

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/307930472>

# Studies of a standardized extract of Maqui fruit rich in delphinidins in the maintenance of glucose balance

Article · January 2012

CITATIONS

0

READS

650

9 authors, including:



**Luis Quiñones**

University of Chile

107 PUBLICATIONS 1,138 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



**Juan L Hancke**

Universidad Austral de Chile

81 PUBLICATIONS 1,966 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



**Rafael Burgos**

Universidad Austral de Chile

86 PUBLICATIONS 1,824 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Project

Study of the relative bioavailability of a multisource formulation of sulfamethoxazole regarding the drug reference [View project](#)



Project

Redes Temáticas “Red latinoamericana de implementación y validación de guías clínicas farmacogenómicas (RELIVAF)”. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) P218RT0120. [View project](#)

**ARTÍCULO ORIGINAL**

**ESTUDIO DE UN EXTRACTO ESTANDARIZADO DE MAQUI RICO EN DELFINIDINAS EN EL  
MANTENIMIENTO DEL BALANCE DE GLUCOSA.**

(Studies of a standardized extract of Maqui fruit rich in delphinidins in the maintenance of  
glucose balance)

**Evelyn Jara<sup>1</sup>, Ph.D, Jorge Hidalgo<sup>1</sup>, M.D., Carlos Flores<sup>2</sup>, Ph.D, Moisés Pérez<sup>3</sup> B.Q., Alejandro  
Yáñez<sup>3</sup>, Ph.D, Angélica Hidalgo<sup>1</sup>, Ph.D, Luis Quiñones<sup>4</sup>, Ph.D, Juan Luis Hancke<sup>1</sup>, Ph.D, Rafael  
Burgos<sup>1</sup>, M.V., M.Sc**

<sup>1</sup> Instituto de Farmacología y Morfofisiología, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. <sup>2</sup> Centro de Estudios Científicos (CECS), Avenida Arturo Prat 514, Valdivia 5110466, Chile. <sup>3</sup> Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. <sup>4</sup> CQF, Centro de Investigaciones Farmacológicas y Toxicológicas ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

**RESUMEN**

*Las antocianinas son polifenoles con actividad antioxidante, a las cuales se les ha atribuido una serie de actividades biológicas beneficiosas para la salud humana, las cuales incluyen prevención o reducción del riesgo de enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus (DM), artritis y cáncer. En este trabajo se muestra que un extracto estandarizado de Maqui rico en delfinidinas, disminuye los niveles basales de glucosa sanguínea después de 4 meses de tratamiento en un modelo de ratas diabéticas inducido por inyección de estreptozotocina (STZ). Igualmente, este extracto fue capaz de aumentar la sensibilidad a glucosa cuando fue sometido a evaluación en una prueba de tolerancia a la glucosa en ratas diabéticas. Además, en un estudio piloto fase I, el extracto rico en delfinidinas disminuyó la glucosa postprandial y la insulina en pacientes con tolerancia a la glucosa alterada, modificando la forma de las curvas de insulina y glucosa, sugiriendo su uso potencial para pacientes prediabéticos, así como en enfermedades asociadas al metabolismo de carbohidratos. Finalmente, delfinidina, la principal molécula presente en el extracto estandarizado de Maqui, inhibió el transporte de glucosa dependiente de sodio (Na<sup>+</sup>), lo cual explicaría en parte la disminución de la concentración de glucosa sanguínea en ratas diabéticas inducidas con STZ y en pacientes prediabéticos.*

**Palabras Claves:** Antocianinas, Diabetes Mellitus, Test de Tolerancia a la Glucosa.

Publicado por la Sociedad de Farmacología de Chile

**INTRODUCCIÓN**

La investigación sobre la composición y actividad biológica de frutas y vegetales ha establecido que la ingesta de éstas posee un gran impacto sobre la salud humana, bienestar y la prevención de varias enfermedades [1]. Estas últimas incluyen enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y otras asociadas con envejecimiento, obesidad y ciertos tipos de cáncer, como esofágico y digestivo [2]. Aunque muchas frutas y vegetales contienen micro y macro nutrientes que incluyen vitaminas,

minerales, folato y fibra, sus propiedades biológicas son principalmente debido al alto contenido de polifenoles presentes en ellas. Éstos, están constituidos por flavonoides (antocianinas, flavonoles y flavonoides), taninas condensadas (proantocianidinas), taninas hidrolizables (elagitaninos y galotanninos) y ácidos fenólicos [3]. Dentro de los polifenoles, son las antocianinas las cuales han demostrado poderosos efectos antioxidantes, anticarcinogénicos y antiinflamatorios [4–7].

**Correspondencia a:** Dra. Evelyn Jara, Laboratorio de Farmacología Molecular, Instituto de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, P.O. Box 567, Valdivia, Chile. Correo Electrónico: [jaraevelyn@gmail.com](mailto:jaraevelyn@gmail.com) **Abreviaciones:** Estreptozotocina (STZ), Diabetes Mellitus (DM), Test de Tolerancia Oral a la Glucosa (OGTT)

Los compuestos fenólicos presentes en berries son bien conocidos por su capacidad antioxidante [8]. De hecho, éstos pueden regular la actividad de enzimas que metabolizan y modulan receptores nucleares, expresión génica y vías de señalización, así como la reparación del daño oxidativo del DNA [8,9]. Aunque las acciones de los berries han sido estudiadas *in vitro*, sus polifenoles son pobremente absorbidos [10,11]. Sin embargo, éstos pueden ser metabolizados y convertidos por la microflora del colon en otras moléculas relacionadas que pueden persistir *in vivo* y acumularse en los tejidos, contribuyendo entonces a los diferentes efectos biológicos antes mencionados [12].

