraz suministrada en este estudio (200 mL de néctar equivalente a los fenoles totales presentes en 200g de agraz fresco), hubo una tendencia a aumentar los niveles de antioxidantes (hombres: +4 mg/AG/L mujeres: +15 mg AG/L; $p=0,3279$) y a disminuir los niveles de PCR-us en ambos géneros (hombres: -0,4 mg/dL, mujeres: -0,7 mg/dL; $p=0,505$). Además, las mujeres que incrementaron sus fenoles después de consumir agraz, tuvieron una reducción significativa en la resistencia a la insulina (Homeostatic model assessment of insulin resistance-HOMA-IR = 4), la cual fue también significativamente diferente a los resultados en hombres (HOMA-IR: =7, $p= 0,002$). Mientras que los hombres que incrementaron

su capacidad antioxidante después de consumir agraz, tuvieron una mayor reducción de niveles de LDLox (312 ng/mL), lo cual fue significativo ($p= 0,008$) comparado con las mujeres (336 ng/mL). **CONCLUSION.** Existen diferencias importantes entre los géneros en los efectos del consumo de agraz en personas con SM.

Palabras claves. Agraz, síndrome metabólico, insulino-resistencia, antioxidantes, inflamación, oxidación.

Abstract

BACKGROUND. Metabolic syndrome (MS) is constellation of related factors that increase the risk of developing cardiovascular diseases. The Colombian agraz *Vaccinium meridionale* Swartz contains polyphenols that could modulate some components of the MS. Epidemiological, clinical and intervention studies have shown differences between men and women in the components of the MS and in the antioxidant capacity. Therefore, it is important to determine whether there are gender differences in the response to dietary interventions aimed to modulate MS.

OBJECTIVE. To compare between men and women with MS, the effects of Colombian agraz (mortiño) consumption on insulin resistance, antioxidant capacity and markers of oxidation and inflammation.

METHODOLOGY. Fifty-two men and women (n = 26 in each group) diagnosed with MS according to the criteria of ATP III, participated in this 12-week, double-blind, cross-over study. Participants were assigned to consume agraz nectar or placebo for 4 weeks and after 4 weeks of washout, they were switched to the alternative treatment. At the end of each treatment (agraz and placebo), fasting blood samples were obtained and the components of the MS, insulin resistance, antioxidant capacity and some oxidative (oxidized Low-density lipoprotein-oxLDL) and inflammation markers (high sensitive C-reactive protein-hsPCR) were evaluated.

RESULTS. After consuming the agraz dose supplied in this study (200 mL of nectar equivalent to the total phenols present in 200g of fresh agraz), there was a tendency to increase the levels of antioxidants (men: +4 mg/AG/L women: +15 mg AG/L; p=0.3279) and to reduce the levels of hsCRP in both genders (men: -0.4 mg/dL, women: -0.7 mg/dL; p=0.505). In addition, women who increased their phenols after consuming agraz, had a significant reduction in insulin resistance (HOMA-IR=4), which was different to the results in men (HOMA-IR= 7, p = 0.002). While men who increased their antioxidant capacity after consuming agraz, had a better effect on the reduction of oxLDL levels (312 ng/mL) that was significant (p=0.008) compared to women (336 ng/mL).

CONCLUSION. There are important differences between genders in the effects of agraz consumption in people with MS.

Keywords. Metabolic syndrome, agraz, insulin resistance, oxidation, inflammation, antioxidants.

Introducción

El síndrome metabólico (SM) es un conjunto de factores relacionados que aumentan el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares, y se encuentra asociado a comorbilidades como estados protrombóticos y proinflamatorios (1,2).

La prevalencia del SM varía según los criterios utilizados, pero de manera global presenta un valor entre el 14% y 25% en adultos de la mayoría de países (3). En Latinoamérica algunos estudios han encontrado prevalencias que oscilan entre el 13 y 27% (20,4% en Bogotá; 16,7% en Buenos Aires; 17,9% en Lima; 27,2% en Ciudad de México; 13,7% en Quito; 21,0% en Santiago) (4). En Colombia, la prevalencia de SM varía según la región del país y la población estudiada; para adultos en Bogotá se reportó una prevalencia de 28% (5), en la ciudad de Medellín de 41% (6), de 19,6% en una población Antioqueña (7) y 17% en población (personal de la salud) de una institución universitaria (8).

Desde 1988, Reaven postuló la resistencia a la insulina como un evento central en la patogénesis del SM (9), siendo el principal contribuyente al desarrollo de los demás desórdenes metabólicos. Dicha resistencia es producida principalmente por el aumento de ácidos grasos libres, los cuales alteran la acción de la insulina al producir una inhibición en su señalización celular y potenciando no solo una alteración en el metabolismo de carbohidratos, sino también en el metabolismo lipídico (10).

Adicional a la resistencia a la insulina, los pacientes con SM presentan acumulación de grasa abdominal, niveles elevados de glucosa plasmática y de la presión arterial (2,11). Estas alteraciones pueden generar un estado proinflamatorio (12,13), al aumentarse la producción de citoquinas proinflamatorias (11,14) y estrés oxidativo (ej. peroxidación lipídica) (12,13) causado por el incremento de especies reactivas del oxígeno (ERO) (12,15). El estrés oxidativo se establece por un desbalance entre

la producción de ERO (agentes oxidantes) y la capacidad antioxidante del cuerpo (16).

En personas sanas existe un equilibrio en las ERO y los agentes antioxidantes, pero en los pacientes con SM hay reducción de las defensas antioxidantes (endógenas) y un mayor incremento de ERO (11,17). Este estado es causado por la resistencia a la insulina (generando hiperinsulinemia), niveles bajos de HDL (del inglés, High-Density Lipoprotein) -que contiene también enzimas antioxidantes-, hiperplasia de adipocitos e incremento de LDL (del inglés, Low-Density Lipoprotein) pequeñas y densas (más propensas a oxidación) (11,17). Por lo cual, el aumento en el consumo de antioxidantes se ha planteado como una alternativa terapéutica para pacientes con SM (18).

Los tratamientos de primera línea para el SM son el ejercicio físico y modificaciones en la dieta (18-20), pero para aquellos individuos en los que estas estrategias no son posibles o suficientes, se emplean diferentes fármacos para tratar cada componente del síndrome, dado que no existe un medicamento que los trate simultáneamente; lo que resulta en problemas de polifarmacia en estos pacientes. Las frutas y verduras contienen numerosos polifenoles, los cuales han demostrado no sólo actividad antioxidante, sino también anti-inflamatoria e hipolipemiente, presentando un gran potencial para mejorar los factores de riesgo del SM, con menos efectos adversos (18,21,22).

Colombia posee una riqueza natural en frutas y verduras. Un ejemplo es *Vaccinium meridionale* Swartz o agraz, un fruto rojo de la familia *Vaccinium*, de la cual se ha registrado 400 especies diferentes, ricas en compuestos polifenólicos con propiedades antioxidantes (23,24) y se perfilan como candidatos potenciales para reducir el estrés oxidativo (25-27) y los estados proinflamatorios (14). Estudios realizados en otros países, evaluando los efectos del consumo de arándanos (*Vaccinium ashei* y *Vaccinium corymbosum*) en humanos con SM y obesidad, observaron disminuciones en la resistencia a la insulina y en los biomarcadores de peroxidación lipídica y de inflamación (28,29).

Para evaluar los efectos del consumo de frutos ricos en polifenoles sobre los componentes del SM, es importante tener en cuenta las características de la población estudiada, dado que estudios epidemiológicos y clínicos recomiendan usar diferentes puntos de corte o valores riesgo para SM según el género, basados en diferencias observadas entre hombres y mujeres (1,30) tales como, en la concentración del colesterol HDL (cHDL) (31,32), la distribución de la grasa corporal (33,34) y en la resistencia a la insulina (35). Estudios también sugieren diferencias en los otros componentes del síndrome entre generos, como en el metabolismo de los lípidos en general (no solo en el cHDL) (36,37), en la concentración de glucosa plasmática, en la presión arterial e incluso en niveles de marcadores de inflamación (38).

Asímismo, varios estudios hallaron variaciones en la capacidad antioxidante entre hombres y mujeres (39-42), sin embargo las poblaciones estudiadas y los resultados reportados son heterogéneos. Estudios han encontrado una mayor capacidad antioxidante en hombres, comparado con mujeres, después de consumir frutas; pero dichos estudios no incluyeron personas con SM, ni se han encontrado efectos diferenciales entre hombres y mujeres después de consumir agraz para esta variable ni otras relacionadas con los componentes del SM (39-42). En este sentido, este trabajo determinó los efectos del consumo del agraz colombiano en la resistencia a la insulina, la capacidad antioxidante, marcadores de inflamación y oxidación entre hombres y mujeres con SM.

