

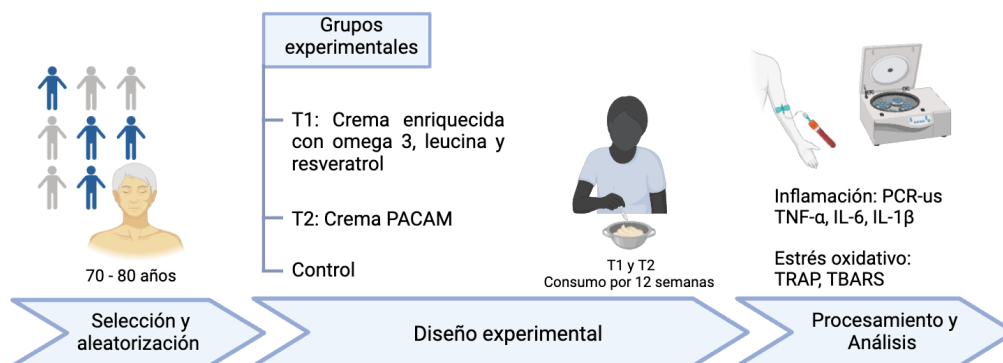
FACULTAD DE FARMACIA  
ESCUELA DE QUIMICA Y FARMACIA  
LABORATORIO DE INNOVACIÓN TERAPÉUTICA Y DIAGNÓSTICO MOLECULAR

EFFECTO DE LA INGESTA DIARIA DE UNA CREMA DE LEGUMBRES ENRIQUECIDA  
CON ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3, RESVERATROL Y LEUCINA SOBRE LA  
INFLAMACIÓN SISTÉMICA DE BAJO GRADO Y EL ESTRÉS OXIDATIVO EN  
PERSONAS MAYORES

Tesis para optar al Grado de  
Magister en Bioactividad de Productos Naturales y de Síntesis

MARCELA CORTEZ ALFARO

Director de Tesis: Dra. Samanta Thomas Valdés  
Co-director de Tesis: MSc. Claudia Vega Soto



Tesis financiada por el proyecto FONIS SA20I0088

*A mi madre y hermanos, gracias por su amor y por ser siempre incondicionales.*

*A mi padre, gracias hasta el cielo por tu amor, por la felicidad y el orgullo de haberte tenido.*

*A mis abuelos, por su recuerdo, por su ejemplo, por su dulzura, por el honor de haber sido su nieta.*

*A Cristian gracias por tu amor y compañía.*

*A todos, gracias por compartir la ilusión de este trabajo...*

## ÍNDICE

1.	Resumen	1
2.	Abstract	2
3.	Introducción	3
3.1.	Envejecimiento y enfermedades crónicas: una problemática actual	3
3.2.	Inflamación crónica, estrés oxidativo y riesgo de desarrollar ECNT en personas mayores	4
	- Inflamación en el envejecimiento y el desarrollo de ECNT	4
	- Estrés oxidativo en el envejecimiento y el desarrollo de ECNT	7
3.3.	Compuestos bioactivos y su efecto sobre la inflamación y el estrés oxidativo	9
	- Ácidos grasos omega 3	9
	- Resveratrol	11
	- Leucina	12
3.4.	Desafíos en la alimentación de personas mayores: barreras y soluciones para una nutrición adecuada	13
3.5.	Incorporación de ingredientes bioactivos en crema de legumbres años dorados: encapsulación	15
4.	Hipótesis	18
5.	Objetivos	19
	- Objetivo general	19
	- Objetivos específicos	19
6.	Materiales y métodos	20
6.1.	Modelo de estudio	20
6.2.	Muestra	20
6.3.	Criterios de inclusión y exclusión	20
6.4.	Diseño experimental	21
	- Grupos experimentales	22
6.5.	Descripción de variables	22
	5.5.1 Variables dependientes	22

5.5.2 Variables independientes _____	23
6.6. Evaluación antropométrica _____	23
6.7. Evaluación de la ingesta dietética _____	24
6.8. Evaluación del nivel de actividad física _____	24
6.9. Tratamiento muestras biológicas _____	25
- Obtención de suero _____	25
- Obtención de plasma y glóbulos rojos _____	25
6.10. Evaluación de la inflamación de bajo grado _____	26
- PCR-us _____	26
- Tnf- $\alpha$ _____	26
- IL-6 _____	26
- IL-1 $\beta$ _____	26
6.11. Evaluación de la capacidad antioxidante del plasma _____	27
- Ensayo TBARS para la Medición de Lipoperoxidación _____	27
- Determinación de Capacidad Antioxidante Total (TRAP) _____	27
6.12. Cambios en la resistencia periférica a la insulina medida como HOMA-IR _____	28
6.13. Determinación <i>in vitro</i> de la capacidad antioxidante de las fórmulas T1 y T2 _____	28
6.13.1. DPPH _____	29
6.13.2. ORAC _____	30
6.14. Análisis estadístico _____	31
7. Resultados _____	32
7.13. Inicio de la investigación _____	32
7.14. Diagrama de flujo del ensayo clínico _____	32
7.15. Características demográficas _____	32
7.16. Características iniciales de la población de estudio _____	33
7.17. Análisis de variables _____	34
7.5.1. Indicadores de estrés oxidativo en plasma _____	34
7.5.2. Análisis de marcadores inflamatorios en plasma _____	35
7.5.3. Evaluación de HOMA-IR: cambios en la sensibilidad a la insulina en grupos con tratamiento y control _____	37

7.5.4.	Evaluación de la ingesta dietética_____	38
7.5.5.	Evaluación del nivel de actividad física_____	42
7.5.6.	Determinación <i>in vitro</i> de la capacidad antioxidante de las fórmulas T1 y T2_____	43
8.	Discusión_____	46
8.1.	Efecto del consumo de la fórmula fortificada sobre los niveles plasmáticos de indicadores de estrés oxidativo_____	46
8.2.	Efecto del consumo de la fórmula fortificada sobre los niveles plasmáticos de indicadores de inflamación_____	48
8.3.	Efectos del consumo de la fórmula fortificada sobre el metabolismo de la glucosa y la insulina_____	50
8.4.	Capacidad antioxidante de las fórmulas T1 y T2_____	52
9.	Conclusiones_____	55
10.	Referencias_____	56
11.	Anexos_____	68
11.1.	Anexo 1: Consentimiento informado_____	68
11.2.	Anexo 2: Encuesta Recordatorio 24 h_____	73

## 1. RESUMEN

El envejecimiento global, con más del 20% de la población mayor de 60 años proyectada para las próximas décadas, aumenta el riesgo de desnutrición y enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT). Factores como inflamación de bajo grado y estrés oxidativo, comunes en esta etapa, agravan estas condiciones. En respuesta, es esencial garantizar una dieta que prevenga deficiencias nutricionales y reduzca el riesgo de ECNT.

En Chile, el Programa de Alimentación Complementaria del Adulto Mayor (PACAM) entrega alimentos diseñados para abordar deficiencias nutricionales, aunque es necesario incluir compuestos que disminuyan la incidencia de ECNT.

El presente estudio evaluó el efecto del consumo de una crema de legumbres enriquecida con omega-3, resveratrol y leucina bioaccesibles sobre marcadores de inflamación y estrés oxidativo en un grupo de personas mayores.

Se llevó a cabo un ensayo clínico aleatorizado, cruzado y semi-experimental con 54 voluntarios durante 12 semanas, distribuidos en tres grupos: T1 (crema enriquecida), T2 (formulación PACAM) y un grupo control. Se analizaron niveles de TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  y PCR-us como indicadores de inflamación, además de TBARS y TRAP para medir estrés oxidativo y capacidad antioxidante, respectivamente.

Aunque no se observaron cambios significativos en marcadores de inflamación y estrés oxidativo, el índice HOMA-IR disminuyó un 20% ( $p = 0,043$ ) en quienes consumieron la crema enriquecida, sugiriendo una mejora en la sensibilidad a la insulina. Esto resalta el potencial de fórmulas fortificadas para influir en parámetros metabólicos y beneficiar la salud de las personas mayores.

## 2. ABSTRACT

Global aging, with more than 20% of the population over 60 years of age projected for the next decades, increases the risk of malnutrition and chronic non-communicable diseases (NCDs). Factors such as low-grade inflammation and oxidative stress, common at this stage, aggravate these conditions. In response, it is essential to ensure a diet that prevents nutritional deficiencies and reduces the risk of NCDs.

In Chile, the Complementary Food Program for the Elderly (PACAM) provides foods designed to address nutritional deficiencies, although it is necessary to include compounds that decrease the incidence of NCDs.

The present study evaluated the effect of consuming a legume cream enriched with bioaccessible omega-3, resveratrol and leucine on markers of inflammation and oxidative stress in a group of older people.

A randomized, crossover, semi-experimental clinical trial was conducted with 54 volunteers for 12 weeks, distributed in three groups: T1 (enriched cream), T2 (PACAM formulation) and a control group. Levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  and hs-CRP were analyzed as indicators of inflammation, in addition to TBARS and TRAP to measure oxidative stress and antioxidant capacity, respectively.

Although no significant changes were observed in markers of inflammation and oxidative stress, the HOMA-IR index decreased by 20% ( $p = 0.043$ ) in those who consumed the enriched cream, suggesting an improvement in insulin sensitivity. This highlights the potential of fortified formulas to influence metabolic parameters and benefit the health of older people.

### 3. INTRODUCCIÓN

#### 3.1. ENVEJECIMIENTO Y ENFERMEDADES CRÓNICAS: UNA PROBLEMÁTICA ACTUAL

En la actualidad, la prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) representa uno de los principales problemas de salud pública, causando 38 millones de muertes a nivel mundial, cifra que se proyecta alcanzará los 52 millones para el año 2050 (1). Ante este panorama, la búsqueda de nuevas estrategias para la prevención y tratamiento de estas patologías cobra especial relevancia.

Las enfermedades cardiovasculares (ECV), la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y el cáncer son ejemplos de ECNT de origen nutricional, lo que significa que la calidad de los alimentos consumidos por la población juega un papel crucial en su prevención. En este sentido, la alimentación no solo es fundamental para la obtención de nutrientes, sino también como fuente de biomoléculas que pueden tener efectos beneficiosos sobre la salud.

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), se espera que para 2030 la población mundial alcance los 9,1 mil millones de personas, de las cuales el 22% serán consideradas personas mayores (PM) (2), es decir, adultos de más de 60 años para los países en vías de desarrollo.

En Chile, actualmente el 17,3% de la población son PM, y se estima que para 2050 este grupo etario representará cerca del 30% del total (3), además de ser quienes presenten la mayor prevalencia de ECNT y, por lo tanto, la mayor carga sanitaria para el país. La última Encuesta Nacional de Salud 2016-2017 revela que el 73,3% de las PM en Chile presenta hipertensión arterial, el 30,6% sufre de DM2 (un aumento del 4,9% desde 2010), el 10% ha experimentado un infarto agudo al miocardio (IAM) y el 8,2% ha padecido un accidente cerebrovascular (ACV) o trombosis cerebral. Al considerar estos datos junto con la malnutrición que es común en esta etapa de la vida, se dibuja un panorama preocupante en cuanto al aumento en la prevalencia y carga sanitaria de las ECNT (4).

La inflamación sistémica y el estrés oxidativo son condiciones propias del envejecimiento que, además de favorecer el desarrollo de DM2 y ECV (5), contribuyen a problemas

adicionales, como la pérdida de fuerza y masa muscular, lo cual puede afectar la autonomía y limitar las actividades diarias de las PM (5). De este modo, nos enfrentamos a una población que presenta dos problemáticas de salud concurrentes: las deficiencias nutricionales persistentes y el incremento en la prevalencia de ECNT (5). Por lo tanto, es previsible que en el futuro cercano este grupo etario demande alimentos que contribuyan a la prevención y tratamiento de enfermedades, así como ingredientes saludables, nutracéuticos y alimentos funcionales (1, 2, 6).

### 3.2. INFLAMACIÓN CRÓNICA, ESTRÉS OXIDATIVO Y RIESGO DE DESARROLLAR ECNT EN PERSONAS MAYORES

#### INFLAMACIÓN EN EL ENVEJECIMIENTO Y EL DESARROLLO DE ECNT

En las últimas décadas, la comunidad científica ha demostrado que tanto el sistema inmune como los procesos inflamatorios están relacionados no solo con ciertas enfermedades específicas, sino también con una amplia gama de trastornos físicos y mentales que contribuyen a la morbilidad y mortalidad en la población humana (5). Existen evidencias contundentes que indican que la inflamación juega un papel crucial en el inicio y progresión de diversas enfermedades (7 - 9). Las consecuencias clínicas del daño causado por la inflamación crónica de bajo grado incluyen un mayor riesgo de desarrollar patologías como hipertensión (10 - 14), diabetes tipo 2 (13), hígado graso no alcohólico (16, 18), enfermedades cardiovasculares (11,17), enfermedad renal crónica (12), varios tipos de cáncer (11), depresión (18), enfermedades neurodegenerativas y autoinmunes (8, 19, 20), osteoporosis (8, 21) y sarcopenia (21).

Actualmente, más del 50% de todas las muertes en el mundo son atribuibles a enfermedades como cardiopatías isquémicas, accidentes cerebrovasculares, cáncer, diabetes mellitus, enfermedad renal crónica y hepatopatía grasa no alcohólica, así como a ciertas afecciones autoinmunes y neurodegenerativas, todas ellas estrechamente vinculadas con la senescencia y la inflamación (7 - 9, 22). Un metaanálisis que abarcó a más de 160,000 participantes de 54 estudios prospectivos a largo plazo reveló que los niveles de proteína C-reactiva (PCR)

circulante se asociaron con un aumento del riesgo relativo de enfermedad coronaria y mortalidad por enfermedades cardiovasculares (23).

Además, cada vez hay más evidencia de que el riesgo de desarrollar inflamación crónica puede iniciarse desde etapas tempranas de la vida, durante el embarazo y la infancia, y que sus efectos pueden persistir, afectando la salud en la adultez, la vejez y contribuyendo a la mortalidad (24).

Una respuesta inflamatoria normal se caracteriza por un aumento regulado de la actividad inflamatoria en respuesta a una amenaza, que se resuelve una vez que dicha amenaza desaparece (8, 24, 25). Sin embargo, ciertos factores ambientales y biológicos pueden alterar el proceso de resolución de la inflamación aguda, dando lugar a un estado de inflamación crónica de bajo grado (22, 25). Los cambios en la duración de la respuesta inflamatoria pueden provocar importantes alteraciones en tejidos y órganos, así como en la fisiología celular normal. La inflamación crónica de bajo grado es un proceso complejo que implica la activación de vías de señalización intracelular, lo que lleva a la liberación de factores inflamatorios tanto a nivel local como sistémico. Esta inflamación de bajo grado afecta a varios tejidos, incluyendo el adiposo, muscular y hepático, al interactuar con macrófagos proinflamatorios que secretan citocinas y especies reactivas de oxígeno (ERO)(24 - 25).

Una vez que se establece este estado inflamatorio crónico, se perpetúan alteraciones metabólicas, contribuyendo a problemas de salud como la resistencia a la insulina, arterioesclerosis y disfunción endotelial. Este ciclo dañino no solo agrava las condiciones metabólicas, sino que también puede incrementar el riesgo de enfermedades cardiovasculares y otros trastornos crónicos. (7,8,15, 24, 25).

Se ha identificado que factores endógenos, como daño en el ADN, telómeros disfuncionales, disrupción epigenómica, señales mitogénicas y estrés oxidativo, junto con factores no endógenos como infecciones crónicas, obesidad relacionada con el estilo de vida, disbiosis de la microbiota intestinal, dieta, cambios sociales y culturales, y tóxicos ambientales, influyen directamente en la respuesta inflamatoria crónica de bajo grado (26 - 32).

La inflamación crónica tiende a aumentar con la edad, y diversos estudios han mostrado que las personas mayores presentan niveles elevados de citoquinas inflamatorias y proteínas de fase aguda circulantes, así como una mayor expresión de genes asociados con la inflamación

(32). Además, la dieta y el estilo de vida impactan directamente en las tasas de enfermedades relacionadas con la inflamación crónica. Factores proinflamatorios pueden alterar la respuesta insulínica e incrementar el daño en órganos esenciales (33). Por ejemplo, dietas con alto índice glucémico producen una respuesta glicémica postprandial elevada, estimulando la expresión de genes relacionados con la formación de NF- $\kappa$ B a nivel mitocondrial. En contraste, las dietas de bajo índice glucémico se han asociado con niveles reducidos de TNF- $\alpha$  e IL-6 en personas mayores (33, 34).

En la diabetes mellitus tipo 2 la inflamación del islote pancreático juega un papel primordial. El proceso inflamatorio en la célula  $\beta$ -pancreática es mediado por dos vías: 1) la activación de TLR-2 y TLR-4 por DAMP metabólicos como los AGE, y 2) el ensamblaje del inflamasoma NLRP3. Esto provoca la liberación continua de citocinas inflamatorias (IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  y MCP-1) y el reclutamiento de macrófagos (35, 36).

La inflamación también afecta tejidos como el adiposo, hepático y muscular, promoviendo resistencia a la insulina. El TNF- $\alpha$  interfiere con la señalización de insulina al inhibir la vía IRS-AKT-GLUT. En condiciones normales, la insulina se une a su receptor localizado en la superficie de adipocitos, hepatocitos y miocitos, iniciando una cascada de señalización intracelular para finalmente inducir la movilización de proteínas transportadoras de glucosa (GLUT-2 y 4) para la incorporación de este azúcar al interior de la célula. En presencia de TNF- $\alpha$ , la activación de la vía de señalización IRS-AKT-GLUT es inhibida por la acción de vías intracelulares responsivas a TNF- $\alpha$  como ERK/JNK, PTP1B y NF- $\kappa$ B, las mismas que compiten o inhiben directamente la fosforilación de IRS-2, AKT, GLUT-2 y 4 (35). En síntesis, este escenario inflamatorio conduce a un estado de hiperglucemia y posteriormente a uno compensatorio de hiperinsulinemia, seguido por la claudicación y apoptosis de la célula  $\beta$ -pancreática, insulinitis, disminución en los niveles de insulina y el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 (36).

La inactividad física, común en personas mayores, se relaciona con un aumento en la resistencia anabólica, niveles elevados de PCR y citoquinas proinflamatorias. Estos efectos pueden promover diversas alteraciones fisiopatológicas asociadas con inflamación de bajo grado, como resistencia a la insulina, dislipidemias, disfunción endotelial, hipertensión arterial y pérdida de masa muscular (sarcopenia), aumentando el riesgo de enfermedades

cardiovasculares, diabetes tipo 2, hígado graso no alcohólico, osteoporosis, distintos tipos de cáncer, depresión, demencia y enfermedad de Alzheimer (37). La evidencia respalda la relación entre la inactividad física y el aumento de enfermedades relacionadas con la edad y la mortalidad (38). Además, la inactividad física está estrechamente asociada con la obesidad y el aumento del tejido adiposo visceral, que actúa como un órgano endocrino e inmunológico, contribuyendo a la inflamación (39).

La hipertrofia del adipocito en el tejido adiposo visceral genera zonas de hipoxia y muerte celular, lo que provoca la secreción de diversas moléculas proinflamatorias adipocinas y citoquinas como: IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) (40). Esto, a su vez, lleva a la infiltración de células inmunes en el tejido adiposo visceral, lo que, junto con la reducción de las células T reguladoras, incrementa la inflamación local, que puede volverse sistémica (41). Así, la obesidad visceral acelera el envejecimiento y aumenta el riesgo de desarrollar enfermedades cardiometabólicas, neurodegenerativas, autoinmunes y cáncer (39).

