



Depto. Bioquímica Clínica e Inmunología
Facultad de Farmacia
Universidad de Concepción



**EFFECTO DE UNA DIETA CHILENA SUPLEMENTADA CON
GEVUINA AVELLANA MOLINA VERSUS UNA DIETA BAJA EN
GRASAS SOBRE BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO
EN PLASMA DE POBLACIÓN CHILENA CON
HIPERCOLESTEROLEMIA**

POR SOFÍA CRISTINA RAMOS PARDO

Tesis presentada a la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción
para optar al grado académico de Magíster en Bioquímica Clínica e Inmunología

Profesor guía:

Dr. Miquel Martorell Pons
Departamento de Nutrición y Dietética
Facultad de Farmacia
Universidad de Concepción

Octubre, 2024
Concepción, Chile

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

AGRADECIMIENTO

Mis agradecimientos a aquellas personas que me acompañaron en el proceso de la elaboración de mis tesis proporcionando palabras de aliento que motivaron la culminación de esta etapa.

Agradezco el apoyo de mi familia que aportaron todo lo que estuviera a su alcance para que continuara con mis estudios de postgrado.

Al Dr. Miquel Martorell le agradezco por su apoyo y confianza depositada. Me enseñó a trabajar con perseverancia y con su guía pude mejorar cada día más.

Le agradezco al personal docente del departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología de la Facultad de Farmacia, que me ayudaron a evidenciar errores en mis experimentos, me proporcionaron material y dieron guía para obtener mejores resultados.

Gracias a mis amigos y compañeros, como Carlos, Fernanda, Esteban y Francisco que me mantuvieron con buen ánimo cuando los experimentos se complicaban, me acompañaron en tiempos de incubación y horas de almuerzo.

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	VII
INDICE DE GRÁFICOS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
GLOSARIO	X
RESUMEN.....	XIV
ABSTRACT.....	XV
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Enfermedades cardiovasculares	1
1.2 Metabolismo lipídico.....	9
1.3 Estado redox y estrés oxidativo	11
1.3.1 Sistema antioxidante	14
1.3.1.1 Antioxidantes endógenos	14
1.3.1.2 Antioxidantes exógenos	15
1.4 Hipercolesterolemia y su rol fisiopatológico en la aterosclerosis	16
1.5 Plasma	20
1.5.1 Marcadores clásicos de ECV	22

1.5.1.1	Perfil lipídico	22
1.5.1.2	Medidas antropométricas	23
1.5.2	Marcadores no clásicos de ECV.....	24
1.5.2.1	Adiponectina.....	24
1.5.2.2	Superóxido dismutasa	26
1.5.2.3	Catalasa	27
1.5.2.4	Malonildialdehído	29
1.5.2.5	Colesterol LDL oxidado	30
1.5.2.6	Homocisteína	31
1.6	Tratamiento para hipercolesterolemia.....	32
1.6.1	Tratamiento no farmacológico	32
1.6.1.1	Dieta baja en grasas	35
1.6.1.2	Dieta Chilena.....	36
1.6.2	Tratamiento farmacológico	37
1.7	Frutos secos: <i>Gevuina avellana</i> Molina	39
1.7.1	Intervenciones con avellana e hipercolesterolemia	39
1.8	Problema de investigación	41
1.9	Pregunta de investigación.....	41
1.10	Hipótesis	41

1.11	Objetivos	42
1.11.1	Objetivo principal	42
1.11.2	Objetivos específicos.....	42
2	MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
2.1	Diseño de estudio	43
2.2	Tamaño muestral	50
2.3	Variables biosociodemográficas y antropométricas	51
2.4	Obtención de muestra sanguínea	52
2.5	Perfil lipídico sérico	52
2.6	Obtención de plasma	53
2.7	Cuantificación de adiponectina como marcador metabólico en plasma 53	
2.8	Determinación de actividad enzimática de enzimas antioxidantes en plasma 54	
2.8.1	Determinación de actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD) en plasma	54
2.8.2	Determinación de actividad enzimática de catalasa (CAT) en plasma 55	
2.8.3	Cuantificación de capacidad antioxidante total (TAC) en suero ...	55

2.9	Cuantificación de malonildialdeído (MDA) como marcador de daño oxidativo y nitrosativo en plasma.....	56
2.10	Cuantificación de homocisteína como marcador de daño oxidativo y nitrosativo en plasma	57
2.11	Cuantificación de ox-LDL como marcador de daño oxidativo y nitrosativo en plasma	57
2.12	Determinación de daño nitrosativo en proteínas plasmáticas mediante DOT-BLOT	58
2.12.1	Determinación de nitrotirosina en proteínas plasmáticas mediante DOT-BLOT.....	58
2.13	Análisis estadístico.....	60
3	RESULTADOS	61
4	DISCUSIÓN.....	71
4.1	Fortalezas y limitaciones del estudio.....	78
4.2	Proyecciones del estudio	79
5	CONCLUSIÓN.....	80
6	BIBLIOGRAFÍA.....	82
7	ANEXOS.....	105
7.1	Consentimiento informado	105

7.2	Encuesta de caracterización biosociodemográfica	109
7.3	Manejo de residuos.....	135

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1. Tabla 1-1. Factores de riesgo considerados en la evaluación del RCG.	4
Tabla 1-2. Categorización del RCG según cantidad de factores.	5
Tabla 1-3. Niveles patológicos de c-LDL (mg/dL) según categorías del RCG.	5
Tabla 1-4. Clasificación de la hipercolesterolemia según su etiología.	7
Tabla 1-5. Proporciones recomendadas de diversos micro y macronutrientes en un tratamiento dietoterapéutico para hipercolesterolemia.	34
Tabla 2-1. Calendario de controles, toma de muestra y aplicación de encuestas.	47
Tabla 2-2. Características nutricionales del grupo avellana.	48
Tabla 2-3. Resumen tratamiento nutricional para la hipercolesterolemia, características nutricionales grupo control.	49
Tabla 3-1. Variables antropométricas de los participantes en función del grupo y tiempo de intervención.	62
Tabla 3-2. Análisis estadístico del perfil lipídico y adiponectina según grupo y tiempo de intervención.	64
Tabla 3-3. Análisis estadístico de Capacidad Antioxidante Total en suero según grupo y tiempo de intervención.	69
Tabla 3-4. Análisis estadístico de las determinaciones en plasma según grupo y tiempo de intervención.	70

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 3-1. Análisis estadístico del c-HDL según grupo y tiempo de intervención.	65
Gráfico 3-2. Análisis estadístico del c-LDL según grupo y tiempo de intervención.	66
Gráfico 3-3. Análisis estadístico de SOD en plasma según grupo y tiempo de intervención.....	67
Gráfico 3-4. Análisis estadístico de CAT en plasma según grupo y tiempo de intervención.....	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1. Defunciones totales del año 2020 en Chile.	2
Figura 1-2. Dislipidemia; niveles sanguíneos.....	8
Figura 1-3. Fisiología el metabolismo lipídico.	10
Figura 1-4. Sitios de formación de superóxido en la cadena respiratoria.	12
Figura 1-5. Desarrollo de la placa ateromatosa.	20
Figura 1-6. Formación de MDA mediante peroxidación lipídica.....	29
Figura 1-7. Mecanismo inhibitorio de la síntesis de colesterol intrahepático por acción de estatinas.	38
Figura 2-1. Representación en diagrama de flujo del reclutamiento de las/os participantes del estudio.	46

GLOSARIO

Abreviatura	Definición
%masa grasa:	Porcentaje masa grasa
4-HNE:	4-hidroxi-2-noenol
ADN:	Ácido Desoxirribonucleico
AGI:	Ácidos grasos insaturados
AGMI:	Ácidos grasos monoinsaturados
AGPI:	Ácidos grasos poliinsaturados
AGS:	Ácidos grasos saturados
AHA:	<i>American Heart Association</i>
ADIPO:	Adiponectina
ApoB:	Apolipoproteína B
ApoB-100:	Apolipoproteína B-100
ApoE:	Apolipoproteína E
BVR	Biliverdina reductasa
CAT:	Catalasa
CE	Célula endotelial
CETP:	Proteína Transferidora de Ésteres de Colesterol
c-HDL:	Colesterol-HDL; <i>cholesterol-High Density Lipoprotein</i>
CitC:	Citocromo C
c-LDL:	Colesterol-LDL; <i>cholesterol-Low Density Lipoprotein</i>
CML:	Células del Músculo Liso

c-no HDL:	Colesterol no HDL
CT:	Colesterol Total
ECV:	Enfermedad Cardiovascular
eNOS:	Óxido Nítrico Sintasa endotelial
ENS 2016-17:	Encuesta Nacional de Salud años 2016-2017
FAD	Flavia Adenina dinucleótido
FMN	Flavín Mononucleótido
Fe-SOD:	Hierro-Superóxido Dismutasa
GPx:	Glutación Peroxidasa
GRd:	Glutación Reductasa
GSH:	Glutación
GSSG:	Glutación Disulfato
HDL:	<i>High Density Lipoprotein</i>
HF:	Hipercolesterolemia Familiar
HMG-CoA:	3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA
ICAM-1:	<i>Intercelular Adhesion Molecule 1</i>
IDL:	<i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
IL-1:	Interleuquina-1
IL-10:	Interleuquina-10
IL-6:	Interleuquina-6
IMC:	Índice de Masa Corporal
LDL:	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LDLR:	Receptor de LDL; <i>Low Density Lipoprotein Receptor</i>

LH:	Lipasa Hepática
LPL:	Lipoproteína Lipasa
MCP-1:	<i>Monocyte Chemoattractant Protein 1</i>
MDA:	Malondialdehído
MEC:	Matriz Extracelular
MedDiet:	Dieta Mediterránea
MINSAL:	Ministerio de Salud de Chile
NADPH:	Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato
NO:	Óxido Nítrico
NOS	Óxido Nítrico sintasa
N-TYR	Nitrotirosina
OMS:	Organización Mundial de la Salud
ox-LDL:	LDL oxidada
PBMC:	<i>Pheripheral Blood Mononuclear Cell</i> ; Células Mononucleares de Sangre Periférica
PCR:	Proteína C Reactiva
PCSK-9:	<i>Proprotein Convertase Subtilisim/Kexin Type 9</i>
PDGF:	Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas
PPARγ:	Receptor gamma activado por el proliferador de peroxisoma
QM:	Quilomicrón
RCG:	Riesgo Cardiovascular Global
RCV:	Riesgo Cardiovascular
REDOX:	Reducción-Oxidación

RNS:	Especie Reactiva del Nitrógeno
ROS:	Especie Reactiva del Oxígeno
SOD:	Superóxido Dismutasa
SOD1/Cu,Zn-SOD	Superóxido dismutasa citosólica
SOD2/Mn-SOD	Superóxido Dismutasa mitocondrial
SOD3/EC-SOD	Superóxido Dismutasa extracelular
SR:	<i>Scavenger Receptor</i>
TAC	<i>Total Capacity Antioxidant</i>
TG:	Triglicéridos
TNF-α:	Factor de Necrosis Tumoral alfa
VCAM-1:	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule 1</i>
VEGF:	Factor de Crecimiento Endotelial Vascular
VLDL:	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>

RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) tienen como factor de riesgo la hipercolesterolemia. La primera línea de tratamiento recomendada es una dieta baja en grasas, sin embargo, existen alimentos que han demostrado beneficios sobre la salud, como los frutos secos. En Chile se consume la *Gevuina avellana* Molina, pero sus beneficios no se han demostrado en estudios de intervención dietaria. El objetivo es comparar el efecto de una dieta de 6 meses suplementada con *G. avellana* con una dieta baja en grasa en los biomarcadores de estrés oxidativo en sangre de un grupo de personas con hipercolesterolemia. Se realizó un estudio aleatorizado controlado de 6 meses en 81 voluntarios hipercolesterolémicos en donde consumieron una dieta baja en grasas o una dieta chilena suplementada con avellanas. Se midieron marcadores del perfil lipídico, de la capacidad antioxidante y daño oxidativo en plasma para luego analizar por ANOVA de dos factores (tiempo y grupo). Se observó que el nivel de c – HDL y la actividad enzimática de catalasa (CAT) aumentó significativamente en el tiempo, hubo una tendencia al aumento de la capacidad antioxidante total (TAC) y tendencia a disminución de homocisteína, sin observar cambios en marcadores de oxidación como malondialdehído (MDA) y ox - LDL. Se concluye que una dieta chilena suplementada con avellana tiene beneficios en el perfil lipídico y en el sistema antioxidante, lo que contribuye a un menor RCV al igual que una dieta baja en grasas.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases (CVD) have hypercholesterolemia as a risk factor. The first line of treatment recommended is a low-fat diet, however, there are foods that have shown health benefits, such as nuts. *Gevuina avellana* Molina is consumed in Chile, but its benefits have not been demonstrated in dietary intervention studies. The objective is to compare the effect of a 6-month diet supplemented with *G. avellana* with a low-fat diet on oxidative stress biomarkers in blood of a group of people with hypercholesterolemia. A 6-month randomized controlled study was conducted in 81 hypercholesterolemic volunteers who consumed a low-fat diet or a Chilean diet supplemented with hazelnuts. Lipid profile markers, antioxidant capacity and oxidative damage in plasma were measured and then analyzed by two-factor ANOVA (time and group). It was observed that the level of c – HDL and the enzymatic activity of catalase (CAT) increased significantly over time, there was a tendency to increase in total antioxidant capacity (TAC) and a tendency to decrease homocysteine, without observing changes in oxidation markers such as malondialdehyde (MDA) and ox-LDL. It is concluded that a Chilean diet supplemented with hazelnut has benefits in the lipid profile and in the antioxidant system, which contributes to a lower CVR as well as a low-fat diet.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Enfermedades cardiovasculares

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la primera causa de muerte a nivel mundial según la Organización Mundial de la Salud (OMS) cobrando 17,9 millones de vida cada año (OMS, 2021). Los casos prevalentes de ECV se duplicaron de 271 millones a 523 millones desde el año 1990 al año 2019, respectivamente (Feigin et al., 2024). En el año 2019 la cardiopatía isquémica fue la primera causa de muerte mundial representando un 16% del total de muertes mientras que los accidentes cerebrovasculares son responsables de un 11%, esto nos indica que las ECV representan un 27% del total de muertes en el año 2019 (OMS, 2020). En América Latina la tasa de mortalidad asociada a ECV estandarizada por edad cayó en un 51,2% desde el año 1990 al 2022, posicionando a Chile en el rango de mortalidad entre los 108,3 – 147,4 por cada 100.000 habitantes en el año 2022 (Mensah George et al., 2023). Los últimos datos publicados por el Departamento de Estadística e Información de Salud, perteneciente al Ministerio de Salud, indican que durante el año 2020 el 27% del total de defunciones fueron atribuibles a enfermedades del sistema circulatorio llevando la delantera frente a otras enfermedades como tumores, enfermedades del sistema respiratorio, entre otras

(DEIS, 2024) (véase **Figura 1-1**), lo cual es similar a las cifras entregadas por la OMS.

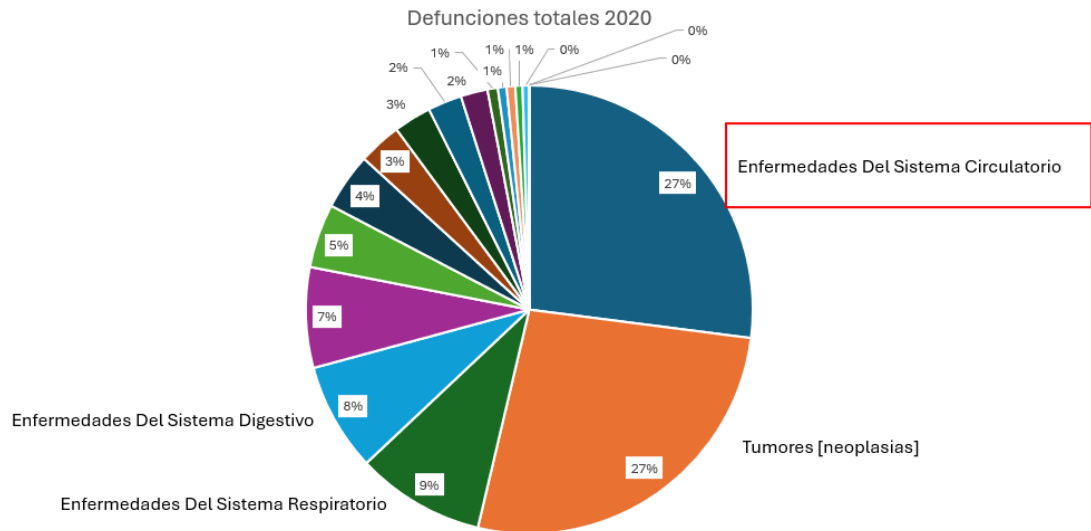


Figura 1-1. Defunciones totales del año 2020 en Chile.

Fuente: Elaboración propia a partir de (DEIS, 2024).

La enfermedad cardiovascular se define como un conjunto de trastornos del corazón y vasos sanguíneos, entre los cuales encontramos cardiopatías coronarias, enfermedades cerebrovasculares y cardiopatías reumáticas (OMS, 2021). Estas enfermedades están asociadas fisiopatológicamente a la aterosclerosis, siendo la hipercolesterolemia el principal factor de riesgo para su desarrollo.

La hipercolesterolemia se corresponde a una sub-clasificación de las dislipidemias, definidas como niveles sanguíneos de lípidos alterados, llegando

a valores que pueden ser un riesgo para la salud humana (MINSAL, 2018b). Conforme a las pautas clínicas del Ministerio de Salud (MINSAL), es fundamental determinar el grado de riesgo cardiovascular global (RCG) mediante la identificación de factores de riesgo específicos establecidos para cada nivel. Conforme a las pautas clínicas del MINSAL, es fundamental determinar el grado de RCG mediante la identificación de factores de riesgo específicos establecidos para cada nivel (véase **Tabla 1-1** y **Tabla 1-2**). Posteriormente, se puede diagnosticar hipercolesterolemia cuando una persona presenta niveles elevados exclusivamente de c-LDL, según los criterios definidos por el RCG específico (ver **Tabla 1-3**) (MINSAL, 2018b).

Tabla 1-1. Factores de riesgo considerados en la evaluación del RCG.

Considerar presencia o ausencia de alguna manifestación clínica de enfermedad vascular aterosclerótica (coronaria, cerebral o periférica) y presencia de factores de riesgo cardiovascular, según listado:

1. Hombre mayor de 45 años
 2. Mujer postmenopáusica sin terapia de reemplazo estrogénico
 3. Antecedentes de aterosclerosis clínica en familiares de primer grado*
 4. Tabaquismo
 5. Hipertensión arteria
 6. Diabetes mellitus
 7. Colesterol HDL < 35 mg/dL
-

Si c-HDL > 60 mg/dL (factor protector), se resta 1 factor al puntaje de RCG

*Padres, hermanos, hijos (hombres < 55 años y mujeres < 65 años), c-HDL, *colesterol-High Density Lipoprotein*, colesterol-HDL.

Fuente: Obtenida de (MINSAL, 2000).

Tabla 1-2. Categorización del RCG según cantidad de factores.

Categorías de riesgo	Factores de riesgo
Bajo	< 2 factores de riesgo
Alto	2 o > factores de riesgo
Máximo	Demostración de enfermedad vascular aterosclerótica Diabetes mellitus Dislipidemias aterogénicas genéticas severas

Fuente: Obtenida de (MINSAL, 2000).

Tabla 1-3. Niveles patológicos de c-LDL (mg/dL) según categorías del RCG.

Categoría del RCG	c-LDL (mg/dL)
Bajo	≥ 160
Alto	≥ 130
Máximo	≥ 100

Fuente: Modificado de (MINSAL, 2000).

La hipercolesterolemia puede ser categorizada de acuerdo a su origen. Dentro de estas categorías se encuentran las formas primarias, las cuales abarcan trastornos en el metabolismo de los lípidos de origen genético o hereditario, así como aquellas que son excluidas de causas secundarias, las cuales están asociadas a enfermedades o condiciones que alteran el metabolismo lipídico, pero cuya causa desaparece al corregir la condición subyacente (véase **Tabla 1-4**) (MINSAL, 2000; José T. Real & Juan F. Ascaso).

Tabla 1-4. Clasificación de la hipercolesterolemia según su etiología.

Etiología	Tipo	Detalle
Primaria	Hipercolesterolemia familiar (HF) autosómica dominante heterocigota y homocigota	Defecto de LDL-R (<i>Low Density Lipoprotein Receptor</i>) (gen <i>LDLR</i>) Defecto de ApoB (Apolipoproteína B) (gen <i>APOB</i>) Defecto funcional de PCSK-9 (gen <i>PCSK-9</i>)
	HF autosómica recesiva	Defecto de la proteína LDLRAP1 (gen <i>LDLRAP1</i>)
	Variantes de genes <i>APOE</i> pueden cursar con fenotipo clínico de HF	
	Hipercolesterolemia poligénica familiar o hipercolesterolemia multifactorial	
	Hipercolesterolemia mixta esporádica (HF combinada)	Aumento de colesterol y TG
Secundaria	Hipercolesterolemia con fenotipo II o III	Causas: Hipotiroidismo Síndrome nefrótico Colestasis Anorexia nerviosa Hepatoma Fármacos (ciclosporina, progestágenos, tiazidas, etc).

Fuente: Confeccionado desde (J. T. Real & J. F. Ascaso, 2021).

Según la Encuesta Nacional de Salud 2016-2017 la prevalencia del colesterol total elevado sobre 200 mg/dl es de un 27,8% en la población chilena, mientras que la prevalencia de c-LDL elevado sobre 100 mg/dl es de 52,3% y sobre o igual a 160 mg/dl es de 5,2% y un 45,8% tiene una prevalencia de c-HDL bajo 40 mg/dl para hombres y 50 mg/dl para mujeres (véase **Figura 1-2**) (MINSAL, 2018a).



Figura 1-2. Dislipidemia; niveles sanguíneos.

Fuente: Obtenida de (MINSAL, 2018a).

1.2 Metabolismo lipídico

El colesterol es una molécula presente en todas las células animales, entre sus funciones se encuentra la síntesis de hormonas esteroideas, proporcionar energía al organismo, dar fluidez a la membrana celular, síntesis de vitamina D y facilitar la absorción de grasas de la dieta. Aproximadamente el 50% de colesterol es sintetizado por el propio organismo por la denominada vía endógena y el resto de obtiene desde la dieta, vía exógena (Carretero Colomer, 2008). Es una molécula anfipática por lo que debe ser transportada por lipoproteínas, al ingresar a través de la dieta el primer transporte del colesterol y también de los triglicéridos son los quilomicrones, los cuales se dirigen a la sangre en donde son clivados por la lipoproteína lipasa (LPL) formando quilomicrones remanentes. Estos remanentes se dirigen al hígado y se sintetizan lipoproteínas de gran tamaño y baja densidad denominadas VLDL (*very low density lipoprotein*) las cuales pasan a circulación y por acción de la LPL se pierden contenido de triglicéridos transformándose en IDL (*intermediate density lipoprotein*), éstas pueden seguir en circulación o dirigirse nuevamente al hígado. Por acción de la enzima lipasa hepática (LH) las IDL se transforman en LDL (*low density lipoprotein*) que tienen bajo contenido en triglicéridos, pero alto contenido en colesterol pasando a la circulación y uniéndose a los receptores LDL (LDLR) liberando el colesterol en las células, una vez liberado el colesterol la PCSK9 conduce al LDLR al lisosoma donde es degradado proteolíticamente. Cuando los niveles de colesterol en los

tejidos es excesivo actúan las HDL (*high density lipoprotein*), retirando este colesterol en exceso y devolviéndolo al hígado para ser excretado vía biliar y fecal (véase **Figura 1-3**) (Libby, 2021; Sanchez-Monroy, 2020).

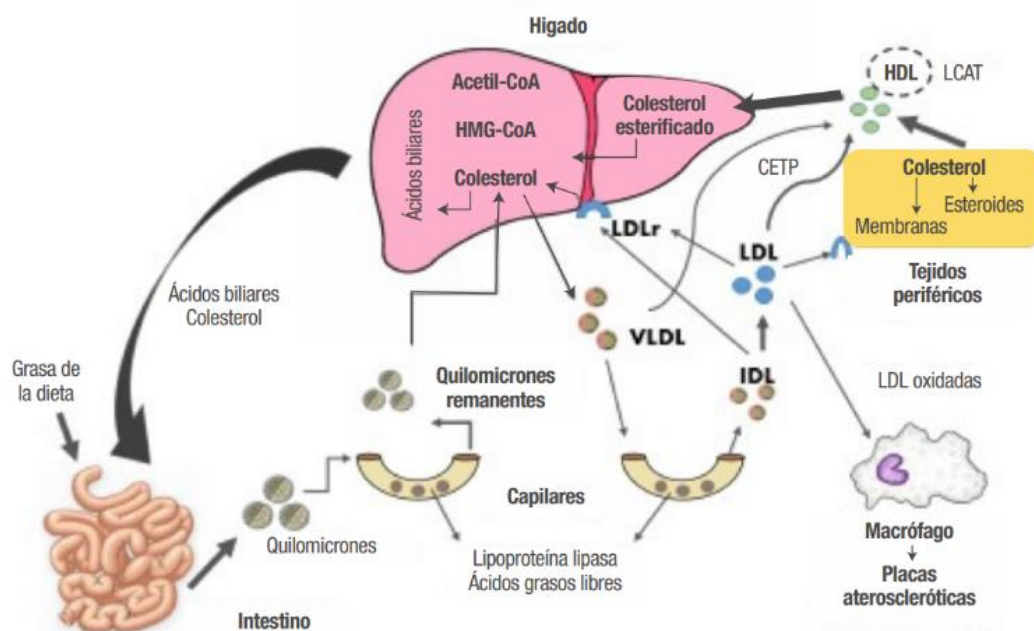


Figura 1-3. Fisiología el metabolismo lipídico.

