



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Ensayo clínico aleatorizado para determinar la eficacia de
Sclerocarya birrea en el control metabólico glucídico de sujetos
con prediabetes.

Autor:

Desirée Victoria Montesinos

Directores:

Dr. D. Francisco Javier López Román

Dra. Dña. Maravillas Sánchez Macarro

Dr. D. Vicente Ávila Gandía

Murcia, julio de 2021



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Ensayo clínico aleatorizado para determinar la eficacia de
Sclerocarya birrea en el control metabólico glucídico de sujetos
con prediabetes.

Autor:

Desirée Victoria Montesinos

Directores:

Dr. D. Francisco Javier López Román

Dra. Dña. Maravillas Sánchez Macarro

Dr. D. Vicente Ávila Gandía

Murcia, julio de 2021



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

AUTORIZACIÓN DE LO/S DIRECTOR/ES DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

El Dr. D. Francisco Javier López Román, la Dra. Dña. Maravillas Sánchez Macarro y el Dr. D. Vicente Ávila Gandía como Directores de la Tesis Doctoral titulada "Ensayo clínico aleatorizado para determinar la eficacia de *Sclerocarya birrea* en el control metabólico glucídico de sujetos con prediabetes" realizada por Dña. Desirée Victoria Montesinos en el Programa en Ciencias de la Salud, **autorizan su presentación a trámite** dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firman, para dar cumplimiento al Real Decreto 99/2011, 1393/2007, 56/2005 y 778/98, en Murcia a 8 de junio de 2021

Dr. D. Fco. Javier López Román

Dra. Dña. Maravillas Sánchez Macarro

Dr. D. Vicente Ávila Gandía

Resumen

Introducción: La prediabetes es una desregulación de la glucemia, de tal forma que esta se encuentra por encima de lo establecido como normal, pero no lo suficiente como para que el sujeto sea diagnosticado como diabético. El mecanismo patogénico de esta es una resistencia progresiva a la insulina. Este estadio intermedio puede ser tratado a través de la modificación de los hábitos de vida: dieta equilibrada, actividad física regular y pérdida de peso corporal. La utilización de nutracéuticos como método preventivo de este tipo de desregulaciones es cada vez más empleado. Entre estos nutracéuticos se encuentra el extracto de corteza de *Sclerocarya birrea*. Se ha observado que su actividad antihiper glucémica y/o hipoglucémica puede deberse a los compuestos químicos que contiene, entre los que destacan el galato de epicatequina, la epicatequina y el ácido gálico.

El objetivo de este estudio fue observar la eficacia de *Sclerocarya birrea* en diferentes variables, observando ante todo su posible acción antihiper glucémica y/o hipoglucémica.

Material y método: Ensayo clínico aleatorizado por estratos (sexo), controlado con placebo, doble ciego, con dos ramas paralelas atendiendo al producto de consumo (placebo o producto en experimentación) y unicéntrico.

Se midió el metabolismo glucídico; metabolismo lipídico; tensión arterial; composición corporal; e inflamación. Se observó la progresión de estas variables tras el consumo del producto en el grupo de experimentación y en el placebo.

Resultados: De los datos que se obtuvieron, hubo diferencias significativas al comparar el estado inicial de los sujetos y el final en la variable principal. Se produjo un descenso significativo ($p < 0.001$) del área bajo la curva (AUC) basal en la evolución del grupo experimental tras los 90 días, y en la comparación con el placebo ($p < 0.004$). En la variable del AUC tomando como base el eje X o punto 0 (0 mg/dL) se observaron diferencias significativas cuando se comparó la evolución del grupo experimental tras los 90 días de consumo ($p < 0.001$) y en su comparación con el placebo ($p < 0.002$). Se produjo una mejora significativa de la vasodilatación mediada por flujo entre grupos ($p < 0.050$) y en el grupo experimental tras el consumo del producto durante 90 días ($p < 0.040$). También hubo una disminución

significativa de los niveles de E-selectina, tanto en el grupo experimental tras los 90 días de consumo ($p < 0.001$) como en la comparación de ambos grupos tras dicho periodo de tiempo ($p < 0.001$).

Conclusiones: El consumo del extracto de corteza de *Sclerocarya birrea* tras 90 días mejoró el perfil glucémico de los sujetos con prediabetes, además de otras variables como la vasodilatación mediada por flujo y marcadores inflamatorios.