Materiales y métodos:

- a. Población de estudio. Se incluyó una población de 26 hombres y 26 mujeres, diagnosticados con SM según los criterios del ATP III (1), a saber: triglicéridos ≥ 150 mg/dL, glucosa en ayunas ≥ 100 mg/dL, colesterol HDL < 40 mg/dL (hombres) y < 50 mg/dL (mujeres), perímetro abdominal ≥ 102 cm hombres y ≥ 88 cm mujeres, y presión arterial $\geq 130/\geq 85$ mmHg. Hombres y mujeres fueron pareados según edad e índice de masa corporal (IMC). La

estimación del tamaño de la muestra se realizó mediante estudios previos en personas con SM que consumieron uva (fruta rica en polifenoles) siguiendo un protocolo similar y que encontraron reducción significativa de la presión arterial sistólica, triglicéridos y algunos marcadores inflamatorios en cada género por separado (43,44).

- b. Criterios de exclusión. Enfermedad renal, enfermedades del corazón, triglicéridos ≥ 500 mg/dL, diagnóstico de diabetes o glicemia plasmática en ayunas ≥ 126 mg/dL, uso de medicamentos anti-inflamatorios, antihipertensivos, hipolipemiantes y/o consumo de cigarrillo. Consumo de suplementos o nutracéuticos.

- c. Diseño experimental. Estudio doble ciego de diseño cruzado, con una duración de 12 semanas. Después de firmar el consentimiento informado, los voluntarios que cumplieron con tres de los criterios del SM. Los voluntarios se asignaron para consumir un néctar de agraz o un placebo por 4 semanas y después de 4 semanas de lavado fueron cambiados al tratamiento alternativo. Al final de cada período de tratamiento (agraz y placebo) se obtuvieron muestras de sangre en ayunas (10-12h de ayuno nocturno) y se midieron los parámetros del SM. Adicionalmente se les solicitó el mismo registro de dieta y actividad física durante la última semana de cada período. Durante todo el estudio (incluidas las 4 semanas de lavado), se solicitó a los voluntarios no cambiar su actividad física habitual y sus hábitos alimentarios, excepto por el consumo de productos ricos en polifenoles como uva, té verde, vino, entre otros. Se proporcionó a los participantes una lista de los productos que no debían consumir.

- d. Néctar de agraz. Se proporcionó un néctar de agraz reconstituido a partir del fruto liofilizado, el cual pasó por un proceso de selección, desinfección, escaldado, licuado y prensado, antes de ser liofilizado. La dosis diaria fue equivalente a los fenoles totales presentes en 230g de peso fresco del fruto.

El placebo fue elaborado para semejar los aspectos sensoriales (textura, sabor, olor, apariencia) del néctar de mortiño y la cantidad de macronutrientes, excepto por el contenido de polifenoles. Se realizaron análisis de macronutrientes y microbiológico al liofilizado del fruto y al placebo.

e. Recolección de muestras.

- I. Sangre total y suero. Se extrajo sangre total después de 10 a 12 horas de ayuno nocturno, de la vena ante-cubital en tubos con EDTA, y en tubos sin anticoagulante para la obtención de suero. Las muestras se almacenaron a -70°C para los análisis posteriores.

- II. Aislamiento de células mononucleares. Inicialmente mediante muestra de sangre total obtenida de tubo con anticoagulante se realizó aislamiento de mononucleares, usando un gradiente de densidad con el reactivo Histopaque 1077 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Brevemente, las muestras de sangre total con Histopaque 1077 fueron centrifugadas, obteniéndose la separación celular mediante gradiente de densidad. Se aspiró la capa correspondiente a los mononucleares y se lavaron con fosfato buffer salino (PBS). El número de mononucleares se obtuvo por conteo celular en cámara de Neubauer a través de microscopio de luz, y las células se almacenaron a -70°C hasta su posterior análisis.

f. Variables del SM

- I. Presión arterial (PA). Se midió en el brazo derecho a nivel del corazón, después de 5 minutos de reposo en posición sentada y usando un monitor de PA automático (Omrom, Healthcare Inc., Bannockburn, IL).

Se realizaron dos mediciones separadas por 1 minuto, y se usó el promedio para el análisis (45).

- II. Medidas antropométricas. El peso corporal se midió en una balanza digital calibrada y la talla con un tallímetro portátil. El perímetro abdominal se midió en el borde superior de la cresta ilíaca utilizando una cinta métrica corporal flexible (no elástica) después de una espiración normal (46).
- III. Glucosa en ayunas. Se midió utilizando una adaptación del método hexoquinasa glucosa 6 fosfato deshidrogenasa, que se basa en que la hexoquinasa cataliza la fosforilación de glucosa en presencia de adenosina 5' trifosfato y magnesio para formar glucosa 6 fosfato (G6P) y adenosina difosfato. La G6P se oxida mediante la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa en presencia de nicotinamida adenina dinucleotido (NAD) para producir 6 fosfogluconato y nicotinamida adenina dinucleotido deshidrogenasa (NADH). Una mol de NAD se convierte en una mol de NADH por cada mol de glucosa presente. La NADH es susceptible de medición a 340-383nm y su presencia es directamente proporcional a la concentración de glucosa en la muestra. La lectura se realizó en un equipo automatizado (SIEMENS, Alemania) (47).
- IV. Colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (cHDL, del inglés *High-Density Lipoprotein*). La técnica se basa en dos reactivos, donde en la primera reacción los quilomicrones, las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, del inglés *very-low density lipoprotein*) y las LDL forman un complejo hidrosoluble de dextrano en presencia de sulfato de magnesio, estos compuestos son resistentes a la colesterol esterasa y a la colesterol esterasa modificada con polienglicol (PEG) que reaccionan con el colesterol asociado a las HDL. En presencia de oxígeno, el colesterol asociado a las HDL se oxida a 4-colestenona y

peróxido de hidrógeno, este último reacciona a continuación con 4-aminoantipirina y N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-5-dimetoxianilina (HSDA) de sodio en presencia de peroxidasa para formar un colorante que se mide en equipo automatizado (SIEMENS, Alemania), mediante técnica de punto final bicromática a 600nm y 700nm. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración sérica del cHDL (48).

- V. Triglicéridos. Se utilizó un método enzimático colorimétrico, donde la muestra es incubada con un reactivo que contiene lipoproteína lipasa (LPL), la cual hidroliza los triglicéridos en ácidos grasos y glicerol libre. La glicerol quinasa cataliza la reacción de fosforilación de glicerol por adenosina 5' trifosfato en glicerol 3 fosfato. La enzima glicerol 3 fosfato oxidasa produce una reacción de oxidación al glicerol 3 fosfato convirtiéndolo en dihidroxiacetona fosfato y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). La acción catalizadora de una peroxidasa forma quinoneimina, aminoantipirina y 4-clorofenol apartir del H_2O_2 . La absorbancia de la quinoneimina medida en técnica bicromática a 510nm y 700 nm en equipo automatizado (SIEMENS, Alemania), es directamente proporcional a la concentración de glicerol y sus derivados (triglicéridos) en la muestra (48).

g. Resistencia la insulina

- I. Insulina. La cuantificación de insulina se realizó mediante ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) tipo sandwich y utilizando un equipo automatizado (SIEMENS, Alemania) para la lectura. El ensayo consiste en dos anticuerpos, uno monoclonal de ratón antiinsulina en fase sólida que captura la insulina presente en la muestra y un segundo anticuerpo monoclonal de ratón anti-insulina unido de forma covalente a partículas paramagnéticas, que genera

una reacción de quimioluminiscencia. La cantidad de insulina presente en la muestra de suero es proporcional a la luz producida por la reacción y esto es detectado por el equipo automático (49).

- II. HOMA-IR (del inglés, *Homeostatic model assessment of insulin resistance*). El cálculo del índice HOMA-IR se efectuó mediante la fórmula $HOMA_{IR} = \text{insulina } \mu\text{UI/mL} \times \text{glucosa mg/dL} / 405$ (50).

h. Marcadores de inflamación

- I. Proteína C reactiva ultrasensible (PCR-us). Se midió mediante inmunturbidimetría en un analizador automático (SIEMENS, Alemania). Las partículas recubiertas con anticuerpos anti PCR se agregan en presencia de PCR de la muestra. La agregación que se presenta es directamente proporcional a la concentración de la PCR contenida en la muestra (51). Los resultados son reportados en mg/L.
- II. Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NFkB). Para realizar la medición de este marcador de inflamación se realiza previamente la extracción del componente nuclear de las células mononucleares obtenidas, mediante el *Nuclear Extraction Kit* (Abcam ab113474); el cual contiene una serie de reactivos que permiten degradar membranas y mediante centrifugación aislar el componente nuclear de la células (52). Posterior a la extracción del componente nuclear se midió el factor de transcripción NF-κB mediante ELISA tipo sandwich con el *NFkB p65 Transcription Factor Assay Kit* (Abcam ab133112), que permite la cuantificación de la fracción p65 en los extractos nucleares de las células mononucleares. Brevemente, en una placa de 96 pocillos sensibilizados con una cadena de ADN bicatenario (ADNs) que contiene el elemento respuesta del NFkB, el contenido de NFkB p65 presente en la muestra de extracto nuclear se une a la cadena de

ADNs y para la detección se utilizan dos anticuerpos uno primario dirigido contra el NFkB p65 y un secundario conjugado con una enzima que permite una reacción colorimétrica susceptible de ser medida a 450nm (53).

i. Marcadores de oxidación

- I. Sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS). Se determinó TBARS con el *TBARS Assay Kit* (Cayman 10009055), el cual se basa en una medición cuantitativa directa de malondialdehído (MDA) (un producto de peroxidación lipídica) en muestras biológicas. El MDA contenido en la muestra de suero y en los estándares reacciona con el ácido tiobarbitúrico (AT) después de una incubación a 95°C, formando un aducto (AT-MDA) el cual se midió espectrofotométricamente a 530nm. El contenido de MDA de las muestras desconocidas es determinado con una curva estándar de MDA de concentraciones conocidas (54).