Fuente: Obtenido de (Aguillón-Osma et al., 2019).

El metabolismo descrito anteriormente puede alterarse por diversos factores de riesgo, entre los principales encontramos la hipertensión arterial, tabaquismo, diabetes, obesidad, sedentarismo, consumo de alcohol y una dieta aterogénica, es decir, un alto consumo en grasas saturadas y azúcares refinados junto a un

bajo consumo de fibras, dando lugar al desarrollo de la hipercolesterolemia (Carpio G et al., 2005).

1.3 Estado redox y estrés oxidativo

Dentro del metabolismo fisiológico aeróbico se mantiene un balance de oxidoreducción (REDOX). Los organismos aeróbicos utilizan el oxígeno molecular como aceptor terminal de electrones para metabolizar el carbono orgánico y generar energía. Este proceso respiratorio consume oxígeno y sustratos metabólicos, produciendo ATP, agua y dióxido de carbono. Aunque el proceso es esencial para la vida multicelular debido a su alto rendimiento energético (38 moles de ATP por mol de glucosa), también genera intermediarios tóxicos, como las especies reactivas de oxígeno (ROS) (Sies, 2015). Cuando este equilibrio se ve afectado aumenta el estrés oxidativo, que se define como el aumento de la oxidación, proceso en el cual se pierden electrones, hay un aumento de oxígeno o hay una deshidrogenación, mientras que en la reducción hay aumento de especies que captan electrones o una disminución del oxígeno (Elejalde Guerra, 2001).

Normalmente, el 95% del oxígeno se reduce a H₂O en las mitocondrias sin formar radicales libres. Sin embargo, el 5% restante se reduce de forma univalente, produciendo radicales libres, como el anión superóxido (O₂⁻) (véase **Figura 1-4**).

Este anión puede transformarse en su forma protonada, denominado radical hidroperoxilo (HO_2), especialmente en condiciones de acidosis, como durante la isquemia. El HO_2 puede causar daño oxidativo a los ácidos grasos y membranas celulares, pero dentro de la célula, el superóxido se convierte en H_2O_2 mediante la acción de superóxido dismutasa (Turrens, 2003).

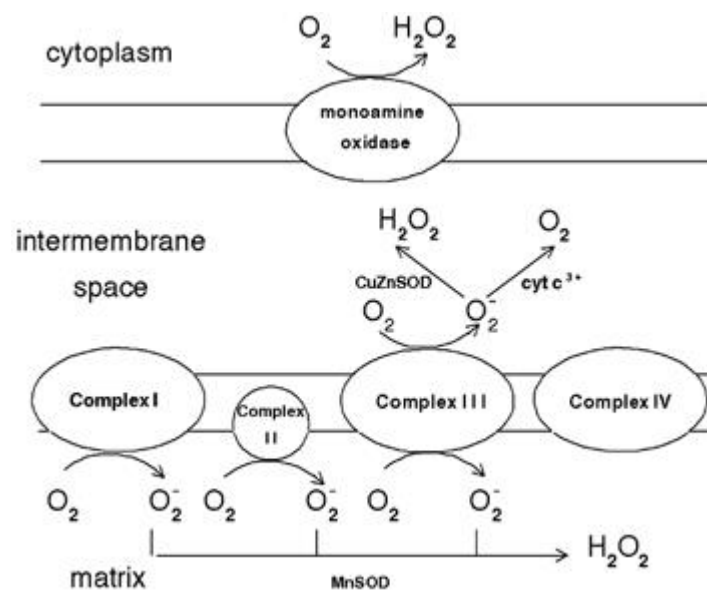


Figura 1-4. Sitios de formación de superóxido en la cadena respiratoria.

Fuente: Obtenido de (Turrens, 2003).

El H_2O_2 no es tóxico en concentraciones normales, ya que se reduce a H_2O mediante la catalasa (CAT) o el sistema del glutatión. Sin embargo, durante la isquemia y la reperfusión, la producción y acumulación de H_2O_2 puede aumentar, generando radicales hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) altamente destructivos en presencia de iones

metálicos, especialmente el hierro, contribuyendo a la formación de estos radicales principalmente en la matriz mitocondrial al realizar la reducción parcial del oxígeno o en la dismutación del radical superóxido por la enzima superóxido dismutasa (SOD). Los radicales hidroxilos pueden causar daño directo a las membranas celulares, peroxidación lipídica y daños a proteínas y enlaces sulfhidrilo. Además, se pueden producir otros radicales libres relacionados con el oxígeno, como el óxido nítrico y el peroxinitrito (Sies, 2015)

Los radicales libres como el anión superóxido (O_2^-) origina especies radicales del nitrógeno (RNS), como el óxido nítrico (NO) y el peroxinitrito ($ONOO^-$). El óxido nítrico es producido por la conversión de L-arginina en L-citrulina a través de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS), de la cual se conocen tres isoformas: neuronal (nNOS) endotelial (eNOS) e inducible (iNOS). En mamíferos son hemoproteínas que utilizan nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), oxígeno y los cofactores flavín adenin dinucleótido (FAD) y flavín mononucleótido (FMN) para la producción de NO, cuya función fisiológica se ejerce cuando se encuentra en bajas cantidades, sin embargo, en exceso causa citotoxicidad. Por otra parte, los $ONOO^-$, se originan a partir del óxido nítrico que se encuentra en altas concentraciones y el oxígeno, formando nitritos y nitratos que rápidamente reaccionan con el anión superóxido (O_2^-) dando origen a dicha molécula, el peroxinitrito reacciona con las hemoproteínas dando como resultado la inhibición de la capacidad de transportar electrones inactivando los complejos I y III involucrados en la respiración mitocondrial. En consecuencia, se acumulan los

electrones en la cadena respiratoria aumentando los niveles de producción de O_2^- , $ONOO^-$ y H_2O_2 (Hernández-Rodríguez S, 2014; Msc & Ariza, 2012).

1.3.1 Sistema antioxidante

1.3.1.1 Antioxidantes endógenos

Los antioxidantes endógenos poseen dos vías, enzimáticas y no enzimáticas; las vías enzimáticas son enzimas antioxidantes, principalmente SOD, CAT y GPx. La enzima SOD cataliza la conversión de O_2^- en H_2O_2 , que luego es descompuesto en oxígeno y agua por acción de CAT (véase apartados **1.5.2.2** y **1.5.2.3**), además la GPx convierte peróxidos de radicales hidroxilos en compuestos no tóxicos mediante la oxidación de glutatión reducido (GSH) en disulfuro de glutatión (GSSG) que es recuperado a GSH por acción de la enzima glutatión reductasa (GRd) (Liguori et al., 2018). Las vías no enzimáticas corresponden a moléculas con propiedades antioxidantes que no se adquieren a través de la dieta, corresponden a ácido úrico, bilirrubina y melatonina. El ácido úrico previene la nitrosilación de proteínas inducida por peroxinitrito, peroxidación de lípidos y proteínas e inactiva a tetrahidrobiopterina, un cofactor necesario para la producción de NO. La bilirrubina, en su forma no conjugada, es capaz de interactuar con ROS convirtiéndose en biliverdina por acción de la biliverdina

reductasa (BVR), debido a esta reconversión la bilirrubina es capaz de detoxificar hasta 10.000 veces el exceso de oxidantes, al ser una molécula soluble en lípidos protege de la peroxidación lipídica, mientras que los oxidantes solubles son neutralizados por el ciclo del glutatión (Otero Regino et al., 2009). La melatonina mejora la actividad de los complejos de la cadena respiratoria disminuyendo la generación de radicales libres al optimizar este proceso (He et al., 2017).

1.3.1.2 Antioxidantes exógenos

Por otro lado, los antioxidantes exógenos se obtienen principalmente desde la dieta, en donde se encuentran moléculas como el ácido ascórbico (vitamina C), molécula hidrosoluble que elimina principalmente los radicales del anión hidroxilo, alcoxilo y superóxido; el α -tocoferol (vitamina E), es un compuesto liposoluble que combate la peroxidación lipídica gracias al efecto sinérgico ante la presencia de ácido ascórbico que recicla α -tocoferoxilo reduciéndolo por acción del ascorbato a α -tocoferol (Padayatty et al., 2003; Pisoschi & Pop, 2015); retinoides y carotenos (vitamina A), los efectos antioxidantes de esta vitamina se ejercen por el metabolito activo ATRA y son de carácter indirecto, actuando en la regulación génica a través de receptores nucleares RAR y receptores X de retinoides, correspondientes a elementos de respuesta al ácido retinoico polimórfico (RARE) (Blaner et al., 2021); los polifenoles, con compuestos a los que se les atribuye un

comportamiento antioxidante por su capacidad de quelar metales, inhibir lipoxigenasas y captar radicales libres, entre ellos se destacan los flavonoides, ácidos fenólicos, taninos y calconas (Valverde et al., 2000).

1.4 Hipercolesterolemia y su rol fisiopatológico en la aterosclerosis

La elevación de los niveles de colesterol sanguíneos, especialmente la elevación del colesterol LDL es un factor de riesgo importante para el desarrollo de aterosclerosis y en consecuencia una complicación isquémica. Aunque no se ha demostrado una asociación directa entre la hipercolesterolemia y el aumento de especies reactivas del oxígeno (ROS) y especies reactivas del nitrógeno (RNS) existe un consenso en la literatura que describe esta asociación, especialmente con el aumento del estrés oxidativo y nitrosativo cardiaco. Los sistemas oxidantes corresponden enzimáticamente a la cadena transportadora de electrones mitocondrial, NADPH oxidasa, xantina oxidasa, ciclooxigenasas, lipooxigenasas y óxido nítrico sintasa; molecularmente corresponden a especies reactivas del oxígeno y nitrógeno (RONS) como el O_2^- , H_2O_2 , $\bullet OH$ y $ONOO^-$. Por otra parte, el sistema antioxidante corresponde a las enzimas SOD, CAT y GRd y componentes no enzimáticos principalmente de origen dietario como vitamina A, vitamina C, vitamina E, cofactores y fitoquímicos (véase apartado **1.3.1**) (Carvajal Carvajal, 2019; Csonka et al., 2016; Lara Terán, 2014).

El aumento del estrés oxidativo genera una disfunción endotelial y un ambiente proinflamatorio favoreciendo el desarrollo de la aterosclerosis (Carvajal Carvajal, 2017). Entre las causas de la disfunción endotelial encontramos la fuerza hemodinámica, que causa un estrés físico en los vasos sanguíneos debido a un flujo turbulento, el cual puede ser ocasionado por la presión arterial o la ramificación de los vasos sanguíneos perturbando el flujo laminar. Además, existe una reducción en la biodisponibilidad de óxido nítrico (NO) producido en las células endoteliales, que ejerce su acción en el músculo liso promoviendo la vasodilatación, en sujetos hipercolesterolémicos existe un ambiente de estrés oxidativo que promueve la síntesis de citoquinas pro aterogénicas como TNF- α e interleuquina-1 (IL-1) e IL-6, moléculas de adhesión molecular como VCAM-1 (*Vascular Cell Adhesion Molecule 1*) e ICAM-1 (*Intercelular Adhesion Molecule 1*) y quimioquinas como MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein 1*), las cuales inhiben la actividad de eNOS (Óxido Nítrico Sintasa endotelial) y en consecuencia disminuye la biodisponibilidad de NO y aumenta la permeabilidad del endotelio (Cyr et al., 2020; Jebari-Benslaiman et al., 2022).

Las altas concentraciones de c-LDL circulante atraviesan el endotelio debido al aumento en su permeabilidad y se acumulan en la capa subendotelial, la Apo B-100 que compone a esta lipoproteína se une a los proteoglicanos de la matriz extracelular por interacciones iónicas reteniendo al c-LDL en esta zona, quedando propensas a modificaciones oxidativas generadas por la mieloperoxidasa, lipoxigenasas, RONS, entre otras especies reactivas (Hansson & Hermansson,

2011). Cuando existen estos factores de riesgo cardiovascular activan a las células endoteliales (CE) por su disfunción, las cuales expresan moléculas de adhesión como VCAM-1 (que interactúa con VLA4), ICAM-1, E-selectina y P-selectina, promoviendo el rodamiento y adherencia de monocitos y, en menor medida linfocitos T y además las CE secretan VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular que estimula la migración de monocito/macrófagos T. Las ox-LDL generadas y acumuladas actúan como moléculas quimioatrayentes junto a la sobreexpresión de MCP1, cuyo receptor es CCR2 (receptor de quimiocinas con motivo CC2) presente en monocito/macrófagos, dirigen a estos monocitos hacia el espacio subendotelial donde se diferencian a macrófagos y se acumulan liberando grandes cantidades de IL-6 y TNF- α , que estimulan la síntesis de PCR (proteína C reactiva) manteniendo la injuria en las CE (Libby, 2021; Zhu et al., 2018). Una vez diferenciados los macrófagos comienzan a reconocer el ox-LDL a través de receptores SR (*Scavenger receptor*) y lo internalizan, a diferencia de LDLR, los SR no son regulados a la baja por acumulación de colesterol, por lo tanto, el proceso de internalización es continuo y los macrófagos se transforman en células espumosas (Falk, 2006). Tras dicha infiltración los macrófagos y plaquetas activas comienzan a secretar citoquinas proinflamatorias que exacerbaban la respuesta inmune, factores de crecimiento como el PDGF (factor de crecimiento derivado de la plaquetas), que estimula la migración de células musculares lisas (CML), estas células producen colágeno, elastina y proteoglicanos que componen la MEC (matriz extracelular) formando una cubierta

fibrosa en la placa sin embargo, en el desarrollo de la aterosclerosis las CML tienen un “cambio fenotipo” pro aterosclerótico. Las células inflamatorias sobre expresan metaloproteinasas (MMP) como MMP-9 y MMP-2 que degradan las fibras de colágeno de la (MEC) placa provocando una placa inestable y una posible ruptura de la placa y en consecuencia la oclusión parcial o total del vaso producto de un trombo (véase **Figura 1-5**) (Bennett et al., 2016; Libby, 2021; Maldonado Saavedra et al., 2012).

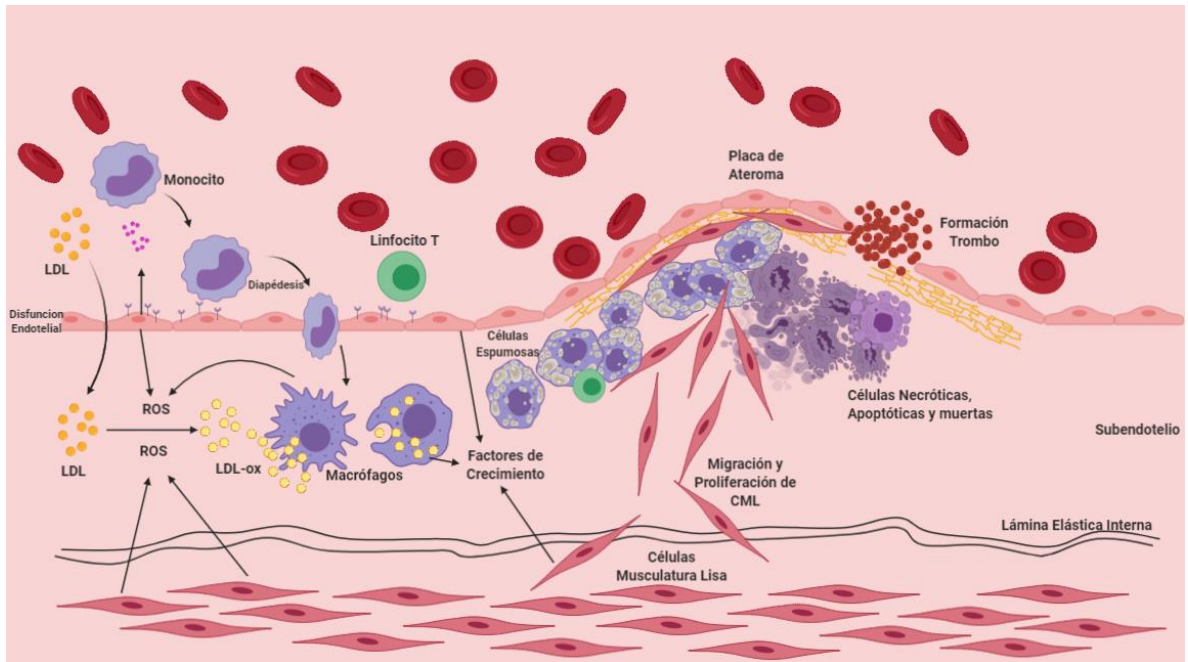


Figura 1-5. Desarrollo de la placa ateromatosa.

Fuente: Obtenida de (Gonzalez-Contreras, 2023).

1.5 Plasma

El plasma humano es una matriz frecuentemente utilizada en estudios, eso se debe a que es un fluido biológico bastante representativo de lo que ocurre *in vivo*, además puede obtenerse de una manera rápida y relativamente no invasiva, a través de punción venosa con una posterior centrifugación de la muestra sanguínea para separar los componentes celulares del plasma, lo que lo convierte en la matriz perfecta para estudios clínicos (Plebani et al., 2020).

El plasma refleja con precisión el estado general del cuerpo, esto también significa que podemos obtener información del estado REDOX de un individuo. Todo el cuerpo contiene una mezcla de oxidantes y antioxidantes derivados de diversos órganos y tejidos que convergen en el plasma incluyendo diversas moléculas clave de protección, tales como la vitamina C, la vitamina E, el glutatión y enzimas antioxidantes como la catalasa (CAT) y el superóxido dismutasa (SOD) y también moléculas perjudiciales como productos de la peroxidación lipídica (por ejemplo, MDA), proteínas oxidadas o productos de oxidación del ADN que pueden ser utilizados como marcadores directos e indirectos del daño oxidativo en el plasma (Halliwell & Gutteridge, 2015; Pizzino et al., 2017). En investigaciones clínicas y experimentales, se ha visto una asociación entre los niveles de oxidantes y antioxidantes en plasma y el consumo de alimentos que aumentan la cantidad de antioxidantes. Se describe que el consumo de alimentos ricos en antioxidantes ayuda a reducir el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares y renales al reducir el estrés oxidativo y la inflamación, dos factores que son cruciales en la progresión de estas enfermedades crónicas, enfatizando que el desbalance del estado REDOX puede traer consecuencias negativas para la salud (El Frakchi et al., 2024; Pizzino et al., 2017; Prior et al., 2007; Wang et al., 2023). Así, su examen es importante para entender la fisiopatología de estas situaciones.

1.5.1 Marcadores clásicos de ECV

1.5.1.1 Perfil lipídico

El c-LDL es considerado pro-aterogénico debido a su papel en la formación de placas ateroscleróticas en las arterias, lo que puede provocar obstrucción arterial y aumentar el riesgo de eventos cardiovasculares como infartos de miocardio y accidentes cerebrovasculares. Por otro lado, el c-HDL es conocido como el anti-aterogénico, ya que ayuda a eliminar el exceso de colesterol de las arterias y transportarlo de regreso al hígado para su eliminación, lo que puede reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular como se describió anteriormente en su metabolismo (véase **Figura 1-3**).

El análisis del perfil lipídico proporciona información valiosa sobre el estado del sistema cardiovascular de una persona y su riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares debido a la relación documentada entre las lipoproteínas y el riesgo cardiovascular. Se asocia el aumento del c-LDL con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas, existe documentada una reducción consistente del riesgo relativo por cada 1 mmol/l (39 mg/dl) de reducción del c-LDL del orden de aproximadamente el 20%, independientemente del perfil de riesgo al inicio del tratamiento, edad y sexo. Por otra parte, el c-HDL se asocia inversamente al riesgo cardiovascular, es decir, el aumento de c-HDL

en el perfil lipídico es indica un menor riesgo de muerte por enfermedades cardiovasculares (Weitgasser et al., 2018).

Un metanálisis de estudios de cohortes evaluó la relación entre el colesterol sérico (CT, c-LDL y c-HDL) y la mortalidad por ECV. Los resultados de este metanálisis demostraron que el CT y el c-LDL se asocian con un mayor riesgo de mortalidad por ECV y el c-HDL se asocia inversamente con un riesgo de mortalidad por ECV (Jung et al., 2022). Por lo tanto, el perfil lipídico se utiliza como una herramienta de diagnóstico y evaluación del riesgo, y es fundamental en la prevención y el manejo de las enfermedades cardiovasculares.

1.5.1.2 Medidas antropométricas

Las medidas antropométricas se definen como un conjunto de medidas de referencia para realizar análisis corporales, entre estas medidas se encuentran el índice de masa corporal (IMC), circunferencia de la cintura (CC), circunferencia de la cadera, relación cintura-cadera (ICC), índice de forma corporal (ABSI, del inglés A body shape index) y relación cintura-altura; estas medidas han demostrado tener una relación directa con el riesgo de ECV en mujeres excepto el IMC y el índice de forma corporal (Goh et al., 2014). Un estudio realizado por PURE-China que incluyó 44.048 participantes chinos observó que la relación cintura-altura tiene relación significativamente mayor para predecir la dislipidemia

en comparación a con el resto de las medidas antropométricas mencionadas (Liu et al., 2019). Por lo que, las medidas antropométricas han sido utilizadas como predictoras de riesgo cardiovascular jugando un rol importante para la prevención de ECV.

1.5.2 Marcadores no clásicos de ECV

Existen múltiples biomarcadores para distintos mecanismos implicados en el desarrollo y ruptura de una placa ateromatosa, por ejemplo, biomarcadores de disfunción endotelial, estrés oxidativo, inflamación, proteólisis y trombosis que son considerados no clásicos ya que no se miden dentro de la rutina de un laboratorio clínico y su determinación no es con fines diagnósticos por la falta de estudios para su implementación. A continuación, se describen biomarcadores no clásicos de ECV que son utilizados en investigación.

1.5.2.1 Adiponectina

Las adipocinas, son compuestos bioactivos secretados principalmente por el tejido adiposo, pueden influir en el equilibrio energético, las respuestas del sistema inmunológico, la estabilidad del sistema vascular, el proceso de formación

de nuevos vasos sanguíneos, la sensibilidad a la insulina y el metabolismo de los lípidos. A través de estos efectos, las adipocinas pueden tener un impacto directo o indirecto en las enfermedades cardiovasculares (Chen et al., 2022). La adiponectina, una adipocina derivada del tejido adiposo, se encuentra en el plasma humano en diferentes formas oligoméricas, como trímeros, hexámeros y multiméricos, con los últimos dos siendo los más importantes. Estas formas se unen a receptores específicos en células diferentes, activando diversas vías de señalización y ejerciendo efectos biológicos variados en los tejidos. La forma multimérica de adiponectina, en particular, puede tener efectos antiinflamatorios al activar la señalización de AMPK en células como hepatocitos, células endoteliales y miocitos cardíacos. Por otro lado, la forma trímera tiene efectos similares al activar AMPK en el músculo esquelético y suprimir la inflamación en macrófagos. Sin embargo, la adiponectina esférica puede promover la respuesta inflamatoria al activar vías de señalización específicas como ERK y p38 MAPK (Peng et al., 2023).

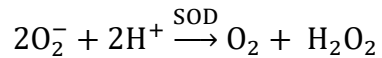
Un meta-análisis incluyó estudios con 10.974 pacientes con enfermedad de las arterias coronarias (EAC), que indica una asociación independiente entre los niveles elevados de adiponectina con un mayor riesgo de mortalidad vascular (RR 1,93; IC 95 % 1,55–2,42; $p < 0,001$) (Yang et al., 2019), por lo tanto se concluye que los niveles elevados de adiponectina son un predictor potencial para identificar pacientes con riesgo de muerte por EAC, pero aún existen

controversias si la adiponectina tiene un rol importante en el desarrollo de las ECV (Chen et al., 2022).

1.5.2.2 Superóxido dismutasa

La enzima antioxidante superóxido dismutasa (SOD) está involucrada en la desintoxicación de radicales superóxidos y en la variación interindividual en estos radicales transformándolos en peróxido de hidrogeno. Existen 3 isoformas presentes en el ser humano, SOD1 (Cu,Zn-SOD) que corresponde a la citosólica, SOD2 (Mn-SOD) corresponde a la mitocondrial y finalmente SOD3 (EC-SOD) que es la isoforma que se encuentra extracelularmente (Wang et al., 2021; Yao et al., 2022); también existe la isoforma Fe-SOD la cual se encuentra en bacterias, algas y plantas (Fridovich, 1998). La SOD3 es una glicoproteína secretora y más del 90% se encuentra en espacios intersticiales de los tejidos y líquidos extracelulares, es decir, que representa la mayor parte de la actividad de SOD en plasma, linfa y liquido sinovial, esta isoforma también se encuentra ubicada en el endotelio y se encuentra en equilibrio con los niveles plasmáticos. Tiene una alta afinidad por el proteoglicano de sulfato de heparán que, al parecer, es su ligando fisiológico (Wang et al., 1998).

La enzima SOD cataliza la dismutación del radical libre O_2 singlete a H_2O_2 el cual posteriormente será catalizado por la enzima catalasa.



En un estudio realizado por X. L. Wang et al., los niveles plasmáticos de los sujetos se distribuyeron desde 190 ng/mL hasta 250 ng/mL dependiendo de sus hábitos tabáquicos o la ausencia de estos. En su estudio demostraron que los fumadores actuales tenían niveles plasmáticos de SOD más bajos, lo cual los hace más susceptibles a enfermedades coronarias, aunque aún se desconoce el mecanismo por el que el consumo de cigarrillos induce distintos niveles de SOD en plasma (Wang et al., 1998).

