

Capítulo 3

Principales Antioxidantes de origen vegetal y su efecto en estrés oxidativo

María Pilar Almajano^{1*}, Diego F. García-Díaz^{2**}

¹ ETSEIB, Universitat Politècnica de Catalunya, 08028 Barcelona, España

² Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile

*m.pilar.almajano@upc.edu, **digarcia@uchile.cl

Los antioxidantes son compuestos reconocidos por su capacidad para inhibir radicales libres y con ello impactar sobre la prevención de Enfermedades Crónicas No Transmisible (ECNT). Diferentes materias primas vegetales presentan una cantidad importante de compuestos antioxidantes de origen natural. El consumo de estas materias primas, sus extractos, jugos o ingredientes derivados se presentan como una alternativa saludable para aumentar el consumo de antioxidantes naturales y ejercer su efecto sobre el estrés oxidativo.

¿Sabías qué?

- Los antioxidantes reducen los radicales libres.
- Evitan la oxidación celular.
- Previenen el envejecimiento prematuro.
- Tienen efectos antiinflamatorios.
- Fortalecen el sistema inmunitario.

#AlimentosDelFuturo

ALIMENTOS ALTOS EN ANTIOXIDANTES

ZANAHORIA MORADA
OTROS TOMATE CRANBERRY
PAPA MORADA FRAMBUESA
SAUCO MAQUI

Fibras
Flavonoides
Antocianinas
Cianidina 3 glucosido

Flavonoides
Antocianinas
Malvidina-3-glucosido
Delphinidina-3- glucosido

INIA busca identificar y desarrollar materias primas altas en antioxidantes.

INIA
Laborando la agropecuaria para un futuro sostenible

www.inia.cl/alimentos

Fuente: INIA, 2021.

3.1 Capacidad antioxidante y mecanismos de acción antioxidante

¿Qué es un antioxidante?

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. Químicamente, la oxidación es una semirreacción donde una sustancia pierde electrones y, por lo tanto, se oxida, durante un proceso redox, que puede ocurrir por mecanismos que potencien la producción de radicales (sustancias inestables con electrones desapareados), los cuales desarrollan reacciones en cadena. Dichas reacciones son incontrolables mientras tengan sustrato suficiente para seguir desarrollándose y pueden causar daños a los distintos componentes de las células, especialmente a los de naturaleza lipídica. Los antioxidantes finalizan la reacción al interactuar con los compuestos intermedios e impedir su propagación (Avello y Suwalsky, 2006).

El término antioxidante se comienza a utilizar en procesos industriales, principalmente en el ámbito de la corrosión de metales. En biología, los primeros estudios se focalizan en la prevención de la oxidación de grasas insaturadas (causa de la rancidez) (German, 1999).

Inicialmente la actividad antioxidante podía ser medida simplemente colocando la grasa en un contenedor cerrado con oxígeno y midiendo su tasa de consumo. Sin embargo, el descubrimiento de las vitaminas A, C y E, que actúan como antioxidantes, permitió establecer la importancia de los antioxidantes en la bioquímica de los organismos vivos (Mattill y Wolf, 2005).

Mecanismos de actuación y especies reactivas al oxígeno (ERO)

Uno de los primeros mecanismos estudiados fue el de la vitamina E en la prevención del proceso de *peroxidación lipídica* y llevó a la identificación de antioxidantes como "agentes reductores que previenen reacciones oxidativas", impidiendo la reacción en cadena de las especies reactivas al oxígeno (ERO) y preservando las células del daño oxidativo.

Algunas de las ERO producidas en las células son peróxido de hidrógeno (H₂O₂), radicales libres como el radical superóxido¹ (O₂^{·-}) y el radical hidroxilo (·OH). Este último es muy inestable y reacciona rápidamente con la mayoría de las moléculas biológicas, como aminoácidos y proteínas entre otras (Knight, 1998).

Desde un punto de vista biológico es importante considerar que nuestro metabolismo es oxidativo (respiramos oxígeno) y, por lo tanto, la oxidación es crucial para la vida. Simultáneamente, el oxígeno es muy reactivo, y puede producirse la acumulación de ERO, lo que desembocaría en un desequilibrio. En este sentido, las plantas y los animales mantienen complejos sistemas que les permiten actuar frente a aquellos aspectos (estrés, exceso de luz, calor, radiaciones UV e ionizantes, humo del tabaco, contaminación, entre otros) que pueden causar un desequilibrio oxidativo, conocido como “estrés oxidativo”, estado que puede dañar o matar las células. Este estrés oxidativo se asocia a patogénesis de muchas enfermedades, especialmente las de carácter neurodegenerativo. Por ello, se estudia el uso de antioxidantes como prevención o tratamiento (Avello y Suwalsky, 2006).

Los sistemas que mantienen el equilibrio oxidativo están basados en la generación/presencia de antioxidantes. Una clasificación simple de éstos estaría basada en su **origen: endógenos** (glutación, enzimas -catalasa, superóxido dismutasa peroxidasa-, entre otros) y **exógeno** (básicamente recibidos a través de la dieta (vitamina C, vitamina E, polifenoles, entre otros). En general, pueden tener efectos sinérgicos y también interdependientes. La protección proporcionada por cualquier antioxidante dependerá de su concentración, de su capacidad de interactuar con las ERO y del estado de los antioxidantes con los cuales interactúa (Vertuani *et al.*, 2005).

Otra posible clasificación de los antioxidantes se basa en su solubilidad: **en agua** (hidrofilicos) o **en lípidos** (lipofílicos). En general, dentro del organismo, los antioxidantes solubles en agua actúan en el citoplasma celular y el plasma sanguíneo, mientras que los antioxidantes liposolubles protegen las membranas de la célula frente a la peroxidación de lípidos (Sies, 1997).

¹ El anión de superóxido se produce como subproducto del proceso para generar energía metabólica. En las plantas las ERO también se producen durante la fotosíntesis, bajo condiciones de alta intensidad lumínica. Este efecto se compensa parcialmente por la implicación de carotenoides en la fotoinhibición, lo que implica que estos antioxidantes reaccionan con las formas sobre-reducidas de los centros de reacción fotosintéticos y de tal modo previenen la producción de superóxido (Szabó *et al.*, 2005).