Palabras clave: Ciencias de la nutrición, enfermedades de la nutrición, antioxidantes en los alimentos.

Abstract

Introduction: Prediabetes is a dysregulation of blood glucose, such that it is above what is established as normal, but not enough for the subject to be diagnosed as diabetic. The pathogenic mechanism of this is a progressive resistance to insulin. This intermediate stage can be treated by modifying lifestyle habits: balanced diet, regular physical activity and loss of body weight. The use of nutraceuticals as a preventive method for this type of dysregulation is increasingly employed. Among these nutraceuticals is the bark extract of *Sclerocarya birrea*. It has been observed that its antihyperglycemic and/or hypoglycemic activity may be due to the chemical compounds it contains, among which epicatechin gallate, epicatechin and gallic acid stand out.

The aim of this study was to observe the efficacy of *Sclerocarya birrea* on different parameters, observing first its possible antihyperglycemic and/or hypoglycemic action.

Method: Randomized clinical trial by strata (gender), placebo-controlled, double-blind, with two parallel branches according to the product of consumption (placebo or experimental product) and single-center.

Glucose metabolism; lipid metabolism; blood pressure; body composition; and inflammation were measured. The progression of these variables was observed after product consumption in the experimental group and in the placebo group.

Results: From the data obtained, there were significant differences when comparing the initial state of the subjects and the final state in the main variable. There was a significant decrease ($p < 0.001$) in the baseline area under the curve (AUC) in the evolution of the experimental group after 90 days, and in the comparison with the placebo ($p < 0.004$). In the AUC variable based on the X-axis or point 0 (0 mg/dL), significant differences were observed when comparing the evolution of the experimental group after 90 days of consumption ($p < 0.001$) and in the comparison with placebo ($p < 0.002$). There was a significant improvement in flow-mediated vasodilation between groups ($p < 0.050$) and in the experimental group after consumption of the product for 90 days ($p < 0.040$). There was also a significant decrease in e-selectin levels, both in the experimental group after 90

days of consumption ($p < 0.001$) and in the comparison of both groups after that time ($p < 0.001$).

Conclusions: After 90 days, the consumption of *Sclerocarya birrea* bark extract improved the glycemic profile of subjects with prediabetes, in addition to other variables such as flow-mediated vasodilatation and inflammatory markers.

Keywords: Nutritional sciences, nutritional diseases, antioxidants in foods.

AGRADECIMIENTOS

Todavía puedo mirar por esa ventana. Estoy allí, contigo. Viéndote sonreír, con tu antiguo cassette, escuchando música que te digo que no me gusta, aunque en realidad estoy mintiendo, pues ahora no puedo dejar de oírla.

Aún sigo oliendo tu colonia y te sigo oyendo de vez en cuando. Aún escucho tu característica voz que a todo el mundo tanto gustaba. Aún te siento a mi lado, contándote todas mis experiencias, para que me aconsejes y me digas qué es lo que debo hacer. Porque tú siempre has sido mi referente. Mi maestra y mi amiga. Aún recuerdo los cristales llenos de vaho en invierno, mientras cocinabas. Aún recuerdo los mejores años de mi vida a tu lado. Los años más felices y que más rememoro, porque los siguientes son solo un borrón y una neblina en mi vida. Aún me vienen a la cabeza esas navidades y esas fiestas de año nuevo que hacíamos en casa, cantando y bailando sin parar, esperando un nuevo año más feliz y bonito que el anterior, si es que eso era posible.

Pero... llegó el día en el que esos momentos se acabaron. Las navidades se disiparon. La felicidad se esfumó. Se fue tu sonrisa, tu mirada y tu bondad. Todo se acabó.

Sé que muchas veces, cuando te necesito, estás a mi lado, aunque no pueda sentirte como antes. Sé que me apoyas y me ayudas cuanto puedes. Pero a veces... me encantaría poder ir hacia atrás y darte un último abrazo. Sé que nos esperas, y sé que nos volveremos a reunir en un tiempo, aunque desconozca cuándo. Si te soy sincera, estoy deseando que llegue ese momento. Como dice una de tus cantantes favoritas: *"sé que morir no es más que estar un tiempo fuera; sé que vivir es entender que el cielo espera"*. Y cuando volvamos a estar juntas, te contaré lo feliz que he sido en esta vida y lo mucho que he reído (además de llorado). Mi balance, sin duda, será positivo. Y es que he conocido a personas maravillosas, y he de agradecerles lo mucho que me han hecho vivir.