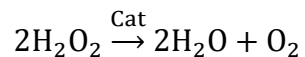
El valor referencial de la actividad enzimática de SOD es 601 ± 98 nkat/L de sangre en humanos (Martorell et al., 2014).

1.5.2.3 Catalasa

La catalasa (CAT) es una enzima perteneciente al sistema antioxidante, en el ser humano se encuentra distribuida ampliamente destacando su presencia en el hígado, eritrocitos, páncreas, riñones cerebro y suero. La catalasa posee una doble función, cataliza la descomposición de peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno y también participa en la oxidación de donantes de hidrogeno, por ejemplo, metanol, etanol, ácido fórmico, entre otros (Hugo Aebi, 1984; Krishna et al., 2021). En sujetos sanos la concentración de catalasa se encuentra en 50 ± 20

μmol/L, pero puede variar hasta 100 μmol/L dependiendo de la condición del sujeto (Krishna et al., 2021).

Corresponde a una enzima que se encarga de la catalización de la dismutación del peróxido de hidrógeno como sustrato y la transforma en H₂O y O₂ en una relación 2:2:1. De esta forma se evita la formación de ROS como el radical hidroxilo y el oxígeno singlete (Diaz, 2003).



En el desarrollo de aterosclerosis se ve un aumento del estrés oxidativo, en el cual hay especies como el peróxido de hidrógeno, la catalasa actúa como antioxidante de dicho compuesto ya que se encuentra en la pared vascular junto con las otras enzimas de este sistema antioxidante como la SOD, GPx y NOS. Un estudio en modelo de ratón con una dieta rica en grasa demostró que existe una relación entre la sobreexpresión de catalasa y una disminución en el desarrollo de aterosclerosis al igual que con Cu,Zn-SOD (Poznyak et al., 2020; Yang et al., 2004).

El valor referencial de la actividad enzimática de CAT es 528 ± 158 kat/L de sangre en humanos (Martorell et al., 2014).

1.5.2.4 Malonildialdehído

Las células comprenden un perfil de más de 1000 especies de moléculas, entre las cuales se encuentran los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) como los contribuyentes más abundantes. Los residuos de estos ácidos grasos son altamente sensibles a la oxidación por sus dobles enlaces a través de la peroxidación lipídica en respuesta al estrés oxidativo generado por ROS dando lugar a aldehídos insaturado, dialdehídos, en los cuales se encuentra el MDA (véase **Figura 1-6**), y cetoaldeídos (Pamplona et al., 2019).

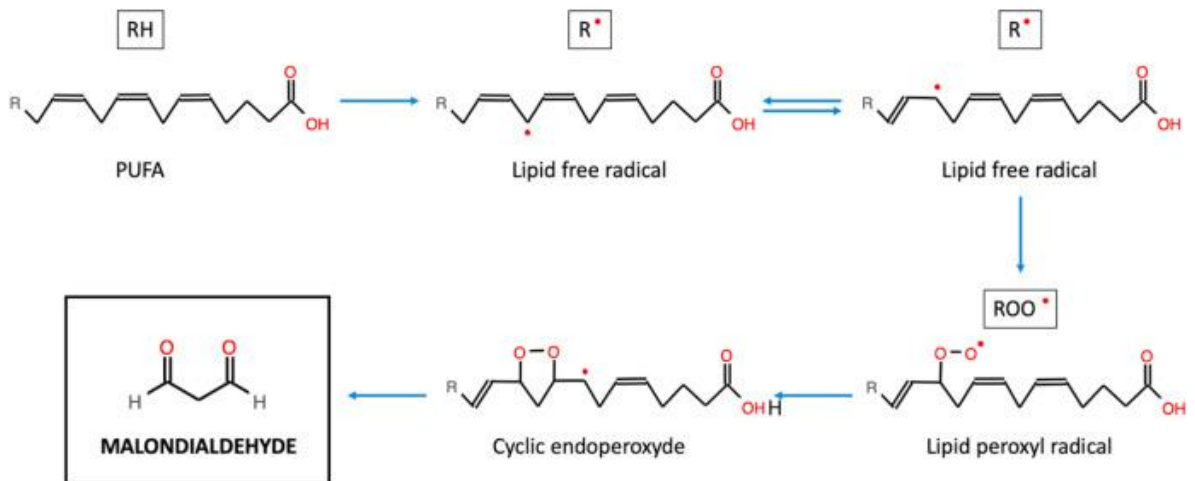


Figura 1-6. Formación de MDA mediante peroxidación lipídica.

Fuente: Obtenida de (Mas-Bargues et al., 2021).

Debido a la reacción de peroxidación de los AGPI, el MDA es ampliamente utilizado como un biomarcador de estrés oxidativo ya que la presencia de ROS está asociada directamente con la formación de dicho compuesto (Mas-Bargues et al., 2021).

1.5.2.5 Colesterol LDL oxidado

En 1984, Steinbrecher, et al., descubrieron que cuando se incubaba el LDL con células endoteliales o células de músculo liso, este se transformaba en una forma modificada que era reconocida por un receptor diferente, lo que aumentaba la absorción de colesterol por los macrófagos. La forma principal modificada del LDL, conocida como LDL oxidada (ox-LDL), surge principalmente debido a la sensibilidad de las partículas de LDL al daño oxidativo. Cada partícula de c-LDL nativa contiene una variedad de moléculas, incluyendo fosfolípidos, colesterol libre, ésteres de colesterol, triglicéridos y una proteína llamada apolipoproteína B-100 (apoB-100) (Steinbrecher et al., 1984). Tanto los lípidos como las proteínas pueden oxidarse, y este proceso de oxidación del c-LDL nativo se puede dividir en tres etapas.

En la primera etapa, conocida como fase de retraso, los antioxidantes endógenos como la vitamina E se consumen. Durante la fase de proliferación, los ácidos grasos polinsaturados (AGPI) en los lípidos de las partículas de c - LDL se oxidan

rápidamente, formando fragmentos de ácidos grasos, fosfolípidos oxidados (ox-PL) y ROS. En la etapa de descomposición, los fragmentos de ácidos grasos se convierten en aldehídos, los cuales pueden interactuar con residuos de lisina de la apoB-100 para formar nuevos epítomos. Estos nuevos epítomos son importantes ya que inhiben la capacidad del c-LDL para unirse a los LDLR expresados en los macrófagos, sin embargo, estas células expresan receptores Scavenger capaces de reconocer e internalizar las moléculas de LDL oxidadas sin tener una regulación a la baja cuando el colesterol intracelular aumenta, de esta forma el macrófago se transforma en una célula espumosa (Gao & Liu, 2017). Debido a la asociación entre un alto nivel de ox-LDL y el aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas, la molécula ox-LDL es considerada un biomarcador útil para el estudio de enfermedades cardiovasculares (Xu et al., 2022).

1.5.2.6 Homocisteína

La homocisteína, un aminoácido con un grupo sulfhidrilo, es un intermediario en la biosíntesis de metionina y cisteína. Se produce a partir de la desmetilación de la metionina dietética, presente en la proteína animal. En el plasma, se encuentra en cuatro formas: aproximadamente el 1% como tiol libre, el 70-80% unido a disulfuros en proteínas plasmáticas como la albúmina, y el 20-30% formando

dímeros de homocisteína o combinándose con otros tioles. La homocisteína puede contribuir a enfermedades cardiovasculares a través de diversos mecanismos, como efectos negativos sobre el endotelio vascular y las células musculares lisas, afectando la estructura y función arterial. Estos mecanismos incluyen proliferación de células musculares lisas, disfunción endotelial, daño oxidativo, aumento de síntesis de colágeno y deterioro del material elástico arterial. Se ha demostrado que la homocisteína aumenta la expresión de ARNm y proteína de PCR en células musculares lisas vasculares (VSMC) tanto in vitro como in vivo, induciendo una respuesta inflamatoria a través de la vía de señalización NMDAr-ROS-ERK1/2/p38-NF- κ B, lo que sugiere su papel en la patogénesis de la aterosclerosis (Foroughi et al., 2013; Foscolou et al., 2019).

1.6 Tratamiento para hipercolesterolemia

1.6.1 Tratamiento no farmacológico

La primera línea de tratamiento recomendada es la no farmacológica, mejorando hábitos conductuales como tener mayor actividad física, y modificar la alimentación, se recomienda el consumo de alimentos bajos en colesterol y grasas saturadas, y aumentar el consumo de fibra, frutas y verduras. Como se menciona anteriormente, el cambio en la dieta puede prevenir el proceso

aterosclerótico junto con la hipercolesterolemia. Se han descrito los beneficios de algunos nutrientes y componentes en la dieta que tienen incidencia en los niveles de colesterol así como efectos antioxidantes (Barbosa et al., 2008; Carretero Colomer, 2008).

Las directrices clínicas del Ministerio de Salud (MINSAL) enfocadas en el tratamiento de las alteraciones en los lípidos tienen como principal objetivo mejorar los niveles de colesterol aterogénico, específicamente el colesterol LDL y/o el colesterol no HDL. Para pacientes con un riesgo cardiovascular (RCV) bajo o moderado, se recomienda inicialmente un enfoque de tratamiento dietético durante un período de 3 a 6 meses antes de considerar el uso de medicamentos. Este enfoque dietético implica una adecuada distribución de macro y micronutrientes para promover una alimentación equilibrada y variada (véase Tabla 1-5). Además del ajuste dietético, se recomienda aumentar la actividad física, que debe consistir en entre 40 y 60 minutos de ejercicio aeróbico o de fuerza dinámica al menos 4 días a la semana. La intensidad del ejercicio debe adaptarse individualmente según la capacidad cardiovascular y biomecánica de cada paciente.

En relación con el estilo de vida, se aconseja reducir el consumo de alcohol a menos de 20 g por día en hombres y menos de 10 g por día en mujeres, lo que equivale aproximadamente a dos y un trago al día respectivamente, dependiendo del contenido alcohólico de la bebida. Además, se recomienda encarecidamente

abandonar el hábito de fumar, siendo necesario evaluar esta conducta con cada paciente (MINSAL, 2018b; Pino Ramos et al., 2019).

Tabla 1-5. Proporciones recomendadas de diversos micro y macronutrientes en un tratamiento dietoterapéutico para hipercolesterolemia.

Micro/macronutriente	Proporción
Grasa total	25 – 30% de calorías totales
Ácidos grasos saturados (AGS)	< 7% de las calorías totales
Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)	< 10% de las calorías totales
Ácidos grasos monoinsaturados (AGMI)	10 – 20% de las calorías totales
Grasas trans	< 1% de las calorías totales
Carbohidratos	45 – 55% de las calorías totales
Proteínas	15% de las calorías totales
Colesterol	< 200 – 300 mg/día
Fibra	20 – 35 g/día (10 a 25 g soluble)
Calorías totales	Necesarias para alcanzar y mantener peso deseable

Indicar siempre algún patrón dietario de dieta saludable que incluya fruta fresca, verduras, legumbres, frutos secos, aceites saludables, pescado y lácteos descremados.

Fuente: Adaptado desde (MINSAL, 2018b).

1.6.1.1 Dieta baja en grasas

Como se menciona anteriormente, un cambio en el estilo de vida es indispensable para tratar la hipercolesterolemia y junto a ello se recomienda que el paciente diagnosticado mejore sus hábitos dietarios para disminuir los riesgos de una ECV (Chawla et al., 2020). LA AHA (*American Heart Association*) enfatiza recomendaciones de “dieta saludable” que incluyan una amplia variedad de frutas y verduras, cuyo consumo ha demostrado una relación inversa con el riesgo de enfermedad coronaria (Dauchet et al., 2006), cereales integrales, fuentes saludables de proteínas, aceites vegetales líquidos no tropicales , alimentos mínimamente procesados, ingesta mínima de azúcares añadidos, alimentos preparados con poca o ninguna sal y un consumo limitado o preferiblemente nulo de alcohol (AHA, 2021) (Mozaffarian et al., 2011).

El objetivo de la dieta baja en grasa es que el 30% o menos de las calorías sean aportadas desde la grasa, es decir, si un alimento aporta 100 calorías, 3 gramos o menos deben ser grasa en dicho alimento (Bhandari P, 2023). Considerando la recomendación de una ingesta de 1000 – 1500 kcal/día y teniendo un control en la mantención de porciones moderadas, esta dieta permite una amplia variedad de alimentos por lo que tienen una alta adherencia dentro de los 6 primeros meses cumpliendo el porcentaje mencionado (Raynor & Wing, 2005).

Las dietas bajas en grasa han demostrado una disminución en los niveles de CT y c-LDL en un 0.10 mmol/l y 0.07 mmol/l respectivamente sobre una dieta baja en carbohidratos (Chawla et al., 2020), lo que representa un beneficio para disminuir el RCV.

1.6.1.2 Dieta Chilena

La dieta chilena comparte algunas similitudes con la dieta mediterránea, especialmente en el uso de ingredientes naturales y frescos. Ambas dietas son ricas en frutas, verduras, legumbres, cereales integrales y pescados. Además, en algunas regiones de Chile, principalmente del sur, se utiliza aceite de oliva, un componente clave de la dieta mediterránea y en otras zonas prevalece el consumo de palta en reemplazo nutricional del aceite de oliva (Figuroa et al., 2021; Rozowski & Castillo, 2004).

Los puntos clave que hacen a ambas dietas de carácter comparable según la literatura (Echeverría et al., 2019; Rozowski & Castillo, 2004) corresponden a:

1. Alimentos frescos y naturales: Ambas dietas se centran en alimentos mínimamente procesados y frescos, lo que es beneficioso para la salud cardiovascular y la prevención de enfermedades crónicas.

2. Consumo de pescado: Tanto en Chile como en los países mediterráneos, el pescado es una fuente importante de proteínas y ácidos grasos omega-3, que ayudan a reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

3. Legumbres y cereales integrales: En Chile, el consumo de legumbres como porotos y lentejas es común, al igual que en la dieta mediterránea. Los cereales integrales también juegan un papel importante en ambas dietas.

4. Uso de aceite de oliva: Aunque en algunas zonas de Chile se prefiere el uso de aceites vegetales diferentes, el aceite de oliva está ganando popularidad como una opción saludable. En la dieta mediterránea, el aceite de oliva es la principal fuente de grasa, lo que le confiere propiedades antioxidantes y antiinflamatorias.

Estas similitudes hacen que la dieta chilena pueda ser comparable en algunos aspectos con la mediterránea, aunque la dieta mediterránea tiene una evidencia más consolidada sobre sus beneficios para la salud, respaldada por numerosos estudios científicos (Sofi et al., 2008).

1.6.2 Tratamiento farmacológico

El tratamiento farmacológico para la hipercolesterolemia se basa en el uso de estatinas como primera línea de tratamiento, las estatinas son inhibidores de la síntesis de colesterol hepático, disminuye el colesterol intrahepático inhibiendo la

acción de la enzima HMG-CoA reductasa (véase **Figura 1-7**) (Sainz & Serra, 2023) y aumentan los receptores del c-LDL y por ende, disminuye el c-LDL plasmático. La estatina con mayor potencia que se comercializa en Chile es la Rosuvastatina, que a una dosis de 40 mg reduce más de un 50% el c-LDL. Dependiendo de las condiciones del paciente puede pasar a un tratamiento con resinas, fibratos o ácido nicotínico, entre otros. (Barbosa et al., 2008; Carretero Colomer, 2008; MINSAL, 2018b).

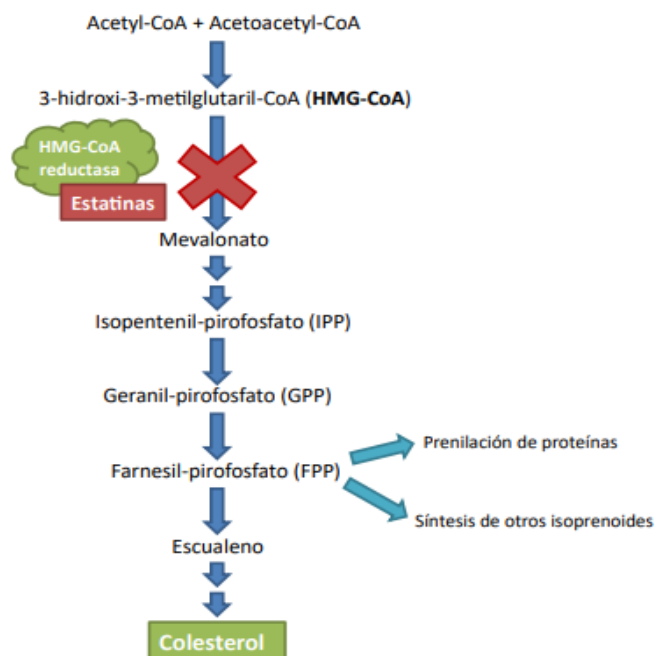


Figura 1-7. Mecanismo inhibitorio de la síntesis de colesterol intrahepático por acción de estatinas.

Fuente: Obtenida de (Sainz & Serra, 2023).

1.7 Frutos secos: *Gevuina avellana* Molina

En particular los frutos secos, como las nueces, almendras y avellanas son una buena fuente de fibra dietética, proteínas y grasas insaturadas; además de estos componentes poseen bioactivos liposolubles denominados ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) y ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y fitoquímicos con propiedades antioxidantes, antiproliferativas, antiinflamatorias e hipocolesterolémicas (Lorenzon dos Santos et al., 2020).

La *Gevuina avellana* Molina pertenece a la familia *Proteaceae*. En Chile, la recolección se remonta a la época pre-hispánica, siendo recolectada en los meses de marzo y abril y almacenada durante el invierno para posteriormente tostarla. Son una fuente de ácidos grasos, oxilipinas y polifenoles con una potencial actividad promotora de la salud (Liudis Leidy Pino Ramos, 2019).

1.7.1 Intervenciones con avellana e hipercolesterolemia

En un estudio realizado por la Universidad de Hacettepe, Turquía, se demostró que el consumo de avellana turca Tombul crudas (*Corylus avellana* L.) aumentaba el c-HDL en un 12,6% y las proporciones de c-total/c-HDL y c-LDL/c-HDL disminuyeron favorablemente en comparación a una dieta control en el plasma de

sujetos con hipercolesterolemia (Mercanligil et al., 2007). Por otra parte, estudios realizados por Lima, et al. (Lima et al., 2017) demostraron que el consumo de folato y capsulas con aceite de avellana en mujeres con sobrepeso u obesidad aumenta la capacidad antioxidante total (TAC) en plasma. También se estudió el consumo de avellanas en 21 voluntarios hipercolesterolémicos, en donde se obtuvieron mejoras significativas en los niveles de colesterol total (-7,8%), triacilglicerol (-7,3%), c-LDL (-6,17%) y c-HDL (6,07%), demostrando un efecto anti-aterogénico (Orem et al., 2013).

En base a estos estudios se puede afirmar que el consumo de avellanas europeas tiene un efecto beneficioso sobre la salud humana. En los estudios mencionados las intervenciones realizadas no superan las 8 semanas, por lo que se desconoce el efecto que pueda tener el consumo de avellanas a largo plazo. Además, el estudio realizado por Pino, et al. (Liudis Leidy Pino Ramos, 2019) concluye que la avellana chilena posee propiedades beneficiosas para la salud humana, sin embargo, no se ha aplicado a un modelo de estudio en población chilena con hipercolesterolemia. Es por esto que el siguiente estudio propone realizar un estudio aleatorizado, en el cual la intervención es de 6 meses, se extraerá sangre de los sujetos que hayan incorporado la avellana chilena a su dieta para analizar biomarcadores de estrés oxidativo presentes en el plasma de población chilena con hipercolesterolemia, tales como enzimas antioxidantes (SOD y CAT) y marcadores de oxidación como malonildialdehído (MDA), adiponectina, colesterol LDL oxidado (ox-LDL) y carbonilos y nitrotirosinas.

1.8 Problema de investigación

Se necesita mejorar o disminuir los factores de riesgo cardiovascular, sin embargo, no se ha establecido si suplementaciones nutricionales con avellana chilena en comparación a dieta baja en grasa generan una mayor disminución de factores de riesgo clásicos y no clásicos en plasma de sujetos con hipercolesterolemia

1.9 Pregunta de investigación

¿Cuál es el efecto de una dieta chilena de 6 meses suplementada con avellana en comparación con dieta baja en grasa sobre la disminución de factores de riesgo clásico y no clásico en personas con hipercolesterolemia?

1.10 Hipótesis

Una dieta chilena suplementada tiene efectos similares a una dieta baja en grasas en los biomarcadores clásicos y no clásicos de estrés oxidativo en el plasma de población chilena con hipercolesterolemia.

1.11 Objetivos

1.11.1 Objetivo principal

Comparar el efecto de una dieta de 6 meses suplementada con *Gevuina avellana* Molina con una dieta baja en grasa en los biomarcadores de estrés oxidativo en sangre de un grupo de personas con hipercolesterolemia.

1.11.2 Objetivos específicos

- I. Determinar el efecto del consumo de avellana chilena en el perfil lipídico y niveles de adiponectina de personas suplementadas con avellana versus personas con dieta baja en grasas
- II. Analizar cambios en biomarcadores de capacidad antioxidante como catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD) y capacidad antioxidante total (TAC) en ambos grupos.
- III. Determinar niveles de biomarcadores de daño oxidativo como malondialdehído (MDA), ox-LDLy nitrotirosina en ambos grupos.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Diseño de estudio

Estudio experimental aleatorizado mediante una intervención nutricional en un periodo de 6 meses donde se formaron dos grupos, el experimental correspondiente a la dieta chilena alta en grasas suplementada con avellana chilena y el control definido por una dieta baja en grasas. La aleatorización fue realizada en bloques asegurando una distribución por sexo. El reclutamiento de participantes se realizó mediante la difusión de un afiche digital y físico donde se invitó a la participación voluntaria. Se envió a todos los funcionarios/as y estudiantes de la Universidad de Concepción mediante correo institucional y se realizó difusión por redes sociales. También se realizó difusión en compañías de bomberos, carabineros y centros de salud. Los participantes completaron un formulario online donde ingresaron datos de nombre, correo electrónico y número de teléfono. Se les citó en dependencias del Laboratorio Clínico PreveGen en la ciudad de Concepción, cumpliendo los requisitos de toma de muestra capilar y bioimpedancia mencionados posteriormente. El tiempo del reclutamiento fue de 3 semanas.

Dentro de los criterios de inclusión se contempló que fuesen mujeres y hombres de entre 18 y 60 años (n=100), con colesterol total (CT) sanguíneo esporádico

elevado (> 200 mg/dL) y que presentaran su pase de movilidad habilitado respecto a la campaña de vacunación frente al SARS-CoV-2. Respecto a los criterios de exclusión, los participantes no podían participar si estaban bajo tratamiento médico asociado a hipercolesterolemia, presentaran enfermedades sistémicas como diabetes, hipertensión, enfermedad renal o hepática, embarazadas, en periodo de lactancia, que un miembro de su hogar o familiar directo hubiese sido previamente reclutado, presentar alergias a los frutos secos, tener implante electrónico como marcapasos, que no contaran con acceso a internet móvil o wifi dentro de su domicilio y/o que no contaran con los conocimientos o el apoyo necesario para hacer uso de plataformas digitales.

Los/as participantes reclutados fueron aquellos que luego de la muestra capilar presentaron un CT > 200 mg/dL. Se dispusieron dos grupos que debían cumplir con los criterios de inclusión y firmar el consentimiento informado al momento del reclutamiento (**Anexo 7.1**). Los grupos se definieron según la característica de la intervención nutricional, al grupo experimental se le asignó el nombre de “grupo avellana” y al grupo control se le denominó como “grupo control” (**Figura 2-1**).

El grupo avellana siguió una dieta chilena (adaptada desde la MedDiet con productos chilenos (**Tabla 2-2**)) la cual fue suplementada con 30 g/día de avellana chilena durante los seis meses de intervención nutricional, además de actividades de seguimiento nutricional de forma gratuita (véase **Tabla 2-1**). La dieta chilena incorporó un mayor contenido de grasas de tipo AGM y AGPI, además de fibra dietaria, micronutrientes como potasio y magnesio y polifenoles aportados desde

la avellana chilena. Por otro lado, el grupo control basó su dieta en lo dispuesto por la norma técnica de dislipidemia del MINSAL. Se elaboró junto al/la participante un plan de alimentación que incluyó en la medida de lo posible los alimentos que consume habitualmente, que estuvieran disponibles localmente y que fueran económicamente accesibles. Se mantuvo actividades de seguimiento nutricional con el objetivo de adoptar un patrón dietario de una dieta baja en grasas (calorías a partir de las grasas fue menor al 30% de la energía total, basado en GMI y GPI preferentemente (**Tabla 2-3**) (Estruch et al., 2013; MINSAL, 2018b).

Todos los procedimientos del estudio se realizaron bajos los estándares éticos establecidos en la Declaración de Helsinki de 1975, revisada en 1983. Observa los principios rectores de la Universidad de Concepción, los cuales están delineados en la Declaración de Singapur sobre la Integridad en la Investigación (2010), según Resolución Exenta N°157 del 24 de enero del 2013, de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica – CONICYT, adoptados por la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo – ANID del Ministerio de Ciencia, Tecnología, Conocimiento e Innovación del Gobierno de Chile (lo anterior certificado por el Comité de Ética, Bioética y Bioseguridad de la Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo de la Universidad de Concepción, CEBB 530-2019-M). Los participantes del proyecto de intervención nutricional PRODICHI (Proyecto de Dieta Chilena), debieron firmar el respectivo consentimiento informado, aprobado por parte del Comité Ético Científico del Servicio de Salud de Concepción.