## ESTRÉS OXIDATIVO EN EL ENVEJECIMIENTO Y EL DESARROLLO DE ECNT

Existe una estrecha relación entre el estrés oxidativo a nivel celular, la incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) y el envejecimiento. Numerosos estudios han mostrado que el daño oxidativo aumenta con la edad, y diversas especies reactivas de oxígeno son responsables del daño oxidativo acumulado en el organismo (42). Los radicales libres (RL), producidos de forma endógena durante funciones celulares normales, pueden ser inducidos por factores ambientales como radiaciones ionizantes y UV, o por factores fisiológicos como el ejercicio extremo, además de la disminución en la capacidad de los sistemas antioxidantes endógenos (42).

Este desequilibrio resulta en la acumulación de daño oxidativo en macromoléculas (peroxidación de lípidos, oxidación de algunas enzimas, oxidación y degradación proteica, así como daño mutagénico al ácido desoxirribonucleico (ADN)) (42), lo que aumenta durante el envejecimiento y contribuye al deterioro de diversos procesos celulares (43). La dieta, el estilo de vida y la exposición a contaminantes pueden aumentar el estrés oxidativo y activar vías de señalización mutagénicas, vinculadas a la patogénesis de enfermedades como

cataratas, enfermedades cardiovasculares (26), Alzheimer, diabetes, aterosclerosis, artritis reumatoide y cáncer (24).

Los radicales libres parecen jugar un papel crucial en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. En pacientes con hipertensión y aterosclerosis, la capacidad del organismo para formar nuevos vasos sanguíneos se ve comprometida, lo que resulta en un desequilibrio entre radicales libres y la enzima antioxidante superóxido dismutasa (SOD-1) (26).

En el ámbito de los factores alimenticios, las dietas ricas en grasas saturadas pueden favorecer el estrés oxidativo al aumentar la peroxidación lipídica. En particular, las carnes rojas con alto contenido de grasas saturadas potencian este estrés oxidativo a través del hierro hemo, que actúa como catalizador en reacciones que generan radicales hidroxilo y especies reactivas de oxígeno (26).

Además, las concentraciones agudas elevadas de glucosa en plasma inducen la producción de radicales libres a través de la oxidación mitocondrial, la activación de NADPH oxidasa y la glicación de proteínas, lo que incrementa la presencia de leucocitos polimorfonucleares y células mononucleares.

En la diabetes mellitus tipo 2, la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno, derivada del aumento de la glicemia, se ve potenciada por la actividad de la cadena transportadora de electrones, la autooxidación de la glucosa, la vía del sorbitol y los productos de glicación avanzada. Esto, junto con el gasto excesivo de cofactores reducidos y la disminución de las defensas antioxidantes generan un estado pro-oxidante que puede causar daño oxidativo a proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y carbohidratos. Este proceso contribuye de diversas maneras al desarrollo de manifestaciones asociadas a la enfermedad en pacientes diabéticos (44, 45).

Numerosos estudios en humanos han investigado el papel del estrés oxidativo en el desarrollo de diversas enfermedades y su importancia en el proceso de envejecimiento (42, 43). Se ha observado un cambio en el patrón antioxidante con la edad, y generalmente se sostiene que el sistema antioxidante sufre un declive progresivo en personas mayores. Curiosamente, aquellos que experimentan una mayor longevidad presentan menos daño oxidativo en comparación con ancianos más jóvenes (43).

### 3.3. COMPUESTOS BIOACTIVOS Y SU EFECTO SOBRE LA INFLAMACIÓN Y EL ESTRÉS OXIDATIVO

Los compuestos bioactivos son sustancias presentes en pequeñas cantidades en alimentos como frutas, vegetales, granos, tubérculos y microorganismos (46). Este grupo incluye ácidos fenólicos, flavonoides, carotenoides, vitaminas, ácidos grasos, aceites esenciales y probióticos. Los compuestos bioactivos desempeñan funciones esenciales en el organismo, contribuyendo a la promoción de una buena salud a través de sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (46, 47).

Un factor nutricional que podría estar relacionado con la promoción de la inflamación y el desequilibrio del sistema antioxidante endógeno es la ingesta insuficiente de estas moléculas bioactivas, cuyas propiedades beneficiosas son especialmente importantes para las personas mayores (46, 47). La falta de estos compuestos podría estar contribuyendo al desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) en esta población (47).

#### ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3

En las últimas décadas, se han reportado diversos beneficios asociados al consumo de ácidos grasos omega-3. Estos ácidos grasos actúan en las células a través de varios mecanismos, comenzando por su incorporación en los fosfolípidos de la membrana celular. Esta incorporación depende de un mayor consumo en la dieta, y se ha observado que las concentraciones más altas de omega-3 se encuentran en los tejidos de la retina y la corteza cerebral, mientras que en menor medida están presentes en el tejido adiposo, hepático y muscular (48).

Los ácidos grasos omega-3 de cadena larga (PUFAs), específicamente el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA), son precursores de moléculas como resolvinas y maresinas, que intervienen en la fase de resolución de la inflamación (48, 49). Se ha observado que estas sustancias provocan modificaciones beneficiosas, como la reducción del número de neutrófilos y citoquinas proinflamatorias.

Además, los omega-3 mejoran los estados inflamatorios mediante la regulación de genes específicos que participan en este proceso (49). Las moléculas de EPA y DHA actúan como ligandos para varios receptores implicados en diversas vías de regulación de la respuesta inflamatoria, como el receptor nuclear  $\kappa$ B y los receptores proliferadores de peroxisomas (PPARs). La activación del  $\kappa$ B, desencadena la expresión de genes relacionados con la inflamación. Por otro lado, los PPARs son receptores nucleares que, al ser activados, facilitan la resolución del proceso inflamatorio. Estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que los omega-3 disminuyen la expresión de citoquinas proinflamatorias a través de la activación de PPAR $\gamma$ , lo que también parece inactivar al receptor  $\kappa$ B (49).

Otro receptor de membrana relevante para los omega-3 es el GPR 120, que se expresa principalmente en macrófagos y genera una respuesta antiinflamatoria. La activación de este receptor se asocia con la inhibición de la expresión de citocinas inflamatorias como TNF- $\alpha$  e IL-6 (50).

Investigaciones recientes en humanos y animales han demostrado que la suplementación con omega-3, a través de aceites de pescado, reduce significativamente los niveles séricos de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  y leucotrienos en hasta un 42% (50, 51, 52). Un metaanálisis reveló que la suplementación con ácidos grasos omega-3 en dosis superiores a 2,7 g/día durante más de tres meses disminuye de manera significativa el consumo de antiinflamatorios no esteroideos (AINES) en pacientes con artritis reumatoide (53). Otro metaanálisis encontró que dosis a partir de 1,7 g de omega-3 al día también reducen el dolor articular en estos pacientes tras tres meses de tratamiento (54). Además, en un ensayo clínico, una suplementación de 2,4 g diarios de EPA y DHA resultó en la disminución de los niveles de IL-6, IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  en personas mayores (55).

En cuanto al estrés oxidativo, los omega-3 actúan como factores de transcripción al inducir el factor Nrf2, que promueve la síntesis de enzimas antioxidantes endógenas (56, 57). Un metaanálisis que incluyó 39 ensayos clínicos, de los cuales 17 incluían a adultos mayores de 50 años, concluyó que la suplementación con 1,5 a 5 g diarios de omega-3 tuvo un efecto significativo en la reducción del estrés oxidativo en esta población (58).

En la actualidad el consumo de ácidos grasos omega-3 en las sociedades occidentales está significativamente por debajo de los requerimientos internacionales. Esta situación se debe a

varias causas, como el aumento en el consumo de productos ricos en ácidos grasos omega-6 y grasas saturadas, así como a la menor concentración de omega-3 en los alimentos debido a técnicas de cultivo masivas (59). Actualmente, la ingesta de EPA y DHA en gran parte de la población que sigue una dieta occidental estándar, incluida la población chilena, es inferior a las recomendaciones de organizaciones internacionales, que sugieren entre 250 y 500 mg/día de EPA+DHA para adultos sanos (59). En pacientes con patologías ya diagnosticadas, la evidencia indica que se requieren ingestas de EPA y DHA superiores a 1-2 g/día para lograr efectos terapéuticos significativos, lo que resulta difícil de alcanzar a través de una dieta ordinaria (59, 60).

De esta manera se vuelve relevante considerar la suplementación de omega-3, especialmente en poblaciones que podrían estar en riesgo de no alcanzar las recomendaciones diarias a través de la alimentación sola, como es el caso de la población mayor de 60 años.

## RESVERATROL

El resveratrol es un compuesto bioactivo que ha mostrado diversas actividades biológicas, tales como actuar como agente quimioprotector, antiplaquetario, favorecer el metabolismo energético, prevenir el catabolismo proteico, y ofrecer efectos neuroprotectores, antiinflamatorios y antioxidantes (61- 67). Estas propiedades se deben a su capacidad para unirse a diferentes receptores, incluyendo el receptor de estrógenos, lo que lo clasifica como un fitoestrógeno, así como también su interacción con otras moléculas como el cobre (68). El resveratrol es un potente antioxidante que se metaboliza principalmente en glucurónidos y sulfatos conjugados. A pesar de ser metabolizado en el hígado y el intestino, su biodisponibilidad es muy baja. Estudios han demostrado que la concentración plasmática de resveratrol permanece baja, incluso con dosis de hasta 500 mg/día (69).

Diversos estudios han evidenciado los efectos positivos del resveratrol sobre el estado inflamatorio y el estrés oxidativo a través de diversas vías de señalización (61-67). Se ha propuesto que, a través de las vías AMPK y Sirt1, el resveratrol puede reducir la producción de citoquinas proinflamatorias, inducir la activación del inflamosoma NALP-3 y modular la función de las células mononucleares en plasma (65).

Ensayos clínicos realizados en personas mayores han documentado efectos beneficiosos de la suplementación con resveratrol en relación con la inflamación y diversas enfermedades de origen inflamatorio (63-65). Por ejemplo, un estudio que administró 8 mg diarios de resveratrol durante un año a sujetos hipertensos con diabetes tipo 2 mostró una disminución en la expresión de citoquinas proinflamatorias (65). Asimismo, un metaanálisis que incluyó 17 ensayos clínicos con un total de 871 pacientes con diabetes tipo 2 indicó que dosis superiores a 500 mg/día de resveratrol tenían un impacto positivo en la glucemia en ayunas, el colesterol total, la presión arterial sistólica y la HbA1c (66).

En relación al estrés oxidativo, el resveratrol se destaca por su capacidad para atrapar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS/NOS) y estimular la biosíntesis de antioxidantes endógenos. Una revisión que analizó once ensayos concluyó que el resveratrol puede modular el estrés oxidativo inducido por diferentes metales pesados, reafirmando su potencial como un agente protector en condiciones de estrés oxidativo (67).

## LEUCINA

La inflamación sistémica de bajo grado y el estrés oxidativo, junto con el exceso de peso, desempeñan un papel crucial en la disminución de la masa, la fuerza y la función muscular, un fenómeno conocido como sarcopenia, especialmente en personas mayores (70).

Las citoquinas proinflamatorias activan diversas vías moleculares relacionadas con la pérdida de masa muscular, una de las cuales es la interferencia con la señalización del IGF-I en el músculo esquelético, cuya presencia se ha asociado negativamente con la función muscular (70, 71). Además, estas citoquinas pueden alterar el equilibrio entre las señales orexigénicas y anorexigénicas en el cerebro, lo que contribuye a la disminución del apetito. En este contexto, la leucina ha cobrado especial relevancia; este aminoácido tiene la capacidad de favorecer el recambio proteico en el músculo y preservar su capacidad oxidativa (71, 72, 74). Además, la leucina estimula la secreción de insulina, lo que incrementa la captación de glucosa en el tejido muscular (72). Se ha demostrado que la L-leucina actúa como activador de la vía Sirt1/AMPK, funcionando como un mimético parcial de la restricción calórica en modelos preclínicos. Esta activación modula el metabolismo lipídico y energético, aumenta

la sensibilidad a la insulina, previene y revierte la acumulación excesiva de lípidos en el hígado, y reduce la inflamación (72).

Una revisión sistemática que incluyó 23 ensayos clínicos, donde se suplementaron dosis de 1,2 a 6 g/día de leucina a personas mayores con sarcopenia, concluyó que su consumo mejoraba significativamente la condición diagnosticada (76). Asimismo, un metaanálisis de seis ensayos controlados aleatorios con 699 participantes mostró que los suplementos proteicos ricos en leucina mejoraban la fuerza muscular en personas mayores con sarcopenia (77). De manera similar, otro metaanálisis que abarcó 16 estudios con 999 sujetos encontró que la suplementación con leucina aumentaba significativamente el peso corporal, la masa corporal magra y el índice de masa corporal en personas mayores y en aquellos propensos a la sarcopenia (78). Recientemente, se han publicado resultados de un estudio en personas mayores sin enfermedades metabólicas que consumieron una dieta estructurada suplementada con leucina. Los hallazgos indicaron que esta suplementación conservó vías específicas de respiración mitocondrial, mejoró la sensibilidad a la insulina y disminuyó un marcador de estrés oxidativo durante periodos de reposo en cama y rehabilitación (79, 80).

#### 3.4. DESAFÍOS EN LA ALIMENTACIÓN DE PERSONAS MAYORES: BARRERAS Y SOLUCIONES PARA UNA NUTRICIÓN ADECUADA

A medida que avanza la vida, las personas mayores experimentan diversos cambios fisiológicos, como la pérdida del apetito, dificultades para masticar y deglutir, y problemas de malabsorción de nutrientes (81, 82). También se observa una redistribución de la composición corporal, con un aumento de la grasa abdominal, así como una disminución en la actividad y capacidad física (81, 82). Estos cambios, junto con la presencia de inflamación crónica y estrés oxidativo, asociados a una alta carga de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), convierten la elaboración de alimentos adecuados para este grupo etario en un importante desafío. Garantizar una nutrición apropiada es fundamental para mantener la salud y la autonomía de las personas mayores (82, 83).

Tabla 1: Información Nutricional crema de lentejas PACAM

	100 g
Energía (kcal)	387
Proteínas (g)	16,4
Lípidos Totales (g)	9,5
Ac. Grasos Saturados (g)	2,2
Ac. Grasos Monoinsaturados (g)	4,6
Ac. Grasos poliinsaturados (g)	2,6
Ac. Linoleico (g)	2,0
Ac. Alfa linolénico (g)	0,4
Ac. Graso Trans	0,0
Colesterol (mg)	0,0
Hidratos de Carbono disponibles (g)	59
Azucares Totales (g)	1,5
Fibra dietaria Total (g)	6,4
Sodio (mg)	157
Vitamina A (µg EAR)	240
Vitamina C (mg)	30
Vitamina D (µg D <sub>3</sub> )	40
Vitamina E (mg ET)	16
Vitamina B <sub>1</sub> (mg)	0,35
Vitamina B <sub>2</sub> (mg)	0,4
Niacina (mg EN)	4,5
Vitamina B <sub>6</sub> (mg)	1,0
Ac. Fólico (µg EFA)	40
Vitamina B <sub>12</sub> (µg)	6,0
Calcio (mg)	400
Hierro (mg)	4,2
Fósforo (mg)	400
Magnesio (mg)	150
Zinc (mg)	3

En la actualidad, Chile cuenta con el Programa Nacional de Salud de las Personas Adultas Mayores, que incluye un eje específicamente dedicado a fortalecer la alimentación de este grupo etario: el Programa de Alimentación Complementaria de Adulto Mayor (PACAM) (83). Este programa proporciona dos tipos de alimentos para consumo diario: la “crema Años Dorados” y “bebida láctea Años Dorados” a la población mayor de 70 años.

Implementado en un contexto de salud diferente al actual, el objetivo principal del PACAM era reducir el riesgo de enfermedades relacionadas con deficiencias nutricionales. Aunque este programa ha logrado una amplia cobertura a nivel nacional, estudios recientes han evidenciado el bajo impacto nutricional del programa (83).

Las formulaciones entregadas por el PACAM presentan características saludables, como ser bajas en grasa, bajas en sodio y libres de colesterol. Estas características se pueden observar en la tabla 1 que detalla la información nutricional de la crema (6, 83). No obstante, hasta el momento se desconoce si estas contribuyen a la prevención o tratamiento de ECNT u otra de índole nutricional (6, 83).

En este contexto, resulta relevante explorar si la adición de compuestos bioactivos con bioaccesibilidad controlada a los alimentos del PACAM podría ser una estrategia efectiva para disminuir el riesgo de desarrollar ECNT de origen nutricional en las personas mayores.

### 3.5. INCORPORACIÓN DE INGREDIENTES BIOACTIVOS EN CREMA DE LEGUMBRES AÑOS DORADOS: ENCAPSULACIÓN

Una de las estrategias más comunes para incorporar compuestos altamente reactivos en matrices alimentarias es la encapsulación. Esta técnica reduce la exposición de los compuestos de condiciones ambientales, como temperatura, luz, actividad de agua y oxígeno, así como de factores fisiológicos, como el ácido gástrico. Además, la encapsulación permite una liberación controlada durante el proceso digestivo lo que mejora la estabilidad de los compuestos. También protege aromas, sabores y colores, mejorando así la palatabilidad del producto final asegurando una experiencia sensorial óptima para el consumidor (84).

En la industria alimentaria, el secado por atomización se destaca como el método más utilizado para encapsular compuestos bioactivos de manera económica y sencilla (85, Cristina ). Por ello, se eligió esta técnica para la encapsulación y adición de compuestos en la fórmula empleada en este estudio.

Siguiendo las directrices técnicas para la fabricación de la crema de legumbres “Crema Años Dorados”, se desarrolló un producto instantáneo a base de harinas de legumbres extruidas. A esta formulación se le añadieron vitamina D3, calcio, hierro, ácidos grasos omega-3,

resveratrol y leucina, compuestos que fueron microencapsulados mediante secado por atomización para garantizar su estabilidad. La composición detallada de esta crema enriquecida se presenta en la Tabla 2.

Por otro lado, en la Tabla 3 se detallan los resultados de la bioaccesibilidad calculada para los compuestos con los que se fortificó la fórmula PACAM, dando origen a la crema FONIS. La bioaccesibilidad fue estimada mediante ensayos de digestibilidad *in vitro*, obteniendo como resultados una bioaccesibilidad del 10% para el resveratrol, del 95% para los ácidos grasos omega-3 y del 150% para la leucina.

El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto del consumo de esta fórmula enriquecida en los marcadores de inflamación de bajo grado y estrés oxidativo en un grupo de personas mayores. Asimismo, se comparó el efecto de esta fórmula enriquecida con la crema actualmente entregada por el PACAM, con el fin de determinar su potencial para mejorar los parámetros metabólicos y de salud en esta población.

Tabla 2: Composición de la crema de legumbres y cereales enriquecida con omega-3, resveratrol y leucina microencapsulados (T1), por 100 g de fórmula en polvo.

Ingrediente	g/100g
Harina de lentejas extruidas	38,00
Harina de arvejas extruidas	16,00
Harina de trigo extruida	34,00
Mezcla de vitaminas y minerales	3,15
Ácido omega 3 encapsulado	0,50
Almidón de maíz extruido	3,00
Cebolla deshidratada	2,00
Glutamato monosódico	1,00
Leucina microencapsulada	2,30
Resveratrol microencapsulado	0,20

*Datos proporcionados por Proyecto Fonis SA20I0088*

Tabla 3: Bioaccesibilidad *in vitro* de micronutrientes y compuestos bioactivos de la crema de legumbres enriquecida (T1)

Ingrediente	Bioaccesibilidad (%)
Omega 3	95,12 ± 2,97
EPA	28,86 ± 3,17
DHA	66,14 ± 0,49
Leucina	158,7 ± 1,28
Resveratrol	10,30 ± 0,03
Vitamina D <sub>3</sub>	68,32 ± 0,03
Vitamina B <sub>12</sub>	63,18 ± 1,01
Calcio	31,49 ± 0,32
Hierro	24,86 ± 0,14

*Datos proporcionados por Proyecto Fonis SA20I0088*

#### 4. HIPÓTESIS

El consumo diario durante 12 semanas de una crema de legumbres enriquecida con ácidos grasos omega-3, resveratrol y leucina microencapsulados, contribuirá a disminuir la inflamación crónica de bajo grado y el estrés oxidativo en un grupo de personas mayores.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la ingesta diaria durante 12 semanas de una crema de legumbres enriquecida con ácidos grasos omega-3, resveratrol y leucina, sobre la inflamación crónica de bajo grado y el estrés oxidativo en un grupo de personas mayores.

