

PERSPECTIVAS EN NUTRICIÓN HUMANA
ISSN 0124-4108

Escuela de Nutrición y Dietética, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia
Vol. 17, N° 1, enero-junio de 2015, p. 11-19

Artículo recibido: 19 de febrero de 2014

Aprobado: 24 de mayo de 2015

María del Carmen Menéndez¹; Elisa Eugenia Córdoba^{1,2,3}; Marina Contardi¹;
Alba Mabel Güerci^{1,2,3}

Resumen

Antecedentes: numerosos estudios han analizado la capacidad antioxidante de los arándanos. Considerando la citotoxicidad de las radiaciones ionizantes, mediada por radicales libres, es imperativo el análisis de fitocompuestos con efecto mitigante potencial. **Objetivo:** evaluar las propiedades radio-protectoras de los arándanos, en relación con el daño genético inducido por rayos X. **Materiales y métodos:** el diseño experimental tuvo dos etapas: primero se ejecutó ensayo *in vitro* con diez muestras de sangre periférica de mujeres jóvenes no fumadoras. Cada muestra fue analizada mediante Ensayo Cometa en el siguiente grupo de tratamientos: control negativo, tratamiento con arándanos (0,232 mg/mL), irradiación con 4 Gy y tratamiento simultáneo arándanos/irradiación. Se contabilizaron 800 células/individuo, 200 por tratamiento, considerando su repetición. Posteriormente, se realizó ensayo *in vivo* con sangre periférica de dos mujeres, de condiciones similares a las anteriores, sometidas al consumo de extracto seco de arándanos durante 15 días consecutivos. El muestreo se realizó antes y después del tratamiento y se implementó el Cometa analizando 800 células/individuo, correspondientes al control negativo e irradiación con 4 Gy. **Resultados:** en ambas etapas, el tratamiento con arándanos demostró una reducción significativa ($p < 0,01$) del daño genómico referido a las muestras irradiadas. **Conclusiones:** la suplementación

1 Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

2 Red CIO. Centros Integrados de Oncología. La Plata. 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

3 IGEVET- ONICET. (CCT-La Plata). 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina.
albaquerci@yahoo.com.ar

Como citar este artículo: Menéndez MC, Córdoba EE, Contardi M, Güerci AM. Evaluación de los arándanos como radioprotectores potenciales. *Perspect Nutr Humana*. 2015;17: 11-19.

DOI:10.17533/udea.penh.v17n1a02

Arándanos como radioprotectores

dietaria con arándanos podría disminuir los efectos secundarios de la radioterapia, optimizando la calidad de vida del paciente oncológico.

Palabras clave: arándanos, *Vaccinium corymbosum* L., radiación ionizante, rayos X-efectos adversos, agentes protectores, ensayo cometa.

Evaluation of blueberries as potential radioprotectors

Abstract

Introduction: Numerous studies have analyzed the antioxidant capacity of blueberries. Considering the ionizing radiation cytotoxicity mediated by free radicals is imperative phytochemicals analysis with potential mitigating effect. **Objective:** To evaluate radio-protective properties of this fruit in relation to genetic damage induced by x-rays. **Materials and methods:** Experimental design had two stages. First an *in vitro* assay using 10 samples of peripheral blood of young and nonsmokers female. Each sample was analyzed by comet assay in the next set of treatments: negative control, treatment with blueberries (0,232 mg / mL), irradiation 4Gy and simultaneous blueberry/ irradiation treatment. Were counted 800 cells/individual, 200 per treatment, considering its repetition. Subsequently, an *in vivo* assay with peripheral blood of two women, of similar conditions and subject to the consumption of dried extract of blueberries for 15 consecutive days was performed. Sampling was performed before and after treatment and Comet was implemented by analyzing 800 cells / individual, corresponding to the negative control and irradiation with 4 Gy. **Results:** In both stages, treatment with blueberries showed a significant reduction ($p < 0.01$) of genomic damage relative to irradiated samples. **Conclusions:** Dietary supplementation with blueberries may decrease the side effects of radiation therapy, optimizing the quality of life of cancer patients.