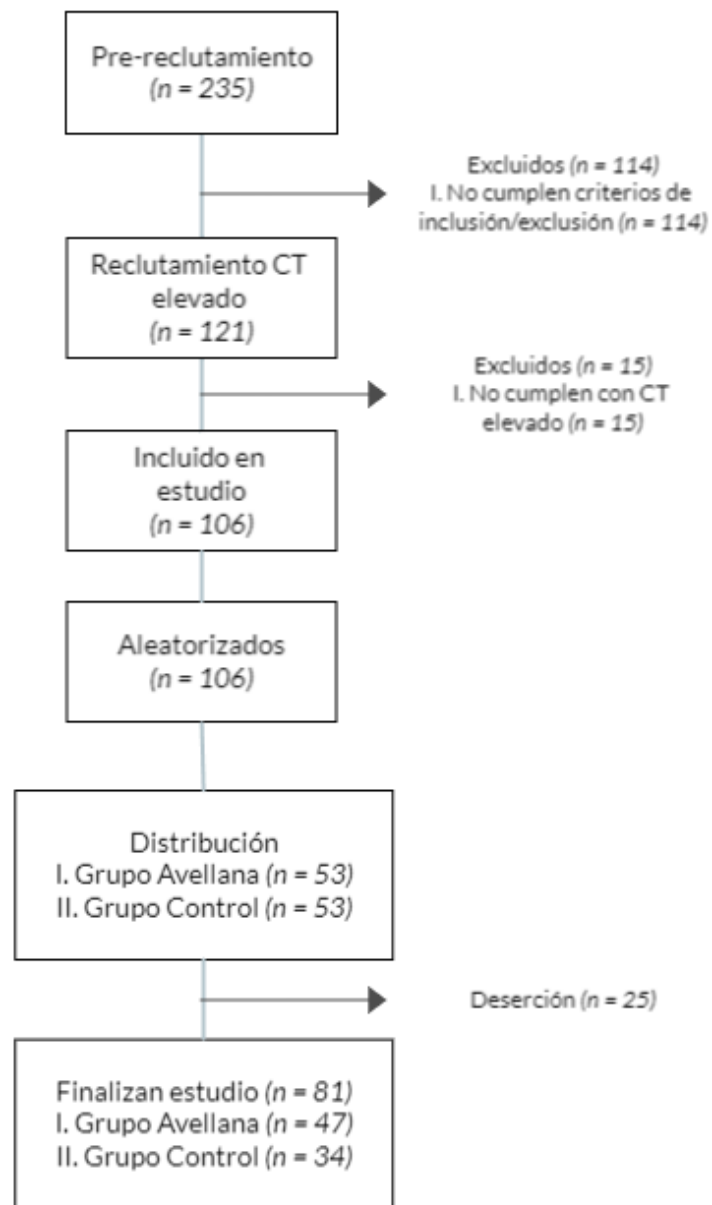


Figura 2-1. Representación en diagrama de flujo del reclutamiento de las/os participantes del estudio.

Tabla 2-1. Calendario de controles, toma de muestra y aplicación de encuestas.

Mes 0	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6
Selección	CNG 1	CNI 2	CNG 2	CNI 3	CNG 3	Encuestas
Encuestas						Toma de
CNI 1						muestra
Toma de						
muestra						

CNI: Control Nutricional Individual; CNG: Control Nutricional Grupal. Encuestas: Cuestionarios de adherencia, hábito tabáquico y consumo de vino y otras bebidas alcohólicas, mediciones antropométricas, presión arterial (véase anexo 7.2).

Tabla 2-2. Características nutricionales del grupo avellana.

Calorías	Según gasto energético basal y factores de actividad física
Grasa total	>40 % del total de la energía
Colesterol	<300 mg/día
Proteínas	13 % del total de energía
Carbohidratos	40 – 45 % del total
Sodio	<2,4 g/día
Azúcares	<10 % calorías totales
Fibra dietética	30 – 35 g/día
Agua	>2 litros diarios

Tabla 2-3. Resumen tratamiento nutricional para la hipercolesterolemia, características nutricionales grupo control.

Calorías	Según gasto energético basal y factores de actividad
Grasa total	<30 % del total de la energía
Colesterol	<300 mg/día
Proteínas	15 % del total de energía
Carbohidratos	45 – 55 % del total
Sodio	<2,4 g/día
Azúcares	<10 % calorías totales
Fibra dietética	20 – 35 g/día (10 a 25 g soluble)
Agua	>2 litros diarios

Fuente: Confeccionado desde (MINSAL, 2018b).

2.2 Tamaño muestral

Según Perna, Perna et al. (Perna et al., 2016), donde se revisaron nueve ensayos clínicos teniendo 425 participantes, sobre el consumo de avellanas y lípidos en sangre, existen distintos diseños de estudios que se basan en una dieta de 30 – 86 g/día de avellanas y la duración de estos iban desde los 28 – 84 días (repitiéndose más veces 56 y 84 días). El tamaño muestral de estos estudios va de 15 a 107 participantes. Dentro de estos, la base para el cálculo de la muestra fue el estudio de Tey, et al. (2013), donde realizaron dos estudios paralelos controlados aleatorizados de 84 días con 35 participantes aproximadamente por grupo intervenido y 30 – 60 g/día de suplemento de avellana. Determinaron el tamaño muestral asumiendo una detección de 0,32 mmol/L o más de CT, asumiendo una desviación estándar (SD, *Standard Deviation*) de 0,70 y una correlación entre las mediciones de referencia y de seguimiento de 0,80. Se tiene en cuenta una tasa deserción del 20%, en base a esto, necesitamos reclutar aproximadamente 50 participantes por grupo, dando un total de 100 participantes totales (Tey et al., 2013). Este dato de participantes está relacionado con datos propios obtenidos a través de intervenciones nutricionales realizadas en sujetos con dislipidemia donde se puede observar una reducción en el CT.

2.3 Variables biosociodemográficas y antropométricas

La aplicación de encuestas y medición de variables sociodemográficas fue realizada por profesionales nutricionistas capacitadas según los protocolos estandarizados (Cardozo et al., 2016; Ramón et al., 2009). A los/as participantes se les recomendó mantener un ayuno de por lo menos 8 H, no haber bebido líquidos 2 H antes de la toma de muestra y no haber realizado actividad física intensa durante las 48 H previas a la visita de elegibilidad (Martorell et al., 2015).

Nutricionistas aplicaron una encuesta de caracterización biosociodemográfica (**Anexo 7.2**) que incluyó variables de sexo, edad y nivel educacional.

Dentro de las variables antropométricas medidas estaban el peso corporal que fue determinado mediante una balanza marca Tanita modelo RBF 300 A, la estatura por medio de un tallímetro portátil marca Seca modelo 213, se realizó el cálculo del IMC (kg/m^2), la medición de circunferencia de cintura (CC) se realizó mediante una cinta métrica inextensible graduada en centímetros marca Seca modelo 20 y la clasificación del porcentaje (%) de grasa corporal por medio de impedancia bioeléctrica usando la balanza Tanita modelo TDF 300.

2.4 Obtención de muestra sanguínea

La obtención de la muestra sanguínea fue realizada por profesional de enfermería y la recomendación indicada a los/as participantes fue mantener un ayuno mínimo de 8 H, no haber bebido líquidos 2 H antes de la toma de muestra y no haber realizado actividad física intensa durante las 48 H previas a la visita de elegibilidad (Martorell et al., 2015).

Se realizó una medición capilar de CT usando el dispositivo Accutrend plus para realizar un screening y seleccionar aquellos/as que tenían el CT elevado, donde sólo ellos pasaron a la siguiente etapa. A cada participante que tenía el CT elevado, se les extrajo 40 mL de sangre, manteniendo las muestras frías en hielo luego de su extracción. Las muestras fueron recolectadas en tubos vacutainer de color lila que contenían anticoagulante EDTA (ácido etilendiaminotetraacético).

2.5 Perfil lipídico sérico

El Laboratorio Clínico PreveGen realizó para cada muestra la determinación de un hemograma completo mediante un contador hematológico automatizado (Analizador Hematológico DF 52 (DYMIND)) y una medición del perfil lipídico que incluyó CT, c-HDL y TG mediante colorimetría (Bioassays 240 Plus, Snibe). Para

la estimación de c-LDL se utilizó la fórmula de Friedewald (Friedewald et al., 1972).

2.6 Obtención de plasma

La muestra llega en un tubo vacutainer, deberá ser fraccionada por centrifugación a 1000 g por 30 minutos a una temperatura de 4°C. Se extrae el sobrenadante correspondiente a plasma.

2.7 Cuantificación de adiponectina como marcador metabólico en plasma

Para la determinación de adiponectina se determinó la concentración de adiponectina mediante ELISA con el kit comercial *Human Adiponectin Elisa Kit, Millipore*. Se preparó la muestra de plasma diluyendo 1:500, se preparó la dilución A con 10 µL de plasma y agregó 990 µL de *Buffer Assay 1X*, luego se preparó la dilución B tomando 100 µL de la dilución A y se agregó 400 µL de *Buffer Assay 1X*. Se siguió el análisis ELISA según las indicaciones del fabricante y la lectura de placa fue realizada a 450 nm y 590 nm en equipo *Biotek Synergy 2* mediante software Gen5.

2.8 Determinación de actividad enzimática de enzimas antioxidantes en plasma

Las actividades enzimáticas fueron determinadas en equipo Biotek Synergy 2 mediante software Gen5. Se determinó la pendiente máxima de cada curva de cinética.

2.8.1 Determinación de actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD) en plasma

En cada pocillo de la microplaca de 96 pocillos de plástico, se añadió 131 μL de la mezcla de Buffer potásico, xantina y citocromo C (*10 mL de xantina 1X (xantina 10X 0,076 g de xantina en 100 mL de NaOH 0,01 M), 100 mL de citocromo C 2X (citocromo C 10X 0,248 g de citocromo C en 100 mL de buffer potásico 50 mM, EDTA 0,1 mM pH 7,8 (7,938 g K_2HPO_4 , 0,68 g KH_2PO_4 y 0,37 g EDTA en 1 L de agua destilada))*). Se incorporaron 14 μL de plasma. Finalmente se añadieron 5 μL de xantina oxidasa (*2 μL de xantina oxidasa en 100 μL de buffer potásico*). La lectura se realizó a una longitud de onda de 550 nm. (Flohe, 1984).

2.8.2 Determinación de actividad enzimática de catalasa (CAT) en plasma

En cada pocillo de microplaca de 96 pocillos de cuarzo, se añadió 98 μL de buffer fosfato (4,26 g Na_2HPO_4 , se añade 1 L de agua destilada, pH 7,0). Se adicionó 2 μL de plasma diluido 1:2 con buffer fosfato. Finalmente se agregaron 50 μL de H_2O_2 30 mM (340 μL de H_2O_2 X% en 100 mL de buffer fosfato). Previo a la lectura se realizó una incubación durante 3 min a 37 °C en oscuridad. La lectura se realizó a una longitud de onda de 260 nm (H. Aebi, 1984).

2.8.3 Cuantificación de capacidad antioxidante total (TAC) en suero

Para la cuantificación de TAC se determinó la concentración de capacidad antioxidante total de moléculas pequeñas mediante ensayo colorimétrico con el kit comercial *Total Antioxidant Capacity Assay Kit*, Sigma-Aldrich. Se realizó la curva estándar añadiendo estándar de Trolox (1 mM) en volúmenes 0, 4, 8, 12, 16 y 20 μL en una microplaca de 96 pocillos y se completó con agua destilada hasta volumen 100 μL . Se preparó la dilución de muestra de suero añadiendo 10 μL de suero, 10 μL de *Protein Mask* y 80 μL de agua destilada. Se agregó 1 μL de dilución de muestra a cada pocillo de la microplaca y se completó con agua destilada hasta volumen 100 μL . Se agregó 100 μL de Cu^{2+} *Working Solution* a cada pocillo de estándar y muestra. Se incubó la microplaca en agitador

horizontal, durante 90 min a temperatura ambiente en oscuridad. La lectura de placa fue realizada a 570 nm en equipo *Biotek Synergy 2* mediante software Gen5.

2.9 Cuantificación de malonildialdeído (MDA) como marcador de daño oxidativo y nitrosativo en plasma

En tubo eppendorf se añadieron 650 μ L de reactivo 1 (63,9 mg de 1-metil-2-fenilindol en 30 mL de acetonitrilo, luego diluido en razón 1:3 con metanol 100%; 10 mL de metanol 100% + 30 mL de reactivo 1). Se añadieron 200 μ L de plasma. Se realizó vórtex por 3 – 4 s y se añadieron 150 μ L de HCl 12 N bajo campana, luego se aplicó un vórtex. Se realizó incubación por 3 H a 45°C y se enfrió en hielo por 10 min. Se centrifugó a 15000 g por 10 min y se alicuotó 200 μ L de sobrenadante en la microplaca de 96 pocillos para la lectura de absorbancia a una longitud de onda de 568 nm. Se confeccionó una curva patrón de concentraciones 0 μ M, 2,5 μ M, 5,0 μ M y 7,5 μ M para la cuantificación de MDA en muestras de plasma (Capó et al., 2015).

2.10 Cuantificación de homocisteína como marcador de daño oxidativo y nitrosativo en plasma

Para la determinación de homocisteína se determinó la concentración de homocisteína mediante método fluorométrico con el kit comercial *Homocysteine Assay Kit, Sigma-Aldrich*. Se agregó 10 µL de muestra de plasma y 160 µL de buffer DTT, se incubó la placa a 37°C durante 30 minutos en agitación y luego se dejó reposar 5 minutos a temperatura ambiente. Se siguió el análisis según las indicaciones del fabricante y la lectura de placa fue realizada a una longitud de onda de excitación de 658 nm y de emisión de = 708 nm en modo punto final en equipo *BioTek Synergy H1 hybrid Reader* mediante software Gen5.

2.11 Cuantificación de ox-LDL como marcador de daño oxidativo y nitrosativo en plasma

Para la determinación de ox-LDL se determinó la concentración de ox-LDL mediante ELISA con el kit comercial *OxiSelect™ Human Oxidized LDL ELISA Kit (CML-LDL Quantitation)*. Se preparó la muestra de plasma usando 200 µL de plasma, se agregaron 200 µL de solución de precipitación de LDL y se mezcló. Se incubó a temperatura ambiente durante 5 minutos y se centrifugó durante 20 minutos a 2000 x g. Se aspiró con cuidado el sobrenadante y se recogió el

sedimento. Se resuspendió el precipitado en 1,6 ml de PBS, agitando bien. Se diluyó la muestra 1:200 con el diluyente antes de realizar el ELISA. Se siguió el análisis ELISA según las indicaciones del fabricante y la lectura de placa fue realizada a 450 nm en equipo Biotek Synergy 2 mediante software Gen5.

2.12 Determinación de daño nitrosativo en proteínas plasmáticas mediante DOT-BLOT

Para la determinación de daño nitrosativo, se determinó la concentración de proteínas mediante el método de Pierce (*Pierce BCA Protein assay kit, Thermofisher*).

2.12.1 Determinación de nitrotirosina en proteínas plasmáticas mediante DOT-BLOT

Se empleó el kit basado en un método de inmunoensayo *OxiSelect™ Nitrotyrosine Immunoblot Kit (Cell Biolabs, INC)* para nitrotirosina. Se utilizó una membrana PVDF que fue activada en metanol 100% por 15 s, luego sumergida en agua destilada por 15 minutos y montada en sistema de DOT – BLOT HYBRISLOT™ MANIFOLD (Life Technologies, INC). Se añadieron 150 µg de proteínas

de cada muestra, se completó volumen a 100 μ L con agua destilada y luego se realizó succión en sistema de vacío. Se realizó el bloqueo de la membrana con 45 mL de TBS-T 5% en leche en polvo toda la noche (*TBS: 24 g Tris, 88 g NaCl en 900 mL de agua destilada, ajustar pH a 7,6 y llevar a 1 L (solución 10X); TBS-T 1X: 200 mL TBS (5X), 1 g o 900 μ L Tween y aforar a 1 L de agua destilada; TBS-T 5% leche en polvo: 2,25 g leche en polvo, 45 mL TBS-T 1X*). Se realizaron 6 lavados con 30 mL de TBS-T por 5 min cada uno. Se realizó incubación con anticuerpo primario anti-nitrotirosina de conejo diluido 1:1000, 5% BSA, 0,005% NaN_3 (*15 mL TBS-T, 0,75 g BSA, 7,5 mg NaN_3 , 15 μ L Ac 1°*) por 2 H para determinación de nitrotirosina. Se realizaron 6 lavados con 30 mL de TBS-T por 5 min cada uno. La segunda incubación con el anticuerpo secundario anti-conejo–HRP (*Horsedarish peroxidase*) diluido 1:1000 5% leche en polvo (*15 mL TBS-T, 0,75 g leche en polvo, 15 μ L Ac 2°*) se realizó por 1 H. Fueron realizados 6 lavados con 30 mL de TBS-T por 5 min cada uno. Finalmente, el revelado se realizó con 1 mL de *Immobilon® Forte Western HRP Substrate, MilliporeSigma* por 5 min en oscuridad y luego fue leído en equipo C-DiGit® Blot Scanner con software Image Studio™ Lite.

2.13 Análisis estadístico

La caracterización respecto a los datos poblacionales se presentará como promedio y desviación estándar para las variables continuas y para las variables categóricas esto se presentará en porcentaje. Se aplicará la prueba de Shapiro-Wilks para la evaluación de la distribución normal de los datos experimentales. Los resultados se analizarán mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores (tiempo: inicio y final; tratamiento: control, avellana) con su respectivo análisis post-hoc. Los resultados se analizarán mediante el paquete estadístico SPSS versión 24 (SPSS Inc., Chicago, Illinois).

3 RESULTADOS

Los resultados obtenidos a partir de las características generales de los y las participantes del estudio se presentan según el tipo de intervención grupo avellana (n=47) y grupo control (n=34) de un global de 81 participantes.

La media de edad para el grupo avellana fue de $39,5 \pm 12,2$ años y para el grupo control $38,8 \pm 12,2$ años, la media global de los participantes fue de $39,6 \pm 12,1$ años. El grupo de avellana estuvo representado por un 53,1% de mujeres, el grupo control por 67,6% y la totalidad de la muestra por el 59,3%

La **Tabla 3-1** muestra las variables antropométricas de los participantes. No se observaron diferencias significativas en las variables peso, %grasa, IMC y CC entre grupos al inicio de la intervención, habiendo una diferencia al inicio de 1,3 kg entre grupo control y avellana, 1,4 % de grasa corporal, 1 kg/m² y 0,5 cm de CC, respectivamente. La intervención no provocó cambios en estas variables antropométricas, observándose un delta similar entre grupos al final de la intervención, 2,7 kg en peso, 1,8% de grasa corporal 0,4 en IMC y 1,8 cm de CC.

Tabla 3-1. Variables antropométricas de los participantes en función del grupo y tiempo de intervención.

	Grupo	Inicio		Final		ANOVA		
						T	G	TxG
Peso (kg)	Control	75,1	± 2,9	73,9	± 2,9	0,835	0,450	0,799
	Avellana	76,4	± 2,4	76,6	± 2,3			
Grasa (%)	Control	32,8	± 1,5	33,1	± 1,5	0,940	0,262	0,850
	Avellana	31,4	± 1,3	31,3	± 1,4			
IMC (kg/cm²)	Control	28,5	± 0,9	28,0	± 0,9	0,805	0,356	0,745
	Avellana	27,5	± 0,7	27,6	± 0,7			
CC (cm)	Control	93,7	± 2,5	91,3	± 2,4	0,555	0,766	0,575
	Avellana	93,2	± 1,9	93,1	± 1,8			

CC circunferencia de cintura, IMC índice de masa corporal. Datos presentados como promedio y SEM. Análisis estadístico: ANOVA dos factores, $p < 0,05$. T factor tiempo intervención, G factor grupo experimental, TxG interacción entre factor tiempo y grupo.

En la **Tabla 3-2**, **Gráfico 3-1** y **Gráfico 3-2** se muestran el perfil lipídico de los participantes, al inicio y al final del estudio. En los parámetros CT, TG, índice de Castelli, relación c-LDL/c-HDL y col. NO HDL no se observó ninguna diferencia significativa entre los grupos al inicio de la intervención, siendo de 8 mg/dL de CT, 3 mg/dL de TG, 0,03 el índice de Castelli, 0,08 la relación c-LDL/c-HDL y 9 mg/dL de col. NO HDL, respectivamente. Se mantuvo una diferencia similar entre los grupos en el tiempo final de la intervención con valores de 10 mg/dL de CT, 20 mg/dL de TG, 0,2 el índice de Castelli, 0,28 la relación c-LDL/c-HDL y 11 mg/dL de col. NO HDL, respectivamente (**Tabla 3-3**).

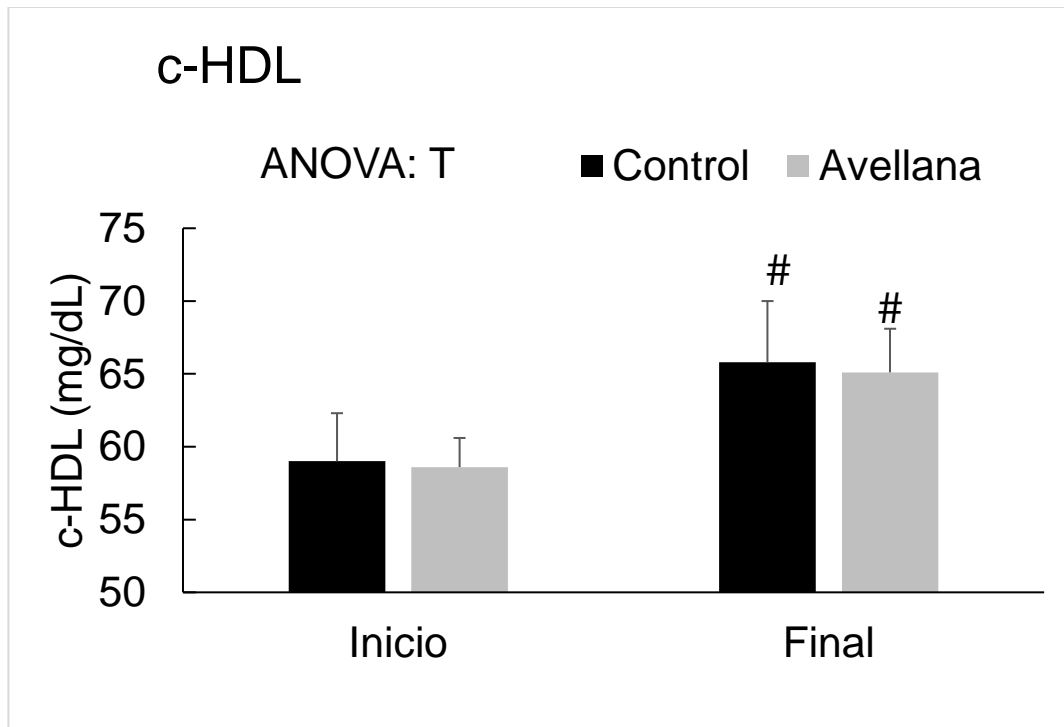
En el **Gráfico 3-1** se observa un aumento significativo del c-HDL en los dos grupos experimentales debido a las intervenciones (T, $p = 0,034$), aumentando el c-HDL de 59,0 a 65,8 mg/dL (1,12 veces) en el grupo control y de 58,6 a 65,1 mg/dL (1,11 veces) en el grupo avellanas. También se observó una diferencia significativa entre los niveles de c-LDL entre los grupos control y avellana (G, $p = 0,030$), mostrando una diferencia significativa entre grupos en el periodo post-intervención, siendo 16 mg/dL menores los niveles de c-LDL en el grupo control (**Gráfico 3-2**).

Tabla 3-2. Análisis estadístico del perfil lipídico y adiponectina según grupo y tiempo de intervención.

	Grupo	Inicio		Final		ANOVA		
						T	G	TxG
CT (mg/dL)	Control	239	± 6	242	± 6	0,542	0,105	0,816
	Avellana	247	± 5	252	± 5			
TG (mg/dL)	Control	164	± 11	174	± 12	0,903	0,323	0,466
	Avellana	161	± 11	154	± 11			
Índice de Castelli	Control	4,37	± 0,21	4,05	± 0,22	0,244	0,567	0,671
	Avellana	4,40	± 0,14	4,25	± 0,22			
LDL/HDL	Control	2,73	± 0,17	2,42	± 0,17	0,200	0,285	0,528
	Avellana	2,81	± 0,13	2,70	± 0,18			
Col. NO HDL (mg/dL)	Control	180	± 6	176	± 7	0,582	0,092	0,797
	Avellana	189	± 4	187	± 6			
ADIPO (µg/mL)	Control	9,50	± 0,88	10,8	± 1,1	0,574	0,202	0,633
	Avellana	11,6	± 1,4	11,7	± 1,4			

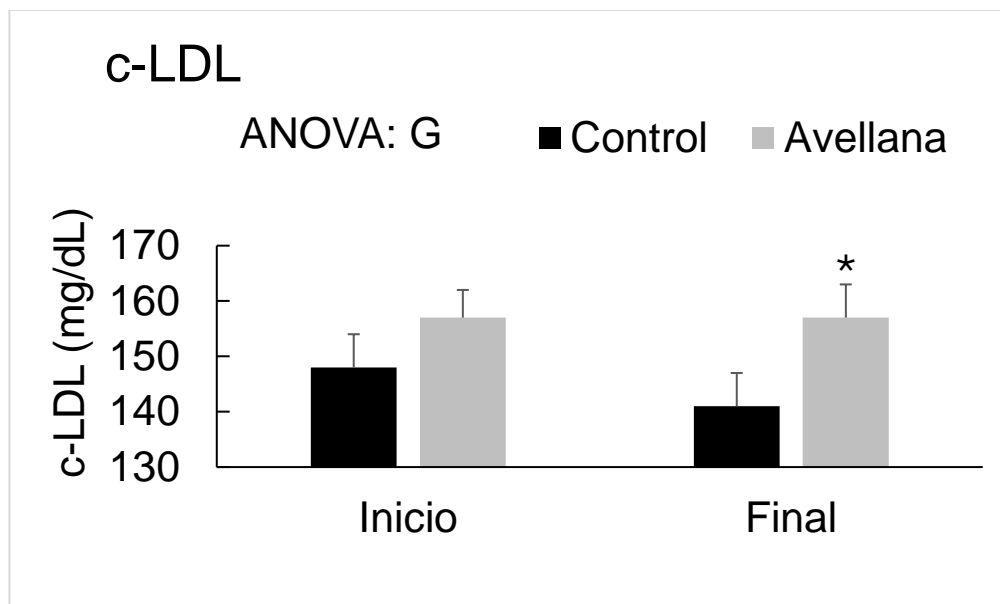
CT: Colesterol Total; TG: Triglicéridos; LDL/HDL: Índice colesterol LDL sobre colesterol HDL; Col. NO HDL: Colesterol no HDL; ADIPO: Adiponectina. Datos presentados como promedio y SEM. Análisis estadístico: ANOVA dos factores, $p < 0,05$. T factor tiempo intervención, G factor grupo experimental, TxG interacción entre factor tiempo y grupo.