### 5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el impacto de la ingesta diaria, durante 12 semanas, de la crema de legumbres enriquecida sobre los indicadores asociados a inflamación de bajo grado en un grupo de personas mayores.
2. Determinar el impacto de la ingesta diaria, durante 12 semanas, de la crema de legumbres enriquecida sobre los indicadores plasmáticos de estrés oxidativo en un grupo de personas mayores.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. MODELO DE ESTUDIO

Ensayo clínico paralelo randomizado, controlado, doble ciego.

### 6.2. MUESTRA

El tamaño de la muestra (n=54) corresponde a la muestra calculada para la realización del ensayo clínico del proyecto FONIS SA20I0088 (Fórmula 1).

Para ello se determinó un n = 13 por tipo de tratamiento a evaluar. Considerando un abandono del 25%, la muestra final será de 18 sujetos por tipo de tratamiento (T1 y T2), más un grupo control.

Ecuación 1: Estimación del tamaño de la muestra

$$n = \frac{2 * (Z\alpha + Z\beta)^2 * S^2}{d^2}$$

Dónde:

Z $\alpha$ : Nivel de confianza o seguridad con dos colas, para un p = 0,05 el valor es 1,645

Z $\beta$ : Para una potencia de un 90% el valor es 1,282

S<sup>2</sup>: La varianza descrita por Cesari et al. para la fuerza muscular en una muestra de 1000 Am evaluados (26,9 $\pm$ 0,39 kg)

d: Diferencia que se espera encontrar en la fuerza muscular, considerando que en el estudio de Bauer et al, donde una dieta suplementada con leucina y Vit D logró un aumento de 0,79  $\pm$ 0,3 kg de fuerza muscular.

### 6.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN:

- a) Inclusión: personas mayores de entre 70 y 80 años
- b) Exclusión:
  - Sujetos que presenten alguna alteración en sistema neuro-músculo-esquelético
  - Sujetos que reporten intolerancia o alergias alimentarias

- Sujetos con comorbilidades como diabetes mellitus tipo 2 en tratamiento con insulina, enfermedad renal crónica u otras condiciones asociadas a alteraciones metabólicas que comprometen el estado inflamatorio crónico
- Sujetos que consuman suplementos, multivitámnicos u otros compuestos bioactivos

Todos los sujetos firmaron un consentimiento informado al momento de ser reclutados (Anexo 1).

#### 6.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

El estudio comprendió dos tipos de tratamiento; T1: consumo diario de crema en base a harinas de legumbres extruidas con características saludables. T2: consumo diario crema de legumbres Años Dorados PACAM, MINSAL. Grupo control: no incluye crema de legumbres en su alimentación diaria (figura 1)

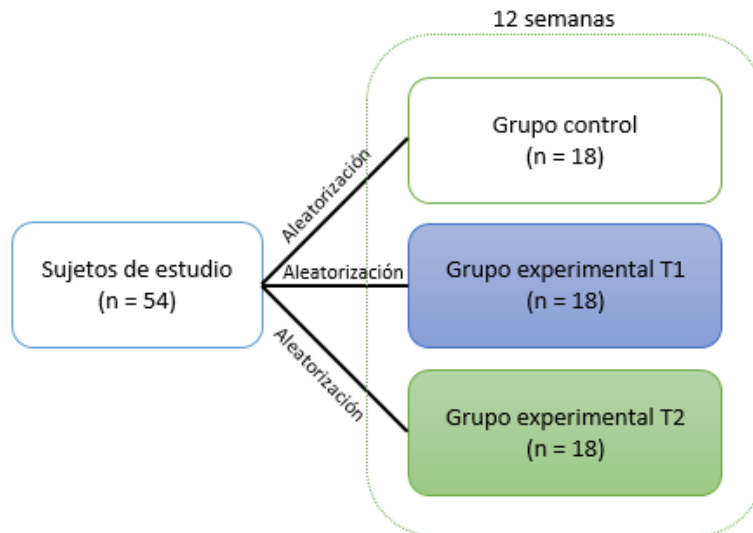


Figura 1: Diseño experimental del estudio clínico

#### 6.4.1. GRUPOS EXPERIMENTALES:

- a) T1 (n= 18): Se dispensó a las personas mayores un kilogramo mensual de crema de lentejas, diseñada con características saludables, recomendándose el consumo de una porción de 50 g en almuerzo o cena. Se tuvo en cuenta la ingesta energética habitual de los participantes para asegurar que mantuvieran su peso corporal registrado al inicio del estudio.
- b) T2 (n=18): Los participantes recibieron indicaciones para incluir la crema de legumbres “Años Dorados PACAM” del MINSAL en sus almuerzos o cenas. Al igual que en el grupo T1, se les indicó un consumo de 50 g en almuerzo o cena y realizó consejería para que mantuvieran su ingesta energética habitual para evitar cambios en el peso durante el estudio.
- c) Grupo Control (n=18): no recibió intervención nutricional

Ambos tratamientos (T1 y T2) incluyeron consejería nutricional, con el objetivo de mantener la ingesta energética habitual y promover una alimentación saludable conforme a las guías alimentarias para el adulto mayor.

Los participantes fueron asignados aleatoriamente a uno de los tratamientos y el seguimiento se realizó durante un periodo de 12 semanas.

#### 6.5. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

##### 6.5.1. Variables dependientes (outcomes):

- a) **Inflamación Sistémica de Bajo Grado:** Se determinó mediante la cuantificación de citoquinas séricas, incluyendo TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , así como la proteína C reactiva ultrasensible.
- b) **Capacidad Antioxidante del Plasma:** Se evaluó a través del Poder Total de Captación de Radicales (TRAP) y la medición de malondialdehído (MDA), utilizando como marcador el ácido tiobarbitúrico reactivo (TBARS).

- c) Metabolismo de la Glucosa: Se evaluó mediante el índice HOMA-IR, que permite diagnosticar resistencia a la insulina.

#### 6.5.2. Variables independientes (controladas):

- a) Ingesta de la crema de legumbres: Se verificó mediante cuestionario que todos los participantes consuman la crema con las características saludables.
- b) Ingesta dietética: se verificó mediante cuestionario los niveles de ingesta de micro y macronutrientes, al inicio y final de cada intervención.
- c) Actividad Física: Se monitorizó y se registró la actividad física de los participantes para mantenerla constante durante el estudio.
- d) Índice de Masa Corporal (IMC): Se realizó un seguimiento del IMC de los participantes para evaluar variaciones.
- e) Antecedentes Clínicos: Se controlaron los antecedentes clínicos relevantes de los participantes para minimizar sesgos en los resultados.
- f) Capacidad antioxidante de las fórmulas T1 y T2: para evaluar la capacidad antioxidante *in vitro* de las fórmulas administradas a los voluntarios se realizaron los ensayos ORAC y DPPH.

#### 6.6. EVALUACIÓN ANTROPOMÉTRICA

La evaluación antropométrica incluyó las siguientes medidas:

- a) Altura: Se midió en metros, utilizando un estadiómetro móvil calibrado
- b) Peso: Se registró en kilogramos, mediante una balanza digital

Posteriormente, se calculó el Índice de Masa Corporal (IMC). La fórmula utilizada para el cálculo del IMC fue:

FÓRMULA 2: 
$$\text{IMC} = \frac{\text{kg}}{\text{m}^2}$$

## 6.7. EVALUACIÓN DE LA INGESTA DIETÉTICA

Antes de iniciar el estudio y al finalizar el mismo, se evaluó la ingesta dietética de cada participante mediante un registro dietético de tres días. En esta evaluación se registraron los horarios, tiempos de comida, métodos de preparación y cantidades de alimentos consumidos, a través de un registro de recordatorio de 24 h (Anexo 2). Se utilizó el ATLAS, basado en la Encuesta Nacional de Consumo Alimentario, para facilitar la recopilación de datos.

Las encuestas fueron analizadas utilizando el programa computacional Food Processor IIR (Food Processor SQL 10.7, ESHA Research, Salem, OR, USA), que cuenta con una base de datos de composición química de alimentos de Estados Unidos. Se incorporaron además alimentos chilenos para asegurar la relevancia local de la información. Esto permitió obtener un análisis preciso de la ingesta dietética y evaluar su relación con los objetivos del estudio.

## 6.8. EVALUACIÓN DEL NIVEL DE ACTIVIDAD FÍSICA

Al inicio y al final del estudio, se evaluó el nivel de actividad física de cada sujeto utilizando el cuestionario "Global Physical Activity Questionnaire" (GPAQ v2). Este cuestionario permitió determinar el tiempo dedicado a actividades de transporte activo (como caminar y andar en bicicleta) y a actividades de intensidad moderada o vigorosa. Los resultados se expresaron en términos absolutos (minutos/día) y ajustados por el gasto energético equivalente (METs) por minutos/semana. Se estableció un punto de corte para inactividad física en un gasto menor a 600 METs/minutos/semana. Además, el sedentarismo se evaluó mediante el auto-reporte de tiempo dedicado a actividades que involucren estar sentado o reclinado durante el tiempo libre o de trabajo.

## 6.9. TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS

Los análisis de las variables independientes se llevaron a cabo a partir de muestras de sangre venosa en ayunas. La extracción de sangre se realizó en dos momentos: al inicio del estudio para establecer la situación basal del individuo y al final del período de 12 semanas para evaluar el impacto de la intervención.

Las muestras fueron tomadas en colaboración con el laboratorio Endoclin, en sus sucursales en Viña del Mar, Valparaíso y Olmué. En cada muestreo, se utilizó un tubo sin anticoagulante para obtener 10 mL de suero y un tubo heparinizado para obtener 10 mL de plasma y glóbulos rojos. Posteriormente, estas muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Innovación Terapéutica y Diagnóstico Molecular de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valparaíso.

- a) Obtención de suero: La muestra de sangre fue centrifugada durante 15 minutos a 3000 r.p.m. Tras la centrifugación, se separaron las fases, obteniendo suero y coágulo sanguíneo. El suero fue distribuido en tubos Eppendorf de 1,5 mL y almacenado a  $-80^{\circ}\text{C}$  para análisis posteriores. El material restante, que incluía el sobrenadante, células blancas y plasma, fue eliminado siguiendo el protocolo de bioseguridad.
  
- b) Obtención de plasma y glóbulos rojos: La muestra sanguínea en tubo heparinizado fue centrifugada durante 15 minutos a 1500 r.p.m. Esto resultó en la separación de tres fases: plasma, glóbulos blancos y glóbulos rojos (GR). El plasma se almacenó en tubos Eppendorf de 1,5 mL a  $-80^{\circ}\text{C}$ , mientras que el suero y las células blancas fueron desechados conforme al protocolo de bioseguridad. Para obtener GR limpios, se lavaron con un buffer fosfato salino ( $\text{NaCl}$  0,15M,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,01M,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0,1M) a pH 7,4. Este proceso se repitió tres veces, centrifugando a 3000 r.p.m. durante 15 minutos y desechando el sobrenadante en cada ocasión. Los GR obtenidos se almacenaron en tubos de congelación de 2 mL a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta el análisis.

## 6.10. EVALUACIÓN DE LA INFLAMACIÓN DE BAJO GRADO

- 6.10.1. PCR-us: La evaluación de la inflamación consistió en la medición de PCR-us en ayunas. Los resultados fueron proporcionados por el laboratorio Endoclin.
- 6.10.2. Factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ): la medición de TNF- $\alpha$  se realizó en suero sanguíneo obtenido según protocolo descrito. Se utilizó un ensayo Luminex para cuantificar los niveles de TNF- $\alpha$  en las muestras.
- 6.10.3. IL-6: la medición de IL-6 se realizó en suero sanguíneo obtenido según protocolo descrito. Al igual que con TNF- $\alpha$  se utilizó un ensayo Luminex para cuantificar los niveles de IL-6 en las muestras.
- 6.10.4. IL-1 $\beta$ : la medición de IL-1 $\beta$  se realizó en suero sanguíneo obtenido según protocolo. También se utilizó un ensayo Luminex para cuantificar los niveles de IL-1 $\beta$ .

El ensayo Luminex, encargado por el Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), se llevó a cabo en las instalaciones de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile en Santiago. Esta tecnología avanzada permite la detección simultánea de múltiples proteínas o ácidos nucleicos en una única muestra, lo que proporciona una eficiencia significativa en la investigación biomédica.

El ensayo utiliza microesferas que están marcadas internamente con dos fluoróforos diferentes. Cada set de microesferas se distingue por su firma de fluorescencia única, lo que permite identificar múltiples analitos en una sola prueba. A cada set de microesferas se acopla un anticuerpo monoclonal específico o una sonda de ADN, facilitando la detección selectiva de la proteína o secuencia de ADN de interés. Esta técnica es capaz de detectar varios analitos simultáneamente en una sola muestra, lo que reduce el tiempo y los costos asociados con análisis individuales. Además, ofrece alta sensibilidad y especificidad en la detección de biomarcadores, lo que es crucial para evaluar la inflamación de bajo grado en los participantes del estudio.

## 6.11. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL PLASMA

### 6.11.1. Ensayo TBARS para la Medición de Lipoperoxidación

El ensayo TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances), descrito por Esterbauer et al. en 1982 (86), es una técnica ampliamente utilizada para evaluar el daño a lípidos, específicamente la lipoperoxidación, mediante la cuantificación de malondialdehído (MDA), un producto final de este proceso.

El ensayo TBARS se llevó a cabo en el laboratorio de Bioensayo de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valparaíso.

Para ello se utilizaron 2 mL de eritrocitos, que se trataron con 2 mL de ácido tricloroacético al 30%. Este paso es crucial para precipitar las proteínas y separar el componente lipídico.

La mezcla se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos, obteniendo un sobrenadante que contiene los lípidos y un precipitado con las proteínas.

Se mezclaron 1,5 mL del sobrenadante con 1 mL de TBA al 0,67%. El TBA reacciona con los aldehídos presentes en la muestra, formando un complejo colorido.

Las muestras se llevaron a ebullición durante 30 minutos para facilitar la reacción entre el TBA y el MDA.

Se registró el espectro de emisión con un espectrofotómetro UV-visible en el rango de 400–600 nm. La absorbancia fue medida específicamente a 535 nm, donde se maximiza la absorbancia del complejo MDA-TBA.

Los resultados se extrapolaron en una curva de calibrado de MDA, lo que permitió cuantificar el nivel de lipoperoxidación en la muestra.

### 6.11.2. Determinación de Capacidad Antioxidante Total (TRAP)

Para evaluar la capacidad antioxidante no enzimática presente en el plasma de los sujetos, se utilizó el método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), conforme al protocolo descrito por Romay et al. (1996) (87). Este método se basa en comparar la actividad antioxidante de una muestra con la de Trolox, un análogo de la vitamina E.

El ensayo TRAP se llevó a cabo en el laboratorio de Bioensayo de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valparaíso.

Se preparó una mezcla de ABTS (2,2'-azinobi(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)) a 150  $\mu$ M y ABAP (2,2'-azobis(2-amidinopropano)) a 10 mM en una proporción de 1:1. Esta mezcla se incubó a 45 °C durante 30 minutos para activar la reacción.

Se añadieron 10  $\mu$ L de plasma a 1 mL de la mezcla de ABTS y ABAP.

Se midió la absorbancia a 734 nm a intervalos de 10, 30 y 50 segundos utilizando un espectrofotómetro UV-visible. Esta medición permite observar la disminución en la absorbancia del cromóforo verde azulado, lo que indica la actividad antioxidante presente en la muestra.

La capacidad antioxidante de la muestra fue comparada con la de Trolox, y expresada como unidades de concentración de Trolox ( $\mu$ mol Trolox equivalente/mL de plasma).

#### 6.12. CAMBIOS EN LA RESISTENCIA PERIFÉRICA A LA INSULINA MEDIDA COMO HOMA-IR

El índice HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) se utiliza para evaluar la resistencia a la insulina a partir de los niveles de insulina y glucosa en ayunas. Se sustituyen los valores de insulinemia y glicemia en la fórmula 3 para obtener el índice HOMA-IR.

$$\text{Fórmula 3: } \text{HOMA-IR} = \frac{\text{Insulinemia ayunas } (\mu\text{U/mL}) * \text{Glicemia ayunas } (\text{mg/dL})}{405}$$

#### 6.13. DETERMINACIÓN *IN VITRO* DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS FÓRMULAS T1 Y T2

Para evaluar la capacidad antioxidante de las cremas de legumbres (T1 y T2), se realizaron dos extracciones hidroalcohólicas, utilizando como solventes mezclas de metanol-agua y etanol-agua, según el protocolo descrito a continuación:

- a) Extracción metanólica: Se pesaron 1 g de crema de legumbres, al que se adicionaron 5 mL de una mezcla metanol:agua (80:20). La mezcla se sonicó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente la muestra fue centrifugada a 4000 rpm por 15 minutos a 4 °C. Se reservó el sobrenadante y el residuo sólido fue sometido a un segundo proceso de extracción con 5 mL de la mezcla metanol-agua. Los sobrenadantes obtenidos de ambas extracciones se combinaron y se ajustó el volumen final a 10 mL con la mezcla metanol-agua. El extracto se almacenó a 4 °C para su posterior análisis.
  
- b) Extracción etanólica: Se pesaron 1 g de crema de legumbres, al que se adicionaron 5 mL de una mezcla etanol:agua (50:50). La mezcla se sonicó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente la muestra fue centrifugada a 4000 rpm por 15 minutos a 4 °C. Se reservó el sobrenadante y el residuo sólido fue sometido a un segundo proceso de extracción con 5 mL de la mezcla etanol-agua. Los sobrenadantes obtenidos de ambas extracciones se combinaron y se ajustó el volumen final a 10 mL con la mezcla etanol-agua. El extracto se almacenó a 4 °C para su posterior análisis.

#### 6.13.1. Determinación de la capacidad antioxidante de T1 y T2 mediante ensayo DPPH

Para evaluar el potencial antioxidante de las cremas de legumbres se realizó la prueba DPPH según el protocolo descrito por Sharma y Bath (2009)(88). Este método compara la actividad antioxidante de cada muestra, utilizando como estándar el Trolox.

Para este ensayo se preparó una solución de 0,1 mg/mL de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) en metanol. Para la curva de calibración se preparó una solución madre de 400 ppm de Trolox disuelto en metanol. A partir de la solución madre, se prepararon diluciones sucesivas de Trolox.

En tubos ámbar, se añadieron 200 µL de cada muestra o diluciones de Trolox y se agregaron 2 mL del reactivo DPPH. Las muestras se agitaron e incubaron por 20 minutos en condiciones de relativa oscuridad. Luego, se transfirieron 300 µL de cada solución a una placa de 96 pocillos y se registró la absorbancia en un espectrofotómetro UV-vis (BioTek Synergy H1 Multimode Reader) a una longitud de onda de 517 nm.

La capacidad antioxidante se calculó en función de la reducción de la absorbancia del DPPH en presencia de las muestras en comparación con el Trolox. Esto permite determinar el potencial antioxidante de las cremas de legumbres, expresado en unidades equivalentes de Trolox.

#### 6.13.2. Determinación de la capacidad antioxidante de T1 y T2 mediante ensayo ORAC

El método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) se basó en la metodología descrita por Zapata & Zapata (2019)(89). Se evaluó la disminución de fluorescencia de la fluoresceína en presencia de AAPH, un agente oxidante y formador de radicales libres.

Todas las soluciones utilizadas en estos ensayos (fluoresceína sódica, AAPH como agente oxidante y Trolox como estándar antioxidante) se prepararon con buffer fosfato pH 7,4 con el objetivo de simular las condiciones del entorno intracelular.