- II. Lipoproteína de baja densidad (LDL, del inglés *Low-Density Lipoprotein*) oxidada - LDLox. La medición se realizó mediante ELISA tipo sandwich siguiendo las instrucciones del fabricante (*Human Oxidized LDL ELISA Kit-MDA LDL quantitation*, Cell Biolabs, INC. STA- 369). En una placa de 96 pocillos sensibilizados con un anticuerpo contra MDA, se capturan las LDLox presentes en la muestra de suero. Posteriormente, se adiciona un segundo anticuerpo unido a biotina contra la apoproteína B-100, después de la formación del complejo (Ac-Ag-Ac) se adiciona estreptavidina unida a una enzima, que mediante la adición de un sustrato permite la formación de color que se mide espectrofotométricamente a 450 nm. El contenido de MDA presente en la muestra puede ser cuantificado mediante una curva estándar de MDA predeterminada (55).

j. Contenido de fenoles y capacidad antioxidante

- I. Desproteínización del suero. Con el objetivo de eliminar la interferencia de las proteínas en la medición de fenoles totales y capacidad antioxidante se realizó la desproteínización del suero siguiendo el protocolo descrito por Serafini M. y colaboradores (56) con algunas modificaciones. Inicialmente, para separar polifenoles de los lípidos en la muestra de suero, se añadieron 300µL de HCl (1,0 mol/L) a 150µL del suero. Esta mezcla se agitó durante 1 minuto y se incubó a 37°C durante 30 minutos. Posteriormente, se añadieron 300µL de NaOH (2mol/L en metanol al 75%), se agitó durante 3 minutos y se incubó a 37°C durante 30 minutos. A continuación, para precipitar las proteínas, se añadieron 300µL de ácido metafosfórico (0,75 mol/L), se agitó durante 3 minutos y se centrifugó a 1500 x g durante 10 minutos. El sobrenadante se extrajo y se almacenó bajo refrigeración en la oscuridad. Al precipitado, se añadieron 300µL de una solución 1:1 (v/v) de acetona:agua y se centrifugaron a 2700 x g durante 10 minutos. Se extrajo un segundo sobrenadante que se mezcló con el almacenado en refrigeración y se filtraron a través de un filtro HV de 0,45 mm. El suero filtrado se utilizó para medir fenoles totales y 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).

- II. Fenoles totales. La concentración fenólica total en suero desproteínizado se midió mediante el método de Folin-Ciocalteu (57). Se adicionó 20 µL de muestra de suero desproteínizado o estándar de ácido gálico (AG, curva estándar de 0-1000 mg/L de AG) en 1580µL de agua destilada. Posteriormente, se añadieron 100µL de reactivo de Folin-Ciocalteu y se mezclaron. Por último, se añadieron 300µL de carbonato de sodio al 20% y se midió a 725 nm en un espectrofotómetro (UV-1700, Shimadzu Europe®), después de 1 hora

de incubación. Los ensayos se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como mg de AG por litro (mgAG/L).

- III. FRAP (*ferric reducing antioxidant power*). La habilidad de reducción férrica del suero se midió siguiendo el procedimiento descrito por Benzie y Strain (58) con algunas modificaciones. En un tubo se mezclaron 90 μ L de agua desionizada, 30 μ L de muestra de suero o estándar y 900 μ L de reactivo de FRAP, se incubó a 37°C por 10 minutos y posteriormente se midió la absorbancia a 593nm en espectrofotómetro (UV-1700, Shimadzu Europe®). Esta reacción está basada en la reacción de color azul que se produce cuando el complejo Fe-III-TPTZ (2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine) es reducido a la forma ferrosa (Fe-II), en un pH bajo y que puede ser medida espectrofotométricamente. La curva de calibración Trolox® (0-400 μ M/L) se realizó con fines de cuantificación y los resultados se expresaron como μ M TE/L (abreviado del inglés, *Trolox Equivalents*).
- k. Análisis estadístico. Para las variables cuantitativas se estimaron medidas de resumen y para variables cualitativas medidas de frecuencia absoluta y relativa. Para las variables con 4 tiempos de medición se realizó un ANOVA de medidas repetidas y para las que solo tenían dos mediciones se utilizó un ANOVA de dos vías. Ambas ANOVAS con análisis de comparaciones múltiples con el test con Bonferroni. Adicionalmente, se estudiaron las correlaciones con los estadísticos de Pearson y Spearman. Se realizó un análisis de subgrupos, de acuerdo a la respuesta, aumento versus no aumento, en la capacidad antioxidante y concentración de fenoles totales en suero. Para ello, se calculó el delta de cambio (agraz menos placebo) y se transformó en una variable cualitativa, donde los valores (deltas) positivos se consideraron aumento y valores negativos o cero no aumento, luego se realizaron ANOVAS con análisis de comparaciones múltiples por Bonferroni, donde se utilizó la adherencia como co-variable para eliminar el efecto por

consumo de polifenoles de otras fuentes. Todo el análisis estadístico se realizó en el software *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)* para Windows, versión 24.0[®] y los gráficos en *GraphPad Prism* para Windows, versión 7[®].

- I. Consideraciones éticas. El estudio se llevó a cabo de conformidad con el Código de Ética de la Asociación Médica Mundial (Declaración de Helsinki) para experimentos con seres humanos, y fue aprobado por el Comité de Bioética para Investigación en Humanos de la Sede de Investigación Universitaria (CBE-SIU) de la Universidad de Antioquia, mediante el acta número 17-58-746 de 2017. El estudio fue catalogado como investigación de riesgo mínimo de acuerdo con la Resolución No. 8430.

Todos los participantes firmaron el consentimiento informado en presencia de dos testigos y el investigador principal del proyecto. Se les informó sobre los procedimientos, los posibles riesgos y los beneficios de participar en el estudio. Se les informó además que todos los datos recogidos son confidenciales y nunca se identificará su nombre cuando se divulguen los resultados. Además, no se compartirán los resultados con ninguna persona externa a la investigación sin previo consentimiento del participante.

Todos los registros y los resultados de este estudio se mantendrán guardados en un lugar seguro en el edificio de la SIU (piso 6 Laboratorio 631) hasta por 10 años. Sólo los investigadores tendrán acceso al código utilizado para identificar a los participantes. Además, las muestras de sangre sobrantes se conservarán durante un período hasta de 3 años. La información se presentará en formato resumido y ningún participante será identificado en publicaciones o presentaciones. Aunque el Comité de Bioética de la SIU puede inspeccionar los registros del estudio como parte de su programa de auditoría, estas inspecciones sólo se centrarán en los investigadores y no en los participantes del estudio.

Resultados y discusión

Caracterización de la población.

No se observaron diferencias significativas para la edad ($43,8 \pm 1,7$ años en mujeres versus $40,4 \pm 2,0$ años en hombres; $p=0,208$), ni para el IMC en ninguno de los periodos de consumo (agraz y placebo) resultados esperados de acuerdo con el proceso de emparejamiento inicial. De la población ingresada al estudio, el 7,7% presentaba todos los criterios del SM, y el 17,3% tenía 4 de los 5 criterios. Los componentes del SM más prevalentes según el género fueron la obesidad abdominal en las mujeres y los triglicéridos aumentados en los hombres (**Figura 1**), lo cual fue similar a los hallazgos de otros autores (37,59).

Al finalizar el estudio, del total de participantes, el 15,4% de los hombres y el 26,9% de las mujeres terminaron sin SM según los criterios de ATPIII, lo cual se puede dar por dos posibilidades: las mujeres responden mejor y/o tienen una mayor adherencia. Estudios de intervención encontraron que las mujeres reponden mejor a cambios en la dieta que los hombres (60,61). Además la adherencia en el estudio fue mejor en mujeres (98%) que en hombres (80%).