*Aristotelia chilensis* es una planta cuyo fruto es considerado un potente antioxidante natural [13]. *A. chilensis* se ubica geográficamente desde la IV a la XI región, hasta los 2.500 m.s.n.m., también en el archipiélago de Juan Fernández y Argentina. Habita en lugares con suelo rico en materia orgánica, siendo una especie colonizadora de lugares abiertos. Muchas veces forma comunidades puras las que reciben el nombre de macales. *A. chilensis* pertenece a la familia Elaeocarpaceae y es comúnmente conocida como “maqui,” “clon,” “queldron,” y “koelon. Esta fruta contiene más pulpa que otras bayas de esta región, y su sabor es descrito como astringente pero fresco. Tanto las hojas, como los frutos comestibles de *A. chilensis* se han utilizado para el tratamiento de diversas dolencias como dolor de garganta, úlceras, fiebre, hemorroides, inflamación, diarrea, lesiones, migrañas y para la cura de cicatrices [14, 15, 16]. Los araucanos fabricaban chicha del jugo fermentado, el cual también era utilizado como elemento colorante para dar tinte a vinos. Durante los últimos años, se han realizado algunas investigaciones del fruto encontrándose en el jugo o la fracción fenólica propiedades antioxidantes, pudiendo ser útil como anti-aterogénico [13]. Las antocianinas presentes en el fruto de maqui constituyen el 0.2% y han sido asociadas a una gran capacidad antioxidante. En el fruto han sido reconocidos ocho pigmentos correspondientes a 3-glucósidos, 3,5-diglucósidos, 3-sambubiósidos y 3-sambubiósido-5-glucósidos de delfinidina y cianidina, siendo la principal antocianina delfinidina 3-sambubiósido-5-glucósido (34% de antocianinas totales). El promedio total de contenido de antocianinas es 137.6 +/- 0.4mg/100g de fruta fresca (211.9 +/- 0.6 mg/100g de fruta seca) [17].

El jugo de maqui puede inhibir la oxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDL) y proteger a las células endoteliales contra el estrés oxidativo intracelular, siendo considerado útil como anti-aterogénico [13]. Extractos metabólicos de los frutos de maqui, han mostrado un efecto protector preventivo en estudios *in vivo* de isquemia/reperfusión en corazón de ratas, que se atribuye a la reducción de la oxidación lipídica y estrés oxidativo

[18]. Recientemente, la administración oral de antocianinas y delfinidina 3-sambubiósido-5-glucósido, redujeron de manera dosis dependiente los niveles de glucosa sanguínea en ayunas en un modelo de ratones obesos C57BL/6J, y disminuyó la producción de glucosa en células de hígado de rata. El compuesto puro también fue capaz de incrementar la captación de glucosa en miotubos L6 [19].

En el presente artículo, describimos el efecto de un extracto estandarizado de Maqui, conteniendo un 25% de delfinidinas totales en el mantenimiento del balance de glucosa en un modelo de ratas diabéticas y pacientes prediabéticos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Extracto de Maqui

El extracto de Maqui (*Aristotelia chilensis*) fue fabricado y proporcionado por Indena SpA, Italia. El extracto fue estandarizado a un mínimo de 35% de antocianinas totales y un 25% de delfinidinas totales. Delfinidina (>98%) fue obtenida desde Extrasynthase (Lyon, France).

### 2. Estudios en animales

#### 2.1 Inducción de diabetes por inyección de STZ:

La diabetes fue inducida mediante una inyección única de STZ (Calbiochem, Darmstadt, Germany) disuelta en tampón citrato (pH 4.5) en una dosis de 55 mg/kg en *Rattus norvegicus* machos (250-300 grs). Los animales controles normales (CN, n = 5) fueron mantenidos en ayunas durante la noche e inyectados con tampón citrato como vehículo. Los animales diabéticos fueron divididos en dos grupos. El Grupo I (n=5) fue analizado 16 semanas después de la inducción de diabetes. El Grupo II fue estudiado después de 16 semanas de inducida la diabetes y luego de la administración de 20 mg/kg (n=5) de extracto de Maqui. Todos los animales fueron alimentados con dieta estándar de laboratorio y agua *ad libitum*. Los animales fueron proporcionados por la Pontificia Universidad Católica de Chile y fueron mantenidos en un ciclo de 12 horas luz-oscuridad a 22 °C.

#### 2.2. Test de Tolerancia a la Glucosa:

El Test de Tolerancia Oral a la Glucosa (OGTT) fue realizado 30 minutos después del tratamiento con extracto de Maqui en ratas controles normales y en ratas diabéticas inducidas por inyección de STZ. La glucosa (2,0 g/kg de peso corporal) fue administrada vía inyección intraperitoneal después de 12 hrs de ayuno. La glucosa sanguínea fue determinada a los 0, 30, 60, 120 y 240 minutos después del cambio de la concentración de glucosa utilizando el método enzimático de glucosa oxidasa (Wiener lab) a 490 nm.

### 3. Estudios en humanos

Se utilizó un estudio aleatorio, doble ciego, controlado con placebo, que fue aprobado por el Comité de Ética Científica del Servicio de Salud Metropolitano Occidente, Ministerio de Salud de Chile, incluyendo un seguro médico para los pacientes en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile, Profesor José Joaquín Aguirre; Hospital San Juan de Dios. El estudio fue realizado en el Centro de Investigaciones Farmacológicas y Toxicológicas (IFT), de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile ([www.ift.cl](http://www.ift.cl)). Todos los pacientes participantes del estudio firmaron un consentimiento informado. Ninguno de ellos fue informado de su código de grupo asignado. Los médicos participantes del estudio no manejaron los productos y no conocieron el tratamiento asignado a cada paciente. Dos sobres conteniendo cada tratamiento por paciente fueron asignados: uno de ellos fue almacenado en caso de emergencia por el Centro de Investigaciones Farmacológicas y Toxicológicas, y otro por el Investigador principal. Los dos sobres permanecieron sellados hasta el día del análisis de los datos.