Para la elaboración de la solución de fluoresceína, se pesaron 10 mg de fluoresceína y se disolvieron en 30 mL de buffer fosfato pH 7,4. Después de 20 minutos en agitación, esta solución se filtró y se tomaron 100  $\mu$ L de la misma para diluir en un matraz de 100 mL. A partir de este matraz, se tomó 1 mL y se aforó a 25 mL para obtener una solución de fluoresceína con una concentración de 40 nM.

La solución de AAPH se preparó según el volumen necesario para el ensayo, manteniendo una proporción de 1,42375g de AAPH en 7,5 mL de buffer fosfato pH 7,4.

Para la preparación de la curva de calibración de Trolox, se pesaron 10 mg de Trolox y se disolvieron en 20 mL de buffer fosfato pH 7,4, agitando la mezcla durante 10 minutos. Se tomaron 5 mL de esta solución y se aforaron a 10 mL para obtener una solución de trabajo de 200  $\mu$ M. La curva de calibración se realizó utilizando alícuotas de la solución de Trolox 200  $\mu$ M en concentraciones de 15, 30, 90, 120, 180  $\mu$ M de Trolox.

La lectura de fluorescencia se realizó en una placa de 96 pocillos de fondo oscuro, depositando en cada pocillo 150  $\mu$ L de la solución de fluoresceína más 25  $\mu$ L de buffer fosfato para el blanco, 25  $\mu$ L de muestra o 25  $\mu$ L de Trolox para la curva de calibración. Los blancos, curva y muestras se agitaron e incubaron a 37 °C durante 10 minutos en el lector de placas para luego adicionar 25  $\mu$ L de solución de AAPH a cada muestra. El lector de placas

(BioTek Synergy H1 Multimode Reader) se programó para leer fluorescencia con una longitud de excitación de 485 nm y emisión de 535 nm, realizando lecturas cada 2 minutos durante 34 minutos, obteniendo 17 mediciones en total.

La capacidad antioxidante se expresó en equivalentes de Trolox, calculando el área bajo la curva (AUC) para cada una de las curvas obtenidas. Los resultados de la sumatoria del área bajo la curva se graficaron en el eje Y, y las concentraciones respectivas en el eje X. Se obtuvo una gráfica lineal y a partir de la ecuación de la recta se determinó la capacidad antioxidante de cada muestra, expresada como  $\mu\text{mol Eq Trolox/g MS}$ .

#### 6.14. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos recolectados en el estudio fueron analizados utilizando el software estadístico SPSS 20.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois). Cada variable fue evaluada tanto al inicio como al final de cada tratamiento, clasificándose como cuantitativas en escala continua. Los resultados se expresaron en promedio  $\pm$  desviación estándar para aquellas variables con distribución normal, y en mediana y rango intercuartílico para las variables con distribución anormal. La normalidad de las variables se verificó utilizando el test de Shapiro-Wilk. Para comparar variables según distintas categorías, se utilizó ANOVA seguido por la prueba de Bonferroni para variables con distribución normal, mientras que para variables con distribución anormal se aplicó el test de Kruskal-Wallis. Si el valor de  $p$  resultaba  $< 0,05$  en el caso de Kruskal-Wallis, se procedió a aplicar el test de Mann-Whitney corregido por Bonferroni para identificar diferencias específicas. Para determinar las diferencias entre cada tratamiento sobre las variables dependientes, se utilizó el test  $t$  de Student pareado o el test de Wilcoxon, según la distribución de las variables. El efecto de los tratamientos sobre las variables dependientes se analizó mediante ANOVA de medidas repetidas o tests de Friedman, y las diferencias significativas se determinaron a través de la prueba de Tukey o Wilcoxon. Se consideró significativo un valor de  $p < 0,05$  para todos los análisis realizados.

## 7. RESULTADOS

### 7.1. INICIO DE LA INVESTIGACIÓN

El ensayo clínico comenzó en marzo de 2023, momento en el cual se inscribió al primer sujeto del estudio. El proceso incluyó la toma de muestras basales, la entrega del alimento a cada participante, el seguimiento durante 12 semanas y la toma de muestras finales. La investigación concluyó en septiembre de 2023.

### 7.2. DIAGRAMA DE FLUJO DEL ENSAYO CLÍNICO

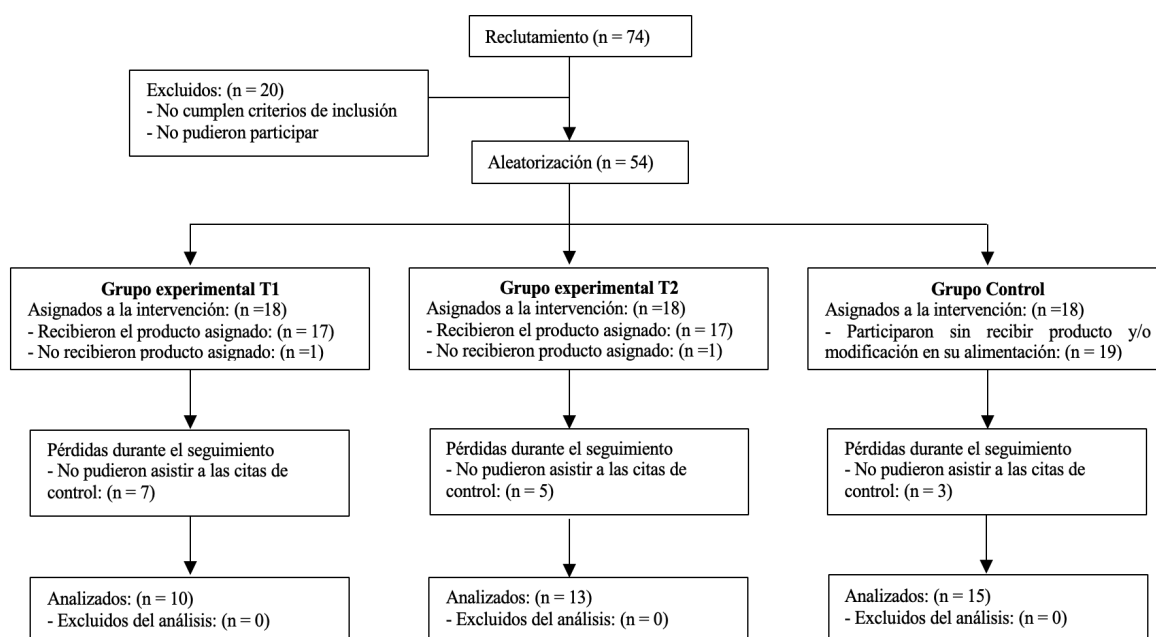


Figura 2: Distribución de los participantes en el ensayo para evaluar y comparar el efecto de la fórmula enriquecida con compuestos bioactivos

### 7.3. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS

El reclutamiento del estudio comenzó con 74 sujetos, de los cuales 20 fueron excluidos por no cumplir con los criterios de selección. Los 54 sujetos restantes fueron asignados de forma aleatoria a los tres grupos de estudio. Tras el proceso de aleatorización, un sujeto fue

trasladado del grupo experimental T1 al grupo control, y otro sujeto del grupo T2 abandonó el estudio debido a su imposibilidad de asistir a las citas de seguimiento y entrega del producto comestible.

Finalmente, el estudio se inició con 53 sujetos, de los cuales 49 eran mujeres y 4 eran hombres. El estudio concluyó a las 12 semanas, con un total de 39 participantes analizados, como se muestra en la figura 2. Cabe destacar que ninguna de las pérdidas fue atribuible a efectos adversos de la fórmula consumida.

Tabla 4: Características generales de la muestra

	T1 (n = 17)	T2 (n = 17)	Control (n = 19)	Valor p
H/M	0/17	2/15	2/17	
Edad (años)	74 [71,5-77]	75 [72-77,5]	72 [70-75]	1
Peso (kg)	71,2 ± 13,5	70,1 ± 9,8	74,4 ± 10,2	1
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	30,2 ± 5,3	29,5 ± 3,7	31,5 ± 4,3	NS

Valor p: NS (No Significativo) Un valor de  $p < 0,05$  se considera estadísticamente significativo.

Las características generales de la población estudiada se detallan en la Tabla 4, donde se observa que no hay diferencias significativas en cuanto a edad, peso e índice de masa corporal (IMC). La mayoría de los participantes fueron mujeres. La edad promedio de los sujetos es de 73 años, mientras que el peso promedio es de aproximadamente 72 kg, con una distribución homogénea entre los grupos de estudio, sin diferencias relevantes.

#### 7.4. CARACTERÍSTICAS INICIALES DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO:

En la tabla 5 se presentan las variables de salida (*outcomes*) y las variables controladas en la línea base del ensayo clínico. Los datos incluyen ingesta energética diaria, actividad física, marcadores bioquímicos de inflamación y estrés oxidativo. Se puede observar la homogeneidad de la muestra en términos iniciales, ya que no se encontraron diferencias significativas entre los grupos T1, T2 y control en ninguna de las variables evaluadas.

Tabla 5: Características iniciales de la población de estudio

	T1 (n = 17)	T2 (n = 17)	Control(n = 19)	Valor p
Ingesta energética (kcal/día)	1467 ± 297	1438 ± 302	1324 ± 346	NS
Actividad física (METs min/semana)	1099 ± 1645	950 ± 791	1288 ± 1548	NS
TRAP (mM TEAC)	0,0038 ± 0,001	0,0032 ± 0,001	0,0034 ± 0,001	NS
TBARS (nm MDA)	0,50 [0,34 - 0,98]	0,97 [0,34 - 0,97]	0,44 [0,23 - 1,28]	NS
PCR-us (mg/L)	3,5 [1,3 - 7,4]	2,2 [0,9 - 4,7]	2,0 [0,7 - 3,3]	NS
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	6,04 ± 1,13	5,88 ± 1,33	5,96 ± 1,28	NS
IL-6 (pg/mL)	4,39 ± 0,69	4,46 ± 0,72	4,12 ± 0,63	NS
IL-1 $\beta$ (pg/mL)	9,30 ± 0,44	9,29 ± 0,50	9,27 ± 0,75	NS
HOMA-IR	3,3 [1,6 - 4,6]	3,1 [2,2 - 3,3]	2,2 [1,5 - 3,4]	NS

Valor p: NS (No Significativo). Un valor  $p < 0,05$  se considera estadísticamente significativo

## 7.5. ANALISIS DE VARIABLES

### 7.5.1. INDICADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN PLASMA

Los resultados de la tabla 6 reflejan las mediciones de capacidad antioxidante (TRAP) y daño lipídico (TBARS) en los grupos T1, T2 y Control, tanto al inicio como al final del estudio.

TRAP (mM TEAC): En el grupo T1, se observó una disminución en la capacidad antioxidante, de 0,0038 a 0,0029 mM TEAC. Para el grupo T2, los niveles se mantuvieron casi constantes (0,0032 a 0,0031 mM TEAC). En el grupo control, los niveles se mantuvieron estables (0,0034 mM TEAC). Estos resultados indican que, aunque el grupo T1 experimentó una disminución en los niveles de TEAC, esta no fue significativa, sugiriendo que la intervención no tuvo un impacto positivo en la capacidad antioxidante.

La única diferencia estadísticamente significativa se observó al comparar el cambio ( $\Delta$ ) entre el inicio y el final de los grupos T1, T2 y control. El tratamiento T1 mostró una mayor reducción en los niveles de TEAC en comparación con los grupos T2 y control. Esto sugiere que el tratamiento T1 tiene un efecto favorable sobre la capacidad antioxidante del plasma al

compararlo con el grupo que consumió “Crema Años Dorados” del PACAM y el grupo control.

TBARS (nM MDA): En el grupo T1, se observó una reducción en los niveles de MDA de 0,50 a 0,34 nM, mientras que el grupo T2 mostró estabilidad en 0,97 nM. El grupo control, por su parte, presentó un ligero aumento de 0,44 a 0,65 nM.

Tabla 6: Resultados de capacidad antioxidante (TRAP) y daño lipídico (TBARS) en sujetos de los grupos de estudio T1, T2 y Control

	Tiempo	TRAP (mM TEAC)	TBARS (nM MDA)
T1	Inicial	0,0038 ± 0,001	0,50 [0,34 - 0,98]
	Final	0,0029 ± 0,001	0,34 [0,12 - 0,73]
	Δ (I-F)	0,0009 <sup>a</sup> ± 0,001	0,31 [-0,16 - 0,69]
T2	Inicial	0,0032 ± 0,001	0,97 [0,34 - 0,97]
	Final	0,0031 ± 0,000	0,97 [0,34 - 1,28]
	Δ (I-F)	0,0001 <sup>b</sup> ± 0,001	0 [-0,62 - 0,31]
Control	Inicial	0,0034 ± 0,001	0,44 [0,23 - 1,28]
	Final	0,0034 ± 0,000	0,65 [0,23 - 1,36]
	Δ (I-F)	0,0006 <sup>b</sup> ± 0,001	0,0 [-0,08 - 0,16]
Valor p*		NS	NS
Valor p**		NS	NS

Valor p: NS (No Significativo). Valor p\*: indica diferencias entre grupos. Valor p\*\*: indica diferencias dentro de un grupo. Las letras "a" y "b" indican diferencias entre los cambios (Δ) en los grupos. Un valor p < 0,05 se considera estadísticamente significativo.

#### 7.5.2. ANÁLISIS DE MARCADORES INFLAMATORIOS EN PLASMA

En la Tabla 7 se presentan los indicadores de inflamación en plasma pre y post intervención para los grupos T1, T2 y control.

PCR-us: En el grupo T1, los niveles de PCR-us disminuyeron de 3,5 a 2,7 mg/L, aunque este cambio no fue estadísticamente significativo. Por otro lado, el grupo T2 mostró una reducción de 2,2 a 1,6 mg/L sin significancia. El grupo control también presentó una disminución de 2,0 a 1,5 mg/L, manteniendo la falta de significancia estadística. Esto sugiere que, aunque

hubo cambios en los niveles de PCR-us, ninguna de las intervenciones tuvo un impacto suficiente para alcanzar significancia estadística.

Tabla 7: Indicadores de inflamación en plasma pre y post intervención

	Tiempo	PCR- us (mg/L)	TNF- $\alpha$ (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	IL-1 $\beta$ (pg/mL)
T1	Inicial	3,5 [1,3 - 7,4]	6,04 $\pm$ 1,13	4,39 $\pm$ 0,69	9,30 $\pm$ 0,44
	Final	2,7 [1,5 - 7,8]	6,09 $\pm$ 0,93	4,22 $\pm$ 0,80	9,51 $\pm$ 0,64
	$\Delta$ (I-F)	0,7 [-4,5 - 2,8]	0,01 $\pm$ 0,39	0,08 $\pm$ 0,94	0,27 <sup>a</sup> $\pm$ 0,64
T2	Inicial	2,2 [0,9 - 4,7]	5,88 $\pm$ 1,33	4,46 $\pm$ 0,72	9,29 $\pm$ 0,50
	Final	1,6 [0,5 - 4,6]	5,45 $\pm$ 1,11	4,25 $\pm$ 0,64	9,18 $\pm$ 0,62
	$\Delta$ (I-F)	0 [-0,7 - 2,8]	-0,05 $\pm$ 0,45	0,21 $\pm$ 0,56	0,03 $\pm$ 0,66
Control	Inicial	2,0 [0,7 - 3,3]	5,96 $\pm$ 1,28	4,12 $\pm$ 0,63	9,27 $\pm$ 0,75
	Final	1,5 [0,9 - 2,0]	6,54 $\pm$ 1,16	4,03 $\pm$ 0,47	8,63 $\pm$ 0,60
	$\Delta$ (I-F)	0 [-0,4 - 1,7]	-0,13 $\pm$ 0,69	0,13 $\pm$ 0,50	0,71 <sup>b</sup> $\pm$ 0,09
Valor p*			NS	NS	NS
Valor p**		NS	NS	NS	NS

Valor p: NS (No Significativo). Valor p\*: indica diferencias entre grupos. Valor p\*\*: indica diferencias dentro de un grupo. Las letras "a" y "b" indican diferencias entre los cambios ( $\Delta$ ) en los grupos. Un valor p < 0,05 se considera estadísticamente significativo.

TNF- $\alpha$ : En el grupo T1, los niveles se mantuvieron prácticamente constantes, pasando de 6,04 a 6,09 pg/mL. Similarmente, el grupo T2 mostró una ligera disminución (5,88 a 5,45 pg/mL) sin significancia estadística. En el grupo control, hubo un aumento de 5,96 a 6,54 pg/mL, también sin significancia. Estos resultados indican que ninguna de las intervenciones tuvo un efecto significativo sobre los niveles de TNF- $\alpha$ .

IL-6: Los niveles en el grupo T1 disminuyeron ligeramente de 4,39 a 4,22 pg/mL, sin significancia. En el grupo T2, los niveles se mantuvieron estables, mientras que en el grupo control hubo una ligera disminución de 4,12 a 4,03 pg/mL. Esto sugiere que las intervenciones no tuvieron un efecto notable en la modulación de IL-6.

IL-1 $\beta$ : Se observó un aumento en el grupo T1, de 9,30 a 9,51 pg/mL, en comparación con el grupo control, que mostró una disminución de 9,27 a 8,63 pg/mL. Este hallazgo sugiere un

posible incremento en la inflamación en el grupo T1, destacando la relevancia de este biomarcador en la evaluación de la respuesta inflamatoria.

Se encontró una diferencia significativa en el cambio ( $\Delta$ ) entre el inicio y el fin del estudio en los niveles de IL-1 $\beta$  al comparar los sujetos por grupos. En el grupo T1, se observó un aumento en los niveles de IL-1 $\beta$ , mientras que en el grupo control se registró una reducción, siendo esta diferencia, estadísticamente significativa.

### 7.5.3. EVALUACIÓN DE HOMA-IR: CAMBIOS EN LA SENSIBILIDAD A LA INSULINA EN GRUPOS CON TRATAMIENTO Y CONTROL

En la tabla 8 se observan los resultados en la medición del índice HOMA-IR en los grupos T1, T2 y control.

Tabla 8: Análisis de Resultados HOMA-IR: Inicial y Final en Grupos T1, T2 y Control

	Tiempo	HOMA – IR
T1	Inicial	3,3 <sup>a</sup> [1,6 - 4,6]
	Final	2,5 <sup>b</sup> [1,6 - 3,1]
	$\Delta$	0,7 [0,0 - 0,9]
T2	Inicial	3,1 [2,2 - 3,3]
	Final	1,9 [1,8 - 2,7]
	$\Delta$	0,7 [0,1 - 1,2]
Control	Inicial	2,2 [1,5 - 3,4]
	Final	2,4 [1,9 - 3,4]
	$\Delta$	-0,1 [-0,2 - 0,3]
Valor p*		NS
Valor p**		NS

*Valor p: NS (No Significativo). Valor p\*: indica diferencias entre grupos. Valor p\*\*: indica diferencias dentro de un grupo. Las letras "a" y "b" indican diferencias entre el inicio y el final en este grupo de intervención. Un valor  $p < 0,05$  se considera estadísticamente significativo.*

Se observa una disminución significativa en los valores de HOMA-IR en el grupo T1 al comparar los valores obtenido por sujetos entre el inicio y el final de la intervención. Esto sugiere una mejora en la sensibilidad a la insulina tras el consumo de la fórmula enriquecida.

En el grupo T2, los niveles de HOMA-IR también mostraron una reducción valores de 3,1 a 1,9, sin embargo, esta mejora en la sensibilidad a la insulina no alcanzó significancia estadística.

En contraste, el grupo control experimentó un ligero aumento en los niveles de HOMA-IR, pasando de 2,2 a 2,4, lo que refleja una variación mínima y sin relevancia clínica.