Mi trabajo es fantástico ¿sabes? Pese a que suponga, en ocasiones, verdaderos quebraderos de cabeza, no hay nada más bonito que ver cómo una persona aprende y, tras ello, te agradece tu trabajo. Pero ¿qué te voy a contar a ti? Supongo que lo sabes, pero el día que te fuiste fueron decenas los alumnos que lloraron tu pérdida.

Mis compañeros son de otro mundo. La Cátedra de Fisiología no es un departamento normal; somos especiales. En primer lugar, todos los que componemos el laboratorio somos de nuestro padre y de nuestra madre. Rosa, Antonio, M^a José, Silvia, Juan Carlos, Maysa y, por supuesto, María; sin ella nunca habría podido aprovechar esta oportunidad. Son grandes personas. No puedo negarte que, en ocasiones, hay momentos de tensión (como en todos los trabajos), pero entonces llega Rosa con un “pas-pas” y Antonio con un café en el cuerpo y lo solucionan todo. A cada uno de ellos les agradezco cosas diferentes. Los consejos de Maysa; la complicidad con Silvia y JC, y los momentos de risas y carcajadas con Rosa, M^a José y Antonio, que valen oro y hacen que olvidemos el agobio del día a día... son fantásticos.

No me olvido de una persona, que queda en la recámara para luego.

También están mis compañeros del departamento. Todos ellos formidables. Los Antonios, Fernando, Vicente, mi maravillosa Maravillas y el director de la Cátedra, Javier. Algunos fueron hasta profesores míos, y es un honor compartir con ellos asignatura en varias carreras. El gran Doctor Luque nos hace reír a todos con sus chistes malos y su gran sarcasmo. Torregrosa es analítico a más no poder, y por ello brillante. Fernando, al igual que Maysa, me ha aconsejado en muchos aspectos. Y las tres personas restantes son los directores de lo que aquí estoy presentando, y mis palabras de agradecimiento se quedan cortas ante todo lo que han hecho por mí. Gracias a Javier estoy donde estoy; él siempre ha creído en todos y cada uno de nosotros, y además nos ha apoyado en todo lo que ha podido. Vicente también me ha ayudado, sin duda, y nos hemos reído mucho juntos; siempre está dispuesto a todo. Pero debo hacer mención especial a mi maravillosa Maravillas, que a veces hasta ejerce de madre conmigo. Mara, no tengo palabras. Gracias por todo lo que has hecho por mí, y por la bondad y cariño que desprendes hacia los que te rodeamos. Sin ti, esta tesis sería un desorden fisiológico y metabólico.

Lo cierto es que podría decir mil cosas de ellos, pero lo reservaré para decírselo en persona. Pese a esto, como comprenderás, mi vida no se reduce solo al trabajo (aunque algunas veces así lo parezca). Digamos que antes de estar en el sitio adecuado en el momento adecuado, fui por otros derroteros. Y durante todo ese camino conocí también a algunas personas que guardo en mi corazón.

Cuando te fuiste, sufrí una importante crisis que me hizo replantérmelo todo. Logré entrar en medicina, sí, pero sinceramente... esa era la ilusión de papá y no la mía. Yo quería algo que me llenase y con lo que pudiese aprender para mí misma, y es por ello por lo que me metí en la carrera de Nutrición. Y allí conocí a personitas que siguen formando parte de mi vida. Entre ellas; Ana, Cristina, Irene, Alaina y Míriam. Tras más de 10 años, aún sigo viéndolas y recordando todos los momentos especiales que me han brindado. De entre todas ellas, tengo que agradecerle a Ana su apoyo incondicional y sus audios a las 6 de la mañana, mientras va al trabajo y yo corro en la cinta. Siempre la tengo a mi lado y sé que toda la vida podré contar con ella (al igual que ella conmigo). Ojalá la hubieses conocido. Es un ángel de la guarda en mi camino. Ana María Albaladejo González, gracias.

También tengo siempre a mi lado a mis amigas de toda la vida; Ana y Nereida, gracias por estar siempre ahí.