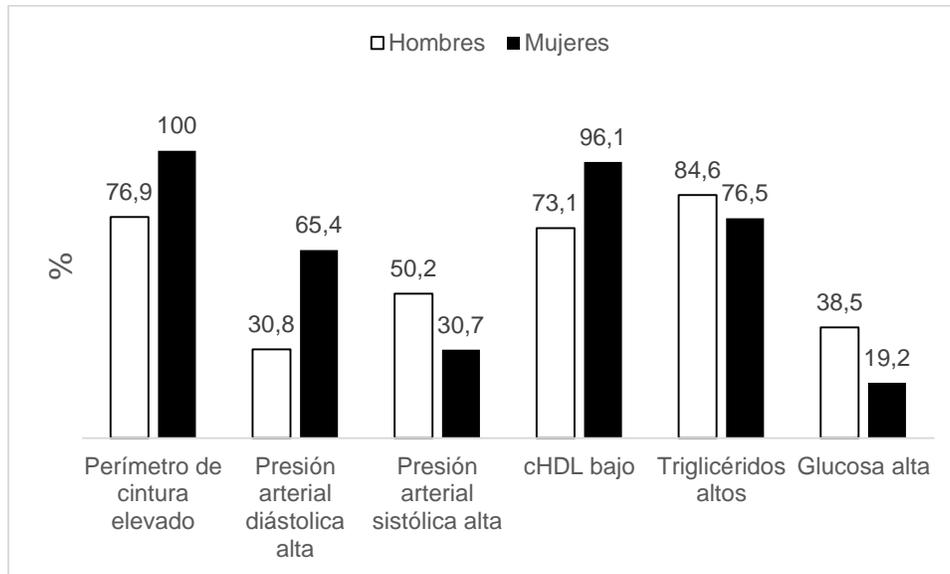


Figura 1. Caracterización de la población de estudio para los componentes del SM, según el género.

Efectos del consumo de agraz en las variables del estudio

Componentes del SM

Se analizaron los componentes del SM en el tiempo y según las interacciones tiempo-tratamiento y tiempo-tratamiento-género. Aunque no se encontraron diferencias significativas en las interacciones, si se observaron diferencias en el tiempo en variables como PA, glucosa y cHDL. Por ejemplo, se observó una reducción en la PA en todo el grupo (hombres + mujeres) (**Tabla1**), la cual ha mostrado ser una de las variables más sensibles a cambios en estudios de intervención, comparado con los demás componentes del SM (62,62). Esto se ha atribuido a la capacidad de los polifenoles de aumentar la biodisponibilidad de vasodilatadores como el óxido nítrico (18). Es importante anotar que los valores de PA diastólica se redujeron en el periodo de consumo de agraz principalmente en hombres (2,7%) y aunque no se presentaron diferencias significativas, puede considerarse clínicamente importante dadas las características de riesgo de esta población (63).

Tabla 1: Efectos del agraz en los componentes del SM según el género.

Parámetros	Tratamiento	Hombres		Mujeres		p ^a	p ^b	p ^c
		LB	Final	LB	Final			
PC (cm)	Placebo	106 ± 1,6	106 ± 1,8	102 ± 1,8	102 ± 1,9	0,491	0,828	0,911
	Agraz	107 ± 1,7	106 ± 1,7	102 ± 1,8	102 ± 1,9			
PAS (mmHg)	Placebo	124 ± 2,1	123 ± 1,9	118 ± 2,6	115 ± 2,5	0,017*	0,982	0,629
	Agraz	124 ± 2	123 ± 1,8	118 ± 2,5	116 ± 2,3			
PAD (mmHg)	Placebo	76 ± 1,5	75 ± 1,3	76 ± 1,7	75 ± 1,6	0,001*	0,605	0,418
	Agraz	77 ± 1,7	75 ± 1,3	76 ± 1,7	75 ± 1,7			
TG (mg/dL)	Placebo	240 ± 16	235 ± 14	204 ± 15	189 ± 10	0,379	0,574	0,884
	Agraz	237 ± 15	231 ± 16	209 ± 19	203 ± 17			
GLU (mg/dL)	Placebo	98 ± 1,5	97 ± 1,2	93 ± 1,2	96 ± 1,7	0,049*	0,994	0,058
	Agraz	96 ± 1,5	98 ± 1,6	96 ± 1,6	96 ± 1,7			
cHDL (mg/dL)	Placebo	37 ± 1,2	39 ± 1,0	41 ± 1,1	41 ± 1,1	0,034*	0,927	0,613
	Agraz	37 ± 0,9	38 ± 1,2	41 ± 1,2	41 ± 1,3			

ANOVA de medidas repetidas con comparaciones múltiples con test de Bonferroni. a= Tiempo. b= Interacción tiempo x tratamiento. c= Interacción tiempo x tratamiento x género. Significancia <0,05. T: tratamiento. LB: línea de base, PC: perímetro de cintura, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica, TG: triglicéridos, GLU: glucosa, cHDL: colesterol de las lipoproteínas de alta densidad.

Capacidad antioxidante y fenoles totales

Para establecer si la ingesta del néctar de agraz modificaba el contenido de antioxidantes e incrementaba la capacidad antioxidante de los participantes, se determinó el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante por el método FRAP en suero, al final de cada uno de los tratamientos. Se encontró una tendencia a aumentar la concentración de fenoles (antioxidantes) tanto para hombres como para mujeres, aunque no fue significativo (**Tabla 2**), lo que demuestra que el consumo del agraz mejora el contenido de fenoles de personas con SM, tal como ya lo han demostrado otros estudios con otras especies de *Vaccinium* (18,64,65).

Al analizar por género, se observó que en los hombres no hubo incremento de la capacidad antioxidante medida por FRAP mientras que para las mujeres es del 1,3%. Este resultado es consecuente con el incremento de la capacidad antioxidante por el método FRAP que se observa en mujeres, pero no en hombres, de acuerdo a lo encontrado por otros autores (39-42). Aún no se sabe con claridad a que se debe esta disparidad entre los géneros, pero muchos de los dimorfismos son atribuidos al componente hormonal (66). Sin embargo, hacen falta mas estudios para aclarar estas observaciones.

Marcadores de oxidación

Otro resultado interesante fue la disminución del marcador de oxidación LDLox en hombres, cuando consumieron agraz (11%), comparado con las mujeres, en las que no se observó un cambio considerable (0,3%) (**Tabla 2**) ($p= 0,376$). Varios estudios han encontrado efectos benéficos de los arándanos en marcadores de oxidación (29,67,68), pero sólo evalúan el efecto en un género en específico o no realizan la distinción para observar las particularidades entre géneros como en este estudio.

Las diferencias observadas en esta investigación para los marcadores de oxidación entre hombres y mujeres, podrían analizarse según lo encontrado por Sivaprakasipallai y colaboradores, quienes indican que cuando los valores de oxidación son más elevados, el efecto observado es mayor (67), lo que podría explicar las diferencias presentadas en el género para este marcador, puesto que las mujeres tenían valores menores después de consumir placebo (331 ± 23) comparado con los hombres (341 ± 33) (**Tabla 2**). Además, la literatura demuestra que las mujeres presentan menos estrés oxidativo y mayor expresión de enzimas antioxidantes comparado con los hombres, principalmente atribuido a la acción estrogénica (69).

Resistencia a la insulina

Es importante anotar, que aunque los niveles de insulina y de resistencia a la insulina medida con el HOMA-IR no mostraron diferencias significativas entre los géneros, si se observaron valores mayores en hombres que en mujeres, lo que está de acuerdo a lo hallado en la literatura por diversos estudios (35,70,71). En hombres, la reducción en el periodo de consumo de agraz, comparado con placebo, no fue tan evidente como el cambio observado en mujeres, tanto en la insulina (8% y 11% respectivamente) como en HOMA-IR (1,5% y 8,7% respectivamente) (**Tabla 2**). Aunque se ha mostrado los efectos de las arándanos como secretagogos de insulina (72,73), las diferencias entre géneros aún no son muy claras, pero si se sabe que los hombres comparados con las mujeres, presentan menos sensibilidad a la insulina (74), mayor adiposidad visceral y una menor protección hormonal (75) que se ha atribuido principalmente a la expresión del receptor de estrógenos en las mujeres (76,77).

Marcadores de inflamación

En cuanto a los efectos del consumo de agraz en marcadores de inflamación, se evidenciaron cambios en la PCR-us con una tendencia a la disminución de 12,1% y de 18,4% en hombres y mujeres respectivamente, cuando consumieron agraz comparado con placebo, sin embargo no fue estadísticamente significativo. La disminución en los niveles de PCR-us confirma los hallazgos de otros autores sobre el efecto de los polifenoles en este marcador (18,64,78).

Este efecto se ha atribuido a cambios en la función endotelial como el aumento de los vasodilatadores, por ejemplo óxido nítrico, el cual está asociado a reducciones en los niveles de inflamación (78). Sobre las diferencias presentadas por género, varios estudios han evidenciado que la carga de inflamación en mujeres es mayor que en los hombres en población con SM (79,80), esta desigualdad podría deberse a la relación estrecha entre las hormonas femeninas y la producción de óxido nítrico, dado que los estrógenos modulan la sintasa de óxido nítrico endotelial, aumentando la producción de óxido nítrico y mejorando la inflamación (81,82).

Tabla 2: Efectos del agraz en resistencia a la insulina, marcadores de oxidación/inflamación y capacidad antioxidante en hombres y mujeres con SM.