Fuera del organismo, los antioxidantes tienen un importantísimo papel en preservar alimentos (y cosméticos) inhibiendo la rápida oxidación, ya que la oxidación de los alimentos, o enranciamiento, es la segunda causa de deterioro, después de la alteración por microorganismos. La exposición al oxígeno, a la luz y a temperaturas (superiores a la refrigeración, 4°C) son los tres factores principales que causan la oxidación de alimentos. Para evitar y/o retardar dicho proceso, los antioxidantes presentes de forma natural y/o añadidos a los alimentos pueden actuar por varias vías (Avello y Suwalsky, 2006):

- Reaccionar directamente con el oxígeno, eliminándolo de la reacción de propagación en cadena (por ejemplo, el ácido ascórbico).
- Parar la reacción de propagación en cadena, al estabilizar los radicales libres. Ésta es la forma más común y por la que actúan la mayor parte de polifenoles, los tocoferoles (E306), y los principales antioxidantes sintéticos usados en los alimentos (galato de propilo (PG, E310), terbutilhidroquinona (TBHQ), el butilhidroxianisol (BHA, E320) y el butilhidroxitolueno (BHT, E321).
- Secuestrar los metales (mediante la formación de un complejo) que pueden actuar como catalizadores (sustancias capaces de acelerar una reacción química). Este es el mecanismo por el que actúan el ácido cítrico y el EDTA.
- Mediante "atrapamiento" del oxígeno singlete, mecanismo por el que actúan los carotenoides.

¿Cómo medir la actividad antioxidante?

Básicamente se puede medir mediante dos métodos: (1) métodos de captura de radicales libres (CRL) (*radical scavenging* en inglés), (2) métodos en sistemas modelo o alimentos reales.

(1) Métodos de captura de radicales libres (CRL)

Los CRL, en sentido estricto, no miden directamente la actividad antioxidante sino la actividad antirradicalaria. No obstante, habitualmente son los primeros en usarse ya que reúnen varios requisitos: son rápidos, son fiables, suelen presentar algún tipo de correlación con los que determinan específicamente la actividad antioxidante.

Se adecúan perfectamente para la determinación del comportamiento de los antioxidantes sintéticos (BHT, BHA, TBHQ) y naturales como los de naturaleza polifenólica. Pueden presentar dos tipos de **mecanismos** (Leopoldini *et al.*, 2011):

- Reacciones en las que **se transfiere un hidrógeno**, en un solo paso; el nombre que reciben es “transferencia de átomo de hidrógeno” (*HAT, Hydrogen Atom Transfer* en inglés). A menor entalpía de enlace entre el O y el H (en los grupos OH de las moléculas antioxidantes), mayor actividad de CRL. La cesión del átomo de hidrógeno al radical se realiza por una ruptura homolítica.
- Reacciones en las que **se transfiere un electrón y un protón**, en dos pasos (existen 3 combinaciones posibles). A menor potencial de ionización mayor actividad CRL. El orden de la secuencia determina 3 subgrupos:

Pérdida de un protón y transferencia de un electrón (en una rápida secuencia). Este tipo de mecanismos se da con facilidad en compuestos de carácter claramente ácido (baja pKa) disueltos en disolventes que favorecen la ionización del grupo fenólico, como por ejemplo metanol.

Transferencia de un electrón (paso determinante de la velocidad de reacción) seguida de la desprotonación del radical catiónico formado. Estos mecanismos se facilitan con radicales fuertemente oxidantes y disolventes no ionizables.

Transferencia de protón y de electrón de manera acoplada. Se forma un compuesto intermedio, enlazado a través de puentes de hidrógeno, entre la molécula y el radical.

Independientemente del mecanismo, el radical “queda neutralizado” (es decir, pierde su carácter radical, deja de tener un electrón desapareado), mientras que la molécula que ha interactuado con él se transforma en radical. Pero este “nuevo radical” es mucho más estable (y por tanto menos reactivo), ya que se permite la deslocalización de la carga en la molécula, al presentar múltiples dobles enlaces alternos, es decir, tiene estructuras resonantes, lo que confiere una mayor estabilidad, a pesar de tener un electrón desapareado. El mecanismo final dependerá tanto del entorno externo (disolvente o fluido) como de la propia molécula antioxidante².

² Por ejemplo, en los sistemas biológicos, como la sangre, el plasma, el mecanismo más probable será por pérdida de un protón y transferencia de un electrón.

En todas las metodologías de CRL se verifica que: se mide por técnicas indirectas, siempre se trabaja con “radicales estables”³, la generación del radical suele ser “*in situ*” al mezclar dos (o más) componentes, la monitorización del avance la reacción se puede hacer a través de la espectrofotometría UV-Visible (en el caso de moléculas que presentan un claro máximo de absorbancia a una determinada longitud de onda, λ) o por la determinación de la fluorescencia⁴, normalmente en todos estos métodos se utiliza el Trolox® (análogo de la vitamina E, soluble en agua) como patrón para hacer una recta de calibrado, lo que permite estandarizar las medidas y compararlas.

Una vez vistos los posibles mecanismos y las características generales a todos ellos, a continuación se presentan los principales ensayos químicos más comunes, que se adaptan a estos mecanismos.

EL DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidracil-hidratado) es uno de los más característicos. La molécula antioxidante cede inicialmente, un átomo de hidrógeno al DPPH y posteriormente existe la transferencia de un electrón. Es rápido, simple, barato y muy extendido para medir la CRL. Se puede determinar a diferentes tiempos (entre 10 minutos y 90, con intervalos de 10 minutos) lo que también puede proporcionar una idea sobre la cinética de la molécula estudiada⁵. La reacción se suele desarrollar en metanol (disolvente polar que permite y facilita el mecanismo sugerido) y la CRL se mide fácilmente por la disminución de la absorbancia a una $\lambda = 517$ nm, longitud a la que el radical tiene un máximo (en el transcurso de la reacción se pasa de color púrpura a amarillo).

³ Esta conjugación puede resultar, a priori, contradictoria, ya que los radicales reales, por su propia naturaleza, tienden a reaccionar a gran velocidad y su tiempo de vida suele ser de micro o nanosegundos, lo que dificulta enormemente poder realizar una medida de su concentración. Los radicales usados en los métodos químicos, descritos en este apartado, tienen la característica de tener un tiempo de vida suficiente (del orden de minutos o incluso, en algunos casos horas) lo que facilita metodologías que permitan cuantificarlos.

⁴ Si se dispone del aparato adecuado se podría hacer por Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE). Esta técnica puede, incluso, permitir la determinación de radicales de vida muy corta, similar a los radicales reales producidos en el organismo, al establecerse una reacción competitiva de captura del radical producido.

⁵ Es decir, si los resultados obtenidos a los 10 minutos son similares a los obtenidos a los 90 minutos, la cinética se podría definir como rápida, ya que el resultado esperado se alcanza en el primer tiempo estudiado. Sin embargo, si difieren significativamente, se podría decir que la cinética es lenta, ya que la concentración del radical sigue disminuyendo con el paso del tiempo. Es evidente que estas apreciaciones son de carácter semicuantitativo.

El Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC), también muy utilizado, implica únicamente la transferencia del átomo de hidrógeno desde la molécula estudiada al radical peroxilo ($\text{ROO}\cdot$) del dihidrocloruro de 2,2'-Azobis(2-amidinopropane) (AAPH) generado *in situ*. Se usó inicialmente en compuestos solubles en agua. Cabe destacar que es el más adecuado para medir CRL de muestras biológicas (plasma, tejidos orgánicos, entre otros). El AAPH puede interactuar con la fluoresceína (que presenta fluorescencia con $\lambda_{\text{emisión}}=520$ nm y $\lambda_{\text{excitación}}=495$ nm). La sustancia que CRL protege la fluoresceína retrasando la caída de fluorescencia⁶. Ello permite calcular el área bajo la curva y comparar las diferentes moléculas, incorporando en el valor tanto la CRL como el tiempo de reacción. Este método requiere de una gran precisión instrumental y está muy afectado por el pH (por ello se lleva a cabo con disoluciones tamponadas a pH=7).

El radical 2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS) también se genera *in situ* como radical catiónico $\text{ABTS}^{\cdot+}$. Normalmente, en la bibliografía, la utilización de este radical describe el método designado con las siglas TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*). En sentido estricto este nombre se podría aplicar a cualquiera de los métodos que usan el Trolox como patrón. No obstante, lo admitido por la comunidad científica indica que hablar de TEAC implica el uso del ABTS. Está basado en la transferencia de electrones. El $\text{ABTS}^{\cdot+}$ presenta un máximo de absorción a una $\lambda=734$ nm. Es adecuado para reacciones lentas, ya que la lectura a tiempo final de la disminución de la absorbancia se suele hacer entre los 5 y los 15 minutos después de iniciada la reacción, siendo 10 minutos el tiempo más utilizado (Shah y Modi, 2015). No es adecuado para muestras biológicas.

Finalmente, estarían los métodos basados en la evaluación de la **capacidad de reducir metales**. Por su naturaleza estaría incluido en los métodos de transferencia de electrones. Entre los posibles, el más utilizado es el **Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)**. Está basado en la reducción del complejo Fe (III) con el ligando tripiridiltriazina (TPTZ)⁷ al mismo complejo reducido (con Fe (II)) a pH ácidos (aproximadamente 3,6) para facilitar la solubilidad del catión hierro y aumentar el potencial redox de la reacción. El complejo reducido presenta un color azul intenso con un máximo de absorbancia a $\lambda=593$ nm. A medida que el Fe (III) se va reduciendo

⁶ Es importante calcular la concentración adecuada para que simultáneamente se pueda apreciar una determinada protección (frente al blanco, que incorpora únicamente tampón a pH=7,2) y una caída final de fluorescencia, en el tiempo que dura la prueba (suele ser 90 minutos) a un valor final inferior al 5% del valor inicial.

⁷ Existen otros posibles ligandos (además del TPTZ) que dan lugar a reacciones similares, pero éste es el más extendido.

a Fe (II), aumenta la absorbancia. La principal limitación de este método es el pH en el que se trabaja, ya que se aleja de las condiciones fisiológicas (por tanto, no apto para analizar el plasma); en la misma línea, no es útil para la determinación de antioxidantes de carácter lipofílico; además, no es capaz de detectar reacciones lentas como, por ejemplo, las que implican a los tioles.

(2) Métodos en sistemas modelo o alimentos reales

En estos momentos, nos quedaría responder a la pregunta ¿cómo medir la actividad antioxidante, real? Han de ser medidas relativamente rápidas y con posibilidad de extrapolar a alimentos (e incluso a productos cosméticos) con composición lipídica similar, almacenados a temperatura ambiente. Ello conlleva tomar, de partida, 3 decisiones: **elección del sistema modelo o sistema real con el que se trabajará, metodología de aceleración de la oxidación, monitorización de esta oxidación (es decir, qué métodos se usarán para medir el grado de oxidación)**. En el primer punto, básicamente cabe decir que la oxidación se puede trabajar en un modelo diseñado (aceite o emulsión de aceite en agua o agua en aceite) o en un modelo real, un alimento (diferentes tipos de carnes y pescados, por ejemplo). En el segundo apartado, para acelerar la velocidad de oxidación se suele hacer a través de un incremento de la temperatura y/o de la cantidad de oxígeno disponible. La combinación de ambos efectos suele ser muy efectiva, si bien se ha de tener en cuenta que algunas extrapolaciones no son válidas⁸. Respecto al tercer punto, la determinación del grado de oxidación, se puede realizar por diferentes técnicas (Pokorny *et al.*, 2001):

Técnicas que determinan los compuestos responsables de olores extraños o desagradables:

Por análisis sensorial: determinada por el sabor (involucra el gusto, aroma, sensaciones trigeminales, entre otros) y el olfato (nasal o retronasal) ya que los olores extraños o desagradables son la primera medida que permite decidir si una muestra está oxidada en un grado tal que no la hace apta para el consumo o su uso⁹.

⁸ Por ejemplo, trabajar con temperaturas cercanas a los 100°C no sirve para estudiar la oxidación acelerada a temperaturas de refrigeración, 4°C.

⁹ La comparación entre el comportamiento de una muestra con antioxidante y otra sin antioxidante permitirá evaluar el potencial para extender la vida útil e impedir la formación de olores desagradables.

Por Cromatografía de Gases (CG). Permite analizar y cuantificar los compuestos volátiles causantes del mal olor que suelen representar pequeñas proporciones de los productos de oxidación. No obstante, debido a que tienen umbrales de percepción muy bajos (del orden de ppm), concentraciones muy pequeñas son capaces de causar un olor muy desagradable, por lo que se necesitan aparatos sensibles, los CG. La determinación se puede hacer por inyección directa en el CG (métodos denominados estáticos) o por una captación previa del gas en equilibrio con la muestra en un polímero poroso, con posterior desorción en el CG¹⁰. Este método es muy dependiente de la naturaleza del aceite¹¹.

Cuantificación de compuestos de oxidación primaria y secundaria. El deterioro de la fracción lipídica implica la aparición de compuestos de oxidación primaria y de oxidación secundaria. Su determinación se realiza por métodos químicos.