Pero claro... todo esto no habría podido ser posible sin los profesionales que me han dotado de los conocimientos necesarios. Todo el departamento de Nutrición se merece mi agradecimiento, pero en especial José María Cayuela (que me convenció de entrar en esa carrera tan maravillosa y seguir hacia delante) y mi Paco. Paco Girón, mi tutor de trabajos de fin de todo, amigo y compañero. Gracias.

Cambiando un poco el tercio, papá está bien (supongo que lo sabes). Igual que siempre, lo cual indica que sigue en sus trece y no ha cambiado ni un ápice. Lo cierto es que muchas veces me arrepiento del mal carácter que tengo con él. He de cambiar, lo sé, y poco a poco lo voy intentando (tengo una vocecita que me ayuda cada día). Sabes que lo quiero con locura, y es uno de los pilares de mi vida. Sin él, desde luego, yo no sería quien soy hoy. Ah, y la tita y la abuela siguen igual; parece que por ellas no pasan los años. Forman también parte de los cuatro pilares que me sostienen, y me ayudan en todo lo que necesito de la forma que pueden en cada momento.

He dejado lo mejor para el final, por supuesto. Mi cuarto pilar. Mi ayuda incondicional. El brazo en el que siempre puedo llorar y la persona que me hace feliz. Con el nombre de aquellas personas que más significan en mi vida. Me acompaña en todos y cada uno de los momentos de mi camino desde hace más de cuatro años. Y me aporta el amor sano y propio de un cuento de hadas. La persona

con la que quiero pasar el resto de mis días, y con la que me gustaría formar una familia. El que no la hayas conocido es una de las espinas más grandes que tengo en el corazón. No tengo palabras para agradecerle lo que me ha ayudado en todo este trayecto. Simplemente... le amo como a nadie he amado. Gracias por todo lo que me brindas.

Y esto es todo, mamá. Esta es mi vida resumida en unas líneas. Unas líneas que van a formar parte de este libro que tanto trabajo ha costado. Unas líneas que espero que puedas sentir desde algún lugar. Ojalá estuvieses aquí para poder abrazarte y agradecerte lo feliz que me has hecho, me sigues haciendo y me harás durante toda la vida. Te quiero.

Tu hija.

"Hasta la vida más feliz no se puede medir sin unos momentos de oscuridad, y la palabra 'feliz' perdería todo sentido si no estuviese equilibrada por la tristeza".

Carl Gustav Jung (1875-1961).

ÍNDICE GENERAL

SIGLAS Y ABREVIATURAS	21
ÍNDICE DE FIGURAS, DE TABLAS Y DE ANEXOS	25
I- INTRODUCCIÓN	33
1.1. IMPORTANCIA DEL TEMA	33
1.2. PREDIABETES O HIPERGLUCEMIA INTERMEDIA	37
1.2.1. Intolerancia a la glucosa	37
1.2.2. Glucemia basal alterada	38
1.2.3. Hemoglobina glicosilada.....	38
1.3. EPIDEMIOLOGÍA DE LA PREDIABETES.....	39
1.4. ESTRATEGIAS DE CRIBADO Y DETECCIÓN.....	40
1.5. FISIOPATOGENIA DE LA PREDIABETES	42
1.5.1. Resistencia a la insulina en GBA e ITG.	43
1.5.2. Reducción de la masa y disfunción de células beta: desregulación de la glucosa.....	46
1.5.3. Músculo esquelético y glucosa	48
1.5.4. Estrés oxidativo: Función de las células β -pancreáticas	48
1.5.5. Estrés de retículo endoplasmático	49
1.6. TRATAMIENTO DE LA PREDIABETES.....	50
1.6.1. Disminución de peso como prevención.....	51
1.6.2. Ejercicio físico y prevención de prediabetes.....	52
1.6.3. Nutrición para la prevención de la prediabetes.....	53
1.6.3.1. <i>Los nutraceuticos en la prevención de la prediabetes</i>	54
1.7. <i>SCLEROCARYA BIRREA</i> COMO NUTRACÉUTICO EN EL TRATAMIENTO DE LA PREDIABETES	58
1.7.1. Taxonomía, características y distribución de <i>Sclerocarya birrea</i>	58
1.7.2. Composición y análisis bioquímico de <i>Sclerocarya birrea</i>	59
1.7.3. Usos de SB	60