Parámetros	Hombres		Mujeres		p ^a	p ^b
	Placebo	Agraz	Placebo	Agraz		
Fenoles (mg AG/L)	235 ± 7	239 ± 6	313 ± 13	328 ± 7	0,327	0,586
FRAP (µM Trolox/L)	696 ± 19	696 ± 21	632 ± 17	640 ± 26	0,955	0,943
Insulina (mUI/L)	27 ± 2	25 ± 2,3	21 ± 1,9	19 ± 1,7	0,432	0,974
HOMA-IR	6,7 ± 2,9	6,6 ± 2,9	5 ± 2,4	4,6 ± 2	0,752	0,646
PCR-us (mg/L)	3,7 ± 0,2	3,3 ± 0,2	4,5 ± 0,4	3,8 ± 0,3	0,108	0,505
NFkB (abs)	0,12 ± 0,0	0,12 ± 0,0	0,11 ± 0,0	0,11 ± 0,0	0,954	0,154
TBARS (µM MDA)	1,2 ± 0,08	1,2 ± 0,07	0,8 ± 0,06	0,8 ± 0,07	0,408	0,207
LDLox (ng/mL MDA)	341 ± 33	306 ± 32	331 ± 23	332 ± 23	0,652	0,376

FRAP: ferric reducing antioxidant power. HOMA-IR: Homeostatic model assessment of insulin resistance. PCR-us: Proteína C reactiva ultrasensible. NFkB: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas. TBARS: Sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico. LDLox: Lipoproteína de baja densidad oxidada. ANOVA de dos vías con comparaciones múltiples con test de Bonferroni a= Tratamiento b= Interacción tratamiento x género.

Correlaciones entre las variables

Teniendo en cuenta los hallazgos encontrados tanto en el incremento de los antioxidantes como la disminución de la peroxidación, se realizaron estudios de correlación para buscar posibles interacciones en las variables de estudio.

Los triglicéridos se correlacionaron positivamente con el marcador LDLox en mujeres ($r=0,448$ $p=0,025$), pero solo fue significativa en el periodo de placebo (**Figura 2 a**), mientras que en el periodo de consumo de agraz no fue significativo (**Figura 2 b**). Con respecto a los hombres la correlación fue negativa y no significativa en ninguno de los periodos de consumo (**Figura 2 a y b**).

Sobre este hallazgo la información es limitada, pero algunos estudios han demostrado interacciones similares con los componentes del SM (83,84). Es posible que la diversidad entre los géneros se deba en parte a la diferencia en los valores de triglicéridos, siendo más bajos en mujeres que en hombres (**Tabla 1**) y al

incremento en los niveles de antioxidantes (contenido de fenoles) observados en las mujeres (**Tabla 2**), dado el papel de los antioxidantes para mejorar los niveles de peroxidación lipídica que presentan personas con SM (29, 67,68).

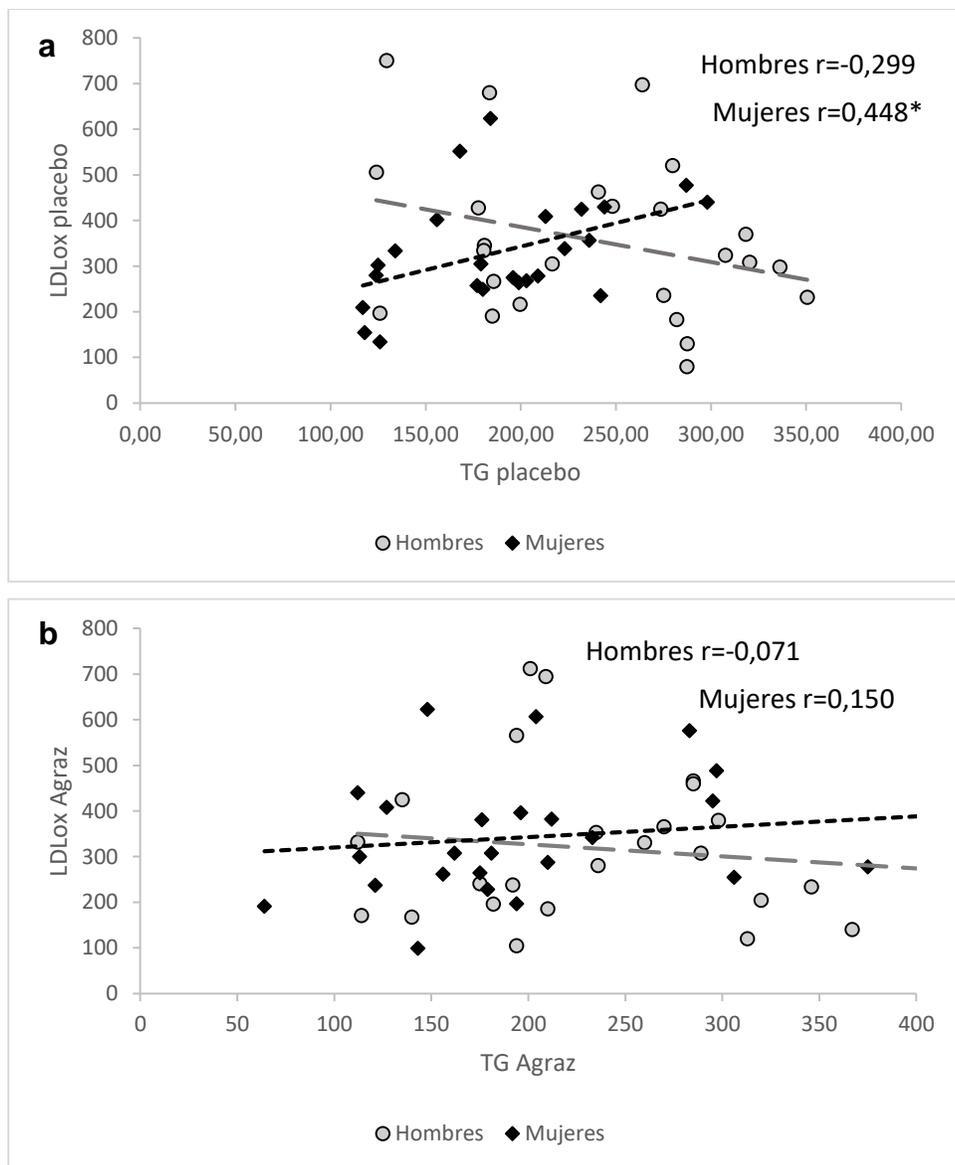


Figura 2. Correlación entre triglicéridos (TG) y LDL oxidada (LDLox) según el género. a. periodo de placebo b. periodo de agraz. * $p < 0,05$.

Efectos según el aumento versus no aumento en el contenido de fenoles y capacidad antioxidante después del consumo de agraz

Dado el incremento observado en el contenido de fenoles totales séricos en ambos géneros y el incremento en una mejor capacidad antioxidante en mujeres, se realizó un análisis de subgrupo para los integrantes del estudio que aumentaron los fenoles totales y que incrementaron su capacidad antioxidante vs los que no aumentaron. Después del consumo del néctar de agraz, los resultados mostraron diferencias significativas entre géneros para la resistencia a la insulina (**Figura 3**) y el marcador de oxidación LDLox (**Figura 4**).

Al analizar la respuesta en la resistencia a la insulina en los participantes que incrementaron su contenido de fenoles después de consumir agraz vs los que no lo aumentaron, se evidenció que, aunque no hubo diferencias significativas entre los grupos ($p=0,348$; los que aumentaron vs los que no aumentaron), sí hubo diferencias entre los hombres y las mujeres que aumentaron sus fenoles ($p= 0,005$; figura 3). Los hallazgos muestran que el aumento de fenoles en hombres no se asocia a cambios estadísticamente significativos ($p=0,208$) en los niveles de HOMA-IR, mientras que en las mujeres sí se presentó una disminución en la resistencia a la insulina ($p= 0,002$, **figura 3**).

Estos resultados obtenidos son concordantes con lo que se ha discutido sobre el incremento en los niveles de fenoles en las mujeres comparado con los hombres en el periodo de consumo de agraz (**Tabla 2**). Varios estudios publicados evidencian un efecto de los arándanos en la resistencia a la insulina (28,85), adicional la literatura muestra que los hombres presentan mayor adiposidad visceral que las mujeres, escaso efecto protector de los estrógenos, reducción en la sensibilidad a la insulina y niveles bajos de adiponectina (74,75). Esto podría explicar en cierta medida, el por qué se presentaron resultados más prometedores en mujeres que en hombres después de consumir agraz, para reducción de la resistencia a la insulina.