Básicamente hay dos métodos: la determinación del **valor de peróxido (VP) y la cuantificación de dienos conjugados**. Los hidroperóxidos se descomponen con rapidez, reaccionan entre ellos y son los precursores de la mezcla en compuestos volátiles causantes del mal olor. Su cuantificación (por valoración o por el método de la formación del tiocianato de Fe (III) complejo de color rojo, con un máximo de absorción a $\lambda=500$ nm) es un método muy útil para conocer el deterioro oxidativo de aceites y compuestos con fracción lipídica. Los dobles enlaces alternos (dienes conjugados) se forman a partir de los ácidos grasos poliinsaturados y presentan también un máximo de absorción en el espectro UV a $\lambda=233$ nm. Ambos métodos son viables para la determinación de compuestos de oxidación, siendo el Valor de peróxido el más específico y rápido.

Como métodos para medir la oxidación secundaria destacan el **valor de p-anisidina** y los **compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico**. P-anisidina es un reactivo que reacciona con aldehídos para dar productos que tienen un máximo de absorbancia a 350 nm. El valor de p-anisidina se define como la absorbancia de una solución

¹⁰ Actualmente el desarrollo de los CG con detectores de espectrofotometría de Masas (los más sensibles que existen) permiten analizar con precisión y de manera automática las muestras previamente preparadas en viales perfectamente sellados con una cantidad de muestra conocida exactamente, con una sensibilidad de 0,1 mg, y un proceso de homogeneización que permite que el gas en contacto con la muestra esté en equilibrio con ella.

¹¹ Por ejemplo, los umbrales para el aceite de oliva son 20 veces superiores a los del aceite de pescado, lo que indica que la percepción del olor rancio en el aceite de oliva se dará a concentraciones 20 veces superiores.

resultante de la reacción de este reactivo con un gramo de la parte lipídica del compuesto, disuelto en iso octano, con ácido acético glacial al 0,25%. Cualquier fracción de agua interfiere en la reacción. No diferencia entre volátiles y no volátiles.

Las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) es una denominación para el valor obtenido por la reacción de dicho ácido con el malondialdehído (principalmente) lo que proporciona un compuesto de color rojo intenso que tiene un máximo de absorbancia a $\lambda=532-535$ nm. La limitación de este método es su falta de especificidad, ya que el ácido tiobarbitúrico puede también reaccionar con otros productos (proteínas, productos de la reacción de Maillard, o de la degradación de azúcares, entre otros).

FTIR. Una técnica que está en auge es la espectrofotometría infrarroja de la transformada de Fourier (FTIR por sus siglas en inglés). Es rápida y, una vez calibrada con patrones conocidos, permite el análisis simultáneo de hidroperóxidos y otros compuestos de oxidación, con una cuantificación directa en aceites (Johnson *et al.*, 2020).

Pérdida de ácidos grasos poliinsaturados (determinados por sus ésteres metílicos) y **el incremento de peso al calentar la muestra que contiene aceite** (por la incorporación de oxígeno en la formación de hidroperóxidos) pueden usarse para determinar el tiempo de inducción de oxidación de la grasa¹².

3.2 Efecto de los polifenoles en estrés oxidativo y obesidad

Obesidad y estrés oxidativo

Uno de los aspectos que más afectan al diario vivir de cada individuo es el aumento del peso corporal (Powers *et al.*, 2007). A pesar de que el ser humano necesita de la presencia de tejido graso en su organismo, ya que este posee funciones importantes sobre el metabolismo corporal, cuando se desarrolla de forma excesiva se acarrea consecuencias muy perjudiciales para la salud (Bray, 2004). La obesidad es una enfermedad crónica que se ha convertido en uno de los problemas de salud más graves de las sociedades occidentales. Inclusive, ha sido

¹² No son objeto de este capítulo otros métodos como la calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés) y los diferentes índices de estabilidad de aceites, que también nos darán una idea de la evaluación de la oxidación.

catalogada como la nueva epidemia del siglo XXI por las enfermedades a las que puede derivar o acompañar (Bray, 2004; Sorensen *et al.*, 2010). El alto consumo de comidas con alto contenido en azúcar y de grasas saturadas en conjunto con un estilo de vida de tipo sedentario, está dictando el importante aumento de la obesidad que se ha venido observado durante los últimos años (WHO, 2018). En Chile, la prevalencia de obesidad ha venido en franco aumento (MINSAL, 2010), y el día de hoy uno de cada tres adultos presentan sobrepeso (MINSAL, 2017).

Esta enfermedad se define como el incremento en el organismo de las reservas energéticas en forma de grasa, el cual es acompañado de un aumento en la masa corporal total, debido al desequilibrio producido en la ecuación que comprende tanto a la ingesta de energía como al gasto energético del organismo (Martinez, 2000). Los factores que influyen en el aumento de la masa corporal son muy diversos, lo que dificulta el desarrollo de tratamientos preventivos o de terapias para revertir su desarrollo. El exceso de energía acumulada repercute directamente en el aumento de número y tamaño de células grasas del tejido adiposo blanco (TAB). Este aumento de la masa de TAB conduce a los diversos problemas clínicos relacionados con la obesidad, debido principalmente al desajuste en la liberación de moléculas secretadas exclusivamente por este tejido (Iyer *et al.*, 2010). Estas moléculas pueden determinar el establecimiento de un estado pro-inflamatorio y pro-oxidante dañino para las células de este tejido (Pi-Sunyer, 2009). Esto implica que el TAB por sí mismo, y los productos lipídicos y proteicos que este secreta, ejercen una función importante tanto en la protección como en la susceptibilidad a desarrollar diversas anomalías. Esta serie de factores peptídicos o proteicos hormonalmente activos que son secretados por el tejido, son las denominadas adipocinas (Fantuzzi, 2005).

Por otra parte, se ha descrito un fenómeno de disfunción mitocondrial, producida la excesiva ingesta de nutrientes, que lleva a la sobreproducción de especies reactivas del oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) en el desarrollo de obesidad (Martinez, 2006). Esta sobre producción se ha relacionado con la presencia de estrés oxidativo. Este fenómeno se relaciona con peroxidación de lípidos, daño al ADN, degradación de proteínas, etc. Se genera cuando especies inestables del oxígeno (radicales libres como hidroperóxidos lipídicos, aniones superóxidos, etc.) son producidos durante la respiración celular en la mitocondria de cada célula, excediendo a la capacidad antioxidante de éstas. Resulta de un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y su degradación por los mecanismos celulares naturales de defensa contra estas sustancias (Ames *et al.*, 1993). En este sentido, se ha observado