1.7.3.1.	<i>Pulpa y zumo</i>	60
1.7.3.2.	<i>Aceite de marula</i>	61
1.7.3.3.	<i>Cerveza de marula</i>	61
1.7.3.4.	<i>Usos medicinales</i>	61
1.7.4.	Actividad farmacológica de SB	62
1.7.4.1.	<i>Actividad antioxidante de SB</i>	62
1.7.4.2.	<i>Propiedades antiinflamatorias y analgésicas de SB</i>	63
1.7.4.3.	<i>Propiedades antimicrobianas de SB</i>	65
1.7.4.4.	<i>Propiedades antihipertensivas de SB</i>	66
1.7.4.5.	<i>Propiedades antidiabéticas de SB</i>	67
1.7.5	Toxicidad de SB	67
II	JUSTIFICACIÓN	71
III	OBJETIVOS	75
3.1	OBJETIVO PRINCIPAL.....	75
3.2	OBJETIVOS SECUNDARIOS	75
IV-	MATERIAL Y MÉTODO.....	79
4.1	DISEÑO DEL ESTUDIO.....	79
4.1.1.	Población objeto de la investigación.....	79
4.1.1.1.	<i>Criterios de selección</i>	80
4.1.1.2.	<i>Abandono de participantes</i>	80
4.1.1.3.	<i>Criterios de retirada</i>	81
4.1.2	Producto administrado.....	81
4.1.2.1.	<i>Producto propuesto para investigar</i>	81
4.1.2.2.	<i>Placebo</i>	82
4.1.2.3.	<i>Cumplimiento de la ingesta del producto</i>	82
4.1.3	Métodos de asignación de los sujetos a los grupos.	82
4.1.4	Cegamiento.	83
4.1.5	Lugar de realización	83
4.2	VARIABLES DEL ESTUDIO.....	84
4.2.1	Variable principal.....	84

4.2.1.1.	<i>Cambios en el área bajo la curva de glucemia tras test de tolerancia oral de glucosa.</i>	84
4.2.2	Variables secundarias.	84
4.2.2.1.	<i>Metabolismo glucídico.</i>	84
4.2.2.2.	<i>Metabolismo lipídico.</i>	86
4.2.2.3.	<i>Tensión arterial.</i>	87
4.2.2.4.	<i>Función endotelial.</i>	87
4.2.2.5.	<i>Composición e índices de proporcionalidad corporal.</i>	88
4.2.2.6.	<i>Inflamación.</i>	90
4.2.3	Tolerabilidad y seguridad.	90
4.3	DESARROLLO DEL ESTUDIO.	91
4.3.1	Reclutamiento (Visita 0. Día -15).	91
4.3.2	Fase experimental.	91
4.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	94
4.5	ASPECTOS ÉTICOS.	95
4.5.1	Hoja de información para el participante y consentimiento informado.	95
4.5.2	Confidencialidad de los datos	96
4.5.3	Evaluación del comité de ética de investigación	96
V	RESULTADOS.	99
5.1	INICIO DE LA INVESTIGACIÓN Y FECHA DE FINALIZACIÓN.	99
5.2	DIAGRAMA DE FLUJO.	99
5.3	DEMOGRAFÍA DE LOS SUJETOS A ESTUDIO.	100
5.4	ANÁLISIS DE LAS VARIABLES A ESTUDIO.	100
5.2.1	Metabolismo glucídico.	100
5.2.2	Función endotelial.	114
5.2.3	Metabolismo lipídico.	117
5.2.4	Composición corporal.	123
5.2.5	Componente inflamatorio.	130
5.2.6	Tensión arterial.	134

5.2.7	Tolerabilidad y seguridad.....	137
VI -	DISCUSIÓN.....	141
6.1	METABOLISMO GLUCÍDICO	141
6.2	FUNCIÓN ENDOTELIAL	154
6.3	METABOLISMO LIPÍDICO.....	156
6.4	COMPOSICIÓN CORPORAL.....	158
6.5	COMPONENTE INFLAMATORIO	159
6.6	TENSIÓN ARTERIAL	162
VII	CONCLUSIONES.....	167
IX –	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	175
Anexo 1.	Test de FRINDRISC.....	207
Anexo 2.	Hoja de información al participante.	209
Anexo 3.	Consentimiento informado	211