#### 7.5.4. EVALUACIÓN DE LA INGESTA DIETÉTICA

En la tablas 9 y 10 se señalan los cambios en los patrones de ingesta de nutrientes en los grupos T1, T2 y control. Se puede observar que la mayoría de los nutrientes evaluados mostraron cambios menores y sin significancia estadística entre los grupos.

En cuanto a la ingesta energética, no se encontraron diferencias significativas al comparar los grupos T1, T2 y control. Sin embargo, se observó una disminución en la ingesta energética en los grupos T1 y T2, mientras que el grupo control experimentó un leve aumento. Estos cambios en los patrones de ingesta energética intra sujetos en cada grupo mostraron diferencias estadísticamente significativas.

Respecto a la ingesta de proteínas, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las comparaciones entre los grupos T1, T2 y control. Sin embargo, se evidencia un aumento en la ingesta en los grupos T1 y T2, mientras que el grupo control mantuvo un consumo constante. Al realizar la comparación intra-sujetos, se destaca que el grupo control es el único que presenta una diferencia estadísticamente significativa en la variación del consumo de proteínas entre el inicio y el final de la intervención.

En relación a la ingesta de leucina, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los grupos T1, T2 y control. Aunque se observó un ligero aumento en la ingesta de leucina en los grupos T1 y T2, el grupo control mostró una ingesta constante. Al analizar los cambios intra-sujetos, se evidenció que ninguno de los grupos presentó variaciones significativas en la ingesta de leucina entre el inicio y el final de la intervención. En cuanto a la ingesta de grasas totales, el grupo T1 mostró una disminución, mientras que los grupos T2 y control experimentaron un ligero aumento. Al comparar los grupos T1, T2 y control, no se encontraron diferencias significativas. Sin embargo, al analizar los cambios en

la ingesta de grasas a nivel intra-sujeto, se observó que en los grupos T1 y control, esta diferencia sí alcanzó significancia estadística.

En relación a las grasas monoinsaturadas, no se observaron cambios significativos en la ingesta en ninguno de los grupos. A pesar de una ligera variabilidad en los valores, los análisis no revelaron diferencias significativas, lo que indica una estabilidad en el consumo de estas grasas saludables a lo largo del estudio.

En cuanto a las grasas poliinsaturadas, los grupos mostraron resultados similares, sin diferencias significativas en la ingesta.

Respecto a la ingesta de Omega 6 y Omega 3, los resultados también fueron similares, mostrando estabilidad en la ingesta sin diferencias significativas entre los grupos.

Por último, en relación a los hidratos de carbono y la fibra, no se encontraron diferencias significativas en la ingesta entre los grupos. Aunque los niveles de fibra se mantuvieron en rangos aceptables, los cambios intra-sujetos no alcanzaron significancia estadística.

Respecto a la ingesta de micronutrientes, en la tabla 10 se pueden observar la intervención no mostró cambios significativos en la ingesta de los micronutrientes analizados entre los grupos T1, T2 y control. Esto sugiere que el consumo de las fórmulas frente al control, no generó un cambio en el comportamiento de la ingesta de micronutrientes durante el estudio.

En relación a la ingesta de vitamina A, se observó que en los tres grupos estudiados (T1, T2 y control) hubo una reducción en la ingesta al comparar los valores iniciales con los finales. Sin embargo, estas disminuciones no alcanzaron diferencias estadísticamente significativas.

Respecto a la vitamina C, tanto el grupo T1 como el grupo T2 experimentaron una disminución en su ingesta, pero los cambios no fueron estadísticamente significativos.

El grupo control también mostró una reducción, lo que indica una tendencia general de disminución en la ingesta de este micronutriente.

En cuanto a la vitamina D, no se observaron cambios significativos en la ingesta entre los grupos T1, T2 y control. Todos los grupos mostraron niveles bajos en ambos momentos, lo que sugiere que la intervención no tuvo un impacto significativo en la ingesta de vitamina D.

Tabla 8: Ingesta de macronutrientes, ácidos grasos esenciales y fibra en grupos T1, T2 y control durante la intervención

	T1			T2			Control			Valor p*	Valor p**
	Inicial	Final	Δ	Inicial	Final	Δ	Inicial	Final	Δ		
Energía (g)	1476 <sup>a</sup> ± 297	1454 <sup>b</sup> ± 401	37 ± 268	1438 <sup>a</sup> ± 302	1435 <sup>b</sup> ± 302	71 ± 226	1324 <sup>a</sup> ± 346	1305 <sup>b</sup> ± 363	-12 ± 183	NS	NS
Proteínas (g)	56 ± 16	64 ± 17	-6 ± 20	62 ± 18	59 ± 14	8 ± 18	53 <sup>g</sup> ± 14	53 <sup>h</sup> ± 14	0 ± 9	NS	NS
Leucina (g)	3,4 ± 1,1	3,5 ± 1,8	0,1 ± 1,7	3,6 ± 1,2	3,5 ± 1,2	0,3 ± 1,7	3,0 ± 1,2	3,7 ± 1,3	-0,8 ± 1,4	NS	NS
Grasas totales (g)	45 <sup>a</sup> ± 20	41 <sup>b</sup> ± 20	3 ± 19	37 <sup>a</sup> ± 17	43 <sup>b</sup> ± 24	-3 ± 17	31 <sup>a</sup> ± 13	35 <sup>b</sup> ± 17	-4 ± 13	NS	NS
Grasas mono (g)	11,5 [8,7 - 20,1]	8,2 [6,3 - 14,1]	-0,3 [-3,5 - 7,5]	10,5 [7 - 17]	7,3 [7,3 - 17,2]	-0,7 [-3,8 - 4,6]	8,3 [6,8 - 11,8]	10,7 [6,3 - 12,4]	-3,7 [-6,4 - 1,8]	NS	NS
Grasas poli (g)	5,9 [3 - 7,6]	3,5 [3 - 7,6]	0 [-0,6 - 2,2]	4,9 [2,7 - 5,7]	4,2 [2,6 - 5,8]	0,7 [-0,5 - 2,6]	3,3 [2,4 - 7,5]	3 [2,7 - 5,5]	-0,2 [-1 - 2,8]	NS	NS
Omega 6 (g)	2,9 [1,5 - 4,7]	1,7 [0,6 - 2,7]	1 [-0,7 - 2,3]	2,4 [1,1 - 2,9]	2,3 [1,7 - 4,4]	-0,5 [-2,1 - 0,6]	1,6 [1,1 - 2,9]	1,9 [1,3 - 2,6]	-0,5 [-1,3 - 0,8]	NS	NS
Omega 3 (g)	0,4 [0,2 - 0,4]	0,2 [0,1 - 0,6]	0,1 [-0,4 - 0,1]	0,3 [0,2 - 0,4]	0,3 [0,2 - 0,5]	-0,1 [-0,2 - 0,1]	0,3 [0,2 - 0,3]	0,3 [0,3 - 0,4]	-0,1 [-0,2 - 0,1]	NS	NS
Hidratos de Carbono (g)	214 ± 37	206 ± 56	13 ± 58	217 <sup>a</sup> ± 51	206 <sup>b</sup> ± 40	16 ± 34	211 <sup>a</sup> ± 58	200 <sup>b</sup> ± 46	6 ± 29	NS	NS
Fibra Total (g)	22 ± 9	18 ± 7	3 ± 13	25 ± 7	24 ± 10	1 ± 10	21 ± 8	21 ± 8	0 ± 9	NS	NS
Fibra Soluble (g)	2,3 [0,9 - 3,5]	1,2 [0,4 - 2,1]	0 [-1,9 - 3]	2,1 [1,2 - 3,5]	2,2 [0,2 - 3,8]	-0,1 [-2,1 - 1,5]	2,3 [0,7 - 4,2]	3,4 [1,3 - 5,2]	-0,5 [-3,4 - 1]	NS	NS
Fibra Insoluble (g)	6,5 ± 4	3,8 ± 4,2	2,1 ± 6,2	7,6 ± 5,2	7,4 ± 6,7	0,2 ± 6,6	7,4 ± 4,9	8,7 ± 6	-1,7 ± 6,9	NS	NS

Valor p: NS (No Significativo). Valor p\*: indica diferencias entre grupos. Valor p\*\*: indica diferencias dentro de un grupo. Las letras "a" y "b" indican diferencias en el valor de inicio y final de la intervención. Un valor p < 0,05 se considera estadísticamente significativo.

Tabla 10: Ingesta de micronutrientes en grupos T1, T2 y control durante la intervención

	T1			T2			Control			Valor p*	Valor p**
	Inicial	Final	Δ	Inicial	Final	Δ	Inicial	Final	Δ		
Vit A (UI)	4767 [3679-11956]	2643 [1328-3722]	2737 [-3245-6104]	7621 [2389 - 19778]	3992 [987 - 11779]	1267 [136 - 7483]	4643 [2246 - 9313]	2427 [1266 - 7590]	-793 [-2058 - 1329]	NS	NS
Vit C (mg)	78 [35 - 1,3]	52 [33 - 99]	0 [-11 - 21]	68 [24 - 102]	48 [33 - 75]	7 [-12 - 66]	59 [29 - 91]	41 [15 - 68]	11 [-2 - 32]	NS	NS
Vit D (UI)	29 [6 - 82]	13 [5 - 42]	5 [-6 - 40]	12 [6 - 93]	16 [7 - 44]	-2 [-7 - 12]	59 [29 - 91]	41 [15 - 68]	11 [-2 - 32]	NS	NS
Vit E α-tocoferol (mg)	3,3 <sup>a</sup> [2,5 - 4,5]	2,4 [0,9 - 3,1]	1,3 [0,1 - 2,6]	3,6 <sup>a</sup> [2,6 - 4,7]	2,7 [1,7 - 4,2]	1,4 [0,3 - 2,6]	13 <sup>b</sup> [2 - 35]	6 [2 - 10]	0 [-3 - 6]	NS	NS
Selenio (mcg)	28 [18 - 42]	25 [10 - 42]	8 [-18 - 10]	27 [10 - 43]	34 [15 - 51]	-1 [-25 - 18]	16 [8 - 45]	23 [20 - 30]	-6 [-22 - 3]	NS	NS
Hierro (mg)	8,2 [5,8 - 9,4]	8,2 [4,6 - 10]	-0,7 [-3,5 - 6,5]	8,9 [6,9 - 10,1]	8,2 [6,6 - 11]	-0,2 [-2 - 3]	5,7 [4,6 - 9,3]	5,9 [5,0 - 9,8]	-1 [-2,9 - -0,5]	NS	NS
Cobre (mg)	0,8 [0,7 - 0,8]	0,5 [0,4 - 0,7]	0,2 [-0,1 - 0,4]	0,8 [0,6 - 0,9]	0,7 [0,6 - 1]	-0,1 [-0,2 - 0,2]	0,7 [0,4 - 1]	0,7 [0,5 - 0,8]	0 [-0,4 - 0,1]	NS	NS
Zinc (mg)	4,9 ± 2,3	5,9 ± 4,1	-1 ± 4,7	5,8 ± 2,3	6,1 ± 2,7	0,1 ± 3,2	4,3 ± 2,5	6,0 ± 2,1	-1,8 ± 3,1	NS	NS

Valor p: NS (No Significativo). Valor p\*: indica diferencias entre grupos. Valor p\*\*: indica diferencias dentro de un grupo. Las letras "a" y "b" indican diferencias en el valor de inicio de los tratamientos T1 y T2 v/s Control. Un valor de p < 0,05 se considera estadísticamente significativo.

En relación a la vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), el grupo T1 presentó una disminución en la ingesta, mientras que el grupo T2 mostró un ligero aumento, aunque ambos cambios no alcanzaron significancia estadística. El grupo control también mantuvo niveles constantes, sin diferencias significativas en la ingesta.

Respecto al selenio, el grupo T1 tuvo una leve disminución en su ingesta, mientras que el grupo T2 mostró estabilidad en sus niveles, pero tampoco se encontraron diferencias significativas entre los grupos.

En el caso del hierro, todos los grupos mantuvieron una ingesta relativamente constante, sin cambios significativos. A pesar de que algunos grupos presentaron ligeras variaciones, estas no fueron estadísticamente relevantes.

En cuanto al cobre, los resultados fueron similares: no se observaron diferencias significativas en la ingesta entre los grupos. Aunque hubo una ligera disminución en el grupo T1, esta no fue suficiente para considerarla relevante.

Finalmente, en relación al zinc, el grupo T1 mostró una disminución en su ingesta, mientras que el grupo T2 experimentó un ligero aumento, pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas. El grupo control también mantuvo niveles estables.

#### 7.5.5. EVALUACIÓN DEL NIVEL DE ACTIVIDAD FÍSICA

En cuanto al nivel de actividad física durante el ensayo clínico, la tabla 11 muestra que no se encontraron diferencias significativas en el gasto energético entre los grupos T1, T2 y control, tanto en la medición inicial como en la final. Además, no se observaron cambios estadísticamente significativos en los patrones de actividad física entre las mediciones inicial y final en los tres grupos, lo que sugiere que a lo largo del ensayo no hubo alteraciones en la actividad física de los participantes.

En lo que respecta a la clasificación por valor de METS, el grupo T1 se identificó principalmente como inactivo, mientras que los grupos T2 y control fueron considerados predominantemente activos, es decir, presentaron un gasto inferior al punto de corte de inactividad física de 600 METs x minuto/semana.

Respecto al patrón de conducta sedentaria, todos los grupos de estudio fueron clasificados como no sedentarios.

Tabla 11: Nivel de actividad física durante el ensayo clínico en los grupos T1, T2 y control

	T1 (n=17)	T2 (n=18)	Control (n=19)		
Tiempo	Gasto Energético (METs minuto/semana)			Valor p*	Valor p**
Inicial	510 [160 – 1305]	800 [180 – 1740]	660 [255 – 1800]	NS	NS
Final	480 [80 – 1395]	730 [0 – 1575]	750 [270 – 1755]	NS	NS
$\Delta$ (I - F)	0	0	0	NS	NS
Clasificación	Inactiva	Activa	Activa		
Activo/inactivo	7/9	9/8	9/9		
Sedentarismo	No sedentario/a	No sedentario/a	No sedentario/a		

Valor p: NS (No Significativo). Valor p\*: indica diferencias entre grupos. Valor p\*\*: indica diferencias dentro de un grupo. Un valor  $p < 0,05$  se considera estadísticamente significativo.

#### 7.5.6. DETERMINACIÓN *IN VITRO* DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS FÓRMULAS T1 Y T2

Respecto al ensayo DPPH, esta evaluación se basó en la curva de calibración de Trolox (figura 3), la cual proporcionó un marco confiable para cuantificar la actividad antioxidante expresada en microgramos de Trolox por 100 gramos de materia seca ( $\mu\text{g}$  de Trolox/100g MS)

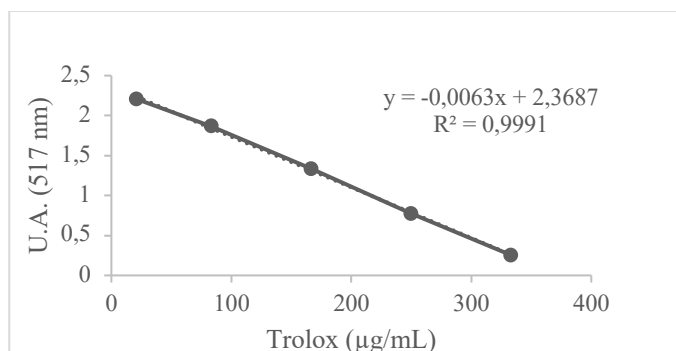


Figura 3: Curva de calibración de Trolox para método DPPH

En cuanto al método ORAC, en la figura 4 se observa el decaimiento en la emisión de fluorescencia de fluoresceína por efecto de los radicales peroxilo (AAPH) frente a la acción del Trolox a diferentes concentraciones. Además, se presenta la relación lineal entre el área bajo la curva (ABC<sub>R</sub>) del decaimiento de fluoresceína y la concentración de Trolox, cuyo ajuste da lugar a la ecuación de la recta que permite estimar los valores de ORAC para las muestras analizadas.

Los resultados de ORAC reflejan la actividad antioxidante de los extractos etanólicos y metanólicos, expresados en microgramos de Trolox por 100 gramos de materia seca (µg de Trolox/100g MS) para las fórmulas consumidas por los grupos con los tratamientos T1 y T2.

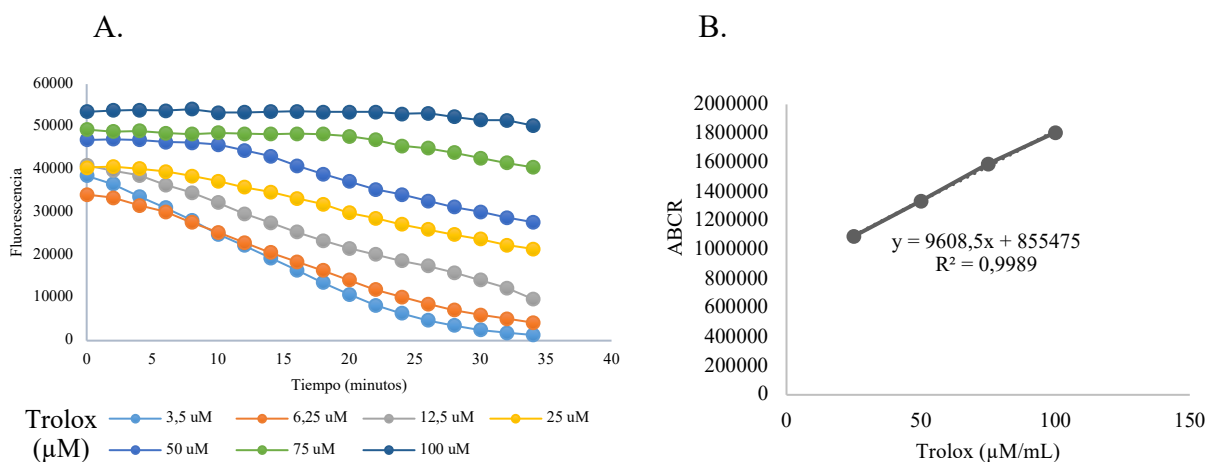


Figura 4: A. Decaimiento de la intensidad de fluorescencia de fluoresceína por efecto de los radicales peroxilo (AAPH) frente distintas concentraciones de Trolox. B. Relación área bajo la curva (ABC<sub>R</sub>) del decaimiento versus concentración de Trolox

La tabla 12 presenta los resultados de la actividad antioxidante medida por los métodos DPPH y ORAC de los extractos etanólicos y metanólicos de las fórmulas consumidas por los grupos T1 y T2.

En el análisis DPPH, se observa que el extracto etanólico de las fórmulas T1 y T2 presenta valores similares de actividad antioxidante, mientras que el extracto metanólico de T2 muestra un valor superior al de T1 lo que indica que la Formula PACAM tiene mayor capacidad antioxidante que la fórmula enriquecida para este estudio.

Tabla 12: Actividad antioxidante de extractos etanólicos y metanólicos en fórmulas T1 y T2 medida por DPPH y ORAC

	DPPH		ORAC	
	Extracto etanólico	Extracto metanólico	Extracto etanólico	Extracto metanólico
	(μmol de trolox/100g MS)			
T1	354 ± 63	260 ± 5	1633 ± 244	2709 ± 192
T2	359 ± 16	374 ± 22	8544 ± 352	6304 ± 366
Valor p	0,843	0,007	0,000	0,001

Valor p: NS (No Significativo)

Un valor  $p < 0,05$  se considera estadísticamente significativo

Respecto a los resultados de ORAC, el extracto etanólico de T2 presenta un valor superior de actividad antioxidante al compararse con T1; mientras que al igual que con DPPH el extracto metanólico de T2 exhibe un valor más elevado en comparación con T1, ambos resultados estadísticamente significativas.

En ambos métodos (DPPH y ORAC), la actividad antioxidante medida indica que la fórmula del PACAM tiene mayor capacidad antioxidante *in vitro* que la fórmula fortificada, diseñada para este estudio.