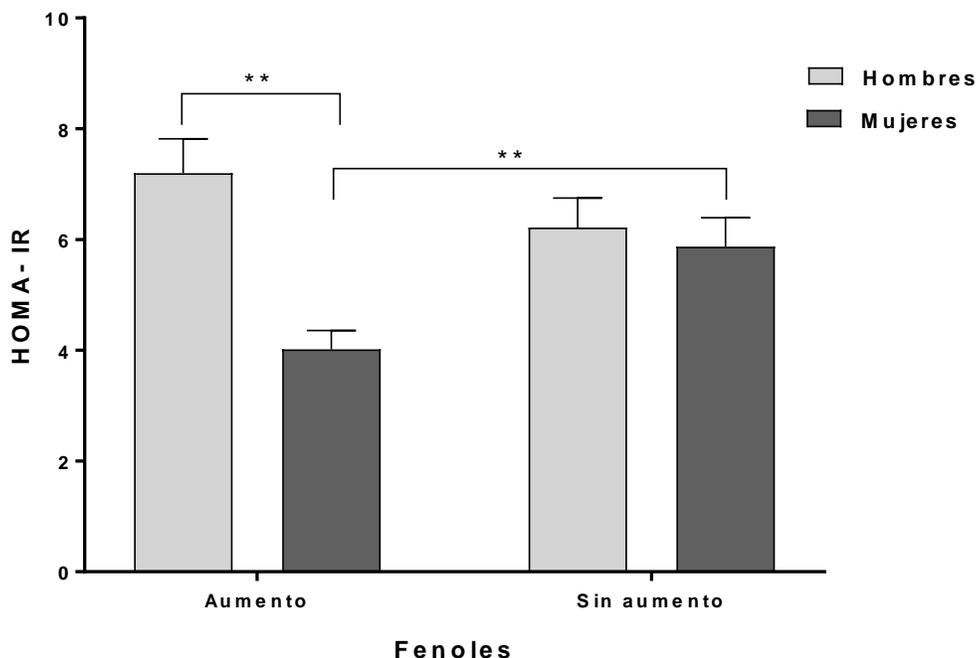


Figura 3: Efectos del aumento de fenoles después de consumir agraz en la resistencia a la insulina. ANOVA de dos vías con corrección por consumo. * $p < 0,05$, ** $0,01$.

Por otro lado, los análisis de subgrupos también evidenciaron que aquellas personas que incrementaron su capacidad antioxidante después de tomar agraz, presentaron una media (291 ± 18) de LDLox 29% menor que la media (375 ± 21) de aquellos que no incrementaron dicha capacidad; esta diferencia fue significativa ($p = 0,003$). Además, hubo una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,008$) de este efecto entre los géneros, tal como se muestra en la **figura 4**.

Los hombres que incrementaron su capacidad antioxidante presentaron una media de los niveles de LDLox (247 ± 22) 60% menor que los que no incrementaron su capacidad antioxidante (406 ± 34); esta diferencia fue significativa ($p = 0,001$). Mientras que en las mujeres el porcentaje de cambio entre las que incrementaron (332 ± 23) y no incrementaron (342 ± 26) solo fue del 3%, lo cual no fue significativo ($p = 0,793$). Lo anterior, sigue demostrando las diferencias entre géneros para los efectos del consumo de agraz. Si bien la disminución en la resistencia a la insulina

con el consumo de agraz fue más efectiva en mujeres; la disminución en la oxidación medida con LDLox fue mayor en hombres.

Como ha sido escrito por otros autores, los arandanos han demostrado un efecto benéfico en la peroxidación de lípidos, principalmente atribuido al incremento de la capacidad antioxidante y sus efectos en el estrés oxidativo (29,68). Este hallazgo también fue observado en el presente estudio, para quienes presentaron mejor capacidad antioxidante (hombres) con una reducción mayor en sus niveles de peroxidación medida por LDLox. Aunque las mujeres presentaron valores de fenoles superiores comparado con hombres, esto no se vio reflejado en el incremento de su capacidad antioxidante, ni en el efecto directo de reducción de marcadores de oxidación.

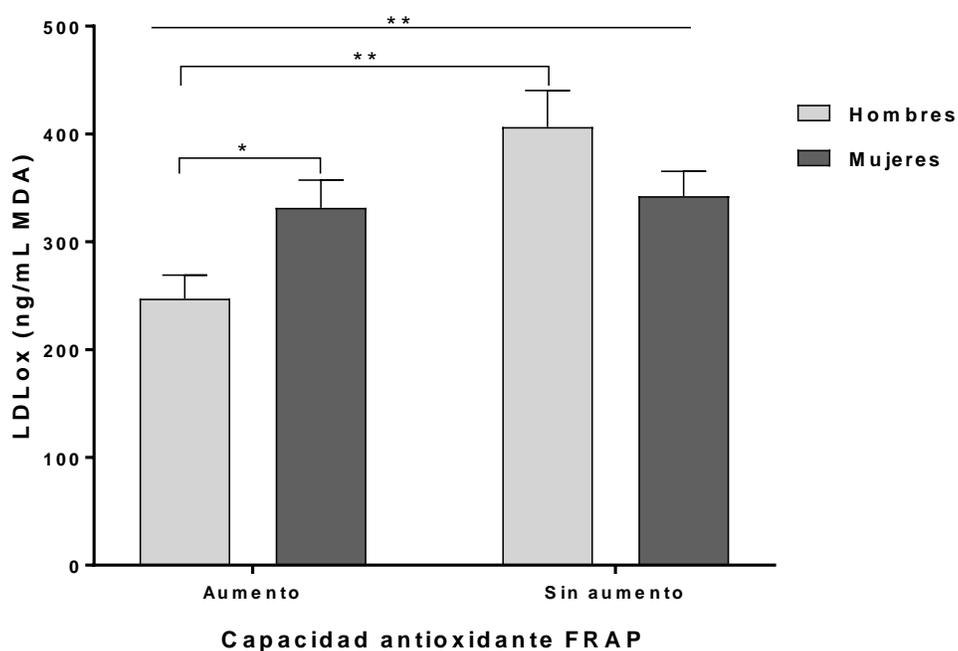


Figura 4. Efectos del aumento de capacidad antioxidante medida por FRAP, después de consumir agraz, en los niveles de LDL oxidada (LDLox). ANOVA de dos vías, corrección por consumo. * $p < 0,05$, ** $0,001$.

Limitaciones y fortalezas

Como ya se mostró, en este estudio se observaron efectos del agraz en personas con SM, con particularidades según el género, reiterando el papel central que tienen los polifenoles para mejorar la salud humana. Sin embargo, como lo manifestaron Amiot MJ y colaboradores, existen muchos factores como el tipo de población, el poder estadístico, la dosis, el tiempo de tratamiento, la biodisponibilidad, entre otros, que están involucrados en los estudios de intervención, y que pueden modular la respuesta o resultados obtenidos (18).

Es importante aclarar que nuestro estudio no está exento de estos factores y que algunos como el tamaño de muestra y la dosis empleada pudieron influir en los resultados. Por otro lado, es importante destacar que este es el primer estudio de diseño cruzado donde se evalúa el efecto del agraz colombiano en personas con SM, y además es de los pocos estudios de intervención que se centra en estudiar diferencias por género; por lo tanto, es necesario que se sigan realizando más estudios de intervención con un tamaño muestral mayor, que evalúen dosis mayores, durante más tiempo de consumo, y obviamente analizando diferencias en las respuestas de acuerdo con el género.

Conclusiones

La dosis de agraz suministrada en este estudio aumentó los niveles de antioxidantes en el suero de los participantes con SM. El porcentaje de este incremento y de la capacidad antioxidante medida por FRAP, fue mayor en las mujeres que en los hombres. Así mismo, se obtuvo una mejor respuesta en la reducción de la resistencia a la insulina en las mujeres. Por el contrario, se redujeron considerablemente los niveles de peroxidación, presión arterial diastólica y triglicéridos en los hombres, pero no en las mujeres. También, se observó reducción en los niveles de PCR-us para ambos géneros, con un mejor efecto en mujeres. Estos hallazgos demuestran claras diferencias entre los géneros en personas con SM en su respuesta a un determinado tratamiento.

La correlación positiva entre triglicéridos y LDLox presentada por las mujeres después de consumir placebo, se redujo y dejó de ser estadísticamente significativa después de consumir agraz, demostrando el papel de los antioxidantes presentes en el néctar de agraz en estas variables asociadas al metabolismo de lípidos. En los hombres no se observó efecto alguno sobre esta interacción, reiterando las marcadas diferencias presentadas según el género.

El análisis por subgrupos de acuerdo con el aumento de fenoles y de capacidad antioxidante, después del consumo de agraz, evidenció aún más la respuesta diferencial de cada género, mostrando cambios significativos entre hombres y mujeres con una significativa reducción en la resistencia a la insulina en las mujeres que aumentaron sus fenoles, y una reducción significativa en la LDLox en los hombres que incrementaron su capacidad antioxidante. Esto confirma no sólo el efecto del agraz en la resistencia a la insulina y en la peroxidación lipídica, sino también las marcadas diferencias de género, y que los efectos pueden variar según la población estudiada.

Dadas las marcadas diferencias entre los géneros observadas en este estudio, en cuanto a los efectos del agraz en personas con SM, es indiscutible que se deba considerar el género, tanto para evaluar el riesgo como para determinar un tipo de terapia o intervención.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por el Comité para el Desarrollo de la Investigación-CODI- Universidad de Antioquia (UdeA), en la convocatoria programática de Ciencias de la Salud, 2016. También aportó el CODI-UdeA mediante el Fondo de Apoyo al Primer Proyecto, 2014; y Colciencias Contrato No. 657-2014.