Key words: blueberry plant, *Vaccinium corymbosum* L., radiation, antioxidants, protective agents, X-rays- adverse effects, comet assay.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han logrado importantes avances en el ámbito de la oncología y sus terapias alternativas. Sin embargo, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer sigue siendo una de las principales causas de muerte en el mundo. Durante el 2012 las personas que murieron por esta enfermedad ascienden a 8,2 millones y se proyecta un aumento significativo de los casos anuales para las próximas dos décadas (1). Cerca del 30% de estas defunciones se relacionan a factores de riesgo relacionados con la dieta

o ciertas conductas, tales como: índice de masa corporal elevado, ingesta reducida de frutas y verduras, falta de actividad física, consumo de tabaco y alcohol (1-2). Considerando la calidad de estos factores, se entiende su alto impacto en cánceres asociados al tracto digestivo, como hígado, estómago, colon, así como la gran importancia en la identificación de productos naturales, preventivos o terapéuticos, para la disminución del riesgo, incidencia y manejo de la enfermedad.

En la actualidad, se asume cada vez más la idea del efecto protector del consumo de fru-

tos ricos en compuestos bioactivos para la salud y se han identificado componentes con un gran potencial en la prevención de determinados desórdenes. Bajo este contexto, la composición y capacidad antioxidante de los arándanos, respaldan su papel en la reducción de la inflamación y del estrés oxidativo, procesos altamente vinculados no solo al desarrollo del cáncer, sino también a las consecuencias de las terapias asociadas al mismo. De esta manera, tanto este fruto, como sus compuestos en formulaciones farmacológicas, se han ido incorporando en la dieta a través de diferentes suplementos dietarios (3-6).

La caracterización bioquímica de los arándanos evidencia una amplia variedad de fenoles, particularmente antocianinas, responsables de su color y a las que se les atribuye la capacidad antioxidante, debido a que son excelentes portadores de electrones o hidrógeno (7). Son el grupo más importante de pigmentos solubles en agua (8) y corresponden a la familia de los flavonoides, metabolitos secundarios de los vegetales. Desde el punto de vista celular las antocianinas son hidrofílicas y, por ende, capaces de atravesar la membrana plasmática por difusión pasiva (9). Son blancos atractivos como compuestos dietéticos, con buen impacto funcional, tanto a nivel tisular como orgánico. Así, un número limitado de estudios *in vitro* e *in vivo* han proporcionado evidencia que apoya a los arándanos como agentes quimiopreventivos para una amplia variedad de cánceres (10-15).

Si bien estos compuestos presentan un potencial antioxidante, determinado en sistemas libres de células y en cultivos celulares (9), dirigidos hacia la reducción del proceso carcinogénico, el propósito del presente estudio fue destacar su eventual función como radioprotectores, dado que los mecanismos indirectos de la radiación ionizante se constituyen prioritariamente mediante la acción de radicales libres. Estas especies producen daño en diferentes niveles celulares, atacando cons-

tituyentes de la membrana plasmática (lípidos y proteínas) e induciendo lesiones en el ADN.

Se considera oportuno evaluar la capacidad de neutralización de especies reactivas genotóxicas que podrían presentar diferentes fitoquímicos, en tanto hay pocos estudios en humanos en los que se hayan investigado los efectos de arándanos en la prevención del daño oxidativo al ADN (2). Consecuentemente, el objetivo de este trabajo fue evaluar su rol radioprotector en linfocitos periféricos humanos, irradiados con dosis terapéuticas de rayos X, por medio del ensayo de electroforesis en células aisladas o Ensayo Cometa.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo fue llevado a cabo en dos etapas:

Diseño *in vitro*. Este fue realizado en diez individuos, respetando los siguientes criterios de inclusión: sexo femenino, rango etario de 22 a 35 años de edad, no fumadoras y potencialmente sanas. La edad promedio del grupo fue de 27,7 años y todos los individuos presentaron condición de normo-nutrición, evaluada mediante el índice de masa corporal (IMC), cuyo valor medio fue de 22,8 kg/m². A cada persona se le extrajeron 5 mL de sangre periférica en tubos heparinizados. De manera inmediata se procedió al fraccionamiento de la muestra en 4 tubos eppendorff: Control (1000 µL), tratamiento con arándanos (800 µL), irradiación con 4 Gy (1000 µL) y finalmente tratamiento simultáneo de arándanos con irradiación (800 µL). Respetando este diseño, se procedió a añadir la solución de arándanos en los tubos respectivos (200 µL a cada uno). Este tratamiento se llevó a cabo a 37 °C durante dos horas en estufa gaseada.