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1. EFECTO DEL CONSUMO DE LA FÓRMULA FORTIFICADA SOBRE LOS NIVELES PLASMATICOS DE INDICADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO

Los resultados de la evaluación de la capacidad antioxidante y el daño lipídico proporcionan información valiosa sobre la efectividad de las intervenciones en los grupos T1 y T2. En términos generales, la fortificación con resveratrol, omega 3 y leucina no generó cambios significativos en los indicadores plasmáticos de inflamación y estrés oxidativo. Estos resultados sugieren varias interpretaciones potenciales. Una posibilidad es que la intervención utilizada en el grupo T1 no sea lo suficientemente potente o no se administre en una dosis o duración adecuada para influir de manera significativa en la capacidad antioxidante. Alternativamente, podría ser que los mecanismos antioxidantes específicos evaluados no sean los más sensibles o relevantes para detectar cambios inducidos por la intervención en cuestión. También cabe cuestionar si es posible que el cuerpo humano cuente con mecanismos de compensación para mantener los niveles de antioxidantes estables, independientemente de las intervenciones externas.

En este estudio, los resultados indican que los niveles de TBARS, medidos como MDA, no presentan diferencias significativas entre los grupos T1, T2 y el grupo control. Esto sugiere que la fortificación de T1 con omega 3, resveratrol y leucina no tiene un impacto notable, ni positivo ni negativo, en el daño oxidativo de las membranas celulares de los eritrocitos tras 12 semanas de consumo. En la tabla 2 se observa que la dosis de resveratrol en T1 es de aproximadamente 50 mg/día por porción recomendada. Además, considerando que la bioaccesibilidad estimada mediante un método *in vitro* es del orden del 10%, como se menciona en la tabla 3, la cantidad del compuesto disponible para ejercer su acción está muy por debajo de lo reportado. Un ensayo clínico que incluyó a 97 personas mayores con diabetes tipo 2 mostró que la suplementación con dosis de 800 y 1000 mg/día de resveratrol durante 6 meses no generó cambios en los niveles de lipoperoxidación (90).

En la misma línea, un estudio que evaluó el efecto de la suplementación con cápsulas de omega-3 (180 mg de EPA y 120 mg de DHA) durante 8 semanas en adultos con diabetes tipo

2 no encontró diferencias significativas en los niveles de lipoperoxidación, medidos a través de TBARS (91). Este resultado es similar al obtenido en el presente estudio, que concluye que, con una dosis similar, alrededor de 230 mg de omega-3 por porción recomendada (tabla 2 y 3), no se observa una diferencia en los niveles de MDA.

En este sentido, en cuanto a la fortificación con Leucina, no se encontraron estudios que consideraran el efecto de la suplementación con leucina sobre la lipoperoxidación de membranas celulares en modelos *in vivo* o *in vitro* expresadas como MDA. Sin embargo, un estudio realizado en 2021 con personas mayores (n = 8) mostró que, después de 7 días de reposo y 5 días de rehabilitación hospitalaria, la suplementación de una dieta estructurada con leucina a una dosis de 0,06 g/kg de peso corporal por comida, reduce los niveles del marcador de peroxidación lipídica 4-hidroxi-2-nonenol (4-HNE) (80).

Los resultados de la capacidad antioxidante total (mM TEAC) muestran que la intervención en el grupo T1 produjo una leve disminución en los niveles de TEAC, sin significancia estadística, lo cual sugiere que la intervención podría no haber sido efectiva para mejorar la capacidad antioxidante. En la misma línea, en el grupo T2 y en el grupo control, los niveles de capacidad antioxidante permanecieron prácticamente estables a lo largo del estudio. Esto indica que, en ausencia de la intervención o con el consumo de la fórmula PACAM, no se produjo un cambio sustancial en la capacidad antioxidante, lo cual podría interpretarse como una falta de efecto por parte de la fortificación de la crema de legumbres y su capacidad para alterar el equilibrio redox durante las 12 semanas que duró el estudio.

Existen pocas evidencias que relacionen el efecto de la suplementación con compuestos como resveratrol, omega-3 y leucina, tanto de manera conjunta como por separado, sobre la capacidad antioxidante medida como TEAC en plasma humano, y ninguna de ellas se ha realizado en personas mayores de 60 años. Un ensayo clínico evaluó la capacidad antioxidante del plasma, expresada como TEAC, en adultos tras una suplementación de 6 días con una combinación de resveratrol y quercetina. Los resultados de este estudio no mostraron diferencias entre los grupos con intervención y sin intervención, lo que sugiere que de manera similar a lo ocurrido en este estudio, la suplementación con estos compuestos no tuvo un impacto significativo en la capacidad antioxidante (92).

Un estudio que tuvo por objetivo identificar la relación entre el estado de PUFAs en sangre y los marcadores circulatorios de estrés oxidativo en una cohorte de 172 sujetos, los resultados mostraron que mayores concentraciones PUFAs se correlacionaron positivamente con valores más altos de TEAC en hombres longevos (93).

De la misma manera que ocurrió con la evaluación del estrés oxidativo medido como MDA en eritrocitos, no se encontraron estudios que relacionaran el consumo de leucina con efectos sobre la capacidad antioxidante medida como TEAC en sujetos adultos jóvenes o ancianos.

## 8.2. EFECTO DEL CONSUMO DE LA FÓRMULA FORTIFICADA SOBRE LOS NIVELES PLASMATICOS DE INDICADORES DE INFLAMACIÓN

Los efectos de la dieta sobre los procesos inflamatorios han sido ampliamente investigados en estudios tanto observacionales como clínicos. La evidencia sugiere que cambios en los patrones dietéticos pueden reducir la inflamación sistémica y por consiguiente reducir el riesgo de enfermedades crónicas (94). Los resultados de este estudio son discordantes en con estas afirmaciones, ya que la fortificación de la fórmula no generó cambios en los niveles plasmáticos de PCR, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ .

Los datos reportados en las tablas 2 y 3 sobre la composición y bioaccesibilidad de T1 sugieren que la falta de efecto sobre los parámetros inflamatorios podría estar relacionada con las dosis alcanzadas de los compuestos de interés. En concordancia, un metaanálisis que incluyó 30 estudios controlados aleatorizados encontró que la suplementación con 1000 a 2000 mg/día de omega-3 durante al menos 8 semanas pudo reducir los niveles de PCR y TNF- $\alpha$  (93).

Por otro lado, un ensayo clínico en mujeres de 51 a 68 años mostró que la suplementación con 2,4 g de omega-3 durante 3 meses redujo en un 90% la síntesis de IL-1 $\beta$ , en un 70% TNF- $\alpha$  y en un 60% los niveles de IL-6 (55).

En relación al efecto antiinflamatorio del resveratrol, estudios previos han demostrado el papel del resveratrol en la reducción de marcadores inflamatorios. En un ensayo clínico, doble ciego en pacientes diabéticos concluyeron que el consumo 200 mg de resveratrol diarios durante 24 semanas, resultó en una reducción significativa de los niveles de PCR,

TNF- $\alpha$  e IL-6. (95). En un estudio que incluyó 20 sujetos adultos que consumieron 200 mg de extracto de *P. cuspidatum* que contenía 40 mg de resveratrol durante 6 semanas, resultó en una disminución significativa del TNF- $\alpha$  y la PCR plasmática (96). En otro estudio el consumo diario durante un año de un extracto de uva enriquecido con resveratrol, redujo la expresión de las citocinas proinflamatorias IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  de pacientes con diabetes tipo 2 y pacientes hipertensos con enfermedad coronaria (65).

Respecto al posible efecto de la suplementación con leucina en la inflamación sistémica, se ha observado que este aminoácido desempeña un papel crucial en la síntesis de proteínas y la regulación del metabolismo. Algunas investigaciones sugieren que la leucina podría tener efectos antiinflamatorios, especialmente en contextos de inflamación crónica. Se ha propuesto que, a través de la vía mTOR, la leucina estaría involucrada en el crecimiento celular y en la respuesta inmunitaria (76).

Por otro lado, en condiciones de inflamación aguda, el metabolismo de la leucina puede alterarse, lo que podría aumentar la necesidad de este aminoácido para la recuperación y el mantenimiento de la masa muscular. Así, la leucina podría desempeñar un papel dual en la inflamación, actuando como un modulador positivo según la naturaleza de la inflamación (97). En contraste con los hallazgos anteriores, un estudio que analizó el efecto de la suplementación con aminoácidos alifáticos de cadena ramificada (BCAA: leucina, isoleucina y valina) reveló que estos aminoácidos inducen respuestas proinflamatorias. Se observó la activación de la vía NF- $\kappa$ B y la producción de mediadores proinflamatorios, como citoquinas (IL-6 y TNF- $\alpha$ ) y moléculas de adhesión (ICAM-1, E-selectina y CD40L), en ensayos *in vivo* y *ex vivo* con ratones. Además, en esta misma investigación se evaluó el efecto de los suplementos de BCAA en humanos sanos, donde se registró un incremento de los niveles séricos de BCAA, alcanzando valores similares a los encontrados en pacientes diabéticos y obesos. Las concentraciones de BCAA alcanzadas indujeron activación del estrés oxidativo y la inflamación a través de la vía NF- $\kappa$ B (97).

Los resultados contrapuestos encontrados resaltan la necesidad de llevar a cabo estudios adicionales para comprender los mecanismos involucrados en estos efectos y para establecer dosis seguras de suplementación.

### 8.3. EFECTOS DEL CONSUMO DE LA FÓRMULA FORTIFICADA SOBRE EL METABOLISMO DE LA GLUCOSA Y LA INSULINA

Los resultados de la intervención reflejan algunas diferencias en la sensibilidad a la insulina, medidas a través del índice HOMA-IR, entre los grupos evaluados. La reducción en el grupo T1 sugiere que la fórmula enriquecida tuvo un efecto beneficioso en la mejora de la resistencia a la insulina. Esto estaría relacionado con la composición específica de la fórmula, ya que contiene ingredientes bioactivos y/o nutrientes con demostrado efecto sobre la sensibilidad a la insulina. Este efecto se atribuiría principalmente a la suplementación con resveratrol, ya que, aunque está presente en una dosis baja en la formulación, los resultados son consistentes con lo reportado en la literatura. Sin embargo, no ocurre lo mismo con la suplementación de omega-3 y leucina, donde los estudios que vinculan directa o indirectamente su impacto en el metabolismo de la glucemia en adultos mayores son limitados.

Diversos estudios señalan la eficacia de la suplementación con resveratrol sobre el metabolismo de la glucosa. La ingesta de resveratrol durante 30 días por adultos con obesidad, provocó una disminución de la glicemia en ayunas, con resultados similares a los obtenidos mediante una restricción calórica (98). Un análisis de 21 estudios clínicos en pacientes con sobrepeso u obesidad, mostró que el tratamiento con resveratrol reduce los niveles de glucosa en ayunas (99). En otro estudio, la administración de resveratrol durante 30 días a sujetos con obesidad redujo los niveles de glucagón posprandial (100). El tratamiento con resveratrol de pacientes con DM2 en dosis cercanas a 1 g/día durante 45 días, redujo los niveles de glucosa en sangre en ayunas, los niveles de HbA1c y mejoró la resistencia a la insulina medida como HOMA-IR (101).

Los suplementos dietéticos comerciales contienen en promedio entre 50 y 500 mg de trans-resveratrol, estudios clínicos en humanos sugieren que dosis de 450 mg/día de resveratrol representan una dosis segura de ingesta para sujetos adultos (102), ya que dosis más altas (cercanas a 2000 mg dos veces al día) ocasionaban trastornos gastrointestinales leves a moderados (102, 103).

En relación al efecto del omega 3 en el metabolismo de la glucosa, un ensayo clínico que incluyó a 200 participantes estudió el efecto de la suplementación con ácidos grasos omega 3 en combinación con esteroides vegetales durante 12 semanas, concluyeron que esta combinación redujo de manera significativa los niveles de HOMA-IR y HbA1c, asimismo que los omega 3 por sí solo fueron capaces de reducir los niveles de HOMA-IR y PCR (104). En la misma línea, una revisión que investigó la relación entre los niveles circulantes de adiponectina y la glucemia concluyó que, en general, la suplementación con omega-3 durante más de 8 semanas fue capaz de aumentar los niveles de adiponectina y reducir significativamente los niveles de glicemia en pacientes con diabetes tipo 2 (105).

Un estudio reciente en personas mayores sin enfermedades metabólicas que siguieron una dieta estructurada suplementada con leucina (0,06 g/kg de peso corporal por comida) durante su estadía hospitalaria demostró que la suplementación mejoró la sensibilidad a la insulina, evaluada mediante una prueba de tolerancia a la glucosa oral (75 g), después de un período de reposo en cama y rehabilitación. Los autores sugieren que la leucina puede aumentar la sensibilidad a la insulina al mejorar la bioenergética y la función mitocondrial del músculo esquelético (106, 107).

#### 8.4. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE LAS FÓRMULAS T1 Y T2

Los resultados del análisis de actividad antioxidante mediante los métodos DPPH y ORAC indican que existen diferencias estadísticamente significativas entre las formulaciones T1 y T2, independientemente del solvente de extracción utilizado (etanólico o metanólico). Estos hallazgos sugieren que la capacidad antioxidante *in vitro* de las formulaciones no varía significativamente con el tipo de extracción (etanólica o metanólica), pero si evidencia que la fortificación de T1 no genera un aumento en la capacidad antioxidante al compararla con la formula actualmente entregada por el PACAM.

El extracto etanólico T1 mostró una capacidad antioxidante considerablemente menor que T2, lo que sugiere que el método o las condiciones utilizadas en T2 son más eficientes para extraer los compuestos antioxidantes presentes.

En el caso de los extractos metanólicos, se observa nuevamente que el tipo de extracción y los compuestos presentes en T2 aumentan tanto la eficiencia de la extracción como la cantidad de antioxidantes obtenidos en esta matriz alimentaria. En comparación, los valores de actividad antioxidante en T1 son menores, posiblemente debido a la degradación de algunos compuestos antioxidantes durante el proceso de secado, a que los compuestos extraídos presentan una baja actividad antioxidante, o a que las cápsulas no se liberan completamente durante la extracción. . Esto coincide con la limitada biodisponibilidad del principal compuesto antioxidante con el que fue fortificada la fórmula, el resveratrol, cuya biodisponibilidad se reduce al 10% tras la simulación proceso digestivo (Tabla 3).

En este estudio, el ensayo DPPH se utilizó como control positivo de antioxidantes en el proceso de extracción con solventes, antes de realizar el ORAC. Sin embargo, sería interesante aplicar esta metodología para calcular el IC50, lo que facilitaría una comparación más precisa con la literatura existente, dado que la mayoría de los estudios reportan el valor de DPPH como IC50.

Al comparar los valores de capacidad antioxidante obtenidos mediante las fórmulas T1 y T2 de ORAC con datos de la literatura, se observan mayores diferencias entre los distintos extractos y alimentos analizados. La tabla 13 resume los resultados obtenidos en la búsqueda de capacidad antioxidante total en alimentos de diversas familias. Los resultados demuestran que los extractos de T2 (tanto etanólicos como metanólicos) tienen una mayor capacidad antioxidante en comparación con T1 y otros alimentos (108, 109, 110, 111). Esto podría deberse a diferencias en los compuestos bioactivos extraídos o en la eficiencia del proceso de extracción. Por lo tanto, es importante considerar las condiciones de extracción y el tipo de solvente utilizado para maximizar la obtención de compuestos con alta capacidad antioxidante.

La suplementación con compuestos bioactivos como omega-3, resveratrol y leucina en T1 parece ser una estrategia efectiva para aumentar la actividad antioxidante en comparación con muchos alimentos naturales tanto de origen vegetal como animal. Los extractos de ambas fórmulas superaron en capacidad antioxidante a la mayoría de los vegetales estudiados, como la zanahoria, el zapallo camote y la lechuga (109).

Al comparar T1 con alimentos de origen animal, como los huevos y el salmón, se observa que los valores de actividad antioxidante son similares (110), lo que indica que la suplementación puede ofrecer una capacidad antioxidante comparable a estas fuentes. Sin embargo, en comparación con otras fuentes reconocidas por su alto contenido de antioxidantes, como el vino tinto (rico en resveratrol)(109, 110) y los arándanos (elevado contenido de antocianinas) (108,109), los extractos de T1 mostraron valores de ORAC menores.

Esta comparación contextualiza el nivel de actividad antioxidante alcanzado por los extractos de la fórmulas fortificadas y PACAM, destacando su potencial como vehículos eficaces para la administración de compuestos bioactivos.

A partir de los resultados obtenidos en la capacidad antioxidante medida por DPPH y ORAC, y considerando los datos de composición de T1 y la bioaccesibilidad *in vitro* de sus componentes, presentados en las tablas 3 y 2, respectivamente, es posible inferir que el bajo efecto antioxidante observado por ambos métodos se debe a las dosis alcanzadas en la formulación, las cuales son considerablemente inferiores a las reportadas en la literatura para estos mismos compuestos, ya sea en su forma aislada o en otras formulaciones. En la formulación T1, el omega 3 se encuentra en una concentración aproximada de 450 mg por cada 100 g de materia seca (MS), el resveratrol en una dosis cercana a 20 mg/100 g MS y la leucina en 3,4 g/ 100 g MS. Al comparar estos datos con los estudios anteriores, se puede observar que en aquellos casos donde se reportan efectos antioxidantes, los compuestos bioactivos se emplean en dosis notables superiores a las alcanzadas con esta formulación. En estudios previos, los efectos antioxidantes de compuestos como el omega 3, el resveratrol y la leucina han sido evidentes a dosis más elevadas. Por ejemplo, investigaciones con resveratrol han mostrado actividad antioxidante en dosis superiores a 50 mg/día (65, 66, 67), mientras que para el omega 3, las cantidades efectivas suelen ser superiores a 1 g/día (55-56). La leucina también ha mostrado efectos en dosis que superan las alcanzadas en T1 (78). En este contexto, para mejorar el efecto antioxidante de la formulación, será necesario aumentar las dosis de los compuestos bioactivos o combinar la formulación con otros ingredientes que puedan potenciar su actividad antioxidante a las concentraciones actuales.

Tabla 13: Comparación de valores de ORAC de T1 y T2 con alimentos de diversos orígenes

Alimento	ORAC (umol/100 gMS)
Extracto etanólico T1	1633 ± 244
Extracto etanólico T2	8544 ± 352
Extracto metanólico T1	2709 ± 192
Extracto metanólico T2	6304 ± 366
Arándanos negros	4826 ± 375
Vino tinto	4198 ± 401
Almendras	3742 ± 376
Nueces	13037 ± 566
Salmón	1500 ± 89
Huevo de gallina	1200 ± 123
Lechuga	720 ± 35
Zapallo camote	670 ± 19
Zanahoria	222 ± 4

## 9. CONCLUSIONES

Tras 12 semanas de ingesta diaria de la crema de legumbres enriquecida, no se observaron cambios estadísticamente significativos en los indicadores de inflamación de bajo grado en el grupo de personas mayores. Sin embargo, se registró una disminución en el índice HOMA-IR, sugiriendo una posible mejora en la sensibilidad a la insulina.

Asimismo, aunque no se encontraron modificaciones significativas en la mayoría de los indicadores plasmáticos de inflamación y estrés oxidativo, la ingesta de la crema de legumbres enriquecida con compuestos bioactivos mostró una mejora en la capacidad antioxidante del plasma al compararlo con los otros grupos estudiados, lo que sugiere cierto potencial de la crema de legumbres enriquecida como medio para influir en los procesos oxidativos en personas mayores.

Los hallazgos de este estudio concluyen que la fortificación de alimentos podría ser una estrategia valiosa para mejorar la salud de las personas mayores, siempre que las dosis de compuestos bioactivos sean similares a aquellas que hayan demostrado un efecto clínico significativo en el grupo objetivo.

Se recomienda realizar estudios adicionales para explorar más a fondo estos efectos y evaluar la duración, las estrategias de formulación y las dosis óptimas de suplementación.