#### 3.1. Intervención y Procedimientos:

Se reclutaron 12 pacientes voluntarios sanos que fueron divididos en 2 grupos, con edades entre 18 y 55 años, que no recibieran ninguna terapia farmacológica aguda ni crónica, un índice de masa corporal (IMC) inferior a 30 Kg/m<sup>2</sup>, con glucosa plasmática en ayunas < 110 mg/dL y un Test de Tolerancia a la Glucosa alterado (110 a 125 mg/dL), registrado luego de 120 minutos tras la administración de 75 gramos de carbohidratos (cocinados con arroz grado 1) [20-24].

Los pacientes con antecedentes de drogas y/o abuso de alcohol y fumadores (más de 3 cigarros cada 7 días) fueron excluidos del estudio. También fueron excluidos del estudio los pacientes que tomaban suplementos vitamínicos 7 días antes de la administración de los productos de prueba, aquellos pacientes con un cambio reciente en sus hábitos alimenticios o de ejercicio, con terapia farmacológica crónica o medicamentos que afectaran la actividad enzimática hepática 28 días antes al inicio del estudio, pacientes con alergia a algún medicamento, con Diabetes Mellitus o hospitalizados durante los últimos 60 días o con arritmia o cualquier insuficiencia renal crónica (creatinina sanguínea > 1,5 mg/dL). Además, fueron excluidos del estudio pacientes con alergia al maní y almendras o con cualquier otra enfermedad crónica o limitante, incluyendo alcoholismo o con cualquier otra enfermedad o condición que el médico considerara en que el voluntario no cumplía con las condiciones para participar en el ensayo.

Los pacientes cumplieron los criterios de inclusión y fueron divididos aleatoriamente en el grupo tratado con extracto de Maqui o placebo. La apariencia del producto de prueba

y el placebo fueron idénticos, siendo imposible su reconocimiento visual o a través de su aroma. El éxito del ensayo doble ciego fue validado antes de comenzar con el estudio en un grupo de 10 voluntarios. Al finalizar el tratamiento, se realizó una encuesta sencilla preguntando a los participantes del estudio si reconocían haber recibido el producto de prueba o el placebo.

En cada sesión, los pacientes recibieron un vaso de agua (250 mL) conteniendo el placebo o 200 mg del producto disueltos en agua como dosis única después de un período de 12 h de ayuno. Posteriormente, los pacientes fueron cruzados en un segundo período y recibieron el producto contrario. Cada vez, los grupos tratados con el producto y el placebo recibieron una comida 30 minutos antes de su administración (definida como una cantidad fija de 75 g de arroz blanco grado 1 cocido, preparado por un nutricionista). El estudio fue conducido durante 4 semanas. El período de lavado/intervalo de tiempo entre las diferentes administraciones fue de 6 días (Sesión 1 = Placebo; Sesión 2 = 200 mg extracto de Maqui). Los tratamientos y procedimientos empleados en los pacientes estuvieron en conformidad con los acuerdos internacionales [25] y las buenas prácticas clínicas [26].

En cada sesión se obtuvieron muestras sanguíneas. La primera muestra fue tomada como línea base, 10 minutos antes (tiempo -10) del tratamiento con extracto de Maqui o placebo (tiempo 0); la segunda muestra fue tomada 15 minutos después de la ingesta del producto (tiempo +15). La comida fue servida 30 minutos después de la administración de extracto de Maqui o placebo. La tercera muestra sanguínea fue obtenida en el mismo momento (tiempo +30). A continuación, las muestras de sangre fueron tomadas consecutivamente a los tiempos, +60, +90, +120 y +180 minutos después de la administración del producto o placebo. La glucosa sanguínea fue medida en plasma por el método enzimático de GOD-PAP. Mientras tanto, la insulina fue medida por inmunoensayo (MEIA, Abbott). Las reacciones adversas fueron evaluadas por un médico y todas las observaciones fueron registradas durante el tratamiento, las cuales fueron clasificadas como pocas, moderadas o graves en un formulario asignado para cada paciente con su estado general de salud.

#### 4. Manejo de ratones y aislamiento de tejidos

Los ratones C57Bl/6J fueron obtenidos desde Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA). Los ratones fueron mantenidos en el Centro Libre de Patógenos para ratones del Centro de Estudios Científicos (CECS), Valdivia, Chile. Previo a los experimentos, los ratones tuvieron libre acceso al agua y comida. Los animales fueron sacrificados por dislocación cervical de acuerdo a las regulaciones de IACUC. El yeyuno fue separado, abierto longitudinalmente

a lo largo del borde mesentérico y lavado con tampón fosfato salino (PBS).

**4.1. Absorción electrogénica de D-glucosa en yeyuno de ratón:** Se montaron dos secciones de yeyuno de ratón en Cámaras de Ussing, los cuales fueron mantenidos en tampón Ussing NaCl, 120 mM; NaHCO<sub>3</sub>, 25 mM; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,8 mM; MgCl<sub>2</sub>, 1,2 mM; CaCl<sub>2</sub>, 1,2 mM) suplementado con 10 mM de D-glucosa en el lado seroso. La temperatura fue mantenida a 37°C y la solución fue constantemente gaseada con CO<sub>2</sub> al 5%. Una vez que la preparación entregó un registro estable de los parámetros eléctricos, se agregó 10 mM de D-glucosa al lado apical de la preparación para estimular el transporte de D-glucosa acoplado a sodio (SGLT-1). El efecto de delfinidina sobre el transporte de glucosa acoplado a sodio fue determinado por la aplicación de esta molécula a una concentración de 50 µM en el lado mucoso de la preparación. La diferencia de potencial eléctrico transepitelial (V<sub>m</sub>) fue registrada utilizando un amplificador VCC MC2 (Physiological Instruments). Los valores de corriente de cortocircuito (I<sub>sc</sub>) y resistencia transepitelial (R<sub>te</sub>) fueron calculados a partir de los datos experimentales utilizando la ley de Ohm [27]. Los resultados fueron expresados como la intensidad de I<sub>sc</sub> (µA/cm<sup>2</sup>).