un elevado estrés oxidativo elevado en pacientes obesos (Vincent y Taylor, 2006) y en modelos animales de sobrepeso (Furukawa *et al.*, 2004). Asimismo, se ha descrito una disminución en las defensas antioxidantes en esta enfermedad (Mutlu-Turkoglu *et al.*, 2003). Esta alteración en el estado oxidativo se ha relacionado con la presencia de inflamación crónica (Dandona *et al.*, 2004; Vincent y Taylor, 2006), especialmente relacionada con un desajuste en la liberación de diversas citoquinas y adipoquinas desde el TAB, como TNF- α , IL-6, MCP-1, NO, adiponectina, etc., lo que se han correlacionado con un aumento de la adiposidad corporal (Ferrante, 2007). Además, se ha sugerido que la inflamación resultante podría estar directamente relacionada con una sobreproducción de especies reactivas del oxígeno (Fantuzzi, 2005; Furukawa *et al.*, 2004). Estas alteraciones promueven el desarrollo de muchas de las secuelas metabólicas negativas de la enfermedad, como la resistencia a la insulina o la arteriosclerosis (Greenberg y Obin, 2006). Estos fenómenos también completan el círculo vicioso en el cual este estado pro-inflamatorio actúa sobre los mismos adipocitos, modificando su señalización e induciendo nuevos procesos pro-adipogénicos con características patogénicas (Galinié *et al.*, 2006).

Antioxidantes y obesidad: papel de los polifenoles

Los tratamientos basados en antioxidantes emergen como una aproximación muy interesante para contrarrestar las complicaciones derivadas de la acumulación excesiva de grasa, ya que este fenómeno es habitualmente acompañado por estrés oxidativo (Valdecantos *et al.*, 2009). Numerosos compuestos, con reconocidas propiedades antioxidantes han sido testeadas al respecto, como la vitamina C (García-Díaz *et al.*, 2014), vitamina E (Vincent *et al.*, 2006), y ácidos grasos (Yang *et al.*, 2008). Se ha descrito que dichos compuestos son capaces de reducir los niveles de los radicales libres, de regular la síntesis y la liberación de óxido nítrico (NO), de inhibir la producción de ROS e inducir a las enzimas encargadas de la defensa antioxidante del organismo (Flora, 2007). No obstante, en el último tiempo un grupo de compuestos, de los cuales se han descrito las propiedades antioxidantes más importantes en la literatura, han acumulado una enorme cantidad de información. Dichos compuestos son los polifenoles.

Los polifenoles destacan por sus enormes capacidades antioxidantes y antiinflamatorias (Li *et al.*, 2014). Son metabolitos secundarios en las plantas, que se producen como defensa frente a diferentes tipos de estrés, que dependiendo de su estructura química básica, se consideran cuatro clases principales: ácidos

fenólicos, flavonoides, estilbenos y lignanos (Manach *et al.*, 2004). El conocimiento y las implicaciones de estos compuestos en la salud humana se han documentado ampliamente y se han atribuido a diversos efectos positivos para la salud (Pandey y Rizvi, 2009).

Específicamente, las primeras evidencias sobre los efectos beneficiosos de los polifenoles sobre la obesidad se publicaron en 1999 (Dulloo *et al.*, 1999). Este estudio reportó, que el consumo de un extracto rico en catequinas aumenta el gasto energético de 24 horas, y la oxidación de grasas en 10 voluntarios sanos. A partir de ese momento, el interés aumentó significativamente y se han realizado innumerables investigaciones. Por ejemplo, las procianidinas de la uva se han relacionado con prevención de la obesidad en hámsteres alimentados con dieta alta en grasas, mejorando el perfil secretor de adipocinas del tejido adiposo y atenuando el estrés oxidativo (Decorde *et al.*, 2009). Además, extractos de manzana y canela se destacan, ricos en polifenoles, han probado efectos importantes sobre obesidad en ratas (Boque *et al.*, 2013). Adicionalmente, se han reportado efectos de polifenoles aislados, por ejemplo, para resveratrol y quercetina, que en combinación presentaron efectos sinérgicos sobre la reducción de depósitos de grasa en ratas (Arias *et al.*, 2016). En humanos, un estudio de casos y controles describió que un extracto rico en polifenoles redujo el peso corporal, el IMC, la grasa corporal y la relación cintura-cadera en sujetos con sobrepeso (Chang *et al.*, 2014). Además, se ha observado que los polifenoles del jugo de naranja reducen el peso corporal, junto con la actividad antioxidante y mejoran la presión arterial, en pacientes obesos (Rangel-Huerta *et al.*, 2015).

Los mecanismos por los que se inducen los efectos antiobesidad de distintas matrices alimentarias o de compuestos aislados, se han relacionado previamente con: oxidación y/o acumulación de grasa en tejido adiposo y/o hígado (Yoshikawa *et al.*, 2002; Fukuchi *et al.*, 2008; Ejaz *et al.*, 2009; Gwon *et al.*, 2012), mediante la modificación de la expresión de genes dedicados a estos mecanismos (Yang *et al.*, 2010; Murase *et al.*, 2011; Boque *et al.*, 2013; Ali *et al.*, 2015), y también con características inhibitorias sobre proteínas encargadas en la absorción de grasas (de la Garza *et al.*, 2011). Todas estas evidencias podrían apoyar los efectos de los polifenoles sobre la modulación de la ingesta y el gasto energético.

Con respecto a las consecuencias del desequilibrio energético y la acumulación de TAB, la inflamación es un puente clave para el desarrollo de comorbilidades. En este sentido, los compuestos polifenólicos también han sido ampliamente estudiados por sus propiedades antiinflamatorias. Por

ejemplo, se han observado efectos inhibidores de las antocianinas derivadas de la vid y sobre la secreción de moléculas pro-inflamatorias en (Wang y Mazza, 2002a, 2002b) en macrófagos de ratón. Además, extractos de procianidinas derivados de semillas de uva redujeron la expresión de moléculas inflamatorias en células de grasa y del sistema inmune humanas (Chacón *et al.*, 2009). Hechos similares fueron observados en ratas (Terra *et al.*, 2009). Evidencia similar, en células de ratón, fue descrito para el resveratrol (Kang *et al.*, 2010). Se ha descrito que otros extractos polifenólicos de plantas presentan propiedades antidiabéticas mediante la activación de la captación de glucosa (Christensen *et al.*, 2009). Específicamente, la suplementación con extractos de arándanos ejerció efectos sensibilizantes a la insulina en animales alimentados con dieta alta en grasas. Esta suplementación contribuyó a una regulación negativa de la expresión de genes proinflamatorios en el tejido adiposo (DeFuria *et al.*, 2009).