## 10. REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud (OMS), 2014. Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles, 2014. “Cumplimiento de las nueve metas mundiales relativas a las enfermedades no transmisibles: una responsabilidad compartida”
2. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), 2009. La agricultura mundial en la perspectiva para el año 2050. Foro de expertos de alto nivel.
3. Instituto Nacional de Estadística (INE) Gobierno de Chile (2018). Estimaciones y proyecciones de la población de Chile 1992-2050 total país.
4. Ministerio de Salud (MINSAL) Gobierno de Chile (2017). Encuesta Nacional de Salud 2016-2017.
5. Bennett, J. M., Reeves, G., Billman, G. E. & Sturmberg, J. P. Inflammation— nature’s way to efficiently respond to all types of challenges: implications for understanding and managing “the epidemic” of chronic diseases. *Front. Med.* 5, 316 (2018).
6. Ministerio de Salud (MINSAL) Gobierno de Chile (2013). Bases técnicas crema años dorados.
7. Straub, R. H., Cutolo, M., Buttgerit, F. & Pongratz, G. Energy regulation and neuroendocrine-immune control in chronic inflammatory diseases. *J. Intern. Med.* 267, 543–560 (2010).
8. Straub, R. H., Cutolo, M. & Pacifici, R. Evolutionary medicine and bone loss in chronic inflammatory diseases a theory of inflammation related osteopenia. *Semin. Arthritis Rheum.* 45, 220–228 (2015).
9. Straub, R. H. & Schradin, C. Chronic inflammatory systemic diseases: an evolutionary trade-off between acutely beneficial but chronically harmful programs. *Evol. Med. Public Health* 2016, 37–51 (2016).
10. Furman D, Chang J, Lartigue L, Bolen CR, Haddad F, Gaudilliere B, Ganio EA, Fragiadakis GK, Spitzer MH, Douchet I, Daburon S, Moreau JF, Nolan GP, Blanco P, Déchanet-Merville J, Dekker CL, Jovic V, Kuo CJ, Davis MM, Faustin B. Expression of specific inflammasome gene modules stratifies older individuals into two extreme clinical and immunological states. *Nat Med.* 2017 Feb;23(2):174-184.
11. Taniguchi, K. & Karin, M. NF- $\kappa$ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nat. Rev. Immunol.* 18, 309–324 (2018).

12. Ferrucci, L. & Fabbri, E. Infammageing: chronic infammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. *Nat. Rev. Cardiol.* 15, 505–522 (2018).
13. Franceschi, C., Garagnani, P., Vitale, G., Capri, M. & Salvioli, S. Infammaging and ‘garb-aging’. *Trends Endocrinol. Metab.* 28, 199–212 (2017).
14. Jin, C., Henao-Mejia, J. & Flavell, R. A. Innate immune receptors: key regulators of metabolic disease progression. *Cell Metab.* 17, 873–882 (2013).
15. Hotamisligil, G. S. Infammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature* 542, 177–185 (2017).
16. Kazankov, K., Jørgensen, S. M. D., Thomsen, K. L., Møller, H. J., Vilstrup, H., George, J., Schuppan, D., & Grønbaek, H. (2019). The role of macrophages in nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 16(3), 145–159. <https://doi.org/10.1038/s41575-018-0082-x>
17. Gisterå, A. & Hansson, G. K. Te immunology of atherosclerosis. *Nat Rev. Nephrol.* 13, 368–380 (2017)
18. Miller, A. H. & Raison, C. L. Te role of infammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. *Nat. Rev. Immunol.* 16, 22–34 (2016).
19. Bennett, J. M., Reeves, G., Billman, G. E. & Sturmborg, J. P. Infammation– nature’s way to efciently respond to all types of challenges: implications for understanding and managing “the epidemic” of chronic diseases. *Front. Med.* 5, 316 (2018).
20. Heneka, M. T., Kummer, M. P. & Latz, E. Innate immune activation in neurodegenerative disease. *Nat. Rev. Immunol.* 14, 463–477 (2014)
21. Redlich, K. & Smolen, J. S. Infammatory bone loss: pathogenesis and therapeutic intervention. *Nat. Rev. Drug Discov.* 11, 234–250 (2012).
22. Straub, R. H. Te brain and immune system prompt energy shortage in chronic infammation and ageing. *Nat. Rev. Rheumatol.* 13, 743–751 (2017)
23. Calder, P. C., Ahluwalia, N., Albers, R., Bosco, N., Bourdet-Sicard, R., Haller, D., Holgate, S. T., Jönsson, L. S., Latulippe, M. E., Marcos, A., Moreines, J., M'Rini, C., Müller, M., Pawelec, G., van Neerven, R. J., Watzl, B., & Zhao, J. (2013). A consideration of biomarkers to be used for evaluation of inflammation in human nutritional studies. *The British journal of nutrition*, 109 Suppl 1, S1–S34. <https://doi.org/10.1017/S0007114512005119>
24. Kotas, M. E. & Medzhitov, R. Homeostasis, infammation, and disease susceptibility. *Cell* 160, 816–827 (2015).

25. Fullerton, J. N. & Gilroy, D. W. Resolution of inflammation: a new therapeutic frontier. *Nat. Rev. Drug Discov.* 15, 551–567 (2016)
26. Emerging Risk Factors Collaboration, Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Lowe, G., Pepys, M. B., Thompson, S. G., Collins, R., & Danesh, J. (2010). C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet* (London, England), 375(9709), 132–140. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61717-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61717-7)
27. Campisi, J. Aging, cellular senescence, and cancer. *Annu. Rev. Physiol.* 75, 685–705 (2013)
28. Efros, R. B. The silent war of CMV in aging and HIV infection. *Mech. Ageing Dev.* 158, 46–52 (2016).
29. Stout, M. B., Justice, J. N., Nicklas, B. J. & Kirkland, J. L. Physiological aging: links among adipose tissue dysfunction, diabetes, and frailty. *Physiology* (Bethesda) 32, 9–19 (2017)
30. Franceschi, C., Garagnani, P., Parini, P., Giuliani, C. & Santoro, A. Inflammaging: a new immune-metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat. Rev. Endocrinol.* 159, 1–15 (2018).
31. Zitvogel, L., Pietrocola, F. & Kroemer, G. Nutrition, inflammation and cancer. *Nat. Immunol.* 18, 843–850 (2017).
32. Franceschi C, Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J. Gerontol. Ser. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2014; 69: S4–S9 (2014).
33. Bulló, M., Casas, R., Portillo, M. P., Basora, J., Estruch, R., García-Arellano, A., Lasa, A., Juanola-Falgarona, M., Arós, F., & Salas-Salvadó, J. (2013). Dietary glycemic index/load and peripheral adipokines and inflammatory markers in elderly subjects at high cardiovascular risk. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD*, 23(5), 443–450. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2011.09.009>
34. Brasacchio, D., Okabe, J., Tikellis, C., Balcerczyk, A., George, P., Baker, E. K., Calkin, A. C., Brownlee, M., Cooper, M. E., & El-Osta, A. (2009). Hyperglycemia induces a dynamic cooperativity of histone methylase and demethylase enzymes associated with gene-activating epigenetic marks that coexist on the lysine tail. *Diabetes*, 58(5), 1229–1236. <https://doi.org/10.2337/db08-1666>
35. León-Pedroza, J. I., González-Tapia, L. A., del Olmo-Gil, E., Castellanos-Rodríguez, D., Escobedo, G., & González-Chávez, A. (2015). Low-grade systemic inflammation and the development of metabolic diseases: from the molecular evidence to the clinical practice. *Cirugía y cirujanos*, 83(6), 543–551. <https://doi.org/10.1016/j.circir.2015.05.041>

36. Hotamisligil, G. S., Shargill, N. S., & Spiegelman, B. M. (1993). Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science (New York, N.Y.)*, 259(5091), 87–91. <https://doi.org/10.1126/science.7678183>
37. Furman, D., Campisi, J., Verdín, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C., Ferrucci, L., Gilroy, D. W., Fasano, A., Miller, G. W., Miller, A. H., Mantovani, A., Weyand, C. M., Barzilai, N., Goronzy, J. J., Rando, T. A., Effros, R. B., Lucia, A., Kleinstreuer, N., & Slavich, G. M. (2019). Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nature medicine*, 25(12), 1822–1832. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0675-0>
38. Booth, F. W., Roberts, C. K. & Laye, M. J. Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. *Compr. Physiol.* 2, 1143–1211 (2012).
39. Schipper, H. S., Prakken, B., Kalkhoven, E. & Boes, M. Adipose tissue resident immune cells: key players in immunometabolism. *Trends Endocrinol. Metabol.* 23, 407–415 (2012).
40. Frasca, D., Blomberg, B. B. & Paganelli, R. Aging, obesity, and inflammatory age-related diseases. *Front. Immunol.* 8, 1745 (2017).
41. Grant, R. W. & Dixit, V. D. Adipose tissue as an immunological organ. *Obesity (Silver Spring)* 23, 512–518 (2015).
42. León Regal, Milagros, Cedeño Morales, Raúl, Rivero Morey, Rodolfo, Rivero Morey, Jeisy, García Pérez, Diana, & Bordón González, Leissay. (2018). La teoría del estrés oxidativo como causa directa del envejecimiento celular. *MediSur*, 16(5), 699-710. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-897X2018000500012&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2018000500012&lng=es&tlng=es).
43. Belenguer Varea, Á., Mohamed Abdelaziz, K., Avellana Zaragoza, JA, Borrás Blasco, C., Sanchis Aguilar, P., & Viña Ribes, J. (2015). El estrés oxidativo como predictor de longevidad; estudio de casos y controles. *Revista española de geriatría y gerontología*, 50 (1), 16–21. <https://doi.org/10.1016/j.regg.2014.05.011>
44. Ceriello, A., Bortolotti, N., Motz, E., Crescentini, A., Lizzio, S., Russo, A., Tonutti, L., & Taboga, C. (1998). Meal-generated oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes care*, 21(9), 1529–1533. <https://doi.org/10.2337/diacare.21.9.1529>
45. Prasad K, Dhar I. Oxidative stress as a mechanism of added sugar-induced cardiovascular disease. *Int. J. Angiol.* 2014; 23: 217–226.
46. Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 13, 757–772. <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>

47. Hajam, Y. A., Rani, R., Ganie, S. Y., Sheikh, T. A., Javaid, D., Qadri, S. S., Pramodh, S., Alsulimani, A., Alkhanani, M. F., Harakeh, S., Hussain, A., Haque, S., & Reshi, M. S. (2022). Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives. *Cells*, 11(3), 552. <https://doi.org/10.3390/cells11030552>
48. Calder, P. C. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes: from molecules to man. *Biochem. Soc. Trans.* 45, 1105–1115 (2017)
49. Castellanos T, Lyssia, & Rodriguez D, Mauricio. (2015). El efecto de omega 3 en la salud humana y consideraciones en la ingesta. *Revista chilena de nutrición*, 42(1), 90-95. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182015000100012>
50. Burr ML, Dunstan FD, George CH. Is fish oil good or bad for heart disease. Two trials with apparently conflicting results. *J Membr Biol.* 2005; 206(2): 155-63.
51. Ebbesson, S. O., Adler, A. I., Risica, P. M., Ebbesson, L. O., Yeh, J. L., Go, O. T., Doolittle, W., Ehlert, G., Swenson, M., & Robbins, D. C. (2005). Cardiovascular disease and risk factors in three Alaskan Eskimo populations: the Alaska-Siberia project. *International journal of circumpolar health*, 64(4), 365–386. <https://doi.org/10.3402/ijch.v64i4.18014>
52. Arterburn LM, Hall EB, Oken H. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr.* 2006; 83(6 Suppl): 1467S-76S.
53. Lee Y.H., Bae S.C., Song G.G. “Omega-3 polyunsaturated fatty acids and the treatment of rheumatoid arthritis: a meta-analysis”. *Curr Neuropharmacol.* 2015;13(5):663-80.
54. Goldberg RJ, Katz J. “A meta-analysis of the analgesic effects of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation for inflammatory joint pain”. *Pain.* 2007 May;129(1-2):210-23
55. Meydani, S. N., Endres, S., Woods, M. M., Goldin, B. R., Soo, C., Morrill-Labrode, A., Dinarello, C. A., & Gorbach, S. L. (1991). Oral (n-3) fatty acid supplementation suppresses cytokine production and lymphocyte proliferation: comparison between young and older women. *The Journal of nutrition*, 121(4), 547–555. <https://doi.org/10.1093/jn/121.4.547>
56. Kwon Y. Immuno-resolving ability of resolvins, protectins, and maresins derived from omega-3 fatty acids in metabolic syndrome. *Mol Nutr Food Res.* 64(4); (2020)

57. Siscovick, D. S., Barringer, T. A., Fretts, A. M., Wu, J. H., Lichtenstein, A. H., Costello, R. B., Kris-Etherton, P. M., Jacobson, T. A., Engler, M. B., Alger, H. M., Appel, L. J., Mozaffarian, D., & American Heart Association Nutrition Committee of the Council on Lifestyle and Cardiometabolic Health; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; and Council on Clinical Cardiology (2017). Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid (Fish Oil) Supplementation and the Prevention of Clinical Cardiovascular Disease: A Science Advisory From the American Heart Association. *Circulation*, 135(15), e867–e884. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000482>
58. Da Silva E, Nachbar R, Levada-Pires A, Hirabara S, Lambertucci R. Omega-3 fatty acids differentially modulate enzymatic anti-oxidant systems in skeletal muscle cells. *Cell Stress Chaperones*; 21(1): 87-95. (2016).
59. Castellanos T Lyssia, Rodriguez D Mauricio. El efecto de omega 3 en la salud humana y consideraciones en la ingesta. *Rev. chil. Nutr.*; 42( 1 ): 90-95. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182015000100012&lng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182015000100012&lng=es). <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182015000100012>.
60. Heshmati, J., Morvaridzadeh, M., Maroufizadeh, S., Akbari, A., Yavari, M., Amirinejad, A., Maleki-Hajiagha, A., & Sepidarkish, M. (2019). Omega-3 fatty acids supplementation and oxidative stress parameters: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Pharmacological research*, 149, 104462. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104462>
61. Gambini, J., López-Grueso, R., Olaso-González, G., Inglés, M., Abdelazid, K., El Alami, M., Bonet-Costa, V., Borrás, C., & Viña, J. (2013). Resveratrol: distribución, propiedades y perspectivas. *Revista española de geriatría y gerontología*, 48 (2), 79–88. <https://doi.org/10.1016/j.regg.2012.04.007>
62. Li Y, Li S, Lin C. Effect of resveratrol and pterostilbene on aging and longevity. *Biofactors*.44(1):69-82. (2018).
63. Bo, S., Ciccone, G., Castiglione, A., Gambino, R., De Michieli, F., Villois, P., Durazzo, M., Cavallo-Perin, P., & Cassader, M. (2013). Anti-inflammatory and antioxidant effects of resveratrol in healthy smokers a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over trial. *Current medicinal chemistry*, 20(10), 1323–1331. <https://doi.org/10.2174/0929867311320100009>
64. Witte AV, Kerti L, Margulies DS, Flöel A. Effects of resveratrol on memory performance, hippocampal functional connectivity, and glucose metabolism in healthy older adults. *J Neurosci*.34(23):7862-70. (2014).

65. Tomé-Carneiro, J., Larrosa, M., Yáñez-Gascón, M. J., Dávalos, A., Gil-Zamorano, J., González, M., García-Almagro, F. J., Ruiz Ros, J. A., Tomás-Barberán, F. A., Espín, J. C., & García-Conesa, M. T. (2013). One-year supplementation with a grape extract containing resveratrol modulates inflammatory-related microRNAs and cytokines expression in peripheral blood mononuclear cells of type 2 diabetes and hypertensive patients with coronary artery disease. *Pharmacological research*, 72, 69–82. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2013.03.011>
66. Timmers, S., Konings, E., Bilet, L., Houtkooper, R. H., van de Weijer, T., Goossens, G. H., Hoeks, J., van der Krieken, S., Ryu, D., Kersten, S., Moonen-Kornips, E., Hesselink, M. K. C., Kunz, I., Schrauwen-Hinderling, V. B., Blaak, E., Auwerx, J., & Schrauwen, P. (2011). Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. *Cell metabolism*, 14(5), 612–622. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.10.002>
67. Abdelhaleem, IA, Brakat, AM, Adayel, HM, Asla, MM, Rizk, MA y Aboalfetoh, AY (2022). Los efectos del resveratrol sobre el control glucémico y los parámetros cardiometabólicos en pacientes con DM2: revisión sistemática y metanálisis. *Medicina Clínica*, 158 (12), 576–585. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2021.06.028>
68. Nicolás-Méndez, Tonancy, Ortiz-Muñiz, Alda Rocío, Mendoza-Núñez, Víctor Manuel, & García-Rodríguez, María del Carmen. (2020). El papel del resveratrol sobre el estrés oxidante inducido por metales pesados. *Nutrición Hospitalaria*, 37(2), 374-383.
69. Sáenz Chávez Pedro Lennon, Garza Ocañas Lourdes, Badillo Castañeda Christian Tadeo, Tamez de la O Eduardo Javier, Triana Verástegui Jesús. Tolerabilidad del resveratrol y efectos sobre parámetros bioquímicos sanguíneos. *Rev. mex. cienc. farm [revista en la Internet]*. 2014 Dic [citado 2025 Ene 07]; 45( 4 ): 1-7. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-01952014000400008&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952014000400008&lng=es).
70. Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, Boirie Y, Cederholm T, Landi F, Martin FC, Michel JP, Rolland Y, Schneider SM, Topinková E, Vandewoude M, Zamboni M; European Working Group on Sarcopenia in Older People. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing*. 2010 Jul;39(4):412-23. doi: 10.1093/ageing/afq034. Epub 2010 Apr 13. PMID: 20392703; PMCID: PMC2886201.
71. Budui SL, Rossi AP. The pathogenetic bases of sarcopenia. *Clin. Cases Miner. Bone Metab.* 12 (2): 22–26. (2015).
72. Schaap A, Pluijm SMF, Deeg DJH, Visser M. Inflammatory markers and loss of muscle mass (Sarcopenia) and strength. *Am. J. Med.* 119 (6): 526. e9– 17. (2006).

73. De Bandt JP. Leucine and Mammalian Target of Rapamycin-Dependent Activation of Muscle Protein Synthesis in Aging. *J. Nutr.* 146, 2616S–2624S. (2016).
74. Casperson S.L., Sheffield-Moore M., Hewlings S.J., Paddon-Jones, D. Leucine supplementation chronically improves muscle protein synthesis in older adults consuming the RDA for protein. *Clin. Nutr.* 31, 512–519. (2012).
75. Hill, T. R., Verlaan, S., Biesheuvel, E., Eastell, R., Bauer, J. M., Bautmans, I., Brandt, K., Donini, L. M., Maggio, M., Mets, T., Seal, C. J., Wijers, S. L., Sieber, C., Cederholm, T., Aspray, T. J., & PROVIDE Consortium (2019). A Vitamin D, Calcium and Leucine-Enriched Whey Protein Nutritional Supplement Improves Measures of Bone Health in Sarcopenic Non-Malnourished Older Adults: The PROVIDE Study. *Calcified tissue international*, 105(4), 383–391. <https://doi.org/10.1007/s00223-019-00581-6>
76. Martinez-Arnau F, Fonfría-Vivas R, Cauli O. Beneficial effects of leucine supplementation on criteria for sarcopenia: a systematic review. *Nutrients* 2019; 11 (810): 2504.
77. Xu Z, Tan Z, Zhang Q, Gui Q, Yang Y. The effectiveness of leucine on muscle protein synthesis, lean body mass and leg lean mass accretion in older people: a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Nutrition.* 2015;113(1):25-34. doi:10.1017/S0007114514002475
78. Conde Maldonado E, Marqués-Jiménez D, Casas-Agustench P, Bach-Faig A. Effect of supplementation with leucine alone, with other nutrients or with physical exercise in older people with sarcopenia: a systematic review. *Endocrinol Diabetes Nutr [Internet].* 2022;69(8):601–13. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2530016421002834>
79. Papadopoulou S. K. (2020). Sarcopenia: A Contemporary Health Problem among Older Adult Populations. *Nutrients*, 12(5), 1293. <https://doi.org/10.3390/nu12051293>
80. Arentson-Lantz EJ, Mikovic J, Bhattarai N, Fry CS, Lamon S, Porter C, Paddon-Jones D. Leucine augments specific skeletal muscle mitochondrial respiratory pathways during recovery following 7 days of physical inactivity in older adults. *J Appl Physiol* (1985). 2021 May 1;130(5):1522-1533
81. Cesari M, Penninx BW, Pahor M, Lauretani F, Corsi AM, Rhys Williams G, Guralnik JM, Ferrucci L. Inflammatory markers and physical performance in older persons: the InCHIANTI study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2004
82. Casals, Cristina, Suárez-Cadenas, Ernesto, Estébanez Carvajal, Francisca María, Aguilar Trujillo, María Pilar, Jiménez Arcos, María Matilde, & Vázquez Sánchez, María Ángeles. (2017). Relación entre calidad de vida, actividad física, alimentación y control glucémico con la sarcopenia de adultos mayores con diabetes mellitus tipo 2. *Nutrición Hospitalaria*, 34(5), 1198-1204.