Bibliografía

1. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Circulation*. 2005;112(17):2735–52.
2. Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract*. Hindawi Publishing Corporation; 2014;2014: 1-21.
3. Osei-Yeboah J, Owiredu WKBA, Norgbe GK, Lokpo SY, Gyamfi J, Allotey EA, et al. The Prevalence of Metabolic Syndrome and Its Components Among People With Type 2 Diabetes in The Ho Municipality, Ghana: A Cross-Sectional Study. *Int J od Chronic Dis*. 2017;2017:1–8.
4. Schargrotsky H, Hernández-Hernández R, Champagne BM, Silva H, Vinuesa R, Silva Ayçaguer LC, et al. CARMELA: Assessment of Cardiovascular Risk in Seven Latin American Cities. *Am J Med*. 2008;121(1):58–65.
5. Mendivil CO, Sierra ID, Pérez CE. Valoración del riesgo cardiovascular global y prevalencia de dislipemias según los criterios del NCEP-ATP III en una población adulta de Bogotá, Colombia. *Clínica e Investig en Arterioscler*. 2004;16(3):99–107.
6. Davila EP, Quintero MA, Orrego ML, Ford ES, Walke H, Arenas MM, et al. Prevalence and risk factors for metabolic syndrome in Medellín and surrounding municipalities, Colombia, 2008-2010. *Prev Med (Baltim)*. 2013;56(1):30–4.
7. Patiño F, Arango EF, Quintero M. Factores de riesgo cardiovascular en una población urbana de Colombia. *Rev salud pública* 13 433-445, 2011. 2011;13(3):433–45.
8. González L, Deossa G, Monsalve J, Díaz J, Babio N, Salas J. Metabolic syndrome in healthcare personnel at the University of Antioquia-Colombia; LATINMETS study. *Rev Nutr Hosp*. 2013;28(2):522–31.
9. Gerald R. Role of Insulin Resistance in Human Disease. *Diabetes*. 1988;37(12):1595–607.

10. Haas JT, Biddinger SB. Dissecting the Role of Insulin Resistance in the Metabolic Syndrome. *Curr Opin Lipidol*. 2008;29(10):1883–9.
11. Zamarripa-Escobedo R, Quintanar-Escorza MA. Estrés oxidativo en pacientes con diferente expresividad clínica del síndrome metabólico. *Medicina Interna de México*. 2014;30(6):651–9.
12. Tziomalos K, Athyros VG, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Endothelial dysfunction in metabolic syndrome: Prevalence, pathogenesis and management. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2010;20(2):140–6.
13. Sankatsing RR, de Groot E, Jukema JW, de Feyter PJ, Pennell DJ, Schoenhagen P, et al. Surrogate markers for atherosclerotic disease. *Curr Opin Lipidol*. 2005;16(4):434–41.
14. Welty FK, Alfaddagh A, Elajami TK. Targeting inflammation in metabolic syndrome. *Transl Res*. 2016;167(1):257–80.
15. Cardona F, Tinahones FJ. El eslabón perdido del síndrome metabólico: Hiperlipemia posprandial y estrés oxidativo. *Endocrinol y Nutr*. 2006;53(5):345–52.
16. Jiménez-Rosales A. El papel del estrés oxidativo en la disfunción endotelial de la aterosclerosis. *Cienc Ergo*. 2010;17(3):258–68.
17. Odalys M, Sotolongo G, Ángel M, Gámez A. Valoración del estrés oxidativo en pacientes con síndrome metabólico. *Revista Cubana de Medicina Militar*. 2009; 38(3-4):40-52.
18. Amiot MJ, Riva C, Vinet A. Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans: A systematic review. *Obes Rev*. 2016;17(7):573–86.
19. Hu FB. Optimal Diets for Prevention of Coronary Heart Disease. *Jama*. 2002;288(20):2569.
20. Mente A, De Koning L, Shannon HS, Anand SS. A systematic review of the evidence supporting a causal link between dietary factors and coronary heart

disease. Arch Intern Med. 2009;169(7):659–69.

21. Michalska M, Gluba A, Mikhailidis DP, Nowak P, Bielecka-Dabrowa A, Rysz J, et al. The role of polyphenols in cardiovascular disease. Med Sci Monit. 2010;16(5):RA110–A119.
22. Vislocky LM, Fernandez ML. Biomedical effects of grape products. Nutr Rev. 2010;68(11):656–70.
23. Gaviria C, Ochoa C, Sánchez N. Propiedades antioxidantes de los frutos de agraz o mortiño (*Vaccinium meridionale* Swartz). Univ Nac Colomb Sede Medellín. Edit. Gente Nueva: Colombia. 2009.
24. Gaviria C, Hernández JD, Lobo M, Medina CI, Rojano B. Cambios en la Actividad Antioxidante en Frutos de Mortiño (*Vaccinium meridionale* Sw.) durante su Desarrollo y Maduración. Revsita Univ Nac Fac Agron Medellín. 2012;65(1):6487–95.
25. Nile SH, Park SW. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. Nutrition. 2014;30(2):134–44.
26. Basu A, Lyons TJ. Strawberries, blueberries, and cranberries in the metabolic syndrome: Clinical perspectives. J Agric Food Chem. 2012;60(23):5687–92.
27. M. Skinner DH. Bioactives in Fruit: Health Benefits and Functional Foods. Edit. John Wiley & Sons; 2013.
28. Stull AJ, Cash KC, Johnson WD, Champagne CM, Cefalu WT. Bioactives in Blueberries Improve Insulin Sensitivity in Obese, Insulin-Resistant Men and Women. J Nutr. 2010;140(10):1764–8.
29. Basu A, Du M, Leyva MJ, Sanchez K, Betts NM, Wu M, et al. Blueberries Decrease Cardiovascular Risk Factors in Obese Men and Women with Metabolic Syndrome. J Nutr. 2010;140(9):1582–7.
30. De Carvalho Vidigal F, Ribeiro AQ, Babio N, Salas-Salvadó J, Bressan J. Prevalence of metabolic syndrome and pre-metabolic syndrome in health professionals: LATINMETS Brazil study. Diabetol Metab Syndr. 2015;7(1):1–9.

31. Swiger KJ, Martin SS, Blaha MJ, Toth PP, Nasir K, Michos ED, et al. Narrowing sex differences in lipoprotein cholesterol subclasses following mid-life: the very large database of lipids (VLDL-10B). *J Am Heart Assoc.* 2014;3(2):1–10.
32. Wang X, Magkos F, Mittendorfer B. Sex Differences in Lipid and Lipoprotein Metabolism: It's Not Just about Sex Hormones. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(4):885–93.
33. Velásquez N. El papel de los esteroides sexuales en la distribución de la grasa corporal y su relación con la obesidad del síndrome de ovario poliquístico. *Rev Obs Ginecol Venez.* 2011;71(1):49–64.
34. Blaak E. Gender differences in fat metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2001;4(6):499–502.
35. Gayoso-Diz P, Otero-González A, Rodríguez-Alvarez MX, Gude F, García F, De Francisco A, et al. Insulin resistance (HOMA-IR) cut-off values and the metabolic syndrome in a general adult population: effect of gender and age: EPIRCE cross-sectional study. *BMC Endocr Disord.* 2013;13(1):47.
36. Magkos F, Mittendorfer B. Gender Differences in Lipid Metabolism and the Effect of Obesity. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2009;36(2):245–65.
37. Kuk J, Ardern C. Age and sex differences in the clustering association with mortality risk. *Diabetes Care.* 2010;33(11):2457–61.
38. Regitz-Zagrosek V, Lehmkuhl E, Weickert MO. Gender differences in the metabolic syndrome and their role for cardiovascular disease. *Clin Res Cardiol.* 2006;95(3):147–147.
39. Alvarez-parrilla E. De la Rosa L. Garcia J. Carrasco K. Sáenz L. Legarreta P. et al. Frutas minimamente procesadas al día en la capacidad antioxidante del plasma de donantes sanos. Instituto de Ciencias Biomédicas. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. [Internet], [citado el 12 de junio de 2018]. Disponible en: http://www.researchgate.net/profile/Gustavo_Aguilar2/publication/239537753_EFECTO_DEL_CONSUMO_DE_TRES_RACIONES_DE_FRUTAS_MINIMAMENTE_PROCESADAS_AL_DA_EN_LA_CAPACIDAD_ANTIOXIDANTE_DEL_PLASMA_DE_DONANTES_SANOS/links/00b495294cebbbf8e3000000.pdf

40. Dragsted LO, Pedersen A, Hermetter A, Basu S, Hansen M, Haren GR, 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.* 2004;79(6):1060–72.
41. Almaguer M, Almaguer G, Zaldívar Y, Martínez E, Bahr P. Capacidad antioxidante total en pacientes cubanos con ataxia espinocerebelosa tipo 2. *Rev Mex Neuroci.* 2005;6(3):201–6.
42. García-Alonso J, Periago M, Vidal-Guevara M, Ramírez-Tortosa M, Gil A. Evaluación nutricional y estado antioxidante de un grupo de ancianos institucionalizados de Murcia (España). *ALAN.* 2004;52(2):180–9.
43. Zern TL, Wood RJ, Greene C, West KL, Liu Y, Aggarwal D, et al. Grape polyphenols exert a cardioprotective effect in pre- and postmenopausal women by lowering plasma lipids and reducing oxidative stress. *J Nutr.* 2005;135(8):1911–7.
44. Barona J, Aristizabal JC, Blesso CN, Volek JS, Fernandez ML. Grape Polyphenols Reduce Blood Pressure and Increase Flow-Mediated Vasodilation in Men with Metabolic Syndrome. *J Nutr.* 2012;142(9):1626–32.
45. Pickering TG, Hall JE, Appel LJ, Falkner BE, Graves J, Hill MN, et al. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: Part 1: Blood pressure measurement in humans - A statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Co. *Circulation.* 2005;111(5):697–716.
46. Norton K y Olds T. *ANTROPOMETRICA.* 1996. Editorial: Biosystems, Buenos Aires, Argetina. 273 p. [Consultado 24 mayo 2018]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Kevin_Norton/publication/283664365_Antropometrica_Spanish_version_of_Anthropometrica_Norton_K_and_T_Olds_1995/links/5642e57208ae997866c500ca/Antropometrica-Spanish-version-of-Anthropometrica-Norton-K-and-T-Olds-1995.pdf
47. SIEMENS. Dimension® clinical chemistry system. Glucosa. 2014. p. 2.
48. SIEMENS. Dimension® clinical chemistry system. Lipids. 2008. p. 2.