Matrices locales de polifenoles y su relación con obesidad

En Chile, se han identificado diversas fuentes vegetales que contienen altas concentraciones de compuestos polifenólicos. De hecho, se han descrito varias con potencial en el tratamiento contra obesidad (García-Díaz *et al.*, 2019). Entre estas destaca *Berberis microphylla* (Calafate), que pertenece a la familia Berberidaceae y es originaria de la zona patagónica de Chile y Argentina (Fredes, 2009). Es un arbusto o árbol pequeño de hoja perenne o semi-perenne, que crece en una amplia gama de condiciones ambientales. Los frutos de calafate son bayas de color púrpura oscuro, negro o azulado (Ruiz *et al.*, 2010). El alto contenido de compuestos polifenólicos en Calafate se ha correlacionado con una alta capacidad antioxidante (Ruiz *et al.*, 2010). Su valor de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) se ha determinado en 72,425 μmol equivalentes de Trolox (TE) / 100 g peso fresco, posicionándola como la fruta con mayor capacidad antioxidante en Sudamérica (Speisky *et al.*, 2012).

Desde hace un buen tiempo se ha estudiado el potencial del extracto de Calafate como tratamiento para las características relacionadas con la obesidad, especialmente ligadas con inflamación y estrés oxidativo (García-Díaz *et al.*, 2019). Se ha observado que el tratamiento con extractos crudos de Calafate inhibe la inflamación ligada a la interacción patógena entre adipocitos y macrófagos. Se ha observado que dicho extracto redujo la expresión de iNOS y de TNF- α , e indujo

el aumento de IL-10 cuando se aplicó a un cocultivo de adipocitos/macrófagos (Reyes-Farias *et al.*, 2015). Además, se informó que este extracto inhibe la respuesta inflamatoria y estimula la captación de glucosa en adipocitos de ratón (Reyes-Farias *et al.*, 2016). Recientemente se observó que inhibe la inflamación y la apoptosis en macrófagos humanos activados, suprime la inflamación y la muerte de dichas células, y además mejora la respuesta antioxidante de los adipocitos humanos activados (Ovalle-Marin *et al.*, 2020). Además, este enfoque *in vitro* se confirmó *in vivo* en un estudio reciente (Soto-Covasich *et al.*, 2020). Este estudio confirmó las características anti-inflamatorias (expresión atenuada de TNF- α y F4/80 en TAB) y sensibilizantes a la insulina de la administración de un extracto de calafate puro con polifenoles en ratones obesos.

Conclusión

La obesidad es considerada epidemia. Esto es principalmente debido a que es un puente de enfermedades que atentan directamente contra la vida de las personas (diabetes, enfermedad cardiovascular, cáncer). La relación entre obesidad y dichas patologías surge por la presencia de procesos pro-oxidantes y pro-inflamatorios. En este sentido, la búsqueda de tratamientos complementarios antioxidantes y/o anti-inflamatorios, son de interés. Los polifenoles son compuestos de origen vegetal, a los que se han atribuido importantes propiedades antioxidantes. Es así que numerosas investigaciones han relacionado su tratamiento y/o consumo con evidencias anti-obesidad y anti-comorbilidades de la obesidad, en distintos modelos experimentales. Esto demuestra el tremendo potencial de dichos compuestos en este aspecto, y de matrices ricas en estos compuestos, y marca la necesidad de más investigación, y el perfilamiento de soluciones concretas basadas en esta evidencia, para el diseño de soluciones complementarias. Especialmente evaluando materias primas propias y cultivadas en el país.

Literatura Citada

Antioxidantes

Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)* 494, 161-172. <https://doi.org/10.4067/s0718-04622006000200010>.

- German, J. B. (1999). Food processing and lipid oxidation. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 459, 23-50. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4853-9_3.
- Johnson, J., Mani, J., Ashwath, N., & Naiker, M. (2020). Potential for Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy toward predicting antioxidant and phenolic contents in powdered plant matrices. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 233, 118228. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118228>.
- Knight, J. A. (1998). Free radicals: Their history and current status in aging and disease. *Annals of Clinical and Laboratory Science* 28(6), 331-346.
- Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry* 125(2), 288-306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.012>.
- Mattill, H. A., & Wolf, G. (2005). The Discovery of the Antioxidant Function of Vitamin E. *The Journal of Nutrition* 135(September 2004), 363-366.
- Pokorny, Jan, E., & Yanishlieva, Nedyalka, ed. Gordon, Michael, E. (2001). Antioxidants in food. Practical applications. In *War Tourism*. Published by Woodhead Publishing Limited, Abington Hall,. <https://doi.org/10.7591/cornell/9781501715877.003.0009>.
- Shah, P. & Modi, H. A. (2015). Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. *Int J Res Appl Sci Eng Technol* 3(6), 636-41.
- Sies, H. (1997). Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology* 82(2), 291-295. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1997.sp004024>.
- Szabó, I., Bergantino, E., & Giacometti, G. M. (2005). Light and oxygenic photosynthesis: Energy dissipation as a protection mechanism against photo-oxidation. *EMBO Reports* 6(7), 629-634. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400460>.
- Vertuani, S., Angusti, A., & Manfredini, S. (2005). The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview. *Current Pharmaceutical Design* 10(14), 1677-1694. <https://doi.org/10.2174/1381612043384655>.

Polifenoles en estrés oxidativo y obesidad

- Ali, F., Ismail, A., Esa, N. M., & Pei, C. P. (2015). Transcriptomics expression analysis to unveil the molecular mechanisms underlying the cocoa polyphenol treatment in diet-induced obesity rats. *Genomics* 105(1), 23-30. doi:10.1016/j.ygeno.2014.11.002.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90(17), 7915-7922. doi:10.1073/pnas.90.17.7915.
- Arias, N., Macarulla, M. T., Aguirre, L., Milton, I., & Portillo, M. P. (2016). The combination of resveratrol and quercetin enhances the individual effects of these molecules on triacylglycerol metabolism in white adipose tissue. *Eur J Nutr* 55(1), 341-348. doi:10.1007/s00394-015-0854-9.
- Boque, N., de la Iglesia, R., de la Garza, A. L., Milagro, F. I., Olivares, M., Banuelos, O., . . . Campion, J. (2013). Prevention of diet-induced obesity by apple polyphenols in Wistar rats through regulation of adipocyte gene expression and DNA methylation patterns. *Mol Nutr Food Res* 57(8), 1473-1478. doi:10.1002/mnfr.201200686.
- Bray, G. A. (2004). Medical consequences of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 89(6), 2583-2589. doi:10.1210/jc.2004-0535.
- Chacon, M. R., Ceperuelo-Mallafre, V., Maymo-Masip, E., Mateo-Sanz, J. M., Arola, L., Guitierrez, C., . . . Vendrell, J. (2009). Grape-seed procyanidins modulate inflammation on human differentiated adipocytes *in vitro*. *Cytokine* 47(2), 137-142. doi:10.1016/j.cyto.2009.06.001.
- Chang, H. C., Peng, C. H., Yeh, D. M., Kao, E. S., & Wang, C. J. (2014). Hibiscus sabdariffa extract inhibits obesity and fat accumulation, and improves liver steatosis in humans. *Food Funct* 5(4), 734-739. doi:10.1039/c3fo60495k.
- Christensen, K. B., Minet, A., Svenstrup, H., Grevsen, K., Zhang, H., Schrader, E., . . . Christensen, L. P. (2009). Identification of plant extracts with potential antidiabetic properties: effect on human peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR), adipocyte differentiation and insulin-stimulated glucose uptake. *Phytother Res* 23(9), 1316-1325. doi:10.1002/ptr.2782.