## 5. Estadística

Para establecer las diferencias entre los parámetros plasmáticos de cada aplicado a los voluntarios, se realizó un test de varianza multifactorial (ANOVA) con una significancia estadística de P ≤ 0,05. Los parámetros de variación considerados en el estudio fueron: producto administrado, período de administración, secuencia y efecto residual. El protocolo siguió las recomendaciones y guía de la FDA, para el diseño y análisis estadístico del estudio.

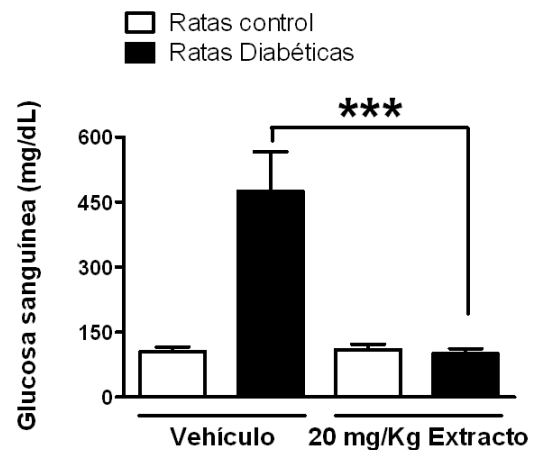
## RESULTADOS

### Extracto de maqui disminuye la hiperglicemia basal en ratas diabéticas después de 4 meses de tratamiento.

Recientemente, la atención se ha centrado en los constituyentes de la dieta que pueden ser beneficiosos para la prevención y el tratamiento de la diabetes. Aunque hay algunos fármacos que han sido utilizados como regímenes terapéuticos para las enfermedades metabólicas relacionadas a la obesidad, hay poca evidencia de que los factores alimenticios propios puedan ser directamente beneficiosos para modular la sensibilidad a la insulina [28].

Nosotros observamos, que el extracto de Maqui rico en delfinidinas disminuyó significativamente la concentración basal de glucosa sanguínea en ratas diabéticas inducidas por inyección de STZ con respecto al grupo de animales control después de 4 meses de tratamiento con una concentración de extracto de Maqui de 20 mg/kg (Figura 1). La concentración basal de glucosa disminuyó aproximadamente 4 veces entre el grupo de ratas control (100,25 ± 11,6 mg/dL) y el grupo de ratas diabéticas (475 ± 91,3 mg/dL). Por otra parte, las ratas del grupo control tratadas con extracto de Maqui no presentaron cambios en la concentración de glucosa sanguínea (Figura 1).

Figura 1. Extracto de Maqui disminuye la hiperglicemia basal en ratas diabéticas.



Ratas diabéticas inducidas con STZ fueron tratadas con 20 mg/Kg de extracto de Maqui durante 4 meses y la concentración de glucosa en suero fue determinada mediante el método de glucosa oxidada. Los resultados son el promedio ± E.E., n = 5. \*P < 0.001.

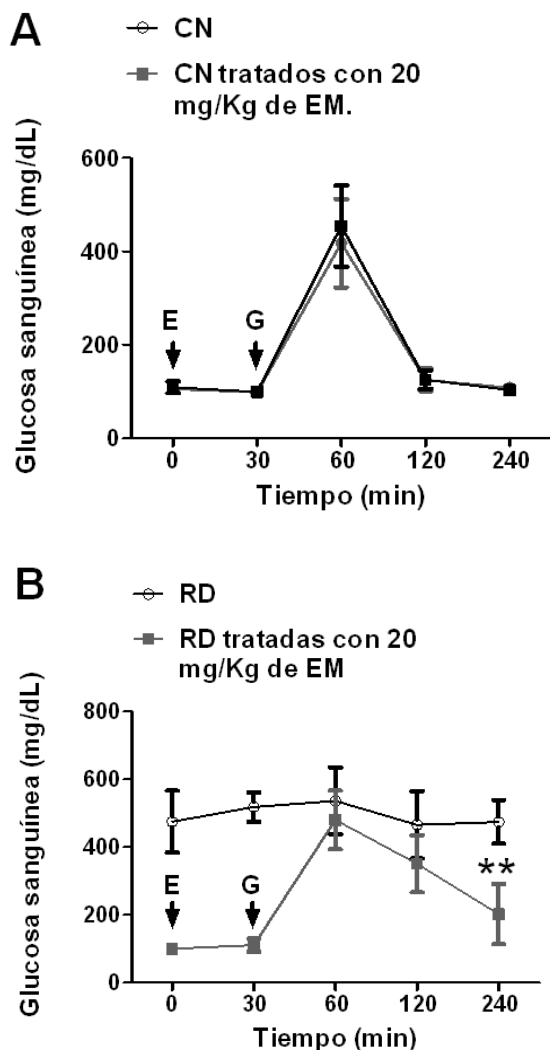
Se realizó un Test de Tolerancia a la Glucosa, en el cual el extracto de Maqui fue administrado 30 minutos antes de la carga de glucosa (2,0 g/kg de peso corporal). En primer lugar, no se observaron cambios en la concentración de glucosa sanguínea de ratas control normales tratadas con 20 mg/Kg de extracto de Maqui luego de la administración de glucosa por medio de inyección intraperitoneal (Figura 2A). Sin embargo, se pudo observar en ratas diabéticas tratadas con 20 mg/Kg de extracto de Maqui una disminución de los niveles de glucosa basales (Figura 2B).