49. ADVIA Centaur® CP Immunoassay System. Insulina (IRI). 2015. p. 12.
50. García-Fuentes E, Garrido-Sánchez L, Tinahones FJ. Homeostatic Model Assessment (HOMA). Aplicaciones prácticas. Av en Diabetol. 2008;24(4):291–5.
51. C-Reactive Protein Extended Range (RCRP). SIEMENS. Dimension® clinical chemistry system. 2010. p. 4–6.
52. Abcam. ab113474 – Nuclear Extraction Kit. 2015. p. 16. [Consultado 24 mayo 2018]. Disponible en: <http://www.abcam.com/nuclear-extraction-kit-ab113474.html>
53. Abcam. ab133112 – NFkB p65 Transcription Factor Assay Kit. 2005. p. 11–2. [Consultado 24 mayo 2018]. Disponible en: <http://www.abcam.com/nfkb-p65-transcription-factor-assay-kit-ab133112.html>
54. Cayman chemical. TBARS Assay Kit. 2014. p. 9–10. [Consultado 24 mayo 2018]. Disponible en: <https://www.caymanchem.com/product/10009055>
55. Cellbiolabs. OxiSelect™ Human Oxidized LDL ELISA Kit. 2012. p. 7. [Consultado 24 mayo 2018]. Disponible en: <https://www.cellbiolabs.com/human-oxidized-hdl-elisa-kit-cml-hdl-0>
56. Serafini M, Maiani G, Ferro-luzzi A. Human Nutrition and Metabolism Alcohol-Free Red Wine Enhances Plasma Antioxidant Capacity in Humans 1. Hum Nutr Metab. 1998;128(6):1003–7.
57. Singleton VL, Orthofer R L-RR. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Methods Enzymol. 1999;299:152–78.
58. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. Anal Biochem. 1996;239(1):70–6.
59. Beigh SH, Jain S. Prevalence of metabolic syndrome and gender differences. Bioinformation. 2012;8(13):613–6.
60. Christine E. Dugan, Jacqueline Barona MLF. Increased Dairy Consumption Differentially Improves Metabolic Syndrome Markers in Male and Female

Adults. *Metab Syndr Relat Disord*. 2015;12(1):62–9.

61. Guasch-Ferré M, Merino J, Sun Q, Fitó M, Salas-Salvadó J. Dietary Polyphenols, Mediterranean Diet, Prediabetes, and Type 2 Diabetes: A Narrative Review of the Evidence. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:16.
62. Stote KS, Sweeney MI, Kean T, Baer DJ, Novotny JA, Shakerley NL, et al. The effects of 100% wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) juice consumption on cardiometabolic biomarkers: a randomized, placebo-controlled, crossover trial in adults with increased risk for type 2 diabetes. *BMC Nutr*. *BMC Nutrition*; 2017;3(1):45.
63. Touyz RM, Campbell N, Logan A, Gledhill N, Petrella R PRCHEP. The 2004 Canadian recommendations for the management of hypertension: Part III--Lifestyle modifications to prevent and control hypertension. *Can J Cardiol*. 2004;20(1):55–9.
64. Chiva-Blanch G, Badimon L. Effects of Polyphenol Intake on Metabolic Syndrome: Current Evidences from Human Trials. *Oxid Med Cell Longev*. Hindawi; 2017;2017(5812401):18.
65. Vendrame S, Del Bo' C, Ciappellano S, Riso P, Klimis-Zacas D. Berry Fruit Consumption and Metabolic Syndrome. *Antioxidants*. 2016;5(4):34.
66. Arthur P. Arnold, Lisa A. Cassis, Mansoureh Eghbali, Karen Reue KS. Sex Hormones and Sex Chromosomes Cause Sex Differences in the Development of Cardiovascular Diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017;37:746–56.
67. Sivaprakasapillai B, Edirisinghe I, Randolph J, Steinberg F, Kappagoda T. Effect of grape seed extract on blood pressure in subjects with the metabolic syndrome. *Metabolism*. 2009;58(12):1743–6.
68. Ruel G, Pomerleau S, Couture P, Lamarche B, Couillard C. Changes in plasma antioxidant capacity and oxidized low-density lipoprotein levels in men after short-term cranberry juice consumption. *Metabolism*. 2005;54(7):856–61.
69. Kander MC, Cui Y, Liu Z. Gender difference in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases. *J Cell Mol Med*.

2017;21(5):1024–32.

70. Newbern D, Balikcioglu PG, Balikcioglu M, Bain J, Muehlbauer M, Stevens R, Ilkayeva O, Dolinsky D, Armstrong S, Irizarry K FM. Sex Differences in Biomarkers Associated With Insulin Resistance in Obese Adolescents: Metabolomic Profiling and Principal Components Analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(12):4730–9.
71. Zhang T, Li Y, Zhang H, Sun D, Li S, Fernandez C, et al. Insulin-sensitive adiposity is associated with a relatively lower risk of diabetes than insulin-resistant adiposity: the Bogalusa Heart Study. *Endocrine.* 2016;54(1):93–100.
72. Johnson MH, De Mejia EG, Fan J, Lila MA, Yousef GG. Anthocyanins and proanthocyanidins from blueberry-blackberry fermented beverages inhibit markers of inflammation in macrophages and carbohydrate-utilizing enzymes in vitro. *Mol Nutr Food Res.* 2013;57(7):1182–97.
73. Johnson MH, De Mejia EG. Phenolic Compounds from Fermented Berry Beverages Modulated Gene and Protein Expression To Increase Insulin Secretion from Pancreatic β -Cells in Vitro. *J Agric Food Chem.* 2016;64(12):2569–81.
74. Rochlani Y, Pothineni NV, Mehta JL. Metabolic syndrome: Does it differ between women and men? *Cardiovasc Drugs Ther.* 2015;29(4):329–38.
75. Geer EB, Shen W. Gender differences in insulin resistance, body composition, and energy balance. *Gend Med.* 2009;6(Suppl 1):60–75.
76. Cahua-Pablo JÁ, Flores-Alfaro E, Cruz M. Receptor de estrógenos alfa en obesidad y diabetes. *Rev Medica do Inst Mex seguro Soc.* 2016;54(4):521–30.
77. Gupte AA, Pownall HJ, Hamilton DJ. Estrogen: An emerging regulator of insulin action and mitochondrial function. *J Diabetes Res.* 2015;2015: 1-9.
78. Rizza S, Muniyappa R, Iantorno M, Kim JA, Chen H, Pullikotil P, et al. Citrus polyphenol hesperidin stimulates production of nitric oxide in endothelial cells while improving endothelial function and reducing inflammatory markers in patients with metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(5):782–92.

79. Lai M-M, Li C-I, Kardia SLR, Liu C-S, Lin W-Y, Lee Y-D, et al. Sex difference in the association of metabolic syndrome with high sensitivity C-reactive protein in a Taiwanese population. *BMC Public Health*. 2010;10:429.
80. Ahonen T, Saltevo J, Laakso M, Kautiainen H, Kumpusalo E, Vanhala M. Gender differences relating to metabolic syndrome and proinflammation in Finnish subjects with elevated blood pressure. *Mediators Inflamm*. 2009;2009: 1-6.
81. Tostes RC, Nigro D, Fortes ZB, Carvalho MHC. Effects of estrogen on the vascular system. *Brazilian J Med Biol Res*. 2003;36(9):1143–58.
82. Hox V, Desai A, Bandara G, Gilfillan AM, Metcalfe DD, Olivera A. Estrogen increases the severity of anaphylaxis in female mice through enhanced endothelial nitric oxide synthase expression and nitric oxide production. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(3):729–36.e5.
83. Bakhtiari A, Hajian-Tilaki K, Omidvar S, Nasiri Amiri F. Association of lipid peroxidation and antioxidant status with metabolic syndrome in Iranian healthy elderly women. *Biomed Reports*. 2017;7:331–6.
84. Caimi G, Lo Presti R, Montana M, Noto D, Canino B, Averna MR, et al. Lipid peroxidation, nitric oxide metabolites, and their ratio in a group of subjects with metabolic syndrome. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014: 1-8.
85. AJ. S. Blueberries' impact on insulin resistance and glucose intolerance. *Antioxidants*. 2016;5(4):44.