Gráfico 3-1. Análisis estadístico del c-HDL según grupo y tiempo de intervención.



c-HDL: Colesterol HDL. Datos presentados como promedio y SEM. Análisis estadístico: ANOVA dos factores, $p < 0,05$; T factor tiempo intervención, G factor grupo experimental, TxG interacción entre factor tiempo y grupo. ANOVA un factor, $p < 0,05$; (#) indica diferencia significativa respecto al inicio de intervención.

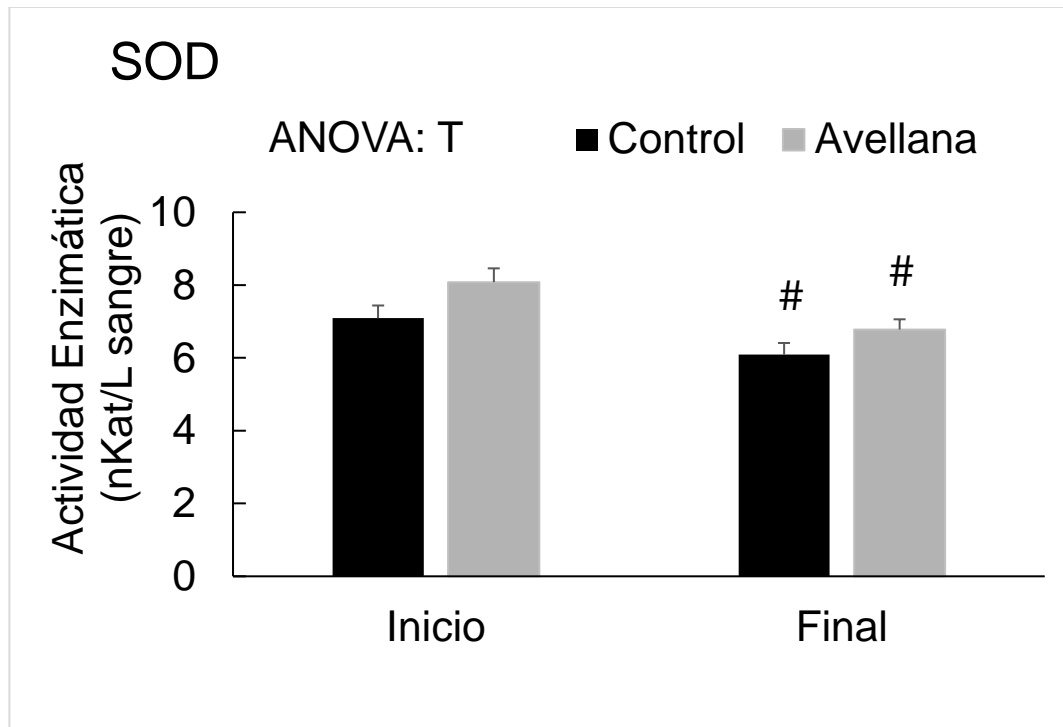
Gráfico 3-2. Análisis estadístico del c-LDL según grupo y tiempo de intervención.



c-LDL: Colesterol LDL. Datos presentados como promedio y SEM. Análisis estadístico: ANOVA dos factores, $p < 0,05$; T factor tiempo intervención, G factor grupo experimental, TxG interacción entre factor tiempo y grupo. ANOVA un factor, $p < 0,05$; (*) indica diferencia significativa respecto al grupo control.

A continuación, se representan las determinaciones de marcadores no clásicos. En el **Gráfico 3-3** se observa una disminución significativa en la actividad enzimática de SOD con respecto al tiempo de intervención (T, $p = 0,001$), para el grupo control disminuyó un 14,1% su actividad y para el grupo avellana un 16,1%.

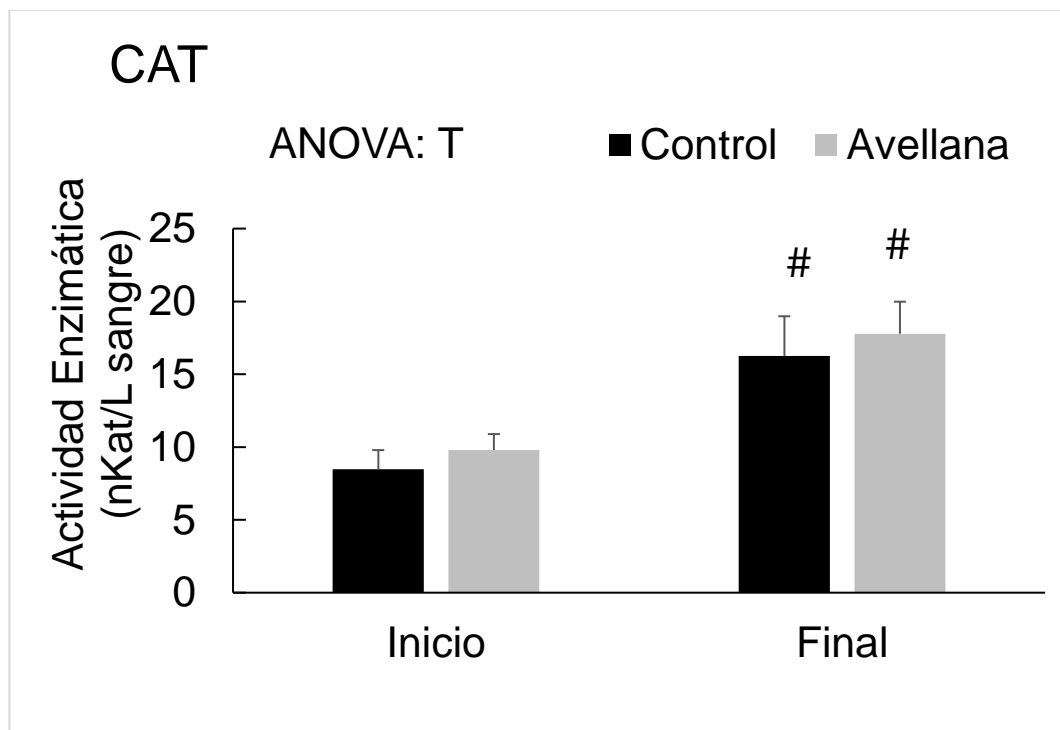
Gráfico 3-3. Análisis estadístico de SOD en plasma según grupo y tiempo de intervención.



SOD: Superóxido Dismutasa. Datos presentados como promedio y SEM. Análisis estadístico: ANOVA dos factores, $p < 0,05$; T factor tiempo intervención, G factor grupo experimental, TxG interacción entre factor tiempo y grupo; ANOVA un factor, $p < 0,05$; (#) indica diferencia significativa respecto al inicio de intervención.

El **Gráfico 3-4** muestra un aumento significativo en la actividad enzimática de CAT con respecto al tiempo pre y post – intervención (T, $p < 0,001$). Para el grupo control aumentó significativamente 1,92 veces la actividad de CAT y para el grupo avellana aumento significativamente 1,81 veces.

Gráfico 3-4. Análisis estadístico de CAT en plasma según grupo y tiempo de intervención.



CAT: Catalasa. Datos presentados como promedio y SEM. Análisis estadístico: ANOVA dos factores, $p < 0,05$; T factor tiempo intervención, G factor grupo experimental, TxG interacción entre factor tiempo y grupo. ANOVA un factor, $p < 0,05$, (#) indica diferencia significativa respecto al inicio de intervención.

En la **Tabla 3-3** se observa que no hubo diferencias significativas en la capacidad antioxidante total en el tiempo de intervención ni entre los grupos, aunque existe una tendencia al aumento post – intervención para ambas intervenciones. Para el grupo control aumentó 1,03 veces y para el grupo avellana aumentó 1,11 veces.

Tabla 3-3. Análisis estadístico de Capacidad Antioxidante Total en suero según grupo y tiempo de intervención.

	Grupo	Inicio		Final		ANOVA		
						T	G	TxG
TAC (nmol/μL)	Control	122	± 4	126	± 5	0,108	0,412	0,424
	Avellana	114	± 7	126	± 4			

TAC: Capacidad antioxidante total en suero. Datos presentados como promedio y SEM. Análisis estadístico: ANOVA dos factores, $p < 0,05$; T factor tiempo intervención, G factor grupo experimental, TxG interacción entre factor tiempo y grupo. ANOVA un factor, $p < 0,05$, (#) indica diferencia significativa respecto al inicio de intervención.

En la **Tabla 3-4** se observa que no hubo diferencias significativas en los marcadores no clásicos de adiponectina, MDA, ox-LDL y NTYR para ninguno de los factores del análisis ANOVA. Se observa una tendencia de homocisteína a la disminución al finalizar la intervención con una diferencia de 4,8 μM en el grupo control y 4.2 μM en el grupo avellana, aunque los valores no son significativos (T, $p = 0,114$).

Tabla 3-4. Análisis estadístico de las determinaciones en plasma según grupo y tiempo de intervención.

	Grupo	Inicio	Final	ANOVA		
				T	G	TxG
HOMOCISTEINA (μM)	Control	19,2 \pm 2,7	14,4 \pm 2,4	0,114	0,951	0,920
	Avellana	19,1 \pm 3,1	14,9 \pm 2,7			
MDA (μM)	Control	1,53 \pm 0,08	1,61 \pm 0,21	0,240	0,061	0,211
	Avellana	1,46 \pm 0,06	1,26 \pm 0,07			
ox-LDL (μg/mL)	Control	5,12 \pm 0,64	5,54 \pm 0,47	0,365	0,744	0,863
	Avellana	5,21 \pm 0,49	5,83 \pm 0,57			
NTYR (%)	Control	100,0 \pm 17,9	95,0 \pm 18,7	0,679	0,956	0,495
	Avellana	88,4 \pm 9,9	108,7 \pm 23,2			

MDA: Malonildialdehído; Ox-LDL: Colesterol LDL oxidado; NTYR: Nitrotirosina. Datos presentados como promedio y SEM. Análisis estadístico: ANOVA dos factores, $p < 0,05$; T factor tiempo intervención, G factor grupo experimental, TxG interacción entre factor tiempo y grupo. (*) indica diferencia significativa respecto al grupo control y (#) indica diferencia significativa respecto al inicio de intervención.

4 DISCUSIÓN

Las guías clínicas del MINSAL recomiendan una dieta baja en grasas para reducir el riesgo cardiovascular (MINSAL, 2018b). No obstante, los resultados de este estudio indican que, tras seis meses de intervención, una dieta chilena suplementada con *G. avellana*, produce efectos comparables a los de la dieta baja en grasa recomendada por MINSAL en los biomarcadores clásicos y no clásicos de estrés oxidativo en el plasma de sujetos hipercolesterolémicos, mejorando tanto el perfil lipídico como los marcadores antioxidantes.

El perfil lipídico proporciona información sobre biomarcadores clásicos asociados al riesgo cardiovascular (Kaneko et al., 2021). En particular, el c-LDL catalogado como pro aterogénico, es susceptible a la oxidación por la presencia de ROS. Este proceso puede prevenirse por la presencia de c-HDL promoviendo el transporte inverso de colesterol, llegando a disminuir el desarrollo de la aterosclerosis (Falk, 2006). El metabolismo lipídico, reflejado por los niveles de c-LDL y c-HDL se vio beneficiado en ambos grupos intervenidos, no se observó un aumento del colesterol c-LDL, lo que era de esperar en una dieta baja en grasas. Por otro lado, en la dieta chilena suplementada, que posee una ingesta de grasas del tipo AGMI y AGPI provenientes de las avellanas, estas no aumentaron los niveles de c-LDL en el tiempo de intervención. Además, se evidenció un aumento significativo en los niveles de c-HDL en ambas dietas, lo que promueve el transporte reverso y contribuye a la cardioprotección como variable independiente de otros biomarcadores. A nivel comparativo, los estudios con frutos secos, en

general, no tienen una intervención superior a 12 semanas. Mercanligil, et. al. (2007) realizaron un estudio donde hombres hipercolesterolémicos consumieron una dieta baja en grasas durante 4 semanas y posteriormente una dieta control suplementada con 40 gr. de avellanas (*Corylus avellana* L.) al día durante 4 semanas. Su estudio demostró que los niveles de c-HDL aumentaron significativamente en un 12,6% y los niveles de CT y c-LDL tuvieron una tendencia a la disminución aunque no fue significativa (Mercanligil et al., 2007).

La composición de lípidos provenientes de la dieta es capaz de regular el estado inflamatorio del cuerpo, los ácidos grasos saturados se relacionan con una mayor expresión de genes asociados a vías proinflamatorias en PBMC, opuesto a lo que ocurre en el consumo de AGMI y AGPI que muestran perfiles anti inflamatorios (Rocha et al., 2017; Sureda et al., 2020). La adiponectina posee propiedades antineoplásicos, cardioprotectoras y antiinflamatorias (Janiszewska et al., 2021). Esta adipocina puede ser regulada por los ácidos grasos provenientes de la dieta, principalmente AGMI y AGPI, en donde encontramos al omega-3, que induce la expresión de adiponectina por la activación de PPAR γ . Los valores de adiponectina no tuvieron cambios producto de las intervenciones, los participantes presentaron niveles de adiponectina saludables pre y post intervención dietaria y se observó un aumento en el tiempo de c-HDL de 1,12 y 1,11 veces para el grupo control y avellanas, respectivamente. Un estudio realizado por Yang et. al. (2020) realizado en mujeres con Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP) sugiere que el ácido linoleico de las nueces (*Juglans regia*) y

el ácido oleico de almendras (*Prunus dulcis*) tuvieron un efecto positivo en la concentración de adiponectina (Yang et al., 2020). En la *G. avellana* los ácidos grasos más abundantes son el ácido oleico y el ácido 7-hexadecenoico (Pino Ramos et al., 2019) por lo que se sugiere que este fruto seco también tiene esta capacidad de aumentar los niveles de adiponectina a través aumento en la expresión de adiponectina en el tejido adiposo, que induce un aumento de c-HDL a través del aumento de la producción del transportador de casete de unión a ATP A1 (ABCA1) (Hidekatsu Yanai, 2019). Aunque en nuestros resultados los valores de adiponectina no tuvieron cambios se observó un aumento en el tiempo de c-HDL, por lo que se sugiere otras vías de activación para aumento del c-HDL y no el aumento de adiponectina asociado a la ingesta de ácidos grasos que promuevan su producción.

La maquinaria antioxidante es fundamental para regular el estrés oxidativo, manteniendo las especies reactivas dentro de los límites fisiológicos para tener un equilibrio REDOX, transformando las ROS en moléculas de fácil metabolización en las células para finalmente obtener un producto inocuo como el agua. Es importante mantener la homeostasis REDOX para que ROS y RNS no sobrepasen al sistema antioxidante alterando proteínas, lípidos y carbohidratos, además de alterar mecanismos de señalización celular, que da como resultado un mayor riesgo de ECV, cáncer, diabetes mellitus, entre otras patologías. Por otro lado, la suplementación con antioxidantes de forma excesiva aumenta la susceptibilidad a enfermedades del tipo alérgicas y en población bien

nutrida no se observan beneficios de una suplementación con antioxidantes. Las células responden de forma adaptativa a los estresores, lo que se define como hormesis, en la cual la célula tiene una dosis-respuesta bifásica, es decir, en bajas dosis la respuesta es beneficiosa y en dosis altas resulta un efecto tóxico. Es necesario tener estresores celulares para mantener los niveles bajos de ROS/RNS y estimular la capacidad antioxidante celular (Salehi et al., 2018; Sharifi-Rad et al., 2020).

Dentro de las enzimas antioxidantes se encuentran las de primera línea defensiva, SOD y CAT, quienes tienen la capacidad de metabolizar en O_2^- y el H_2O_2 , respectivamente, los cuales son dos ROS potencialmente oxidativos capaces de generar daño a nivel celular si se encuentran en exceso (Hadwan, 2018; Wang et al., 2018). Analizando la actividad enzimática antioxidante de estas proteínas observamos una disminución significativa en la actividad de SOD en plasma en ambos grupos de estudio, contradictorio a lo descrito en la tesis de Gonzalez-Contreras (2023) en el marco del mismo proyecto en células PBMC (Gonzalez-Contreras, 2023) y un aumento significativo en la actividad de CAT en ambos grupos de estudio, que concuerda con la literatura y dicho estudio. Así es como se puede indicar que solo CAT mejora su actividad en ambas dietas, aumentando la capacidad antioxidante en plasma, independiente del consumo de grasas que se tenga. No hay documentación de la actividad enzimática en estudios de intervención nutricional con avellana chilena, dentro de la literatura existente, lo más similar es el estudio de Monserrat-Mesquida, et al. (2022), donde 67

personas con enfermedad de hígado graso no alcohólico en España, siguieron una dieta mediterránea por 6 meses y que registraron un aumento de la actividad enzimática de SOD y CAT al finalizar el estudio en ambos grupos. Este hallazgo es similar a lo obtenido en CAT en el mismo periodo de tiempo, pero controversial a lo obtenido en SOD, donde en el **Gráfico 3-3** se observa una disminución y en el estudio de Monserrat-Mesenquida, et al.(2022) no hay cambios significativos pero si una tendencia al aumento. Importante señalar que se midió SOD sin hacer diferencias entre las 3 isoformas presentes en el humano, por lo tanto, que disminuya a nivel plasmático no indica que disminuya la actividad de SOD dentro de la célula, se ha demostrado una regulación genética positiva en sangre en el gen SOD1 (Di Renzo et al., 2019) en sujetos con una dieta suplementada con avellanas europeas, por lo que no se descarta la posibilidad de que haya cambios según la isoforma estudiada. Cabe destacar de igual manera, que estas personas presentaban un aumento en su CT > 200 mg/dL, cumpliendo el criterio de ser hipercolesterolémicos (Monserrat-Mesquida et al., 2022).

Con respecto a TAC, no hay estudios de intervención nutricional con avellanas chilenas donde se analice TAC, lo comparable con este estudio son los resultados del ensayo PREDIMED, cuyas intervenciones consistieron en una dieta mediterránea suplementada con frutos secos y una dieta baja en grasas. Zamora, et. al. (2013) dentro de este estudio reclutaron 7447 participantes con alto riesgo de ECV y observó que los niveles de capacidad antioxidante medido a través de TRAP plasmático y FRAP después de 1 año de intervención aumentaron

significativamente con respecto al inicio (Zamora-Ros et al., 2013). De igual forma en los hallazgos de Razquin et. al. (2009), en el cual seleccionaron aleatoriamente 197 sujetos del centro AP-UNAV en el ensayo de PREDIMED demostraron que los niveles de TAC plasmático del grupo dieta mediterránea con frutos secos tuvieron diferencias significativas con respecto al grupo de dieta baja en grasas luego de 3 años de intervención. En concordancia con estos estudios, nuestros resultados indican que existe una tendencia a aumentar los niveles de TAC plasmáticos en ambos grupos intervenidos, aunque no es significativamente estadístico (véase Tabla 3-3) sin embargo, se debe hacer la diferencia en los tiempos de intervención de cada estudio, los cuales son superiores a 6 meses.

Por otro lado, al analizar los marcadores de daño oxidativo en plasma observamos que no hay diferencia significativa en el marcador de daño lipídico MDA, un subproducto de la peroxidación lipídica de AGPI capaz de formar aductos con proteínas, provocando la oxidación de estas (Gęgotek & Skrzydlewska, 2019). A pesar de que en el grupo avellana hubo un mayor consumo de grasas, no observamos un aumento en este biomarcador de oxidación, que tiene una directa relación con la capacidad de generar modificaciones a nivel de las proteínas, ya que se sabe que el MDA es, por ejemplo, capaz de provocar modificaciones a nivel estructural de la ApoB-100 en las LDL, contribuyendo a la formación de las ox-LDL (Vandemoortele et al., 2020; Videla et al., 2022). Nuestros resultados indicarían que ninguno de los dos patrones dietéticos contribuye al aumento de MDA y de ox-LDL (véase **Tabla 3-4**).

El MDA es capaz de inducir la oxidación de proteínas como la albumina, una de las principales proteínas presentes en sangre, aunque se desconoce el mecanismo por el cual actúa, se sospecha que es más complejo que la simple formación de aductos aldehídicos covalentes (Traverso et al., 2004). Por otra parte, el estrés oxidativo promueve la formación de peroxinitritos los cuales pueden modificar proteínas en los residuos metionina, triptófano, cisteína y especialmente tirosina, con quien produce nitrotirosina (N-TYR) (Namiduru et al., 2012). En concordancia con lo descrito por Contreras (2023) en PBMC y nuestros hallazgos, a niveles plasmáticos no observa diferencias significativas en %N-TYR, lo cual también es acorde a los resultados de MDA, que sugieren que no hay una oxidación lipídica ni proteica, es decir, no hay un aumento de marcadores de estrés oxidativo en plasma asociados a cambios en la dieta.

La biodisponibilidad de homocisteína puede verse afectada por el consumo de ácido fólico obtenido a partir de la dieta en una relación inversa, sin embargo, a diferencia de la homocisteína, el ácido fólico no tiene un consenso en literatura sobre la asociación a ECV (Foroughi et al., 2013; Ganguly & Alam, 2015). Un estudio de casos y controles realizado por Fouscala, et al. (2018) en 1491 pacientes con un primer evento de SCA y 3037 adultos libres de ECV se describe que los niveles de homocisteína son independientes del SCA en población joven, menor a 45 años, y en personas de edad media, entre 45 y 60 años, existiendo una asociación inversa entre la adherencia a una dieta mediterránea y los niveles de homocisteína (Foscolou et al., 2019). Esto último, no está en concordancia con

los resultados obtenidos en el presente estudio, en donde los niveles de homocisteína no mostraron diferencias significativas para ambos grupos en los periodos pre y post – intervención. Se debe hacer el alcance de que en el estudio mencionado solo el 27% de los sujetos cumplió el requisito de hipercolesterolemia.

4.1 Fortalezas y limitaciones del estudio

Dentro de las limitaciones del estudio es importante recalcar que no se ha descrito la composición de la *G. avellana* en su totalidad, su análisis de composición fue tomado desde literatura y no fue posible realizarlo dentro del estudio debido a la que el proveedor trabajó con distintos productores, por lo que las avellanas eran heterogéneas dentro de los 6 meses de intervención, por lo tanto, pueden existir aportes nutricionales de este fruto que no se estén considerando y no se logre evidenciar su beneficio para la salud. Por otra parte, es importante mencionar que los ensayos de adiponectina, SOD, TAC, homocisteína y ox-LDL no cuentan con un análisis completo de los participantes debido a limitaciones propias de los ensayos, por lo tanto, se realizaron subgrupos, lo que dificulta la comparación de dichos resultados al tener un menor n.

En las fortalezas de este estudio se cuenta con que es el primer estudio realizado en Chile y a nivel mundial que evidencia los efectos de la dieta chilena suplementada con *G. avellana* sobre la salud humana, confirmando las sugerencias encontradas en literatura sobre los beneficios de este fruto endémico

para la población chilena niveles plasmáticos. Destacamos la variedad de parámetros plasmáticos y séricos estudiados que permiten evidenciar cambios metabólicos y el estrés oxidativo entregando resultados y confiables.

4.2 Proyecciones del estudio

Con respecto a proyecciones, esperamos que se pueda seguir caracterizando la composición de la avellana chilena para potenciar la dieta chilena suplementada con *G. avellana* como una alternativa saludable para la población, especialmente aquella con niveles altos de colesterol. Estos resultados serán la base para futuros estudios en donde se puedan incluir marcadores más biomarcadores de daño oxidativo como 4-HNE, proteína C reactiva, determinación de carbonilos y marcadores de inflamación como TNF - α , PPAR γ , interleuquinas proinflamatorias tales como IL-1, IL-6 e IL-10 que no se han podido incluir en este estudio, pero complementarían los resultados obtenidos fortaleciendo los conocimientos para disminuir el RCV de la población.

5 CONCLUSIÓN

Una dieta chilena suplementada con *G. avellana* tiene efectos beneficiosos que son similares a una dieta baja en grasas recomendada por MINSAL sobre el perfil lipídico y marcadores antioxidantes y oxidantes en plasma de población hipercolesterolémica en un periodo de 6 meses, siendo una alternativa a considerar que puede ser más adherente para los participantes.