- Dandona, P., Aljada, A., & Bandyopadhyay, A. (2004). Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 25(1), 4-7. doi:10.1016/j.it.2003.10.013.
- de la Garza, A. L., Milagro, F. I., Boque, N., Campion, J., & Martinez, J. A. (2011). Natural inhibitors of pancreatic lipase as new players in obesity treatment. *Planta Med* 77(8), 773-785. doi:10.1055/s-0030-1270924.
- Decorde, K., Teissedre, P. L., Sutra, T., Ventura, E., Cristol, J. P., & Rouanet, J. M. (2009). Chardonnay grape seed procyanidin extract supplementation prevents high-fat diet-induced obesity in hamsters by improving adipokine imbalance and oxidative stress markers. *Mol Nutr Food Res* 53(5), 659-666. doi:10.1002/mnfr.200800165.
- DeFuria, J., Bennett, G., Strissel, K. J., Perfield, J. W., 2nd, Milbury, P. E., Greenberg, A. S., & Obin, M. S. (2009). Dietary blueberry attenuates whole-body insulin resistance in high fat-fed mice by reducing adipocyte death and its inflammatory sequelae. *J Nutr* 139(8), 1510-1516. doi:10.3945/jn.109.105155.
- Dulloo, A. G., Duret, C., Rohrer, D., Girardier, L., Mensi, N., Fathi, M., . . . Vandermander, J. (1999). Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans. *Am J Clin Nutr* 70(6), 1040-1045. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10584049>.
- Ejaz, A., Wu, D., Kwan, P., & Meydani, M. (2009). Curcumin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and angiogenesis and obesity in C57/BL mice. *J Nutr* 139(5), 919-925.
- Fantuzzi, G. (2005). Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 115(5), 911-919; quiz 920. doi:10.1016/j.jaci.2005.02.023.
- Ferrante, A. W., Jr. (2007). Obesity-induced inflammation: a metabolic dialogue in the language of inflammation. *J Intern Med* 262(4), 408-414. doi:10.1111/j.1365-2796.2007.01852x.
- Flora, S. J. (2007). Role of free radicals and antioxidants in health and disease. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 53(1), 1-2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17535753>.

- Fredes, C. (2009). Antioxidants in Chilean native berries. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 8(6), 469-478. doi:<https://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/008-006.pdf>.
- Fukuchi, Y., Hiramitsu, M., Okada, M., Hayashi, S., Nabeno, Y., Osawa, T., & Naito, M. (2008). Lemon Polyphenols Suppress Diet-induced Obesity by Up-Regulation of mRNA Levels of the Enzymes Involved in beta-Oxidation in Mouse White Adipose Tissue. *J Clin Biochem Nutr* 43(3), 201-209. doi:10.3164/jcbn.2008066.
- Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., . . . Shimomura, I. (2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 114(12), 1752-1761. doi:10.1172/JCI21625.
- Galinier, A., Carriere, A., Fernandez, Y., Carpenne, C., Andre, M., Caspar-Bauguil, S., . . . Casteilla, L. (2006). Adipose tissue proadipogenic redox changes in obesity. *J Biol Chem* 281(18), 12682-12687. doi:10.1074/jbc.M506949200.
- Garcia-Diaz, D. F., Lopez-Legarrea, P., Quintero, P., & Martinez, J. A. (2014). Vitamin C in the treatment and/or prevention of obesity. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 60(6), 367-379. doi:10.3177/jnsv.60.367.
- Garcia-Diaz, D. F., Jimenez, P., Reyes-Farias, M., Soto-Covasich, J., & Costa, A. G. V. (2019). A Review of the Potential of Chilean Native Berries in the Treatment of Obesity and its Related Features. *Plant Foods for Human Nutrition* 74(3), 277-286.
- Greenberg, A. S., & Obin, M. S. (2006). Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. *Am J Clin Nutr* 83(2), 461S-465S. doi:10.1093/ajcn/83.2.461S.
- Gwon, S. Y., Ahn, J. Y., Kim, T. W., & Ha, T. Y. (2012). Zanthoxylum piperitum DC ethanol extract suppresses fat accumulation in adipocytes and high fat diet-induced obese mice by regulating adipogenesis. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 58(6), 393-401. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23419397>.
- Iyer, A., Fairlie, D. P., Prins, J. B., Hammock, B. D., & Brown, L. (2010). Inflammatory lipid mediators in adipocyte function and obesity. *Nat Rev Endocrinol* 6(2), 71-82. doi:10.1038/nrendo.2009.264.

- Kang, L., Heng, W., Yuan, A., Baolin, L., & Fang, H. (2010). Resveratrol modulates adipokine expression and improves insulin sensitivity in adipocytes: Relative to inhibition of inflammatory responses. *Biochimie* 92(7), 789-796. doi:10.1016/j.biochi.2010.02.024.
- Li, A. N., Li, S., Zhang, Y. J., Xu, X. R., Chen, Y. M., & Li, H. B. (2014). Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients* 6(12), 6020-6047. doi:10.3390/nu6126020.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., & Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79(5), 727-747. doi:10.1093/ajcn/79.5.727.
- Martínez, J. A. (2000). Body-weight regulation: causes of obesity. *Proc Nutr Soc* 59(3), 337-345. doi:10.1017/s0029665100000380.
- Martínez, J. A. (2006). Mitochondrial oxidative stress and inflammation: an slalom to obesity and insulin resistance. *J Physiol Biochem* 62(4), 303-306. doi:10.1007/BF03165759.
- MINSAL (2010). Chile Health National Survey 2009-2010. <https://www.minsal.cl/portal/url/item/bcb03d7bc28b64dfe040010165012d23.pdf>.
- MINSAL (2017). Chile Health National Survey 2016-2017. https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2017/11/ENS-2016-17_PRIMEROS-RESULTADOS.pdf.
- Murase, T., Misawa, K., Minegishi, Y., Aoki, M., Ominami, H., Suzuki, Y., . . . Hase, T. (2011). Coffee polyphenols suppress diet-induced body fat accumulation by downregulating SREBP-1c and related molecules in C57BL/6J mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 300(1), E122-133. doi:10.1152/ajpendo.00441.2010.
- Mutlu-Turkoglu, U., Oztezcan, S., Telci, A., Orhan, Y., Aykac-Toker, G., Sivas, A., & Uysal, M. (2003). An increase in lipoprotein oxidation and endogenous lipid peroxides in serum of obese women. *Clin Exp Med* 2(4), 171-174. doi:10.1007/s102380300002.