Los resultados del Test de Tolerancia a la Glucosa mostraron claramente que el extracto de Maqui es capaz de aliviar la resistencia a la insulina en el grupo de ratas diabéticas. La disminución de la glucosa en sangre fue significativamente mayor en el grupo de ratas diabéticas tratadas con el extracto de Maqui a los 240 minutos luego de la administración de glucosa vía intraperitoneal (Figura

2B). Por otra parte, el peso corporal de las ratas diabéticas tratadas con el extracto de Maqui no varió con respecto al grupo control, durante 16 semanas de tratamiento (Tabla 1). Adicionalmente, los niveles de triglicéridos en ratas diabéticas tratadas con extracto de Maqui se mantuvieron sin cambios con respecto al grupo control diabético (datos no mostrados).

Los resultados obtenidos demuestran que el extracto de Maqui es capaz de reducir la hiperglicemia basal y mejorar la capacidad de metabolizar la glucosa en ratas con diabetes tipo 2. En este sentido, se ha descrito que un alto consumo de frutas y hortalizas, principalmente antocianinas están asociados con una reducción en la incidencia de este tipo de diabetes [29].

Figura 2. Efecto del extracto de Maqui (EM) sobre los niveles de glucosa postprandial en ratas control normales y ratas diabéticas. Test de Tolerancia a la Glucosa.



(A). Niveles de glucosa sanguínea en ratas controles normal (CN) y en ratas control normales tratadas con vehículo o con 20 mg/Kg de extracto de Maqui, respectivamente. (B) Niveles de glucosa en ratas diabéticas (RD) y en ratas diabéticas tratadas con vehículo o con 20 mg/Kg de extracto de Maqui, respectivamente. Los resultados son el promedio  $\pm$  E.E.,  $n = 5$ .  $**P < 0.01$ . E and G indican la administración de extracto y glucosa, respectivamente.

Tabla 1. Peso corporal en ratas diabéticas tratadas con vehículo o extracto de Maqui por 4 meses.

Semana	Ratas diabéticas	
	Control	Extracto de Maqui
0	260,0 $\pm$ 20,1	284,2 $\pm$ 15,9
1	321,8 $\pm$ 14,7	321,6 $\pm$ 13,3
2	339,8 $\pm$ 17,7	331,2 $\pm$ 17,0
4	371,4 $\pm$ 15,8	384,2 $\pm$ 25,7
8	360,8 $\pm$ 14,2	408,4 $\pm$ 33,1
12	424,8 $\pm$ 48,5	436,0 $\pm$ 37,1
16	396,8 $\pm$ 56,0	421,2 $\pm$ 34,1

Los valores son el promedio  $\pm$  E.E.,  $n = 5$

El extracto de Maqui modifica la forma de las curvas de glucosa e insulina.

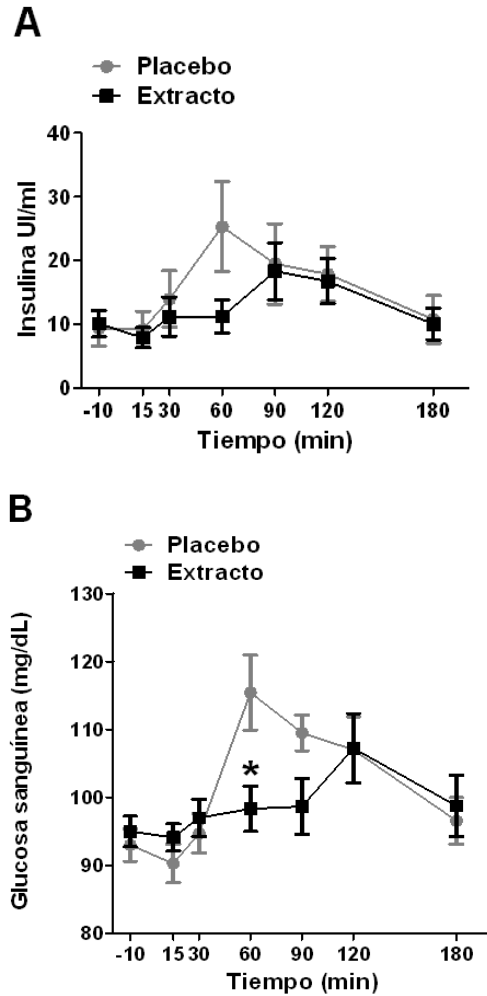
El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de una administración oral única de extracto Maqui sobre los niveles postprandiales de glucosa e insulina en individuos con intolerancia a la glucosa.

Es conocido que pacientes con intolerancia a la glucosa poseen doble riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 y asociado a eventos cardiovasculares [30]. Por lo tanto, las medidas o tratamientos que apunten a reducir la incidencia de la diabetes y los eventos clínicos en estos pacientes son de suma relevancia.

Los resultados obtenidos muestran que la administración única del extracto de Maqui conduce a alteraciones en la forma de las curvas de insulina (Figura 3A) y de glucosa (Figura 3B). Sin embargo, la comparación estadística entre el área bajo la curva del extracto de Maqui y placebo no mostró diferencias estadísticamente significativas en las determinaciones de insulina (ANOVA). A pesar de esto, los pacientes que recibieron 200 mg de extracto redujeron significativamente la glucosa postprandial después de 30 minutos de la administración de una comida, en comparación con aquellos pacientes que solo recibieron placebo (Figura 3B). Fue posible también observar, que los resultados cinéticos muestran un retardo en el tiempo en el que se alcanza el máximo en la concentración de insulina y glucosa en los pacientes tratados con extracto de Maqui

(Figura 3A), lo cual correlaciona con una disminución tardía en los niveles de glucosa (Figura 3B).

Figura 3. Efecto del extracto de Maqui sobre las concentraciones de insulina y glucosa postprandiales en pacientes con intolerancia a la glucosa. Test de Tolerancia a la Glucosa.