Observamos ambas intervenciones indujeron cambios en los marcadores del perfil lipídico y antioxidantes, en donde hay un aumento significativo en los niveles de c-HDL, en la actividad enzimática antioxidante de CAT y una tendencia al aumento de TAC, lo que se traduce en una mejoría en el sistema antioxidante tanto enzimático como no enzimático proporcionando un efecto cardioprotector.

El efecto beneficioso de ambas dietas también se evidencia a través de los marcadores oxidativos, en donde si bien no hay una disminución de estos tampoco se ve un aumento del estrés oxidativo, por lo tanto, el balance REDOX esta favorecido hacia los sistemas antioxidantes.

Ambas dietas tienen un efecto beneficioso sobre la salud humana, aunque la dieta baja en grasas es la recomendada por el MINSAL, este estudio demuestra los beneficios de una dieta chilena suplementada con avellanas, que tiene un mayor contenido de grasas mono y poli insaturadas, y ofrece una alternativa para aquellas personas que no logran adherirse a una dieta con menos grasas, especialmente para la población que presenta factores de riesgo para la ECV

como la hipercolesterolemia, mejorando de forma integral su salud a niveles metabólicos, lipídicos, oxidativos e inflamatorios.

6 BIBLIOGRAFÍA

1. Aebi, H. (1984). [13] Catalase in vitro. In *Methods in Enzymology* (Vol. 105, pp. 121-126). Academic Press.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
2. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol*, 105, 121-126.
[https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3)
3. Aguilón-Osma, J., Loango-Chamorro, N., & Landazuri, P. (2019). Liver cell models for studying lipid metabolism. Literature review. *Revista de la Facultad de Medicina*, 67(1), 109-116.
4. AHA. (2021). The American Heart Association Diet and Lifestyle Recommendations. <https://www.heart.org/en/healthy-living/healthy-eating/eat-smart/nutrition-basics/aha-diet-and-lifestyle-recommendations>
5. Barbosa, K. B. F., Bressan, J., Zulet, M. A., & Martínez, J. A. (2008). Influencia de la dieta sobre marcadores plasmáticos de estrés oxidativo en humanos. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 31, 259-280.
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272008000500006&nrm=iso
6. Bennett, M. R., Sinha, S., & Owens, G. K. (2016). Vascular Smooth Muscle Cells in Atherosclerosis. *Circ Res*, 118(4), 692-702.
<https://doi.org/10.1161/circresaha.115.306361>
7. Bhandari P, S. A. (2023). Low-Fat Diet. *StatPearls*.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553097/>

8. Blaner, W. S., Shmarakov, I. O., & Traber, M. G. (2021). Vitamin A and Vitamin E: Will the Real Antioxidant Please Stand Up? *Annu Rev Nutr*, 41, 105-131. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-082018-124228>
9. Capó, X., Martorell, M., Sureda, A., Llompарт, I., Tur, J. A., & Pons, A. (2015). Diet supplementation with DHA-enriched food in football players during training season enhances the mitochondrial antioxidant capabilities in blood mononuclear cells. *Eur J Nutr*, 54(1), 35-49. <https://doi.org/10.1007/s00394-014-0683-2>
10. Cardozo, L. A., Cuervo Guzman, Y. A., & Murcia Torres, J. A. (2016). Body fat percentage and prevalence of overweight-obesity in college students of sports performance in Bogotá, Colombia. *Nutrición clínica y dietética hospitalaria*, 36(3), 68-75.
11. Carpio G, F., Croce P, N., & Morales P, V. (2005). Hipercolesterolemia Y factores de riesgo asociados, ambulatorio urbano II: Dr. Leonardo Ruiz Pineda II, San Agustín del Sur, Caracas, Venezuela, año 2002. *Revista de la Facultad de Medicina*, 28, 63-74. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04692005000100012&nrm=iso
12. Carretero Colomer, M. (2008). Hipercolesterolemia. Diagnóstico y tratamiento. *Offarm*, 27(9), 109-111.
/0212047X/0000002700000009/v0_201305151805/13127390/v0_201305151806/es/main.assetsER

13. Carvajal Carvajal, C. (2017). El endotelio: estructura, función y disfunción endotelial. *Medicina Legal de Costa Rica*, 34, 90-100. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152017000200090&nrm=iso
14. Carvajal Carvajal, C. (2019). Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36, 91-100. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152019000100091&nrm=iso
15. Chawla, S., Tessarolo Silva, F., Amaral Medeiros, S., Mekary, R. A., & Radenkovic, D. (2020). The Effect of Low-Fat and Low-Carbohydrate Diets on Weight Loss and Lipid Levels: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/nu12123774>
16. Chen, D., Zhang, Y., Yidilisi, A., Xu, Y., Dong, Q., & Jiang, J. (2022). Causal Associations Between Circulating Adipokines and Cardiovascular Disease: A Mendelian Randomization Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 107(6), e2572-e2580. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgac048>
17. Csonka, C., Sárközy, M., Pipicz, M., Dux, L., & Csont, T. (2016). Modulation of Hypercholesterolemia-Induced Oxidative/Nitrative Stress in the Heart. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 3863726. <https://doi.org/10.1155/2016/3863726>

18. Cyr, A. R., Huckaby, L. V., Shiva, S. S., & Zuckerbraun, B. S. (2020). Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction. *Crit Care Clin*, 36(2), 307-321. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2019.12.009>
19. Dauchet, L., Amouyel, P., Hercberg, S., & Dallongeville, J. (2006). Fruit and Vegetable Consumption and Risk of Coronary Heart Disease: A Meta-Analysis of Cohort Studies¹. *The Journal of Nutrition*, 136(10), 2588-2593. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jn/136.10.2588>
20. DEIS. (2024). Estadísticas de mortalidad 1990-2020. *MINSAL*. <https://deis.minsal.cl/>
21. Di Renzo, L., Cioccoloni, G., Bernardini, S., Abenavoli, L., Aiello, V., Marchetti, M., Cammarano, A., Alipourfard, I., Ceravolo, I., & Gratteri, S. (2019). A Hazelnut-Enriched Diet Modulates Oxidative Stress and Inflammation Gene Expression without Weight Gain. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 4683723. <https://doi.org/10.1155/2019/4683723>
22. Diaz, A. (2003). La Estructura de las Catalasas. *REB. Revista de Educación Bioquímica*, 22. http://www3.uacj.mx/ICB/redcib/Documents/REB_DOC/2003/06/2003-2_LA%20ESTRUC .pdf
23. Echeverría, G., Dussailant, C., McGee, E. E., Mena, C., Nitsche, M. P., Urquiaga, I., Bitran, M., Pedrals, N., & Rigotti, A. (2019). Promoting and Implementing the Mediterranean Diet in the Southern Hemisphere: the

- Chilean Experience. *European Journal of Clinical Nutrition*, 72(1), 38-46.
<https://doi.org/10.1038/s41430-018-0307-7>
24. El Frakchi, N., El Kinany, K., El Baldi, M., Saoud, Y., & El Rhazi, K. (2024). Association of dietary total antioxidant capacity with general and abdominal obesity in type 2 diabetes mellitus patients. *PLOS ONE*, 19(6), e0306038.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0306038>
25. Elejalde Guerra, J. I. (2001). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*, 18, 50-59.
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992001000600010&nrm=iso
26. Estruch, R., Ros, E., Salas-Salvadó, J., Covas, M. I., Corella, D., Arós, F., Gómez-Gracia, E., Ruiz-Gutiérrez, V., Fiol, M., Lapetra, J., Lamuela-Raventos, R. M., Serra-Majem, L., Pintó, X., Basora, J., Muñoz, M. A., Sorlí, J. V., Martínez, J. A., & Martínez-González, M. A. (2013). Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med*, 368(14), 1279-1290. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200303>
27. Falk, E. (2006). Pathogenesis of Atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 47(8, Supplement), C7-C12.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.09.068>
28. Feigin, V. L., Abate, M. D., Abate, Y. H., Abd ElHafeez, S., Abd-Allah, F., Abdelalim, A., Abdelkader, A., Abdelmasseh, M., Abd-Elsalam, S., Abdi, P., Abdollahi, A., Abdoun, M., Abd-Rabu, R., Abdulah, D. M., Abdullahi, A.,

- Abebe, M., Abeldaño Zuñiga, R. A., Abhilash, E. S., Abiodun, O. O., . . . Murray, C. J. L. (2024). Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990–2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet Neurology*, 23(10), 973-1003. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(24\)00369-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(24)00369-7)
29. Figueroa, C., Echeverría, G., Villarreal, G., Martínez, X., Ferreccio, C., & Rigotti, A. (2021). Introducing Plant-Based Mediterranean Diet as a Lifestyle Medicine Approach in Latin America: Opportunities Within the Chilean Context [Review]. *Frontiers in Nutrition*, 8. <https://www.frontiersin.org/journals/nutrition/articles/10.3389/fnut.2021.680452>
30. Flohe, L. (1984). [10] Superoxide dismutase assays. In *Methods in enzymology* (Vol. 105, pp. 93-104). Elsevier.
31. Foroughi, M., Akhavanzanjani, M., Maghsoudi, Z., Ghiasvand, R., Khorvash, F., & Askari, G. (2013). Stroke and nutrition: a review of studies. *Int J Prev Med*, 4(Suppl 2), S165-179.
32. Foscolou, A., Rallidis, L. S., Tsirebolos, G., Critselis, E., Katsimardos, A., Drosatos, A., Chrysohoou, C., Tousoulis, D., Pitsavos, C., & Panagiotakos, D. B. (2019). The association between homocysteine levels, Mediterranean diet and cardiovascular disease: a case-control study. *Int J Food Sci Nutr*, 70(5), 603-611. <https://doi.org/10.1080/09637486.2018.1547688>

33. Fridovich, I. (1998). Oxygen toxicity: a radical explanation. *J Exp Biol*, 201(Pt 8), 1203-1209.
34. Friedewald, W. T., Levy, R. I., & Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, 18(6), 499-502.
35. Ganguly, P., & Alam, S. F. (2015). Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutr J*, 14, 6. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-14-6>
36. Gao, S., & Liu, J. (2017). Association between circulating oxidized low-density lipoprotein and atherosclerotic cardiovascular disease. *Chronic Dis Transl Med*, 3(2), 89-94. <https://doi.org/10.1016/j.cdtm.2017.02.008>
37. Gęgotek, A., & Skrzydlewska, E. (2019). Biological effect of protein modifications by lipid peroxidation products. *Chemistry and Physics of Lipids*, 221, 46-52. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2019.03.011>
38. Goh, L. G., Dhaliwal, S. S., Welborn, T. A., Lee, A. H., & Della, P. R. (2014). Anthropometric measurements of general and central obesity and the prediction of cardiovascular disease risk in women: a cross-sectional study. *BMJ Open*, 4(2), e004138. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2013-004138>
39. Gonzalez-Contreras, C. (2023). *Efectos de una dieta chilena suplementada con Gevuina avellana versus una dieta baja en grasas sobre biomarcadores de estres oxidativo e inflamación en células mononucleares*

de sangre periférica de población adulta chilena con hipercolesterolemia no tratada farmacológicamente Universidad de Concepción].

40. Hadwan, M. H. (2018). Simple spectrophotometric assay for measuring catalase activity in biological tissues. *BMC Biochem*, 19(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s12858-018-0097-5>
41. Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>
42. Hansson, G. K., & Hermansson, A. (2011). The immune system in atherosclerosis. *Nature Immunology*, 12(3), 204-212. <https://doi.org/10.1038/ni.2001>
43. He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., & Ma, X. (2017). Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 44(2), 532-553. <https://doi.org/10.1159/000485089>
44. Hernández-Rodríguez S, G.-S. J., García-Ortíz L, et al. (2014). Estrés oxidativo y nitrosativo como mecanismo de daño al hepatocito producido por el metabolismo del etanol. *Med Int Mex*. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=49624>
45. Hidekatsu Yanai, H. Y. (2019). Beneficial Effects of Adiponectin on Glucose and Lipid Metabolism and Atherosclerotic Progression: Mechanisms and

- Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 20.
<https://www.mdpi.com/1422-0067/20/5/1190#>
46. Janiszewska, J., Ostrowska, J., & Szostak-Węgierek, D. (2021). The Influence of Nutrition on Adiponectin—A Narrative Review. *Nutrients*, 13(5), 1394. <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/5/1394>
47. Jebari-Benslaiman, S., Galicia-García, U., Larrea-Sebal, A., Olaetxea, J. R., Alloza, I., Vandebroek, K., Benito-Vicente, A., & Martín, C. (2022). Pathophysiology of Atherosclerosis. *Int J Mol Sci*, 23(6). <https://doi.org/10.3390/ijms23063346>
48. Jung, E., Kong, S. Y., Ro, Y. S., Ryu, H. H., & Shin, S. D. (2022). Serum Cholesterol Levels and Risk of Cardiovascular Death: A Systematic Review and a Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Int J Environ Res Public Health*, 19(14). <https://doi.org/10.3390/ijerph19148272>
49. Kaneko, H., Itoh, H., Kiriya, H., Kamon, T., Fujiu, K., Morita, K., Michihata, N., Jo, T., Takeda, N., Morita, H., Yasunaga, H., & Komuro, I. (2021). Lipid Profile and Subsequent Cardiovascular Disease among Young Adults Aged < 50 Years. *Am J Cardiol*, 142, 59-65. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2020.11.038>
50. Krishna, H., Avinash, K., Shivakumar, A., Al-tayar, N. G. S., & Shrestha, A. K. (2021). A quantitative method for the detection and validation of catalase activity at physiological concentration in human serum, plasma and erythrocytes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular*

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.119358>

51. Lara Terán, J. (2014). Estrés oxidativo, disfuncion endotelial y aterosclerosis. *Anales de la Facultad de Medicina*, 75, 351-352.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832014000400011&nrm=iso
52. Libby, P. (2021). The changing landscape of atherosclerosis. *Nature*, 592(7855), 524-533. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03392-8>
53. 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. *Clin Interv Aging*, 13, 757-772.
<https://doi.org/10.2147/cia.S158513>
54. Lima, R. P. A., do Nascimento, R. A. F., Luna, R. C. P., Persuhn, D. C., da Silva, A. S., da Conceição Rodrigues Gonçalves, M., de Almeida, A. T. C., de Moraes, R. M., Junior, E. V., Fouilloux-Meugnier, E., Vidal, H., Pirola, L., Magnani, M., de Oliveira, N. F. P., Prada, P. O., & de Carvalho Costa, M. J. (2017). Effect of a diet containing folate and hazelnut oil capsule on the methylation level of the ADRB3 gene, lipid profile and oxidative stress in overweight or obese women. *Clinical Epigenetics*, 9(1), 110.
<https://doi.org/10.1186/s13148-017-0407-6>
55. Liu, J., Tse, L. A., Liu, Z., Rangarajan, S., Hu, B., Yin, L., Leong, D. P., & Li, W. (2019). Predictive Values of Anthropometric Measurements for

Cardiometabolic Risk Factors and Cardiovascular Diseases Among 44 048 Chinese. *J Am Heart Assoc*, 8(16), e010870.
<https://doi.org/10.1161/jaha.118.010870>

56. Liudis Leidy Pino Ramos, F. J.-A., Cristina Theoduloz, Alberto Burgos-Edwards, Raúl Domínguez-Perles, Camille Oger, Thierry Durand, Ángel Gil-Izquierdo, Luis Bustamante, Claudia Mardones, Katherine Márquez, David Contreras, Guillermo Schmeda-Hirschmann. (2019). Phenolic, oxylipin and fatty acid profiles of the Chilean hazelnut (*Gevuina avellana*): Antioxidant activity and inhibition of pro-inflammatory and metabolic syndrome-associated enzymes. *Food Chemistry*, 298.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814619311288>
57. Lorenzon dos Santos, J., Schaan de Quadros, A., Weschenfelder, C., Bueno Garofallo, S., & Marcadenti, A. (2020). Oxidative Stress Biomarkers, Nut-Related Antioxidants, and Cardiovascular Disease. *Nutrients*, 12(3), 682. <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/3/682>
58. Maldonado Saavedra, O., Ramírez Sánchez, I., García Sánchez, J. R., Ceballos Reyes, G. M., & Méndez Bolaina, E. (2012). Colesterol: Función biológica e implicaciones médicas. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43, 7-22.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000200002&nrm=iso

59. Martorell, M., Capó, X., Bibiloni, M. M., Sureda, A., Mestre-Alfaro, A., Batle, J., Llompart, I., Tur, J., & Pons, A. (2015). Docosahexaenoic acid supplementation promotes erythrocyte antioxidant defense and reduces protein nitrosative damage in male athletes. *Lipids*, *50*(2), 131-148.
60. Martorell, M., Capó, X., Sureda, A., Batle, J. M., Llompart, I., Argelich, E., Tur, J. A., & Pons, A. (2014). Effect of DHA on plasma fatty acid availability and oxidative stress during training season and football exercise. *Food Funct*, *5*(8), 1920-1931. <https://doi.org/10.1039/c4fo00229f>
61. Mas-Bargues, C., Escrivá, C., Dromant, M., Borrás, C., & Viña, J. (2021). Lipid peroxidation as measured by chromatographic determination of malondialdehyde. Human plasma reference values in health and disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *709*, 108941. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.108941>
62. Mensah George, A., Fuster, V., Murray Christopher, J. L., Roth Gregory, A., Mensah George, A., Abate Yohannes, H., Abbasian, M., Abd-Allah, F., Abdollahi, A., Abdollahi, M., Abdulah Deldar, M., Abdullahi, A., Abebe Ayele, M., Abedi, A., Abedi, A., Abiodun Olugbenga, O., Ali Hiwa, A., Abu-Gharbieh, E., Abu-Rmeileh Niveen, M. E., . . . Roth Gregory, A. (2023). Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risks, 1990-2022. *Journal of the American College of Cardiology*, *82*(25), 2350-2473. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2023.11.007>

63. Mercanligil, S. M., Arslan, P., Alasalvar, C., Okut, E., Akgül, E., Pinar, A., Geyik, P. Ö., Tokgözoğlu, L., & Shahidi, F. (2007). Effects of hazelnut-enriched diet on plasma cholesterol and lipoprotein profiles in hypercholesterolemic adult men. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61(2), 212-220. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602518>
64. MINSAL. (2000). Dislipidemias. *Ministerio de Salud de Chile (MINSAL)*. <https://www.minsal.cl/portal/url/item/75fefc3f8128c9dde04001011f0178d6.pdf>
65. MINSAL. (2018a). Encuesta Nacional de Salud 2016-2017. *Ministerio de Salud de Chile* https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2018/01/2-Resultados-ENS_MINSAL_31_01_2018.pdf
66. MINSAL. (2018b). Orientación Técnica Dislipidemias. *Ministerio de Salud*. <http://soched.cl/guias/Dislipidemias-MINSAL-Chile-2018.pdf>
67. Monserrat-Mesquida, M., Quetglas-Llabrés, M., Bouzas, C., Montemayor, S., Mascaró, C. M., Casares, M., Llupart, I., Ugarriza, L., Martínez, J. A., Tur, J. A., & Sureda, A. (2022). Increased Adherence to the Mediterranean Diet after Lifestyle Intervention Improves Oxidative and Inflammatory Status in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Antioxidants (Basel)*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/antiox11081440>
68. Mozaffarian, D., Appel, L. J., & Van Horn, L. (2011). Components of a cardioprotective diet: new insights. *Circulation*, 123(24), 2870-2891. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.110.968735>

69. Msc, L., & Ariza, M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova*, 10, 213. <https://doi.org/10.22490/24629448.1010>
70. Namiduru, E. S., Namiduru, M., Tarakçioğlu, M., & Tanriverdi, M. (2012). Levels of malondialdehyde, myeloperoxidase and nitrotyrosine in patients with chronic viral hepatitis B and C. *Adv Clin Exp Med*, 21(1), 47-53.
71. OMS. (2020). Las 10 principales causas de muerte. *Organización Mundial de la Salud*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
72. OMS. (2021). Enfermedades Cardiovasculares. *Organización Mundial de la Salud*. https://www.who.int/es/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab_1
73. Orem, A., Yucesan, F. B., Orem, C., Akcan, B., Kural, B. V., Alasalvar, C., & Shahidi, F. (2013). Hazelnut-enriched diet improves cardiovascular risk biomarkers beyond a lipid-lowering effect in hypercholesterolemic subjects. *Journal of Clinical Lipidology*, 7(2), 123-131. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jacl.2012.10.005>
74. Otero Regino, W., Velasco, H., & Sandoval, H. (2009). Papel protector de la bilirrubina en el ser humano. *Revista colombiana de Gastroenterología*, 24, 293-301. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99572009000300011&nrm=iso

75. Padayatty, S. J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J. H., Chen, S., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S. K., & Levine, M. (2003). Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr*, 22(1), 18-35. <https://doi.org/10.1080/07315724.2003.10719272>
76. Pamplona, R., Borrás, C., Jové, M., Pradas, I., Ferrer, I., & Viña, J. (2019). Redox lipidomics to better understand brain aging and function. *Free Radical Biology and Medicine*, 144, 310-321. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.03.016>
77. Peng, J., Chen, Q., & Wu, C. (2023). The role of adiponectin in cardiovascular disease. *Cardiovasc Pathol*, 64, 107514. <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2022.107514>
78. Perna, S., Giacosa, A., Bonitta, G., Bologna, C., Isu, A., Guido, D., & Rondanelli, M. (2016). Effects of Hazelnut Consumption on Blood Lipids and Body Weight: A Systematic Review and Bayesian Meta-Analysis. *Nutrients*, 8(12). <https://doi.org/10.3390/nu8120747>
79. Pino Ramos, L. L., Jiménez-Aspee, F., Theoduloz, C., Burgos-Edwards, A., Domínguez-Perles, R., Oger, C., Durand, T., Gil-Izquierdo, Á., Bustamante, L., Mardones, C., Márquez, K., Contreras, D., & Schmeda-Hirschmann, G. (2019). Phenolic, oxylipin and fatty acid profiles of the Chilean hazelnut (*Gevuina avellana*): Antioxidant activity and inhibition of pro-inflammatory and metabolic syndrome-associated enzymes. *Food Chem*, 298, 125026. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125026>

80. Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>
81. Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 8416763. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
82. Plebani, M., Banfi, G., Bernardini, S., Bondanini, F., Conti, L., Dorizzi, R., Ferrara, F. E., Mancini, R., & Trenti, T. (2020). Serum or plasma? An old question looking for new answers. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 58(2), 178-187. <https://doi.org/doi:10.1515/cclm-2019-0719>
83. Poznyak, A. V., Grechko, A. V., Orekhova, V. A., Chegodaev, Y. S., Wu, W. K., & Orekhov, A. N. (2020). Oxidative Stress and Antioxidants in Atherosclerosis Development and Treatment. *Biology (Basel)*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/biology9030060>
84. Prior, R. L., Gu, L., Wu, X., Jacob, R. A., Sotoudeh, G., Kader, A. A., & Cook, R. A. (2007). Plasma antioxidant capacity changes following a meal as a measure of the ability of a food to alter in vivo antioxidant status. *J Am Coll Nutr*, 26(2), 170-181. <https://doi.org/10.1080/07315724.2007.10719599>

85. Ramón, J., Cruz, A., Dolores, M., & Porta, J. (2009). Protocolo de valoración de la composición corporal para el reconocimiento médico-deportivo. documento de consenso del grupo español de cineantropometría (grec) de la federación española de medicina del deporte (femedede). Versión 2010. *Arch. Med. Deporte*, 26, 166-179.
86. Raynor, H., & Wing, R. (2005). The effectiveness of popular diets: An overview. *Food, Diet and Obesity*, 412-430.
<https://doi.org/10.1533/9781845690540.3.412>
87. Real, J. T., & Ascaso, J. F. (2021). Lipid metabolism and classification of hyperlipaemias. *Clin Investig Arterioscler*, 33 Suppl 1, 3-9.
<https://doi.org/10.1016/j.arteri.2020.12.008> (Metabolismo lipídico y clasificación de las hiperlipemias.)
88. Real, J. T., & Ascaso, J. F. (2021). Metabolismo lipídico y clasificación de las hiperlipemias [10.1016/j.arteri.2020.12.008]. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*. <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2020.12.008>
89. Rocha, D. M., Bressan, J., & Hermsdorff, H. H. (2017). The role of dietary fatty acid intake in inflammatory gene expression: a critical review. *Sao Paulo Med J*, 135(2), 157-168. <https://doi.org/10.1590/1516-3180.2016.008607072016>
90. Rozowski, J., & Castillo, Ó. (2004). Is the Chilean Diet a Mediterranean-type Diet? *Biological Research*, 37, 313-319.