83. Benavides, S., Reano, G., Zúñiga, R., Castillo, O., Vásquez, F., Pérez, F. y Mariotti Celis, M. Nutritional status and food consumption of older adults beneficiaries of state supplementary food programs in the city of Santiago de Chile. (2020).
84. Desai, K.; Park, H. 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technol.* 23(7), 1361- 1394.
85. Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. y Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. *Food Research International* 40:1107–1121.
86. Esterbauer, K., Cheeseman, H., Dianzani, M., Poli, G. y Slater, T. (1982). Separación y caracterización de los productos aldehídicos de la peroxidación lipídica estimulada por ADP-Fe<sup>2+</sup> en microsomas de hígado de rata. *Biochemical Journal*, 208 (1), 129–140.
87. Romay, C., Pascual, C., y Lissi, E. (1996). Reacción entre el catión radical ABTS y los antioxidantes y su uso para evaluar el estado antioxidante de muestras de suero. *Revista Brasileña de Investigación Médica y Biológica*, 29, 175–183.
88. Zúñiga-López, M. C., Maturana, G., Campmajó, G., Saurina, J., & Núñez, O. (2021). Determination of bioactive compounds in sequential extracts of chia leaf (*Salvia hispanica* L.) using uhplc-hrms (q-orbitrap) and a global evaluation of antioxidant invitro capacity. *Antioxidants*, 10(7), 1151. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX10071151/S1>
89. Zapata, C., & Zapata, P. (2019). Estandarización del Método ORAC como Herramienta Básica de Análisis de la Capacidad Antioxidante.
90. Seyyedebrahimi, S., Khodabandehloo, H., Nasli Esfahani, E., & Meshkani, R. (2018). The effects of resveratrol on markers of oxidative stress in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Acta diabetologica*, 55(4), 341–353. <https://doi.org/10.1007/s00592-017-1098-3>
91. Fayh APT, Borges K, Cunha GS, Krause M, Rocha R, de Bittencourt PIH Jr, Moreira JCF, Friedman R, da Silva Rossato J, Fernandes JR, Reischak-Oliveira A. Effects of n-3 fatty acids and exercise on oxidative stress parameters in type 2 diabetic: a randomized clinical trial. *J Int Soc Sports Nutr.* 2018 Apr 23; 15:18. doi: 10.1186/s12970-018-0222-2. PMID: 29713249; PMCID: PMC5914016.
92. McAnulty LS, Miller LE, Hosick PA, Utter AC, Quindry JC, McAnulty SR. Effect of resveratrol and quercetin supplementation on redox status and inflammation after exercise. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2013 Jul;38(7):760-5. doi: 10.1139/apnm-2012-0455. Epub 2013 Mar 8. PMID: 23980734.

93. Aiello, A., Medoro, A., Accardi, G., Calabrò, A., Carru, C., Cannavo, A., Caruso, C., Candore, G., Scapagnini, G., Corbi, G., Ali, S., & Davinelli, S. (2024). Polyunsaturated fatty acid status and markers of oxidative stress and inflammation across the lifespan: A cross-sectional study in a cohort with long-lived individuals. *Experimental gerontology*, 195, 112531. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2024.112531>
94. Aleksandrova, K., Koelman, L., & Rodrigues, C. E. (2021). Dietary patterns and biomarkers of oxidative stress and inflammation: A systematic review of observational and intervention studies. *Redox biology*, 42, 101869. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101869>
95. Mahjabeen, W., Khan, D. A., & Mirza, S. A. (2022). Role of resveratrol supplementation in regulation of glucose hemostasis, inflammation and oxidative stress in patients with diabetes mellitus type 2: A randomized, placebo-controlled trial. *Complementary therapies in medicine*, 66, 102819. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2022.102819>
96. Ghanim, H., Sia, C. L., Abuaysheh, S., Korzeniewski, K., Patnaik, P., Marumganti, A., Chaudhuri, A., & Dandona, P. (2010). An antiinflammatory and reactive oxygen species suppressive effects of an extract of *Polygonum cuspidatum* containing resveratrol. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 95(9), E1–E8. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-0482>
97. Zhenyukh, O., González-Amor, M., Rodrigues-Diez, R. R., Esteban, V., Ruiz-Ortega, M., Salaices, M., Mas, S., Briones, A. M., & Egido, J. (2018). Branched-chain amino acids promote endothelial dysfunction through increased reactive oxygen species generation and inflammation. *Journal of cellular and molecular medicine*, 22(10), 4948–4962. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13759>
98. Timmers, S., Konings, E., Bilet, L., Houtkooper, R. H., van de Weijer, T., Goossens, G. H., Hoeks, J., van der Krieken, S., Ryu, D., Kersten, S., Moonen-Kornips, E., Hesselink, M. K. C., Kunz, I., Schrauwen-Hinderling, V. B., Blaak, E., Auwerx, J., & Schrauwen, P. (2011). Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. *Cell metabolism*, 14(5), 612–622. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.10.002>
99. Huang, H., Chen, G., Liao, D., Zhu, Y., Pu, R., & Xue, X. (2016). The effects of resveratrol intervention on risk markers of cardiovascular health in overweight and obese subjects: a pooled analysis of randomized controlled trials. *Obesity reviews: an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, 17(12), 1329–1340. <https://doi.org/10.1111/obr.12458>
100. Bhullar KS, Hubbard BP. Lifespan and healthspan extension by resveratrol. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* [Internet]. 2015;1852(6):1209–18. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925443915000216>

101. Hausenblas, H. A., Schoulda, J. A., & Smoliga, J. M. (2015). Resveratrol treatment as an adjunct to pharmacological management in type 2 diabetes mellitus--systematic review and meta-analysis. *Molecular nutrition & food research*, 59(1), 147–159. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400173>
102. Sáenz Chávez Pedro Lennon, Garza Ocañas Lourdes, Badillo Castañeda Christian Tadeo, Tamez de la O Eduardo Javier, Triana Verástegui Jesús. Tolerabilidad del resveratrol y efectos sobre parámetros bioquímicos sanguíneos. *Rev. mex. cienc. farm [revista en la Internet]*. 2014;45( 4 ): 1-7.
103. Sawda, C.; Moussa, C.; Turner, RS Resveratrol para la enfermedad de Alzheimer. *Ann. NY Acad. Sci.* 2017 , 1403 , 142–149.
104. Wang J-F, Zhang H-M, Li Y-Y, Xia S, Wei Y, Yang L, et al. A combination of omega-3 and plant sterols regulate glucose and lipid metabolism in individuals with impaired glucose regulation: a randomized and controlled clinical trial. *Lipids Health Dis [Internet]*. 2019;18(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12944-019-1048-x>
105. Bahreini, M., Ramezani, A. H., Shishehbor, F., & Mansoori, A. (2018). The Effect of Omega-3 on Circulating Adiponectin in Adults With Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Canadian journal of diabetes*, 42(5), 553–559. <https://doi.org/10.1016/j.cjcd.2017.12.002>
106. Komar B, Schwingshackl L, Hoffmann G. Effects of leucine-rich protein supplements on anthropometric parameter and muscle strength in the elderly: a systematic review and meta-analysis. *J Nutr Health Aging*. 2015 Apr;19(4):437-46.
107. García-González AI, Axtle-Serrano Z, López-Teros M, et al. Intervenciones clínicas en obesidad osteosarcopénica: nutrición, actividad física y psicológica. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2018;56 (Supl: 1):82-93.
108. Análisis de antioxidantes. Portal Antioxidantes. [accedido el 19 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://portalantioxidantes.com/analisis-de-antioxidantes/>
109. Speisky, H.; López-Alarcón, C.; Gómez, M.; Fuentes, J.; Cristian Sandoval-Acuña. First Web-Based Database on Total Phenolics and Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) of Fruits Produced and Consumed Within the South Andes Region of South America. *J Agric Food Chem*. 2012, 60, 8851-8859.
110. Pérez-Jiménez, J.; Neveu, V.; Vos, F.; Scalbert, A. Systematic Analysis of the Content of 502 Polyphenols in 452 Foods and Beverages: An Application of the Phenol-Explorer Database. *J. Agric. Food Chem*. 2010, 58, 4959-4969

## 11. ANEXOS

### 11.1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

#### DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre del Estudio: Efecto de la ingesta diaria de una crema de legumbres con bioaccesibilidad controlada de nutrientes y adecuada aceptabilidad sensorial sobre la inflamación, parámetros metabólicos, masa, fuerza y función muscular en adultos mayores.

Patrocinador del Estudio / Fuente Financiamiento Director: XVII CONCURSO NACIONAL DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN SALUD FONIS 2020 Francisco Pérez Bravo correo: fperez@inta.uchile.cl; teléfono: (56-2) 29781411

Unidad Académica: Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos (INTA), Universidad de Chile.

El propósito de esta información es ayudarle a tomar la decisión de participar -o no- en una investigación nutricional.

Tome el tiempo que requiera para decidirse, lea cuidadosamente este documento y hágale las preguntas que desee al nutricionista o al personal del estudio.

Este estudio es financiado por FONIS-FONDEF.

Usted ha sido invitado (a) porque ha sido pesquisado con baja fuerza muscular del brazo.

#### I. Objetivos de la investigación

Elaborar una crema de legumbres para el adulto mayor (AM), de buen sabor, con grasas saludables, proteínas y antioxidantes para mejorar su salud.

Determinar el efecto de la ingesta diaria de la crema de legumbres sobre su fuerza y función muscular, sobre su glucosa, insulina y grasas en sangre, sobre la inflamación y la oxidación.

#### II. Información sobre el estudio de investigación

##### 1. ¿Cuál es el propósito del estudio?

El estudio tiene como finalidad evaluar el efecto de la ingesta diaria de una crema de legumbres saludable sobre su salud, incluyendo su fuerza y función muscular, glicemia, insulinemia, inflamación y oxidación.

2. ¿Quién puede participar en este estudio?

Personas mayores que hayan sido clasificadas con baja fuerza muscular de brazo.

3. ¿Por qué debiera yo considerar mi participación como sujeto de investigación en este estudio?

Porque con su participación se podrá conocer el efecto de la ingesta diaria de un nuevo alimento saludable que podría beneficiar la salud de las personas mayores.

4. ¿Tengo necesariamente que participar en este estudio? Si acepto participar, ¿puedo cambiar de opinión o retirarme?

Su participación es voluntaria. No tiene ninguna obligación de participar. Si acepta y luego se arrepiente, puede retirarse del estudio cuando lo desee.

5. Si decido participar en el estudio, ¿en qué consisten precisamente las evaluaciones, y que tipo de procedimientos me van a realizar? ¿Qué tipo de mediciones se hará en las muestras obtenidas? ¿Qué se hará con el resto de la(s) muestra obtenida?

Primera visita:

En la primera visita usted será evaluado en el Centro de Atención designado según su domicilio, pudiendo ser: Centro Diurno Rodelillo, CIAE de la Universidad de Valparaíso, JJVV Manos Mágicas o Villa Berlín, o CESFAM Limache Viejo; si usted está de acuerdo en participar, se le realizará una evaluación nutricional, pesándolo y midiéndolo.

Una nutricionista le hará una encuesta, donde le preguntará por los alimentos que come durante un día, la forma en que consume los alimentos que se le entregan en el PACAM y una encuesta para determinar el ejercicio físico que usted realiza habitualmente.

Segunda visita:

Una semana después, se le citará al Centro de Atención designado, donde se le realizará una evaluación nutricional más detallada, midiendo su altura, circunferencia de cintura, cadera y pantorrilla; para esto se le pedirá que se saque los zapatos y que permanezca con la menor cantidad de ropa posible. Se le aplicará un test de dinamometría que consiste en apretar un objeto con su mano derecha. Además, le pediremos realizar una caminata por un tiempo determinado (test de marcha).

Un nutricionista le hará una encuesta, donde le preguntará por los alimentos que come durante un día y le entregará indicaciones para seguir una alimentación saludable.

Una enfermera le sacará una muestra de sangre (8 ml, equivalente a 2 cucharaditas de té) para realizarse exámenes relacionados con sus niveles de glucosa, insulina, lípidos en sangre y oxidación.

Finalmente, se le entregará una crema de legumbres, que debe incluir en forma diaria por 10 semanas en su dieta. Se le indicará forma de preparación y consumo junto con las siguientes indicaciones:

1.- Se le solicitará mantener por 10 semanas el mismo nivel de actividad física reportado durante el último mes. Si realiza algún cambio le solicitaremos dar aviso al equipo de investigación.

2.- Se le indicará una forma para registrar su consumo diario de alimentos, esto lo deberá realizar un día a la semana y un día de fin de semana durante las diez semanas.

Tercera visita:

Dentro de la semana siguiente usted será citado al Centro de Atención designado por un(a) nutricionista quien nuevamente le realizará una encuesta del consumo de alimentos además de una medición de glicemia a partir de una gota de sangre extraída de su dedo índice.

Mensualmente un (a) nutricionista lo citará al Centro de Atención designado para entregar alimentos, hacer ajustes y revisión del auto-reporte de alimentos, una encuesta de consumo de alimentos y medición de glicemia a partir de una gota de sangre extraída de su dedo índice.

Cuarta visita:

Luego de diez semanas, le solicitaremos visitar nuevamente el Centro de Atención designado para repetir las evaluaciones y los exámenes de sangre de la “segunda visita”.

Una vez terminada esta etapa, y si usted lo desea, será invitado a permanecer en contacto con el equipo de investigación durante las 6 semanas posteriores, en este tiempo no le pediremos realizar algún tipo de evaluación o ingesta especial de alimentos.

Una vez pasado estas 6 semanas, será invitado nuevamente a realizar el consumo diario de una crema de legumbres junto con las actividades contempladas en “segunda, tercera y cuarta visita” durante las posteriores 10 semanas.

Todos los resultados de los exámenes se le entregarán en un plazo máximo de 6 meses desde la toma de muestra de sangre o de imágenes. Estos exámenes no tienen costo alguno para usted.

Al terminar el estudio (después de 8 meses) y en caso de que sus exámenes presenten alguna alteración de índole nutricional, un nutricionista le dará las indicaciones alimentarias necesarias al momento de la entrega de los resultados de sus exámenes finales en su domicilio.

6. ¿Qué peligros podría experimentar en este estudio, y que harán los investigadores para reducir el riesgo de que éstos se presenten?

No hay peligro en este estudio. Puede quedar un moretón en el brazo por la extracción de sangre venosa o tras la punción capilar con glucómetro.

7. ¿Qué harán los investigadores para asegurar que la información que recolectarán sobre mí, no caerá en manos equivocadas?

Todos los datos que se recolecten serán guardados en un computador de uso exclusivo del proyecto que solo manejarán los investigadores responsables.

8. ¿Qué beneficios personales puedo yo esperar al participar en este estudio?

No hay beneficio directo comprobado. Usted conocerá su estado nutricional, su nivel de fuerza muscular, sus indicadores asociados al metabolismo de la glucosa, inflamación y oxidación. Los resultados de los exámenes se le entregarán en el plazo de 6 meses como máximo desde la toma de muestra de sangre o imágenes. Los resultados se entregarán en su domicilio.

9. ¿En qué podría este estudio beneficiar a otros?

Con los datos generados, se podrá reformular los alimentos que se entregan en el PACAM, para que sean de mayor beneficio para todos los adultos mayores de Chile.

10. ¿Qué harán los investigadores si sufro algún daño durante el estudio?

En el caso de presentar algún daño durante los procedimientos, se derivará a un médico del CEDINTA.

11. ¿Recibiré algún pago por participar en este estudio?

No hay ningún pago a los participantes del estudio.

12. ¿Se cobrará a mí, a FONASA, o a mi Isapre el costo de algunos de estos estudios?

Todos los exámenes serán pagados con fondos del estudio, ni usted, ni Fonasa, ni su Isapre pagarán nada.

13. Una vez que yo haya ingresado como sujeto de estudio, ¿a quién tendría que dirigirme para averiguar más acerca del estudio?

Debe dirigirse al director del proyecto, el Dr. Francisco Pérez Bravo, al correo electrónico: [fperez@inta.uchile.cl](mailto:fperez@inta.uchile.cl) o a la plataforma Salud Responde del Ministerio de Salud, teléfono: 600 360 77 77

¿Para saber más de mis derechos como participante en el estudio, o para hacer llegar algún reclamo respecto del trato que hubiese recibido?

Usted puede escribir al correo electrónico: [comite.etica@inta.uchile.cl](mailto:comite.etica@inta.uchile.cl) del Comité ético Científico del INTA, a su presidenta Dra. Ana María Pino.

14. Si decido no participar en este estudio ¿qué me puede suceder, o qué otras opciones tengo si necesito tratamiento?

No participar en el estudio no tiene consecuencias negativas para usted.

15. ¿Después que firme el documento, quien lo guardará?

Todos los documentos serán guardados por los investigadores del estudio y los datos se manejarán con total discreción.

### III. Declaración de consentimiento

- Se me ha explicado el propósito de esta investigación, los procedimientos, los riesgos, los beneficios y los derechos que me asisten y que me puedo retirar de ella en el momento que lo desee.
- Firmo este documento voluntariamente, sin ser forzado/forzada a hacerlo.
- No estoy renunciando a ningún derecho que me corresponda.
- Puedo reevaluar mi participación en esta investigación según mi parecer y en cualquier momento que lo desee.
- Yo autorizo al director y sus colaboradores a acceder y usar los datos contenidos en mi ficha clínica para los propósitos de esta investigación.
- Al momento de la firma, se me entrega una copia firmada de este documento.
- En caso de cualquier duda, entiendo que debo dirigirme al director del estudio, Dr. Francisco Pérez Bravo([fperez@inta.uchile.cl](mailto:fperez@inta.uchile.cl)) o la plataforma Salud Responde del Ministerio de Salud (teléfono: 600 360 77 77).

IV. Firmas

Nombre Participante: .....

Firma y fecha: .....

Nombre Director: Francisco Pérez Bravo

Firma y fecha: .....

Nombre Director Alterno: Rommy Zuñiga Pardo

Firma y fecha: .....

## 11.2. ENCUESTA RECORDATORIO 24 HRS

### REGISTRO DIETÉTICO DE 24 HORAS

Nombre paciente:

Día de semana:

Tiempo de Comida	Hora (00:00)	Nombre de Alimentos y/o preparaciones	Desglose de Ingredientes de preparaciones.	Cantidad en medidas caseras	Cantidad en g totales/cc	Observaciones
Desayuno						
Colación						
Almuerzo						
Colación						
Once						
Colación						
Cena						
Colación durante la noche						