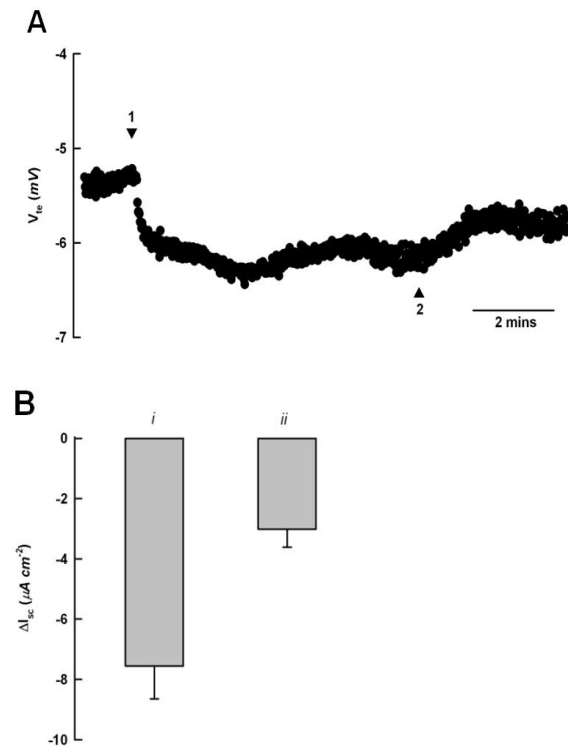
En cada tiempo, ambos grupos placebo y extracto, recibieron 30 minutos antes una comida (definida y fijada en 75 g de arroz grado 1 cocinados). La glucosa plasmática pre-prandial fue medida en el tiempo base (-10 minutos) y las concentraciones postprandiales (al final de 180 minutos) fueron calculadas usando el Test de Tolerancia de Glucosa Estándar. Las muestras sanguíneas fueron obtenidas en cada sesión. Los resultados son el promedio  $\pm$  E.E., n = 8. \* P < 0.05, con respecto al placebo.

### Delfinidina inhibe el transporte de glucosa dependiente de sodio.

En intestino, la entrada de glucosa puede involucrar al cotransportador de Na<sup>+</sup>/glucosa, SGLT-1, o al

transportador facilitativo de hexosas, GLUT2 [31]. En este trabajo, se utilizaron las mediciones en Cámaras de Ussing para caracterizar el efecto de delfinidina sobre el transporte activo de glucosa intestinal (SGLT-1). Los yeyunos de ratones fueron montados en las cámaras, hasta que éstos alcanzaron un estado estacionario. A continuación, se adicionó glucosa a una concentración de 10 mM en el lado mucoso, induciendo un aumento en la I<sub>sc</sub> (máximo después de 3 minutos), representando un incremento en la actividad de SGLT-1. Cuando delfinidina fue agregada al baño por el lado mucoso, se produjo una marcada inhibición de la I<sub>sc</sub> (Figura 4A), inhibiendo el transporte de glucosa en aproximadamente 60% (Figura 4B).

Figura 4. Delfinidina inhibe el transporte de D-glucosa acoplado a sodio en yeyuno de ratón.



A) Registro de voltaje transepitelial (V<sub>te</sub>) de una pieza de yeyuno de ratón montado en Cámara de Ussing. En 1 se indica el momento en que la concentración de D-glucosa en el lado mucoso es aumentada de 0 a 10 mM. La deflexión negativa de V<sub>te</sub> refleja el transporte electrogénico de D-glucosa acoplado a sodio, donde los cationes que acompañan al monosacárido alcanzan el lado seroso al ser transportados activamente por la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa. En 2 se indica el momento en que se adiciona delfinidina 50  $\mu M$  en el lado mucoso. B) Resumen de las corrientes de cortocircuito (I<sub>sc</sub>) para los experimentos ejemplificados en A. Delfinidina produce una disminución cercana al 40% (ii: corriente sensible a delfinidina) de la corriente de sodio inducida por D-glucosa 10 mM (i). Los valores son el promedio  $\pm$  E.E., n=4 de diferentes animales.

## DISCUSIÓN

DM es el trastorno endocrino más común, siendo un problema importante de salud en todo el mundo. Este grupo de enfermedades metabólicas se caracterizan por hiperglicemia, resultante de defectos en la secreción y/o acción de insulina. La hiperglicemia crónica se asocia con daño a largo plazo, disfunción e insuficiencia de varios órganos, especialmente los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos. Así, el estricto control del nivel de glucosa en sangre se considera esencial para retrasar y/o prevenir el desarrollo de complicaciones de la diabetes [32]. Basándose en los datos presentados en este estudio, el tratamiento con el extracto de Maqui rico en delfinidinas, produjo una reducción significativa de la concentración basal de glucosa en suero en ratas diabéticas después de 4 meses de tratamiento (\*P<0,001). Igualmente, los resultados del Test de Tolerancia a la Glucosa mostraron que este extracto es capaz de disminuir los niveles de glucosa en sangre en ratas diabéticas. Los niveles de glucosa sanguínea normales fueron reestablecidos a los 240 minutos después de la administración de glucosa vía intraperitoneal.

La diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad se encuentran fuertemente asociadas [33]. Recientemente, se ha mostrado que las antocianinas podrían afectar el desarrollo de la obesidad, al menos en algunos modelos animales [34,35]. En este trabajo, nosotros no observamos ningún tipo de protección contra la obesidad en ratas diabéticas inducidas por inyección con STZ.