Preparación de la solución de trabajo

La solución de trabajo fue obtenida a partir de cápsulas de extracto seco de arándano, fruto de *Va-*

Arándanos como radioprotectores

ccinium macrocarpon (I.U.400, Laboratorio Fortbenton, Buenos Aires, Argentina). Se disolvieron 0,058 g de la droga en agua, alcanzando un volumen final de 50 mL. Los cálculos de concentración final se remitieron a datos bibliográficos consultados (16). 200 μ L de esta solución fueron adicionados a los tubos respectivos alcanzando una concentración final de 0,032 mg/mL. La solución se filtró en campana de flujo laminar, trabajando con material estéril.

Tratamiento radiante

El procedimiento de irradiación fue realizado utilizando un acelerador lineal Varian Clinac® de energía nominal de 4 MV. Las muestras correspondientes fueron dispuestas en un soporte e incluidas dentro de un fantoma con agua. Se impartió una dosis de 4 Gy de fotones en isocentro, utilizando un tamaño de campo 10 X.

Ensayo cometa

De manera inmediata al tratamiento y simultánea en todos los grupos de tratamiento se implementó la versión alcalina del Ensayo Cometa, con el objetivo de determinar el grado del daño mutagénico a nivel citomolecular en linfocitos de sangre periférica. Esta versión permite detectar rupturas radioinducidas en el ADN, tanto de doble como de simple hebra. Su sensibilidad y especificidad la posicionan preferencialmente como ensayo de genotoxicidad (17). La electroforesis fue realizada a 4 °C, 25 V y 250 mA durante 20 minutos. Los cometas fueron analizados a 400 X utilizando un microscopio

de fluorescencia Olympus BX40® (Shinjuku, Tokio, Japón) equipado con filtros de excitación de 515-560 nm. La determinación del grado de daño fue realizada de acuerdo con la extensión de la cola del cometa en cinco categorías: desde 0 (cola no visible) a 4 (cola con máxima expresión del daño) (Figura 1). El nivel de daño fue categorizado como leve (cometas de grado 1 y 2) y severo (cometas de grado 3, 4 y apoptóticos) (Figura 1). El daño genético fue medido de acuerdo con el parámetro específico de la técnica Índice de Daño (ID), calculado como: $ID = \sum P_{GD} \times GD$, en el cual GD es el grado de daño (desde 0 a 4) medido de acuerdo con la Figura 1 y P es el porcentaje de células que muestran ese daño. Para 100 células este parámetro varía entre 0 a 400 unidades arbitrarias (18).

Por cada tratamiento se realizó una entrada y dos repeticiones, resueltas en tres corridas electroforéticas independientes. Se evaluaron 200 linfocitos por tratamiento, por individuo.

Diseño *in vivo*. En esta segunda instancia, se consideraron investigaciones recientes que mencionan que los hallazgos en cultivos celulares son difíciles de extrapolar a condiciones *in vivo* e indican la necesidad de confirmar estos hallazgos en estudios en animales o clínicos (2). De esta manera, se desarrolló un diseño de tratamiento *in vivo* en dos individuos del mismo sexo, edad (28 años, similar a la media del estudio *in vitro*), hábitos alimenticios, estatus socio-económico y sin tabaquismo ni historia genotóxica previa. Los mismos se sometieron de manera simultánea al consumo

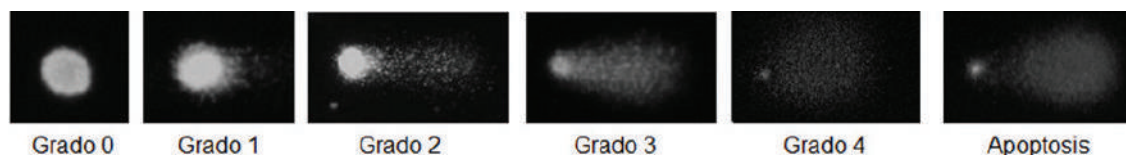


Figura 1. Escala visual de asignación de grado de daño a los cometas. Aumento: 400 X

de cápsulas de extracto seco de arándano de 400 mg (utilizadas en la primera etapa) durante 15 días consecutivos y respetando el mismo horario (una toma diaria) y ritmo circadiano. La toma de muestras (5 mL de sangre periférica) se efectuó al inicio y final del tratamiento. Se implementó el Ensayo Cometa, de la manera antes descrita, y se analizaron 800 linfocitos por individuo correspondientes al control negativo y al tratamiento radiante con 4 Gy en las dos instancias analizadas. El número de linfocitos analizados incluye el grupo de tratamiento y su réplica correspondiente.