91. Sainz, J., & Serra, M. (2023). Influencia de la farmacogenética en la diversidad de respuesta a las estatinas asociada a las reacciones adversas. *Advances in Laboratory Medicine / Avances en Medicina de Laboratorio*, 4. <https://doi.org/10.1515/almed-2023-0064>
92. Salehi, B., Martorell, M., Arbiser, J. L., Sureda, A., Martins, N., Maurya, P. K., Sharifi-Rad, M., Kumar, P., & Sharifi-Rad, J. (2018). Antioxidants: Positive or Negative Actors? *Biomolecules*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/biom8040124>
93. Sanchez-Monroy, J. (2020). Review: Family hypercholesterolemia, lipid pathophysiology and its cardiovascular importance. *Revista Electronica de PortalesMedicos.com*, XV, n°18, 959. <https://www.revista-portalesmedicos.com/revista-medica/revision-hipercolesterolemia-familiar-fisiopatologia-lipidica-y-su-importancia-cardiovascular/>
94. Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam, M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M. E., Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docea, A. O., . . . Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases [Review]. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://www.frontiersin.org/journals/physiology/articles/10.3389/fphys.2020.00694>

95. Sies, H. (2015). Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol*, 4, 180-183. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.002>
96. Sofi, F., Cesari, F., Abbate, R., Gensini, G. F., & Casini, A. (2008). Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis. *Bmj*, 337, a1344. <https://doi.org/10.1136/bmj.a1344>
97. Steinbrecher, U. P., Parthasarathy, S., Leake, D. S., Witztum, J. L., & Steinberg, D. (1984). Modification of low density lipoprotein by endothelial cells involves lipid peroxidation and degradation of low density lipoprotein phospholipids. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 81(12), 3883-3887. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.12.3883>
98. Sureda, A., Martorell, M., Bibiloni, M. D. M., Bouzas, C., Gallardo-Alfaro, L., Mateos, D., Capó, X., Tur, J. A., & Pons, A. (2020). Effect of Free Fatty Acids on Inflammatory Gene Expression and Hydrogen Peroxide Production by Ex Vivo Blood Mononuclear Cells. *Nutrients*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/nu12010146>
99. Tey, S. L., Gray, A. R., Chisholm, A. W., Delahunty, C. M., & Brown, R. C. (2013). The dose of hazelnuts influences acceptance and diet quality but not inflammatory markers and body composition in overweight and obese individuals. *J Nutr*, 143(8), 1254-1262. <https://doi.org/10.3945/jn.113.174714>
100. Traverso, N., Menini, S., Maineri, E. P., Patriarca, S., Odetti, P., Cottalasso, D., Marinari, U. M., & Pronzato, M. A. (2004). Malondialdehyde,

- a Lipoperoxidation-Derived Aldehyde, Can Bring About Secondary Oxidative Damage To Proteins. *The Journals of Gerontology: Series A*, 59(9), B890-B895. <https://doi.org/10.1093/gerona/59.9.B890>
101. Turrens, J. F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol*, 552(Pt 2), 335-344. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049478>
102. Valverde, I., Periago, M. J., & Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50, 5-18.
103. Vandemoortele, A., Babat, P., Yakubu, M., & De Meulenaer, B. (2020). Behavior of Malondialdehyde and Its Whey Protein Adducts during In Vitro Simulated Gastrointestinal Digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(42), 11846-11854. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03947>
104. Videla, L. A., Hernandez-Rodas, M. C., Metherel, A. H., & Valenzuela, R. (2022). Influence of the nutritional status and oxidative stress in the desaturation and elongation of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids: Impact on non-alcoholic fatty liver disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 181, 102441. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2022.102441>
105. Wang, M., Huang, Z. H., Zhu, Y. H., He, P., & Fan, Q. L. (2023). Association between the composite dietary antioxidant index and chronic

- kidney disease: evidence from NHANES 2011-2018. *Food Funct*, 14(20), 9279-9286. <https://doi.org/10.1039/d3fo01157g>
106. Wang, M., Zhang, X., Jia, W., Zhang, C., Boczek, T., Harding, M., Liu, Y., Li, M., Zhang, S., Lei, S., Zhang, D., & Guo, F. (2021). Circulating glutathione peroxidase and superoxide dismutase levels in patients with epilepsy: A meta-analysis. *Seizure*, 91, 278-286. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2021.07.001>
107. Wang, X. L., Adachi, T., Sim, A. S., & Wilcken, D. E. (1998). Plasma extracellular superoxide dismutase levels in an Australian population with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 18(12), 1915-1921. <https://doi.org/10.1161/01.atv.18.12.1915>
108. Wang, Y., Branicky, R., Noë, A., & Hekimi, S. (2018). Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *J Cell Biol*, 217(6), 1915-1928. <https://doi.org/10.1083/jcb.201708007>
109. Weitgasser, R., Ratzinger, M., Hemetsberger, M., & Siostrzonek, P. (2018). [LDL-cholesterol and cardiovascular events: the lower the better?]. *Wien Med Wochenschr*, 168(5-6), 108-120. <https://doi.org/10.1007/s10354-016-0518-2> (LDL-Cholesterin und kardiovaskuläre Ereignisse: je niedriger desto besser?)
110. Xu, L., Yan, X., Tang, Z., & Feng, B. (2022). Association between circulating oxidized OxLDL/LDL-C ratio and the severity of coronary

atherosclerosis, along with other emerging biomarkers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, 191, 110040. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2022.110040>

111. Yang, H., Roberts, L. J., Shi, M. J., Zhou, L. C., Ballard, B. R., Richardson, A., & Guo, Z. M. (2004). Retardation of atherosclerosis by overexpression of catalase or both Cu/Zn-superoxide dismutase and catalase in mice lacking apolipoprotein E. *Circ Res*, 95(11), 1075-1081. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000149564.49410.0d>
112. Yang, L., Guo, Z., Qi, S., Fang, T., Zhu, H., Santos, H. O., Khani, V., Wong, C. H., & Qiu, Z. (2020). Walnut intake may increase circulating adiponectin and leptin levels but does not improve glycemic biomarkers: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Complementary Therapies in Medicine*, 52, 102505. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ctim.2020.102505>
113. Yang, L., Li, B., Zhao, Y., & Zhang, Z. (2019). Prognostic value of adiponectin level in patients with coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis. *Lipids Health Dis*, 18(1), 227. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1168-3>
114. Yao, N., He, Y., Wu, Y., Wang, F., & Tian, Z. (2022). Prognostic value of plasma level of superoxide dismutase in HBV-related acute-on-chronic liver failure. *BMC Gastroenterol*, 22(1), 312. <https://doi.org/10.1186/s12876-022-02371-1>

115. Zamora-Ros, R., Serafini, M., Estruch, R., Lamuela-Raventós, R. M., Martínez-González, M. A., Salas-Salvadó, J., Fiol, M., Lapetra, J., Arós, F., Covas, M. I., & Andres-Lacueva, C. (2013). Mediterranean diet and non enzymatic antioxidant capacity in the PREDIMED study: Evidence for a mechanism of antioxidant tuning. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 23(12), 1167-1174.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.numecd.2012.12.008>
116. Zhu, Y., Xian, X., Wang, Z., Bi, Y., Chen, Q., Han, X., Tang, D., & Chen, R. (2018). Research Progress on the Relationship between Atherosclerosis and Inflammation. *Biomolecules*, 8(3).
<https://doi.org/10.3390/biom8030080>

7 ANEXOS

7.1 Consentimiento informado



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto 11190641. FONDECYT de Iniciación en investigación 2019

Título del Proyecto: Efectos de una dieta chilena suplementada con avellana chilena (*Gevvina avellana*) sobre el perfil lipídico en humanos con hipercolesterolemia

[Effects of a Chilean diet supplemented with *Gevvina avellana* on lipid profile in hypercholesterolemic subjects]

Investigador responsable: Miquel Martorell Pons, Bioquímico. Departamento de Nutrición y Dietética, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Concepción.

El propósito de este documento es invitarlo a participar a un proyecto de investigación y entregarle toda la información necesaria para que Ud. pueda decidir libre y voluntariamente si desea participar en la investigación que se le ha explicado verbalmente, y que a continuación se describe en forma resumida.

Objetivo: determinar el efecto sobre el perfil lipídico de una dieta chilena suplementada con avellana chilena a través de una intervención intensiva versus una dieta baja en grasas. Además, se va a evaluar el efecto de las intervenciones sobre la composición corporal, presión arterial, cambios en el perfil de ácidos grasos de glóbulos rojos, y marcadores de capacidad antioxidante, daño oxidativo e inflamación en sangre.

Para lograr dicho objetivo, se hace necesario realizar un estudio de 6 meses de duración, en voluntarios entre 18-80 años de edad, con colesterol elevado (> 200 mg/dL), sin alergias a los frutos secos, sin tratamiento médico asociado, ni enfermedades sistémicas como diabetes, hipertensión, enfermedad renal o hepática, no estar embarazada o lactando, que un miembro de su hogar o familiar directo haya sido previamente reclutado en este estudio, tener implante electrónico como marcapasos o prótesis activa, tengan ambas dosis incluidas en la campaña de vacunación SARS-Cov-2 y cuenten con su respectivo pase de movilidad. Es necesario recolectar información personal, que sólo usted nos puede proporcionar y son fundamentales para el desarrollo de esta intervención.

Una vez ingresado al estudio usted será asignado a un grupo control (dieta baja en grasas) o a un grupo experimental (dieta chilena suplementada con avellana chilena). Independientemente del grupo al que sea asignado, como voluntario deberá comprometerse en seguir las pautas nutricionales indicadas, mantener su rutina diaria, actividad física y hábitos de estilo de vida, y asistir a las diferentes actividades presenciales y virtuales donde se le pedirá información personal, de consumo de alimentos, hábitos de vida, y se tomarán mediciones de peso corporal, talla, composición corporal, presión arterial y recolectaran muestras sanguíneas en ayuno: capilar (una gota) y venosa braquial (40 mL, 4 cucharadas soperas, mediante punción de brazo derecho u izquierdo con aguja hipodérmica, al inicio y final del estudio).

BENEFICIOS Y RIESGOS.

Participar del presente estudio le permitirá beneficiarse con un seguimiento nutricional individualizado a cargo de una nutricionista, obteniendo información detallada sobre cómo seguir una dieta saludable. Si queda seleccionado en el grupo avellana, se le entregarán gratuitamente 30 gramos de avellana chilena para su consumo diario.

La obtención de la muestra de sangre estará a cargo de una enfermera y si bien es un procedimiento de rutina puede haber ciertos riesgos. Antes de la obtención de la muestra de sangre venosa, para corroborar criterio de inclusión de colesterol elevado (> 200 mg/dL), se obtendrá una gota de sangre capilar. Lo anterior puede ocasionar molestia, dolor o hematoma al extraer sangre capilar debido a la punción realizada en la zona del costado de un dedo (utilizando lanceta de diámetro fino). En la obtención de muestra sanguínea venosa en algunos casos se puede presentar sensación de mareo, un leve sangramiento que deberá pasar dentro de los primeros minutos y en muy pocos casos existe riesgo leve de formar un pequeño hematoma (moretón) que desaparecerá en dos días aproximadamente. Puede quedar una sensación de dolor que pasará en los primeros minutos. Riesgos personalizados: se consultará si el individuo(a) está con tratamiento anticoagulante para evitar riesgos de sangramiento y en

VERSION C.I. 05 – NOVIEMBRE 2021

{PAGE * MERGEFORMAT}



aquellos casos se observará por más de 5 minutos la formación del tapón plaquetario y cese de sangrado en el brazo del paciente. Sujetos que indiquen desmayos anteriores, serán tratados con mayor cuidado con personal de asistencia en caso de un eventual desmayo. Se podrían presentar alergias alimentarias al incluir nuevos alimentos en la dieta, tales como urticaria, tos, inflamación de las vías respiratorias y molestias gástricas. Si presenta alguna de estos síntomas deberá ponerse en contacto con el investigador responsable.

Existe el riesgo de contagio por COVID 19, por lo anterior los procedimientos que se realicen en forma presencial, además de observar los protocolos y procedimientos por el Comité de Crisis de la Universidad de Concepción y estar condicionados a la respectiva autorización, se realizarán bajo estricto cumplimiento de las Recomendaciones sobre aseo y desinfección de superficies ambientales para la prevención de Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) – COVID 19.

Se minimizará el riesgo del mal uso de la información privada, para ello es importante señalar que todos los datos personales obtenidos son confidenciales y la información obtenida será utilizada exclusivamente para fines científicos. Esta información será custodiada por el investigador responsable, Miquel Martorell, quien mantendrá los registros de datos en archivos pertenecientes al proyecto de investigación, y el anonimato será resguardado entregando un número correlativo a su nombre. Los resultados obtenidos de este estudio serán publicados en revistas y reuniones científicas, manteniendo en confidencialidad la identidad de los participantes.

Para cumplir el objetivo propuesto, es necesario que usted participe durante los 6 meses del estudio de manera activa y responsable, realizando todas las actividades que se detallan a continuación:

1. Visita de elegibilidad (1 h): explicación proyecto, firma consentimiento informado, realización cuestionarios elegibilidad, obtención muestra capilar, obtención muestra sanguínea venosa, medición presión arterial y mediciones antropométricas (peso, talla, circunferencia cintura y bioimpedancia eléctrica) a realizar en Laboratorio Clínico PreveGen Ltda. Si usted no cumple con algún criterio de elegibilidad quedará fuera del estudio. Si es elegido, se programará reunión virtual individualizada para realización de cuestionarios (control inicial).
2. Control inicial, 2 y 4 (meses 0, 2 y 4 del estudio, 1 h): realización de cuestionarios y educación alimentaria mediante entrevista individual virtual.
3. Sesiones grupales a los meses 1, 3 y 5 del estudio (40 min): educación alimentaria grupal virtual.
4. Durante los 6 meses del estudio usted deberá seguir los consejos de adhesión a la dieta. Si es seleccionado en el grupo experimental, usted deberá consumir 30 gramos al día de avellana chilena, la cual se entregará gratuitamente.

5. Control 6 presencial (mes 6 del estudio, 30 min): obtención de muestra sanguínea, medición de presión arterial y mediciones antropométricas (peso, talla, circunferencia cintura y bioimpedancia eléctrica) a realizar en Laboratorio Clínico PreveGen Ltda.
6. Control 6 virtual (40 min): realización de cuestionarios mediante entrevista individual virtual.

Cabe mencionar, que la participación en el estudio está exenta de compensación económica.

Los resultados estarán disponibles para usted, y para ello debe comunicarse con el investigador responsable.

A su vez destacar que su participación es completamente libre y voluntaria. Si no desea participar del presente proyecto de investigación su negativa no traerá ninguna consecuencia para usted. De la misma manera si lo estima conveniente usted puede dejar de participar en el estudio en cualquier momento de éste.

Adicionalmente, el investigador responsable Miquel Martorell, correo electrónico mmartorell@udec.cl y número de contacto +569 5763 1466, le manifiesta su voluntad en orden a aclarar cualquier duda que le surja sobre su participación en la actividad realizada. Para consultas sobre sus derechos puede contactar al Presidente Comité Ético Científico S. S. Concepción, teléfono (41) 272 2745, dirección San Martín 1436, Concepción.

VERSION C.I. 05 – NOVIEMBRE 2021

{PAGE 1* MERGEFORMAT}



CODIGO: _____

HOJA DE FIRMAS DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL ESTUDIO: Efectos de una dieta chilena suplementada con avellana chilena (*Gewina avellana*) sobre el perfil lipídico en humanos con hipercolesterolemia.

[Effects of a Chilean diet supplemented with *Gewina avellana* on lipid profile in hypercholesterolemic subjects]

ANTES DE FIRMAR, CONFIRMO QUE:

- He sido informado sobre el proyecto de intervención a desarrollar previamente a su aplicación y con la descripción necesaria para conocerlas en un nivel suficiente.
- He sido también informado en forma previa a la intervención, que los procedimientos que se realicen, no implican un costo que yo deba asumir. Junto a ello he recibido una explicación satisfactoria sobre el propósito de la actividad.
- Acepto que la información necesaria obtenida sea recopilada, utilizada y divulgada conforme a lo descrito en esta información escrita para mí y formulario de consentimiento informado.
- Acepto que las muestras queden almacenadas en un biobanco anonimizado para futuras determinaciones.
- Estoy en pleno conocimiento que la información obtenida con la actividad en la cual participaré, será absolutamente confidencial, y que no aparecerá mi nombre ni mis datos personales en libros, revistas y otros medios de difusión derivadas de la investigación ya descrita.
- Sé que la decisión de participar en esta investigación, es absolutamente libre y voluntaria. Si no deseo participar en ella o, una vez iniciada la investigación, no deseo proseguir colaborando, puedo hacerlo sin problemas. En ambos casos, se me asegura que mi negativa no implicará ninguna consecuencia negativa para mí.
- He leído el documento, entiendo las declaraciones contenidas en él y la necesidad de hacer contar mi consentimiento, para lo cual lo firmo libre y voluntariamente, recibiendo en el acto, copia de este documento ya firmado y fechado.
- Mis preguntas han sido respondidas a mi entera satisfacción y considero que comprendo toda la información proporcionada acerca del estudio.
- Sé que al firmar este documento, no renuncio a ninguno de mis derechos legales.

Nombre del participante

Firma del participante

Fecha (DD/MM/AAA)

7.2 Encuesta de caracterización biosociodemográfica



EFFECTOS DE UNA DIETA CHILENA SUPLEMENTADA CON AVELLANA
CHILENA SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO EN HUMANOS CON
HIPERCOLESTEROLEMIA

Intervención Nutricional PRODICHI

CUESTIONARIOS Y REGISTROS

Investigador responsable

Dr. Miquel Martorell Pons. Facultad de Farmacia. Universidad de Concepción
Concepción

Proyecto 11190641, FONDECYT

Noviembre 2021

Estudio PRODICI
Anexo 2.1
Encuesta de Elegibilidad



FONDECYT
Fondo Nacional de Desarrollo
Científico y Tecnológico



N° Folio:

Encuestador:

INTRUCCIONES DE LLENADO

1. Recuerde que el entrevistado debe tener carta de presentación del estudio y consentimiento informado.
2. Revisar los criterios de selección que se encuentran con asterisco. Antes de enviar a antropometría y bioimpedancia.
3. Revisar pase de movilidad.

MÓDULO 1.DATOS ENTREVISTADO

Nombres del entrevistado(a) _____ Rut _____

Apellidos _____ Fecha nacimiento _____ Edad _____

Sexo 1 Hombre 2 Mujer

Correo electrónico _____

Dirección Laboral _____

Dirección Personal _____

Comuna _____

Teléfonos 1 _____

Teléfonos 2 _____

** Le vamos a realizar una prueba cutánea de colesterol; Usted sentirá un pinchazo en uno de sus dedos y el resultado lo tendrá en unos minutos.*

Resultado > 200mg/ dL

1.Sí 2.No

MÓDULO 2 DATOS DE SALUD Y OTROS

2.1 ¿Alguna vez un doctor, una enfermera u otro profesional de la salud le ha dicho a Ud. que ha tenido, o tiene el colesterol alto?

1. Sí
 2. No
 3. No recuerdo

En el caso que su respuesta sea afirmativa.

2.2 ¿Cuándo fue la última vez que le midieron su nivel de colesterol?

1. meses
 2. Años
 3. No recuerdo

2.3* ¿Tiene usted algún implante electrónico como marcapaso? (X)

1. Sí
 2. No

2.4 Durante el último mes, ¿Ha tomado algún medicamento de los siguientes?

*Hipertensión	*Diabetes	*Dislipidemia
Amlodepino Atenolol 50mg Carvedilol 25mg Enalapril 10 y 20mg Furosemida 40mg	Gilbencamida Metformina Aspirina	Atorvastatina de 10 y 20 mg Otro

Anotar el medicamento

Medicamentos: _____

2.5* ¿Se encuentra usted embarazada?

1. Sí
 2. No

2.6 ¿Está usted amamantando?

1. Sí
 2. No

2.7 Sin considerarse usted, ¿A algún miembro de su familia directa participa de este estudio?

1. Sí
 2. No

2.8 ¿Y a cuál de ellos?

Abuelos 1 Padres 2 Hermanos 3

*2.9 ¿alguien que vive con usted en su casa y no es familiar participa de este estudio?

1. Sí
 2. No

2.10 Sin considerarse usted, ¿A algún miembro de su familia le han diagnosticado alguno de los siguientes problemas de salud o enfermedades?

2.11 ¿Y a cuál de ellos?

Enfermedades	Diagnóstico		Familiar
	Sí	NO	
a Dislipidemia	1	2	
b Hipertensión	1	2	
c Diabetes Mellitus	1	2	
d Ataque cardíaco	1	2	
f Accidente vascular	1	2	
g Cirrosis hepática	1	2	
h Insuficiencia renal	1	2	

Abuelos 1 Padres 2 Hermanos 3

Estudio PRODICI
Anexo 2.1
Encuesta de Elegibilidad



N° Folio:

Encuestador:

MÓDULO 3 Selección del participante

3.1 ¿Evita usted habitualmente comer con mucha grasa de origen animal (mantequilla, manteca, pastelería industrial)? . ¿estaría usted dispuesto a intentarlo?

Consumo de grasas saturadas	
A. Sí, lo hago desde hace MÁS de 6 meses	
B. Sí, lo hago desde hace MENOS de 6 meses	
C. No lo hago, pero lo intentaré en los próximos 30 días	
D. ? No lo hago, pero lo intentaré en los próximos 6 meses	
E. No lo hago, y no lo intentaré en los próximos 6 meses	

3.2 ¿Sigue usted una alimentación rica en fibra, es decir con abundante fruta, verdura y legumbres? En caso de no ser así, ¿estaría usted dispuesto a intentarlo?

consumo de frutas, verduras y legumbres	
A. Sí, lo hago desde hace MÁS de 6 meses	
B. Sí, lo hago desde hace MENOS de 6 meses	
C. No lo hago, pero lo intentaré en los próximos 30 días	
D. ? No lo hago, pero lo intentaré en los próximos 6 meses	
E. No lo hago, y no lo intentaré en los próximos 6 meses	

3.3 ¿Es usted alérgico a los frutos secos? Tales como avellana chilena, maní nueces o almendras?

1. Sí 2. No

3.4 ¿Consumo usted aceite de oliva? En caso de no consumirlo ¿estaría usted dispuesto a intentarlo?

Consumo de aceite de oliva	
A. Sí, lo hago desde hace MÁS de 6 meses	
B. Sí, lo hago desde hace MENOS de 6 meses	
C. No lo hago, pero lo intentaré en los próximos 30 días	
D. No lo hago, pero lo intentaré en los próximos 6 meses	
E. No lo hago, y no lo intentaré en los próximos 6 meses	

3.5 Criterios de inclusión y exclusión: Los participantes que cumplan con los criterios de elegibilidad pasan a antropometría y toma de muestras sanguíneas.

1. Sí 2. No

Motivo de exclusión

3.6 exclusión del participante	
A. No cumplir criterios de inclusión	
B. Dificultad de seguimiento del estudio o cambio de hábitos alimenticios	
C. Falta de interés de participación	

MÓDULO 4 MEDIDAS CORPORALES

DATOS PERSONALES DEL PARTICIPANTE (ingresar en el equipo de Bioimpdancia)

Nombre completo: _____ Rut _____

Fecha de nacimiento: _____ Edad: _____ años

Factor de actividad Física: _____

Nutricionista: Responsable:			Fecha evaluación:		
Antropometría		Indicadores nutricionales		Composición corporal	
Peso (Kg)		IMC(Kg/m ²)		% masa grasa	
Talla(mt)		CC(cm)		% masa muscular	
Circunferencia de cintura (cm)		Riesgo		% grasa visceral	
Evaluación Nutricional			Evaluación Nutricional		
Presión Arterial			Presión Arterial		

Fecha para próxima entrevista Nutricional: _____

Horario para entrevista: _____

Observaciones: _____

Estudio PRODICI
 Anexo 2.1
 Encuesta de Elegibilidad



FONDECYT
 Fondo Nacional de Desarrollo
 Científico y Tecnológico



N° Folio:

Encuestador:

Nutricionista: Responsable:		Fecha evaluación:	
Antropometría		Indicadores nutricionales	
Composición corporal			
Peso (Kg)	IMC(Kg/m ²)	% masa grasa	
Talla(M)	CC(cm)	% masa muscular	
Circunferencia de cintura (cm)	Riesgo	% grasa visceral	
Evaluación Nutricional		Evaluación Nutricional	
Presión Arterial		Presión Arterial	

Fecha para próxima entrevista Nutricional: _____

Horario para entrevista: _____

Observaciones: _____

Estudio PRODICI
Anexo 2.2
Encuesta de caracterización



1000201
Fondo Nacional de Desarrollo
Ciencia y Tecnología



N° Folio

Encuestador:

INTRUCCIONES DE LLENADO

1. Completar con letra impresa, legible y con lápiz pasta.
2. Revisar que todas las preguntas tengan una respuesta válida antes de finalizar la encuesta.
3. Recuerde que el entrevistado debe tener carta de presentación del estudio y consentimiento informado.
4. En cada pregunta, lea todas las alternativas de respuesta y anote la respuesta que señale el entrevistado.

DATOS ENCUESTADOR

Nombre encuestador(a) completo _____ Rut _____
 Correo electrónico _____ Teléfono _____
 Fecha de aplicación de la encuesta día mes año Hora de inicio _____
 Hora de Término _____

DATOS ENTREVISTADO

Nombres del entrevistado(a) _____ Rut _____
 Apellidos _____ Edad _____ Años _____
 Teléfono 1 _____
 Sexo 1 Hombre 2 Mujer Teléfono 2 _____
 Correo electrónico _____
 Dirección Laboral _____
 Dirección Personal _____ Comuna _____

MÓDULO1 CARACTERIZACIÓN DEL ENTREVISTADO

A continuación le voy a realizar algunas preguntas generales sobre usted y su grupo familiar.