En este estudio, hemos demostrado que el extracto de Maqui rico en delfinidinas redujo significativamente la glucosa en sangre en pacientes con intolerancia a la glucosa. Los resultados muestran una diferencia estadísticamente significativa en los niveles de glucosa postprandial a los 60 minutos y diferencia en la distribución de las curvas promedios e individuales de insulina y glucosa, sugiriendo un efecto significativamente potencial del tratamiento con extracto de Maqui. Sin embargo, esto solo puede ser corroborado con un número mayor de pacientes con intolerancia a la glucosa, o bien en un estudio que involucre a pacientes con enfermedades más severas relacionadas al metabolismo de los carbohidratos, como diabetes mellitus o síndrome metabólico. Notablemente, ninguno de los voluntarios que participaron en el estudio mostró reacciones adversas al tratamiento. Solo un paciente informó de reacciones leves, tanto para el extracto de Maqui como para el placebo, sugiriendo que el extracto Maqui es seguro en la dosis a la cual fue administrado. Finalmente, se demostró que delfinidina pura, inhibió el transporte de glucosa (SGLT-1) en la mucosa de yeyuno de ratón. En el intestino, los enterocitos de la membrana de ribete en cepillo (BBM) son el sitio primario de la absorción de los azúcares de la dieta. El cotransportador de Na<sup>+</sup>/glucosa SGLT-1, transporta glucosa y galactosa desde el lumen del intestino hacia los

enterocitos [36]. SGLT-1 es parte funcional del sistema periférico que censa glucosa exógena para mantener la homeostasis energética [37]. La actividad de SGLT-1 es altamente regulada por algunos péptidos y hormonas en la membrana de la mucosa o serosa [38,39, 40]. La regulación de SGLT-1 involucra un mecanismo postprandial, seguido por un rápido ajuste de la abundancia de la proteína en BBM y reclutamiento del transportador de glucosa GLUT2, lo cual depende de los niveles de azúcar luminales [37]. La actividad de SGLT-1 y GLUT2 se encuentra incrementada en diabetes tipo 2 [41,42], probablemente como resultado de su desregulación. Los resultados presentados en este trabajo muestran que el extracto de Maqui rico en delfinidinas posee un efecto potencial en el mantenimiento del balance de glucosa en pacientes prediabéticos.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Indena, SpA, Italia por el extracto estandarizado de Maqui, y a Maqui New Life, S.A. por los fondos para investigación entregados a la Universidad Austral de Chile.

## BIBLIOGRAFÍA:

- [1] Zafra-Stone S, Yasmin T, Bagchi M, Chatterjee A, Vinson JA, Bagchi D. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Mol Nutr Food Res*. 2007; 51(6):675–83.
- [2] Seeram NP. Berry fruits: Compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. *J Agric Food Chem*. 2008; 56(3):627–629.
- [3] Seeram NP. Bioactive polyphenols from foods and dietary supplements: challenges and opportunities. In *Herbs: Challenges in Chemistry and Biology*; ACS Symposium Series 925 (Herbs); Ho, C. T., Wang, M., Sang, S., Eds.; Oxford University Press: New York, 2006; Chapter 3, pp 25–38.
- [4] Seeram NP, Zhang Y, Nair MG. Inhibition of proliferation of human cancer cell lines and cyclooxygenase enzymes by anthocyanidins and catechins. *Nutr Cancer* 2003; 46:101–106.
- [5] Seeram NP, Nair MG. Inhibition of lipid peroxidation and structure-activity-related studies of the dietary constituents, anthocyanins, anthocyanidins and catechins. *J Agric Food Chem*. 2002; 50:5308–5312.
- [6] Seeram NP, Momin RA, Bourquin LD, Nair MG. Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant cyanidin glycosides from cherries and berries. *Phytomedicine*. 2001; 8:362–369.
- [7] Ferreira D, Gross GG, Kolodziej H, Yoshida T. Tannins and related polyphenols: fascinating natural products with diverse implications for biological systems ecology, industrial applications and health protection. *Phytochemistry*. 2005; 66:1969–1971.
- [8] Seeram NP, Heber D. Impact of berry phytochemicals on human health: Effects beyond antioxidation. In *Lipid Oxidation and Antioxidants: Chemistry, Methodologies and Health Effects*; ACS Symposium Series 956; Ho, C. T., Shahidi, F. S., Eds.; Oxford University Press: New York, 2006; Chapter 21.