Análisis estadístico

Para ambas etapas los datos obtenidos fueron promediados y evaluados a través del Test de χ^2 , mediante Excel (Microsoft Office), considerando un grado de libertad y un nivel de significancia de 0,01.

Consideraciones éticas

El diseño experimental fue realizado luego de obtener el consentimiento informado de manera oral y escrita de cada uno de los participantes, cumplien-

do el principio básico de respeto por el individuo de la Declaración de Helsinki (artículo 8), y de acuerdo con los artículos 20, 21 y 22 del mismo documento.

RESULTADOS

Primera etapa. Diseño *in vitro*

El tratamiento radiante realizado en estas condiciones induce principalmente lesiones de grado severo. Por otra parte, el tratamiento solo con arándanos no presenta diferencias significativas con respecto a los controles negativos, descartando así su participación en la inducción de lesiones en el tratamiento combinado. Considerando la cantidad de células dañadas, se observa que el efecto genotóxico de la radiación presenta una disminución significativa respecto a la incorporación de arándanos ($\chi^2 = 45,3$; $p < 0,001$). En relación, el ID (Figura 2) indica que el daño se reduce notablemente para las muestras irradiadas con tratamiento de arándanos. La relación del daño entre las muestras irradiadas y las irradiadas con solución de arándanos es 1,9.

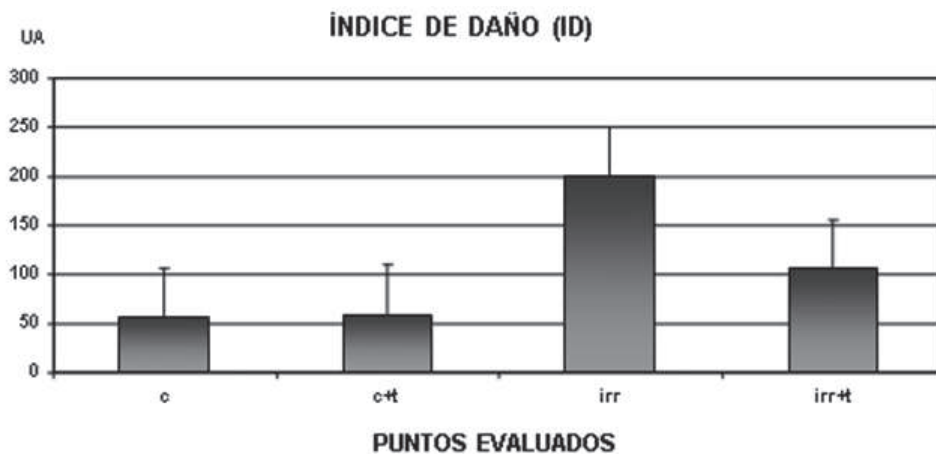


Figura 2. Daño genotóxico evaluado a través del parámetro. Índice de daño (ID) en linfocitos de sangre periférica, según el tratamiento realizado: c: control; c+t: tratamiento con arándanos; irr: irradiación con 4 Gy; irr+t: irradiación con 4 Gy más tratamiento con arándanos. Expresados en valores promedios más-menos desviación estándar

Arándanos como radioprotectores

La estimación de la eficacia de los arándanos se realizó a través de la clasificación de las lesiones inducidas (Figura 3). Se evidencia que el tratamiento con 4 Gy de rayos X incrementó principalmente la frecuencia del daño severo en la mayoría de los individuos analizados. Sin embargo, se muestra un descenso significativo a la tercera parte del daño severo en las muestras irradiadas tratadas con arándanos ($\chi^2 = 9,7$; $p < 0,01$).