- Ovalle-Marin, A., Reyes-Farias, M., Vasquez, K., Parra-Ruiz, C., Quitral, V., Jimenez, P., . . . Garcia-Diaz, D. F. (2020). Maqui, Calafate, and Blueberry fruits extracts treatments suppress the pathogenic interaction amongst human adipocytes and macrophages. *Journal of Berry Research* 10(3), 531-545.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev* 2(5), 270-278. doi:10.4161/oxim.2.5.9498.
- Pi-Sunyer, X. (2009). The medical risks of obesity. *Postgrad Med* 121(6), 21-33. doi:10.3810/pgm.2009.11.2074.
- Powers, K. A., Rehrig, S. T., & Jones, D. B. (2007). Financial impact of obesity and bariatric surgery. *Med Clin North Am* 91(3), 321-338, ix. doi:10.1016/j.mcna.2007.01.001.
- Rangel-Huerta, O. D., Aguilera, C. M., Martin, M. V., Soto, M. J., Rico, M. C., Vallejo, F., . . . Mesa, M. D. (2015). Normal or High Polyphenol Concentration in Orange Juice Affects Antioxidant Activity, Blood Pressure, and Body Weight in *Obese or Overweight Adults*. *J Nutr* 145(8), 1808-1816. doi:10.3945/jn.115.213660.
- Reyes-Farias, M., Vasquez, K., Fuentes, F., Ovalle-Marin, A., Parra-Ruiz, C., Zamora, O., . . . Garcia-Diaz, D. (2016). Extracts of Chilean native fruits inhibit oxidative stress, inflammation and insulin-resistance linked to the pathogenic interaction between adipocytes and macrophages. *Journal of Functional Foods* 27, 69-83. doi:10.1016/j.jff.2016.08.052.
- Reyes-Farias, M., Vasquez, K., Ovalle-Marin, A., Fuentes, F., Parra, C., Quitral, V., . . . Garcia-Diaz, D. F. (2015). Chilean native fruit extracts inhibit inflammation linked to the pathogenic interaction between adipocytes and macrophages. *J Med Food* 18(5), 601-608. doi:10.1089/jmf.2014.0031.
- Ruiz, A., Hermosin-Gutierrez, I., Mardones, C., Vergara, C., Herlitz, E., Vega, M., . . . von Baer, D. (2010). Polyphenols and antioxidant activity of calafate (*Berberis microphylla*) fruits and other native berries from Southern Chile. *J Agric Food Chem* 58(10), 6081-6089. doi:10.1021/jf100173x.

- Sorensen, T. I., Virtue, S., & Vidal-Puig, A. (2010). Obesity as a clinical and public health problem: is there a need for a new definition based on lipotoxicity effects? *Biochim Biophys Acta* 1801(3), 400-404. doi:10.1016/j.bba-lip.2009.12.011.
- Soto-Covasich, J., Reyes-Farias, M., Torres, R. F., Vasquez, K., Duarte, L., Quezada, J., ... Garcia-Diaz, D. F. (2020). A polyphenol-rich Calafate (*Berberis microphylla*) extract rescues glucose tolerance in mice fed with cafeteria diet. *Journal of Functional Foods* 67, 103856.
- Speisky, H., Lopez-Alarcon, C., Gomez, M., Fuentes, J., & Sandoval-Acuna, C. (2012). 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* 60(36), 8851-8859. doi:10.1021/jf205167k.
- Terra, X., Montagut, G., Bustos, M., Llopiz, N., Ardevol, A., Blade, C., ... Blay, M. (2009). Grape-seed procyanidins prevent low-grade inflammation by modulating cytokine expression in rats fed a high-fat diet. *J Nutr Biochem* 20(3), 210-218. doi:10.1016/j.jnutbio.2008.02.005.
- Valdecantos, M. P., Perez-Matute, P., & Martinez, J. A. (2009). [Obesity and oxidative stress: role of antioxidant supplementation]. *Rev Invest Clin* 61(2), 127-139. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19637727>.
- Vincent, H. K., Bourguignon, C. M., Vincent, K. R., Weltman, A. L., Bryant, M., & Taylor, A. G. (2006). Antioxidant supplementation lowers exercise-induced oxidative stress in young overweight adults. *Obesity (Silver Spring)* 14(12), 2224-2235. doi:10.1038/oby.2006.261.
- Vincent, H. K., & Taylor, A. G. (2006). Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (Lond)* 30(3), 400-418. doi:10.1038/sj.ijo.0803177.
- Wang, J., & Mazza, G. (2002a). Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor alpha in LPS/IFN-gamma-activated RAW 264.7 macrophages. *J Agric Food Chem* 50(15), 4183-4189. doi:10.1021/jf011613d.

- Wang, J., & Mazza, G. (2002b). Inhibitory effects of anthocyanins and other phenolic compounds on nitric oxide production in LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 macrophages. *J Agric Food Chem* 50(4), 850-857. doi:10.1021/jf010976a.
- WHO. (2018). Obesity and overweight. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
- Yang, R. L., Li, W., Shi, Y. H., & Le, G. W. (2008). Lipoic acid prevents high-fat diet-induced dyslipidemia and oxidative stress: a microarray analysis. *Nutrition* 24(6), 582-588. doi:10.1016/j.nut.2008.02.002.
- Yang, D. J., Chang, Y. Y., Hsu, C. L., Liu, C. W., Lin, Y. L., Lin, Y. H., . . . Chen, Y. C. (2010). Antiobesity and hypolipidemic effects of polyphenol-rich longan (*Dimocarpus longans* Lour.) flower water extract in hypercaloric-dietary rats. *J Agric Food Chem* 58(3), 2020-2027. doi:10.1021/jf903355q.
- Yoshikawa, M., Shimoda, H., Nishida, N., Takada, M., & Matsuda, H. (2002). *Salacia reticulata* and its polyphenolic constituents with lipase inhibitory and lipolytic activities have mild antiobesity effects in rats. *J Nutr* 132(7), 1819-1824. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12097653>.