- [9] Seeram NP. Berries. In *Nutritional Oncology*, 2nd ed.; Heber, D., Blackburn, G., Go, V.L.W., Milner, J., Eds.; Academic Press: London, U.K., 2006; Chapter 37, pp 615-625.
- [10] Keppeler K, Humpf HU. Metabolism of anthocyanins and their phenolic degradation products by the intestinal microflora. *Bioorg Med Chem*. 2005; 13: 5195-5205.
- [11] Talavera S, Felgines C, Texier O, Besson C, Lamaison JL, Remesy C. Anthocyanins are efficiently absorbed from the stomach in anesthetized rats. *J Nutr*. 2003; 133: 4178-4182.
- [12] Pandey K.B. and Rizvi S.I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2009; 2(5):270-278.
- [13] Miranda-Rottmann S, Aspíllaga AA, Pérez DD, Vasquez L, Martínez ALF, Leighton F.(2002). Juice and phenolic fractions of the berry *Aristotelia chilensis* inhibit LDL oxidation in vitro and protect human endothelial cells against oxidative stress. *J Agric Food Chem*. Vol., 50:7542-7547.
- [14] Bhakuni DS, Silva M, Matlin SA, Sammes PG. (1976). Aristoteline and aristotellone, unusual indole alkaloids from *Aristotelia chilensis*. *Phytochemistry*. Vol., 15:574-575.
- [15] Hoffmann AE. (1991). *Flora Silvestre de Chile: Zona Araucana*. Fundación Claudio Gay, Santiago, p. 94.
- [16] Silva M, Bittner M, Céspedes CL, Jakupovic J(1997).The alkaloids of the genus *Aristotelia*. *Bol Soc Chil Quim*. Vol., 42:39-40.
- [17] Escribano-Bailon MT, Alcalde-Eon C, Munoz O, Rivas-Gonzalo JC, Santos-Buelga C. 2006. Anthocyanins in berries of Maqui (*Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz). *Phytochem Anal*. 17: 8 - 14.
- [18] Céspedes CL, El-Hafidi M, Pavon N, Alarcon, J. 2008. Antioxidant and cardioprotective activities of phenolic extracts from fruits of Chilean blackberry *Aristotelia chilensis* (Elaeocarpaceae), Maqui. *Food Chem* 107: 820-829.
- [19] Rojo L.E, Ribnicky D, Logendra S, Poulev A, Rojas-Silva P, Kuhn P, Dorn R, Grace M.H, Lila M.A, Raskin I. In vitro and in vivo anti-diabetic effects of anthocyanins from Maqui Berry (*Aristotelia chilensis*). *Food Chem*. 2012; 131(2):387-396.
- [20] Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 1997; 20:1183-97.
- [21] Gabir MM, Hanson RL, Dabelea D, Imperatore G, Roumain J, Bennett PH, Knowler WC. The 1997. American Diabetes Association and 1999 World Health Organization criteria for hyperglycemia in the diagnosis and prediction of diabetes. *Diabetes Care*. 2000; 23: 1108-12.
- [22] López Stewart G. Nueva clasificación y criterios diagnósticos de la diabetes mellitus. *Rev Méd Chile*. 1998; 126(7):833-837.
- [23] World health organization. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications: Report of a WHO Consultation. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Geneva: World Health Org. 1999.
- [24] Von Eckardstein A, Schulte H, Assmann G. Risk for diabetes mellitus in middle-aged Caucasian male participants of the PROCAM study: implications for the definition of impaired fasting glucose by the American Diabetes Association. *Prospective Cardiovascular Munster. J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85: 3101-8.
- [25] World Medical Association (WMA). Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. Adopted by the 18th WMA General Assembly, Helsinki, Finland, June; 1964.
- [26] European Medicines Agency: ICH harmonised tripartite guideline; Guideline for good clinical practice E6(R1). 2002.
- [27] Flores CA, Cid LP, Sepulveda FV. Strain-dependent differences in electrogenic secretion of electrolytes across mouse colon epithelium. *Exp Physiol*. 2010; 95: 686-698.
- [28] Takikawa M, Inoue S, Horio F, and Tsuda T. Dietary Anthocyanin-Rich Bilberry Extract Ameliorates Hyperglycemia and Insulin Sensitivity via Activation of AMP-Activated Protein Kinase in Diabetic Mice. *J Nutr*. 2010; 140(3):527-33.
- [29] Landrault N, Poucheret P, Azay J, Krosniak M, Gasc F, Jenin C, Cros G, Teissedre PL. Effect of a polyphenols enriched chardonnay white wine in diabetic rats. *J Agric Food Chem*. 2003; 51: 311-8.
- [30] Janssen PG, Gorter KJ, Stolk RP, Rutten GE. Screen detected subjects with type 2 diabetes and impaired glucose tolerance have more adverse cardiovascular risk than subjects with impaired fasting glucose especially when they are obese: the ADDITION Netherlands study. *Prim Care Diabetes*. 2007; 2:69-74.
- [31] Kellett GL, Brot-Laroche E, Mace OJ, Leturque. Sugar absorption in the intestine: the role of GLUT2. *Annu Rev Nutr*. 2008; 28:35-54.
- [32] Yki-Järvinen H. Glucose toxicity. *Endocr Rev*. 1992; 13:415-431.
- [33] Fagot-Campagna A, Balkau B, Simon D, Warnet JM, Claude JR, Ducimetre P. et al. High free fatty acid concentration: an independent risk factor for hypertension in the Paris Prospective Study. *Int J Epidemiol*. 1998; 27:808-813.
- [34] Tsuda T, Horio F, Uchida K, Aoki H, Osawa, T. Dietary cyanidin 3-O-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *J Nutr*. 2003; 133(7),2125-2130.
- [35] Jayaprakasam B, Olson LK, Schutzki RE, Tai MH, Nair MG. Amelioration of obesity and glucose intolerance in highfat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in cornelian cherry (*Cornus mas*). *J Agric Food Chem*. 2006; 54:243-248.
- [36] Ducroc R, Guilmeau S, Akasbi K, Devaud H, Buysse M, Bado A. Luminal leptin induces rapid inhibition of active intestinal absorption of glucose mediated by sodium-glucose cotransporter 1. *Diabetes*. 2005; 54:348-354.
- [37] Inigo C, Patel N, Kellett GL, Barber A, Lostao MP. Luminal leptin inhibits intestinal sugar absorption in vivo. *Acta Physiol (Oxf)* 2007; 190:303-310.
- [38] Hardin JA, Wong JK, Cheeseman CI, Gall DG. Effect of luminal epidermal growth factor on enterocyte glucose and proline transport. *Am J Physiol*. 1996; 271: G509-G515.
- [39] Wong TP, Debnam ES, Leung PS. Involvement of an enterocyte renin angiotensin system in the local control of SGLT1-dependent glucose uptake across the rat small intestinal brush border membrane. *J Physiol*. 2007; 584:613-623.
- [40] Yamauchi J, Kawai Y, Yamada M, Uchikawa R, Tegoshi T, Arizono N. Altered expression of goblet cell- and mucin glycosylation-related genes in the intestinal epithelium during infection with the nematode *Nippostrongylus brasiliensis* in rat. *APMIS*. 2008; 114:270-278.
- [41] Kellett GL, Helliwell PA. The diffusive component of intestinal glucose absorption is mediated by the glucose-induced recruitment of GLUT2 to the brush-border membrane. *Biochem J*. 2000; 350:155-162.
- [42] Kushiyaama A, Shojima N, Ogihara T, Inukai K, Sakoda H, Fujishiro M, Fukushima Y, Anai M, Ono H, Horike N, Viana AY, Uchijima Y, Nishiyama K, Shimozawa T, Fujita T, Katagiri H, Oka Y, Kurihara H, Asano T. Resistin-like molecule activates MAPKs, suppresses insulin signaling in hepatocytes, and induces diabetes, hyperlipidemia, and fatty liver in transgenic mice on a high fat diet. *J Biol Chem*. 2005; 280:42016-42025.