El análisis de la variación de la calidad de las lesiones en cada punto experimental (Figura 4) demuestra que los cometas sin daño alcanzan su mayor valor en el control y en el tratamiento con arándanos. Cuando la muestra es sometida a radiación ionizante, el porcentaje disminuye pero se recupera en las muestras irradiadas y sometidas al efecto de arándanos. Las muestras irradiadas presentan mayoritariamente cometas de grado 2 y en menor proporción grado 4. Por último, se observa que tanto los cometas de grado 4 como las células que atraviesan necrosis presentan una disminución importante en relación con las muestras

irradiadas, luego de ser sometidas al tratamiento con arándanos.

La evidencia experimental obtenida a partir de los tratamientos *in vitro* demostró que el daño severo (cometas de grado 3 y 4) disminuye entre un 30 y 40% en las muestras irradiadas y tratadas con arándanos. Esta tendencia se manifiesta en la mayoría de los individuos analizados.

Segunda etapa. Diseño *in vivo*

El grupo de tratamientos *in vivo* repitió la tendencia de los resultados precedentes. La eficacia del tratamiento con arándanos se refleja en la disminución del daño genotóxico inducido por radiaciones ($\chi^2 = 85,7$; $p < 0,01$), como así también en la mejora del estatus basal de los controles, atribuible al efecto antioxidante ($\chi^2 = 21,4$; $p < 0,001$).

En la Tabla se muestran los resultados analizados según la presencia de daño, y la calidad del mismo. En relación con el tratamiento radiante, se puede observar que como consecuencia de la exposición

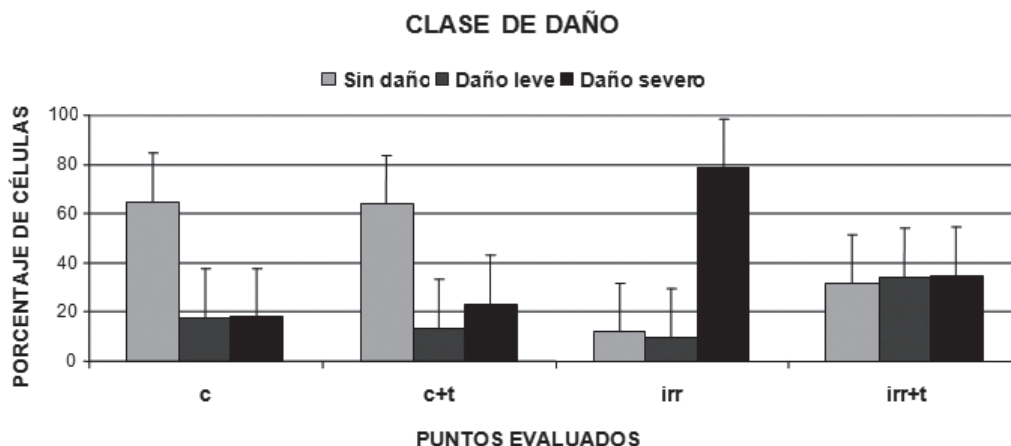


Figura 3. Porcentaje de la categoría de daño genotóxico, en linfocitos de sangre periférica, según el tratamiento realizado: c: control; c + t: tratamiento con arándanos; irr: irradiación con 4 Gy; irr + t: irradiación con 4 Gy más tratamiento con arándanos. Expresados en valores promedios más menos desviación estándar. Significancia estadística $\chi^2 = 9,7$; $p < 0,01$

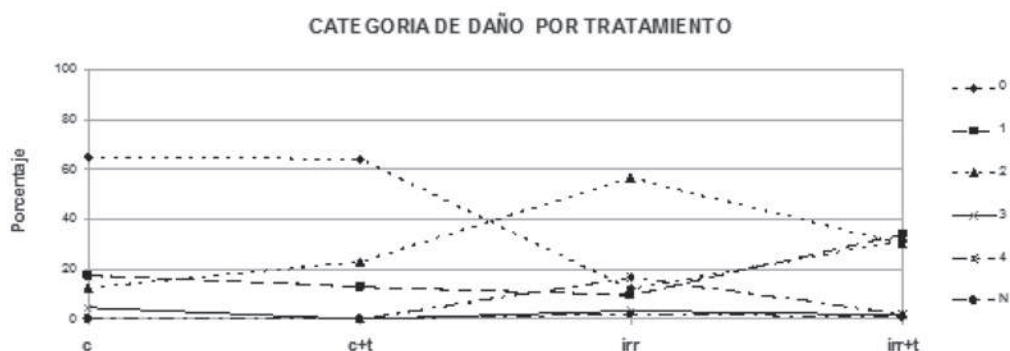


Figura 4. Porcentaje de los grados de cometa, de linfocitos provenientes de sangre periférica, sometidos a los distintos tratamientos: c: control; c+t: tratamiento con arándanos; irr: irradiación con 4 Gy; irr+t: irradiación con 4 Gy más tratamiento con arándanos