Nota: Marcar en el recuadro el número que corresponda

1.1 ¿Cuál es su estado civil actual?	
Casado(a)	1
Conviviente	2
Divorciado(a)	3
Viudo(a)	4
Soltero(a)	3

1.2 ¿Cuántas personas viven en su hogar?	Nº de personas
Niños menores de 5 años	A
Niños mayores de 5 años	B
Adultos	C
Adultos Mayores	D

1.3 ¿Cuál fue su último nivel de estudios?	
Básica incompleta	1
Básica completa	2
Técnica superior incompleta	3
Técnica superior completa	4
Universitaria incompleta	5
Universitaria completa	6
Postgrado	7

1.4 ¿Cuál es la ocupación de los miembros de su hogar?	Nº de personas
Estudiantes sin trabajo remunerado	
Estudiantes con trabajo remunerado	
Trabajador remunerado	
Pensionado o jubilado	
Trabajo no remunerado	

Anotar total con trabajo remunerado

1.5 ¿Cuál es su sistema previsional de salud ?	
FONASA	A
FFAA y de Orden	E
ISAPRE	F

1.6 ¿Cuál es aproximadamente el ingreso mensual de su grupo familiar	
\$215.000 a \$291.999	1
\$292.000 a \$378.999	2
\$379.000 a \$473.999	3
\$474.000 a \$598.999	4
\$599.000 a \$753.999	5
\$754.000 a \$1.015.999	6
\$1.016.000 a \$1.551.999	7
\$1.552.000 o más	8
No sabe No responde	9

Estudio PRODICI
Anexo 2.2
Encuesta de caracterización



N° Folio

Encuestador:

MÓDULO 2 AUTOPERSEPCIÓN DE SALUD

2.1 En general, usted diría que su salud es

1	Excelente	5	Mala
2	Muy buena	88	No sabe
3	Buena	99	No responde
4	Regular		

2.2 En que categoría considera usted que se encuentra

1	Bajo peso	5	Mala
2	Peso normal	88	No sabe
3	Sobrepeso	99	No responde
4	Regular		

2.3 ¿cuándo fue la última vez que usted se realizó el Examen médico preventivo del Adulto

1	Este año	88	No sabe
2	Hace más de 2 años	99	No responde
3	Nunca		
4	No lo conoce		

2.4 Se cansa excesivamente o le falta el aire al realizar algunas actividades como

1	Bailar o caminar rápido durante 30 minutos		
2	Subir escaleras o caminar		
3	Ducharse, vestirse		
88	No sabe		

MÓDULO 3 EVALUACIÓN DEL ESTADO DE CAMBIO.

3.1 ¿Alguna vez usted ha realizado algún programa, tratamiento o cambio en el estilo de vida (dieta, ejercicios o bajar de peso)?

1.Sí
 2.No
 3.No recuerdo

3.2 ¿A asistido en el último año a control nutricional? **SÍ** **NO**

Si su respuesta es No

3.3 ¿Cuál es la razón principal por la cual no pudo ser controlado en el último año por un Nutricionista?

- A. No confío en los profesionales.
- B Pensé en consultar, pero no tuve dinero
- C No me dieron permiso en el trabajo.
- D Perdí la hora
- E Otra razón. Especifique

Anotar

3.4 CONTROL DE PESO

A. En el último mes, ¿ha intentado bajar de peso?	SÍ	No
B. En el último mes, ¿ha estado intentando no subir de peso?	SÍ	No
C. ¿Está considerando seriamente bajar de peso para alcanzar su meta en los 6 próximos meses?	SÍ	No
D. ¿Ha mantenido su peso deseado por más de 6 meses	SÍ	No

3.5 HÁBITOS ALIMENTARIOS

A. Conoce los efectos que tienen en su salud los hábitos alimentarios deficientes	SÍ	No
B. ¿Usted decide que alimentos consume?	SÍ	No
C. ¿Ha considerado seriamente realizar cambios favorables en sus hábitos alimentarios durante los próximos 6 meses?	SÍ	No
D. ¿Ha logrado modificar algunos hábitos alimentarios que perjudicaban su salud	SÍ	No

Si responde "no" en las preguntas A, B o C, se encuentra en estado de "precontemplación"; si contestó "sí" en la pregunta C está en estado de "contemplación". Un "sí" en la pregunta C o D significa "acción" o "mantenimiento"

3.6 Anote el estado de cambio del entrevistado:

- a) Cambio de Peso _____
- b) Hábitos Alimentarios _____



N° Folio

Encuestador:

Cuestionario de consumo de bebidas alcohólicas

"Cuestionario de autodiagnóstico sobre riesgos en el uso de alcohol" (AUDIT)

Instrucciones del llenado:

1. Revisar que todas las preguntas tengan una respuesta válida antes de finalizar la encuesta.
2. En cada pregunta, lea todas las alternativas de respuesta y anote con X la respuesta que señale el entrevistado.

DATOS DEL ENCUESTADO

Nombre encuestado _____

Sexo: 1) Hombre 2) Mujer Edad _____ años Teléfono _____

1) ¿Con qué frecuencia consume alguna bebida alcohólica?

- a) Nunca (Pase a pregunta N°9) (0 puntos)
- b) Una o menos veces al mes (1 punto)
- c) De 2 a 4 veces al mes (2 puntos)
- d) De 2 a 3 más veces a la semana (3 puntos)
- e) 4 o más veces a la semana (4 puntos)

Puntaje:

2) ¿Cuántas unidades estándar de bebidas alcohólicas suele realizar en un día de consumo normal?

- a) 1 o 2 (0 puntos)
- b) 3 o 4 (1 punto)
- c) 5 o 6 (2 puntos)
- d) De 7 a 9 (3 puntos)
- e) 10 o más (4 puntos)

Puntaje:

3) ¿Con qué frecuencia toma 6 o más bebidas alcohólicas en un solo día?

- a) Nunca (0 puntos)
- b) Menos de una vez al mes (1 punto)
- c) Mensualmente (2 puntos)
- d) Semanalmente (3 puntos)
- e) A diario o casi a diario (4 puntos)

Puntaje:

Pase a la pregunta 9 y 10 si la suma total de las preguntas 2 y 3 = 0

Estudio PRODICI
Anexo 2.4
Cuestionario AUDIT



PRODICI
Facultad de Ciencias
Químicas y Biológicas



4) ¿Con qué frecuencia en el curso del último año ha sido incapaz de parar de beber una vez que ya había empezado?

- a) Nunca (0 puntos)
- b) Menos de una vez al mes (1 punto)
- c) Mensualmente (2 puntos)
- d) Semanalmente (3 puntos)
- e) A diario o casi a diario (4 puntos)

Puntaje:

5) ¿Con qué frecuencia en el curso del último año no pudo hacer lo que se esperaba de usted porque había bebido?

- a) Nunca (0 puntos)
- b) Menos de una vez al mes (1 punto)
- c) Mensualmente (2 puntos)
- d) Semanalmente (3 puntos)
- e) A diario o casi a diario (4 puntos)

Puntaje:

6) ¿Con qué frecuencia en el curso del último año ha necesitado beber en ayunas para recuperarse después de haber bebido mucho el día anterior?

- a) Nunca (0 puntos)
- b) Menos de una vez al mes (1 punto)
- c) Mensualmente (2 puntos)
- d) Semanalmente
- e) A diario o casi a diario

Puntaje:

7) ¿Con qué frecuencia en el curso del último año ha tenido remordimientos o sentimientos de culpa después de haber bebido?

- a) Nunca (0 puntos)
- b) Menos de una vez al mes (1 punto)
- c) Mensualmente (2 puntos)
- d) Semanalmente (3 puntos)
- e) A diario o casi a diario (4 puntos)

Puntaje:

8) ¿Con qué frecuencia en el curso del último año no ha podido recordar lo que ha sucedido la noche anterior porque había estado bebiendo?

- a) Nunca (0 puntos)
- b) Menos de una vez al mes (1 punto)
- c) Mensualmente (2 puntos)
- d) Semanalmente (3 puntos)
- e) A diario o casi a diario (4 puntos)

Puntaje:

Estudio PRODICI
Anexo 2.4
Cuestionario AUDIT



FONDECYT
Fondo Nacional de Desarrollo
Científico y Tecnológico



9) ¿Usted o alguna otra persona ha resultado herido porque usted había bebido?

- a) No (0 puntos)
- b) Sí, pero no en el curso del último año (2 puntos)
- c) Sí, el último año (4 puntos)

Puntaje:

10) ¿Algún familiar, amigo, médico o profesional sanitario ha mostrado preocupación por un consumo de bebidas alcohólicas o le ha sugerido que deje de beber?

- a) No (0 puntos)
- b) Sí, pero no en el curso del último año (2 puntos)
- c) Sí, el último año (4 puntos)

Puntaje:

TOTAL:

*Unidades estandarizadas según tipo de bebidas alcohólicas

Una unidad estándar de bebida alcohólica es equivalente a:

- a) 1 botella o lata individual de cerveza (330 a 350 cc)
- b) 1 vaso de vino (aproximadamente 150 cc)
- c) 1 trago de licor solo o combinado (45 cc de licor) considere pisco, ron, whisky, vodka u otros similares.

*Embriaguez desde el punto de vista de la salud, la embriaguez ocurre cuando se presenta algún grado de inestabilidad o torpeza de movimientos por efectos del beber. Equivalente a sentirse "mareado", "algo cocido", "curado", "pasado"

VALOR DE REFERENCIA:

De 0 a 7: Orienta hacia un consumo de alcohol sin riesgos apreciables.

De 8 a 15: Orienta hacia consumo en riesgo. Es el rango en el que resulta particularmente indicada una intervención preventiva








De 16 a 19: Orienta a consumo perjudicial. Es conveniente derivar a una consulta de salud más detallada para discriminar si corresponde indicar intervención preventiva o tratamiento propiamente tal.

20 y más: Orienta fuertemente hacia la presencia de dependencia o de un beber problema con mayor severidad. Se debe informar la necesidad de un estudio más detallado y tratamiento.

En mujeres y adultos mayores de 65 años de edad, el punto de corte en 7 muestra mayor sensibilidad (0 a 6 y 7 a 15).

Estudio PRODICI
 Anexo 2.4
 Cuestionario AUDIT



		
LATA CERVEZA 1 TRAGO	SHOP PEQUEÑO 1 ½ TRAGOS	SHOP GRANDE 3 TRAGOS
		
BOTELLA CERVEZA 3 TRAGOS	COPA DE VINO (MEDIA CAÑA, JOTE) 1 TRAGO	VASO DE VINO (CAÑA) 2 TRAGOS
		
BOTELLA DE VINO 6 TRAGOS	CAJA DE VINO(TETRAPACK) 8 TRAGOS	CORTO DE LICOR (VODKA, RON, ETC) 1 TRAGO
		
COMBINADO SIMPLE 1 TRAGO	COMBINADO FUERTE 2 TRAGOS	BOTELLA DE LICOR 17 TRAGOS

Estudio PRODICHI
Anexo 2.5
Cuestionario Actividad Física



FONDECYT
Fondo Nacional de Desarrollo
Científico y Tecnológico



PreveGen
ASOCIACIÓN PREVEGEN CHILE



Universidad de Concepción



Nº Folio

Encuestador:

Nombre del encuestador: _____ Fecha: _____

Nombre del encuestado: _____ Nº de encuesta: _____

Las primeras preguntas están relacionadas con el tiempo que pasa en el trabajo, que se trate de un empleo remunerado o no (estudiar, mantener su casa, cosechar, pescar, cazar o buscar trabajo). En estas preguntas, las "actividades físicas intensas" se refieren a aquéllas que implican un esfuerzo físico importante y que causan una gran aceleración de la respiración o del ritmo cardíaco. Por otra parte, las "actividades físicas de intensidad moderada" son aquéllas que implican un esfuerzo físico moderado y causan una ligera aceleración de la respiración o del ritmo cardíaco.

Una semana normal es aquella sin grandes eventos, (típica u ordinaria), un día normal es un día de esa semana.

Mostrar tarjetas A y B.

Pregunta		Respuesta
En el trabajo		
1	¿Exige su trabajo una actividad física intensa que implica una aceleración importante de la respiración o del ritmo cardíaco, como (levantar pesos, cavar o trabajos de construcción) durante al menos 10 minutos consecutivos? Mostrar tarjeta C	Si 1 No 2 Si No saltar a la pregunta 4
2	En una semana típica, ¿cuántos días realiza usted actividades físicas intensas en su trabajo?	Número de días: _____ <input type="checkbox"/> No sabe
3	En uno de esos días en los que realiza actividades físicas intensas, ¿cuánto tiempo suele dedicar a esas actividades?	Hrs: _____ <input type="checkbox"/> No sabe Mins: _____ <input type="checkbox"/> No sabe
4	¿Exige su trabajo una actividad de intensidad moderada que implica una ligera aceleración de la respiración o del ritmo cardíaco, como caminar deprisa (o transportar pesos ligeros) durante al menos 10 minutos consecutivos? Mostrar tarjeta D	Si 1 No 2 Si No saltar a la pregunta 7
5	En una semana típica, ¿cuántos días realiza usted actividades de intensidad moderada en su trabajo?	Número de días: _____ <input type="checkbox"/> No sabe
6	En uno de esos días en los que realiza actividades físicas de intensidad moderada, ¿cuánto tiempo suele dedicar a esas actividades?	Hrs: _____ <input type="checkbox"/> No sabe Mins: _____ <input type="checkbox"/> No sabe

Para desplazarse		
En las siguientes preguntas, dejaremos de lado las actividades físicas en el trabajo, de las que ya hemos tratado. Ahora me gustaría saber cómo se desplaza de un sitio a otro. Por ejemplo, cómo va al trabajo, de compras, al mercado, al lugar de culto.		
7	¿Camina usted o usa usted una bicicleta al menos 10 minutos consecutivos en sus desplazamientos?	Sí 1 No 2 Sí No saltar a la pregunta 10
8	En una semana típica, ¿cuántos días camina o va en bicicleta al menos 10 minutos consecutivos en sus desplazamientos?	Número de días <input type="checkbox"/> No sabe
9	En un día típico, ¿cuánto tiempo pasa caminando o yendo en bicicleta para desplazarse?	Hrs: <input type="checkbox"/> No sabe Mins: <input type="checkbox"/> No sabe

En su tiempo libre		
Las preguntas que van a continuación excluyen la actividad física en el trabajo y para desplazarse, que ya hemos mencionado. Ahora me gustaría tratar de deportes, fitness u otras actividades físicas que practica en su tiempo libre.		
Pregunta		Respuesta
10	¿En su tiempo libre, practica usted deportes/fitness intensos que implican una aceleración importante de la respiración o del ritmo cardíaco como (correr, jugar al fútbol) durante al menos 10 minutos consecutivos? <i>Mostrar tarjeta E</i>	Sí 1 No 2 Sí No saltar a la pregunta 13
11	En una semana típica, ¿cuántos días practica usted deportes/fitness intensos en su tiempo libre?	Número de días <input type="checkbox"/> No sabe
12	En uno de esos días en los que practica deportes/fitness intensos, ¿cuánto tiempo suele dedicar a esas actividades?	Hrs: <input type="checkbox"/> No sabe Mins: <input type="checkbox"/> No sabe

SECCIÓN PRINCIPAL: Actividad física (en el tiempo libre) sigue		
Pregunta		Respuesta
13	¿En su tiempo libre practica usted alguna actividad de intensidad moderada que implica una ligera aceleración de la respiración o del ritmo cardíaco, como caminar deprisa, (ir en bicicleta, nadar, jugar al volleyball) durante al menos 10 minutos consecutivos? <i>Mostrar tarjeta F</i>	Sí 1 No 2 Sí No saltar a la pregunta 16
14	En una semana típica, ¿cuántos días practica usted actividades físicas de intensidad moderada en su tiempo libre?	Número de días <input type="checkbox"/> No sabe
15	En uno de esos días en los que practica actividades físicas de intensidad moderada, ¿cuánto tiempo suele dedicar a esas actividades?	Hrs: <input type="checkbox"/> No sabe Mins: <input type="checkbox"/> No sabe

Comportamiento sedentario		
<p>La siguiente pregunta se refiere al tiempo que suele pasar sentado o recostado en el trabajo, en casa, en los desplazamientos o con sus amigos. Se incluye el tiempo pasado (ante una mesa de trabajo, sentado con los amigos, viajando en autobús o en tren, jugando a las cartas o viendo la televisión), pero no se incluye el tiempo que pasa durmiendo.</p> <p>Mostrar tarjeta G</p>		
Pregunta		Respuesta
16	¿Cuánto tiempo suele pasar sentado o recostado en un día típico?	Hrs: <input type="text"/> No sabe Mins: <input type="text"/> No sabe
17	¿En el último mes practicó deporte o realizó actividad física fuera de su horario de trabajo, durante 30 minutos o más cada vez?	<input type="checkbox"/> 1. Sí, tres o más veces por semana <input type="checkbox"/> 2. Sí, una a dos veces por semana <input type="checkbox"/> 3. Sí, menos de cuatro veces en el mes <input type="checkbox"/> 4. No practicó deporte en el mes
18	De las siguientes opciones. ¿Cuál es el medio de transporte que usted más utiliza al menos una vez a la semana?	<input type="checkbox"/> 1. Conductor de Vehículo Liviano (Particular, taxi, colectivo) <input type="checkbox"/> 2. Conductor de Vehículo Pesado en Transporte Público (Micro, Bus) <input type="checkbox"/> 3. Pasajero de Vehículo Liviano (Particular, taxi, colectivo) <input type="checkbox"/> 4. Usuario de transporte público (bus, micro, metro) <input type="checkbox"/> 5. Bicicleta <input type="checkbox"/> 6. Caminata <input type="checkbox"/> 7. Otro. Especifique <input type="checkbox"/> 8. No sabe
19	¿Cómo describiría su velocidad habitual al caminar?	<input checked="" type="checkbox"/> 1. Lenta <input type="checkbox"/> 2. Normal <input type="checkbox"/> 3. Apurada <input type="checkbox"/> 4. Ninguna de las anteriores <input type="checkbox"/> 5. No sabe

Tarjeta A

Actividad física en el trabajo

Actividades de intensidad moderada



Aquellas que implican un aumento moderado de los latidos del corazón y la respiración

Ejemplos

- ✦ Limpieza (pasar la aspiradora, el trapeo, limpiar el polvo, fregar, barrer, planchar, virutillar)
- ✦ Lavar la ropa (sacudir y cepillar alfombras, escurrir la ropa a mano)
- ✦ Cuidado casero de sus plantas
- ✦ Ordeñar vacas (a mano)
- ✦ Sembrar y cosechar
- ✦ Cavar suelo seco (con picota)
- ✦ Trabajar la madera (tallar, serrar madera blanda)
- ✦ Mezclar cemento (con pala)
- ✦ Trabajar en la construcción (empujando carretillas cargadas, utilizando un martillo hidráulico)
- ✦ Caminar con peso en la cabeza
- ✦ Extraer agua de un pozo
- ✦ Atender anima

Actividades de intensidad vigorosa



Aquellas que implican un aumento importante de los latidos del corazón y la respiración

Ejemplos

- Silvicultura (cortar y transportar leña)
- Tallar madera dura
- Arar a pie.
- Cosechar cultivos.
- Trabajar de jardinero (cavando)
- Moler (con mortero)
- Trabajar en la construcción (obrero)
- Cargar objetos pesados (muebles, sacos, cocinas, frigoríficos)
- Dar clases de gimnasia aeróbica.
- Otros

Tarjeta B

Actividad física en el tiempo libre

Actividades de intensidad moderada



Aquellas que implican un aumento moderado de los latidos del corazón y la respiración

Ejemplos

- ✦ Andar en bicicleta
- ✦ Trotar lento
- ✦ Bailar
- ✦ Andar a caballo.
- ✦ Tai Chi
- ✦ Yoga
- ✦ Pilates
- ✦ Ejercicios aeróbicos lentos
- ✦ Subir carros caminando lento
- ✦ Jugar tenis de a 4 ("un doble")
- ✦ Ejercicios para sacar músculos o pesas

Actividades de intensidad vigorosa



Aquellas que implican un aumento importante de los latidos del corazón y la respiración

Ejemplos

- ✦ Fútbol
- ✦ Correr o trotar rápido
- ✦ Tenis
- ✦ Ejercicios aeróbicos rápidos
- ✦ Ejercicios aeróbicos en el agua
- ✦ Ballet
- ✦ Natación
- ✦ Practicar artes marciales (karate, yudo u otro)
- ✦ Bailar en forma intensa (ritmo rápido)

Tarjeta C

Actividad
física
intensa
durante el
trabajo



Actividad
física
moderada
durante el
trabajo





Tarjeta D





ANTECEDENTES PERSONALES							
NOMBRE:							
SEXO (X)	MASCULINO			FEMENINO			
RUT:		FECHA NACIMIENTO:		EDAD:			
DOMICILIO:							
REGISTRO ACTIVIDAD							
Fecha:		Hora:		Realizada:	SI	NO	
Observaciones:							
FOLIO Asignado:							

ANTECEDENTES PERSONALES							
NOMBRE:							
SEXO (X)	MASCULINO			FEMENINO			
RUT:		FECHA NACIMIENTO:		EDAD:			
DOMICILIO:							
REGISTRO ACTIVIDAD							
Fecha:		Hora:		Realizada:	SI	NO	
Observaciones:							
FOLIO Asignado:							

ANTECEDENTES PERSONALES							
NOMBRE:							
SEXO (X)	MASCULINO			FEMENINO			
RUT:		FECHA NACIMIENTO:		EDAD:			
DOMICILIO:							
REGISTRO ACTIVIDAD							
Fecha:		Hora:		Realizada:	SI	NO	
Observaciones:							
FOLIO Asignado:							

Estudio PRODICI
Anexo 2.7
Cuestionario de adherencia
a la dieta chilena



Universidad de Concepción



	Preguntas	Puntuación	Puntaje
1	¿Usa usted el aceite de oliva como principal grasa para cocinar?	Sí = 1 punto	
2	¿Cuánto aceite de oliva consume en total al día (incluyendo el usado para freír, comidas fuera de casa, ensaladas, etc.)?	4 o más cucharadas = 1 punto	
3	¿Cuántas raciones de verduras consume al día? (las verduras de acompañamientos = 1/2 ración) 1 ración = 200g.	2 o más (al menos una de ellas en ensalada o crudas) = 1 punto	
4	¿Cuántas porciones fruta (incluyendo zumo natural) consume al día?	3 o más al día = 1 punto	
5	¿Cuántas porciones de carnes rojas, hamburguesas, salchichas, vienasas o embutidos consume al día? (ración: 100 - 150 g)	menos de 1 al día = 1 punto	
6	¿Cuántas raciones de mantequilla, margarina o crema consume al día? (porción individual: 12 g)	menos de 1 al día = 1 punto	
7	¿Cuántas bebidas carbonatadas y/o azucaradas (refrescos, colas, tónicas, consume al día?	menos de 1 al día = 1 punto	
8	¿Bebe usted vino? ¿Cuánto consume a la semana?	7 o más vasos a la semana = 1 punto	
9	¿Cuántas raciones de legumbres consume a la semana? (1 plato o ración de 150 g)	3 o más a la semana = 1 punto	
10	¿Cuántas raciones de pescado-mariscos consume a la semana? (1 plato plato o ración: 100 - 150 de pescado o 4-5 piezas o 200 g de marisco)	3 o más a la semana = 1 punto	
11	¿Cuántas veces consume repostería comercial (no casera) como galletas, flanes, dulce o pasteles a la semana?	menos de 2 a la semana = 1 punto	
12	¿Cuántas veces consume frutos secos a la semana? (ración 30 g)	3 o más a la semana = 1 punto	
13	¿Consume usted preferentemente carne de pollo, pavo en vez de vacuno, cerdo, hamburguesas o salchichas? (carne de pollo: 1 pieza o ración de 100 - 150 g)	Sí = 1 punto	
14	¿Cuántas veces a la semana consume los vegetales cocinados, los fideos, arroz u otros platos aderezados con salsa de tomate, ajo, cebolla o puerro elaborada a fuego lento con aceite de oliva (sofrito)?	2 o más a la semana = 1 punto	
		PUNTUACIÓN TOTAL	

Estudio PRODICI
Anexo 2.8
Cuestionario adherencia
a la dieta baja en grasa



PRODICI
Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico



Universidad de Concepción



Nº	Preguntas	Puntuación	Puntaje
1	¿Cuántas cucharadas de aceite toma al día, incluyendo el usado para freír, cocinar, aliñar y en comidas fuera de casa? (1 cucharada: 10 ml)	2 o menos = 1 punto	
2	¿Retira la grasa visible o la piel de las carnes de pollo, cerdo, cordero o vacuno, antes de prepararlos?	Sí = 1 punto	
3	¿Cuántas raciones de carnes grasas (lomo vetado, costillas de cerdos, carne de cerdo, etc.), hamburguesas o carnes picadas comerciales, vísceras, precocinados, salchichas o embutidos consume a la semana? (ración de carne: 100 g; ración de embutidos: 30 g)	1 o menos = 1 punto	
4	¿Cuántas raciones de mantequilla, margarina, manteca, mayonesas, helados cremosos o crema de leche consume a la semana? (ración grasa untar: 12 g; helado: 100g)	1 o menos = 1 punto	
5	¿Consume sólo lácteos desnatados?	Sí = 1 punto (id. si no toma lácteos)	
6	¿Cocina los arroces, pastas, patatas o legumbres si salchichas, longaniza, ni tocino, ni carnes grasas como costillas de cerdo o cordero?	2 o menos por semana = 1 punto	
7	• ¿Cuántas veces a la semana consume pescados como sardina, salmón, caballa, jurel, o marisco enlatado en aceite?	1 o menos = 1 punto	
8	¿Cuántas raciones de: galletas, dulces o pasteles consume a la semana? (1 ración de pastelería: 80 g; 6 galletas: 40g)	1 o menos = 1 punto	
9	¿Cuántas veces a la semana toma frutos secos, patatas chips u otros aperitivos fritos?	1 o menos = 1 punto	
PUNTUACION TOTAL			

7.3 Manejo de residuos

Los residuos serán dispuestos a MATPEL siguiendo los protocolos del plan de manejo de sustancias y residuos peligrosos.