Tabla. Análisis citomolecular

| Tratamiento | % Células sin daño | % Células con daño | % Daño leve | % Daño severo |
|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------|------------------|
| Control (n=200) | 54,0 | 46,0 | 100,0 | 0 |
| Control + Tratamiento (n=200) | 84,3 | 15,7 | 92,1 | 7,8 |
| Irradiado (n=200) | 0 | 100,0 | 75,0 | 25,0 |
| Irradiado + Tratamiento (n=200) | 60,0 | 40,0 | 93,4 | 6,6 |

Datos promedio del tratamiento *in vivo* (significancia estadística $\chi^2= 21,5$; $p< 0,01$).

Para cada individuo el total de células hace referencia al tratamiento analizado y su réplica correspondiente

a arándanos el daño severo baja significativamente ($\chi^2 = 21,5$; $p<0,01$), en el orden de 3,8 veces. La efectividad del tratamiento se puede visualizar entonces en la notable reducción de la calidad de las lesiones, cuantificada en la disminución del parámetro ID y porcentaje de daño genotóxico.

Con respecto al análisis de los puntos de control, el grado de daño se mantuvo dentro del rango esperado, se puede sugerir entonces que el tratamiento con arándanos, previo a la irradiación con dosis terapéuticas, mantiene la tendencia observada en linfocitos periféricos humanos.

DISCUSIÓN

Una amplia evidencia aportada por estudios preclínicos, modelos *in vitro* y un número limitado de estudios *in vivo* sustenta el potencial de arándanos como agentes quimiopreventivos de una amplia variedad de cánceres (10-14). No obstante, hay pocos estudios clínicos en humanos que hayan investigado los efectos de estos frutos en la prevención del daño oxidativo del ADN como producto de la irradiación con rayos X. De esta manera, se reconoce la necesidad de estudios que permitan establecer el grado en que el consumo

Arándanos como radioprotectores

de arándanos, mediante sus componentes bioactivos, actúe como alimento funcional, no solo para la reducción de varios tipos de cáncer sino también de los efectos tóxicos de sus terapias. Dentro de este marco, los arándanos y sus constituyentes han demostrado su eficacia, no solo en la inhibición de la carcinogénesis, sino también en la reducción de procesos vinculantes a la radioterapia, como la inflamación y el estrés oxidativo (19-22).

En coincidencia con hallazgos previos, los datos obtenidos confirman que la ingesta de frutas frescas o sus derivados desempeñan un papel importante en el suministro de alimentos que pueden contribuir en la disminución de efectos tóxicos asociados a la acción de agentes xenobióticos (9). A pesar del bajo número de voluntarios de la segunda etapa del estudio, que podría constituir una limitante del mismo, de manera específica se pudo demostrar que el tratamiento de linfocitos periféricos humanos, tanto *in vitro* como *in vivo*, con soluciones de arándanos, reduce de manera signifi-

cativa lesiones inducidas por dosis de radiaciones ionizantes utilizadas en ámbitos terapéuticos.

Asimismo se comprobó la capacidad antioxidante de estos compuestos, en virtud de la disminución del daño celular endógeno consecuente al metabolismo basal. Conclusiones similares fueron alcanzadas provocando el daño genotóxico con peróxido de hidrógeno (21). No obstante, se coincide con otros autores en la necesidad de confirmar estos resultados en estudios clínicos y en animales (2). En conclusión, la evidencia experimental aportada por este estudio, y considerando que los mecanismos de acción indirectos de las radiaciones ionizantes se ejecutan por medio de radicales libres, permite sugerir que los arándanos ejercen una acción radioprotectora demostrada por la disminución del daño genotóxico. En consecuencia, el consumo de estos frutos mediante diferentes formulaciones dietarias podría utilizarse para atenuar los efectos adversos de la radioterapia, optimizando así la calidad de vida del paciente oncológico.

Referencias

1. OMS. Cáncer. Nota descriptiva N°297. [citado febrero de 2015]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>
2. Jonson SA, Arjmandi BH. Evidence for anti-cancer properties of blueberries: A mini-review. *Anticancer Agents Med Chem.* 2013;13:1142-8.
3. Chong MF, Macdonald R, Lovegrove JA. Fruit polyphenols risk: A review of human intervention studie. *Br J Nutr.* 2010;3:28-39.
4. Tarozzi A, Morroni M, Merlicco A, Bolondi C, Teti G, Falconi M, et al. Neuroprotective effects of cyanidin 3-O-glucopyranoside on amyloid beta oligomer-induced toxicity. *Neurosci Lett.* 2010;473:72-6.
5. Seeram NP. Berry fruits for cancer prevention current status and future prospects. *J Agric Food Chem.* 2008;3:630-5.
6. Stoner GD, Wang LS, Zikri N, Chen T, Hecht SS, Huang C, et al. Cancer prevention with freeze-dried berries and berry components. *Semin Cancer Biol.* 2007;17:403-10.
7. Nawar WW. Lípidos. En: Fennema UR. *Química de los alimentos.* Zaragoza: Acribia; 1993. p.223-7.
8. Harborne JB. *Comparative biochemistry of the flavonoids.* New York: Academic Press, 1967.

9. Bornsek SM, Zibera L, Polak T, Vanzo A, Ulrich NP, Abram V, et al. Bilberry and blueberry anthocyanins act as powerful intracellular antioxidants in mammalian cells. *Food Chem.* 2012;134:1878-84.
10. Balansky R, Ganchev G, Ilcheva M, Kratchanova M, Denev P, Kratchanov C, et al. Inhibition of lung tumor development by berry extracts in mice exposed to cigarette smoke. *Int J Cancer.* 2012;131:1991-7.
11. Stoner GD, Wang LS, Seguin C, Rocha C, Stoner K, Chiu S, et al. Multiple berry types prevent N-nitrosomethylbenzylamine induced esophageal cancer in rats. *Pharm Res.* 2010;27:1138-45.
12. Duncan FJ, Martin JR, Wulff BC, Stoner GD, Tober KL, Oberyszyn TM, et al. Topical treatment with black raspberry extract reduces cutaneous UVB induced carcinogenesis and inflammation. *Cancer Prev Res.* 2009;2:665-72.
13. Wang LS, Hecht SS, Carmella SG, Yu N, Larue B, Henry C, et al. Anthocyanins in black raspberries prevent esophageal tumors in rats. *Cancer Prev Res.* 2009;2:84-93.
14. Casto BC, Kresty LA, Kraly CL, Pearl DK, Knobloch TJ, Schut HA, et al. Chemoprevention of oral cancer by black raspberries. *Anticancer Res.* 2002;22:4005-15.
15. Harris GK, Gupta A, Nines RG, Kresty LA, Habib SG, Frankel WL, et al. Effects of lyophilized black raspberries on azoxymethane-induced colon cancer and 8-hydroxy-2' deoxyguanosine levels in the Fischer 344 rat. *Nutr Cancer.* 2001;40:125-33.
16. Del Bo C, Riso P, Campolo J, Møller P, Loft S, Klimis-Zacas D, et al. A single portion of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) improves protection against DNA damage but not vascular function in healthy male volunteers. *Nutr Res.* 2013;33:220-7.
17. Olive PL. Impact of the comet assay in radiobiology. *Mutat Res.* 2009;681:13-23.
18. Collins AR. The comet assay for DNA damage and repair. *Molec Biotechnol.* 2004;26:249-61.
19. Boivin D, Blanchette M, Barrette S, Moghrabi A, Béliveau R. Inhibition of cancer cell proliferation and suppression of TNF induced Activation of NFB by edible berry juice. *Anticancer Res.* 2007;27:937-48.
20. Xie, C, Kang J, Ferguson ME, Nagarajan S, Badger TM, Wu X. Blueberries reduce pro-inflammatory cytokine TNF- α and IL-6 production in mouse macrophages by inhibiting NF- κ B activation and the MAPK pathway. *Mol Nutr Food Res.* 2011;55:1587-9.
21. Senevirathne M, Kim SH, Jeon YJ. Protective effect of enzymatic hydrolysates from highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in Chinese hamster lung fibroblast cell line. *Nutr Res Pract.* 2010;4:183-90.