SIGLAS Y ABREVIATURAS

AC:	Adenilil ciclasa
ADA:	Asociación americana de diabetes
ADP:	Adenosín difosfato
AG:	Ácido gálico
AGEs:	Productos finales la de glicosilación avanzada
AGL:	Ácidos grasos libres
ALT:	Alanina transaminasa
AMPc:	Adenosín monofosfato cíclico
AMPK:	Proteína quinasa activada por AMP
ARNm:	Ácido ribonucleico mensajero
AST:	Aspartato transaminasa
ATP:	Adenosín trifosfato
AUC:	Área bajo la curva
BIA:	Bioimpedanciometría
c-HDL:	Colesterol de lipoproteínas de alta densidad
c-LDL:	Colesterol de lipoproteínas de baja densidad
CaMKII:	Calcio calmodulina quinasa II.
COT:	Transportadores de cationes orgánicos
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial (<i>Ensayo sobre el control y las complicaciones de la diabetes</i>)
DL50:	Dosis letal 50
DM:	Diabetes mellitus
DM1:	Diabetes mellitus tipo 1
DM2:	Diabetes mellitus tipo 2
DPP-IV:	Dipeptidil peptidasa IV
EC:	Epicatequina
ECA:	Enzima convertidora de angiotensina
ECGC:	Epigallocatequina-3-galato
ECV:	Enfermedad cardiovascular

EE.UU.:	Estados Unidos
EF:	Ejercicio físico
FINDRISC:	Finnish diabetes risk score (<i>Puntuación de riesgo de diabetes en Finlandia</i>)
FRCV:	Factores de riesgo cardiovascular
GB:	Glucemia basal
GBA:	Glucemia basal alterada
GCs:	Guanilato ciclasa soluble
GDH:	Glutamato deshidrogenasa
GIP:	Péptido inhibidor gástrico
GMPc:	Guanosín monofosfato cíclico
GSK3:	Glucógeno sintasa quinasa 3
HOMA IR:	Homeostasis model assessment - Insulin resistance (<i>Evaluación del modelo homeostático - Resistencia a la insulina</i>)
HbA _{1c} :	Hemoglobina glicosilada
ICC:	Índice cintura-cadera
IDF:	Federación Internacional de Diabetes
IECA:	Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina
IL-1:	Interleuquina-1
IL-6:	Interleuquina-6
IMC:	Índice de masa corporal
IR:	Receptor de insulina
IRS:	Sustrato del receptor de insulina
IRS1:	Sustrato 1 del receptor de insulina
IRS2:	Sustrato 2 del receptor de insulina
ITG:	Intolerancia a la glucosa
JNK:	Quinasas c-Jun N-terminal
LDLox:	Lipoproteína de baja densidad oxidada
MAC:	Moléculas de adhesión celular
MAPA:	Monitorización ambulatoria de presión arterial
MAPK:	Quinasas activadas por mitógenos
NADH:	Nicotinamida adenina dinucleótido

NGSP:	National Glycohemoglobin Standardization Program (<i>Programa nacional de normalización de la hemoglobina glicosilada</i>)
NICE:	National institute for health and care excellence (<i>Instituto Nacional de Excelencia Sanitaria y Asistencial</i>)
ON:	Óxido nítrico
ONS:	Óxido nítrico sintasa
ONSe:	Óxido nítrico sintasa endotelial
ONSi:	Óxido nítrico sintasa inducible
ONSn:	Óxido nítrico sintasa neuronal
ONS3:	Óxido nítrico sintasa 3
OMS:	Organización mundial de la salud
PCR:	Proteína C reactiva
PDK-1:	Quinasa 1 dependiente de fosfoinosítido
PEPCK:	Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa
PI3K:	Fosfaditilinositol 3 quinasa
PKA:	Proteína quinasa A
PKC:	Proteína quinasa C
PP1:	Proteína fosfatasa-1
QUICKI:	Quantitative insuline sensitivity check index (<i>Índice cuantitativo de comprobación de la sensibilidad a la insulina</i>)
RAGEs:	Receptor de productos finales de glicosilación avanzada
RE:	Retículo endoplasmático
RI:	Resistencia a la insulina
ROS:	Especies reactivas de oxígeno
SB:	Sclerocarya birrea
SCORE:	Systematic coronary risk evaluation (<i>Evaluación sistemática del riesgo coronario</i>)
SED:	Sociedad española de diabetes
SERCA:	Bomba de calcio del retículo sarcoplasmático
SM:	Síndrome metabólico
SOCS-3:	Supresor de la señalización de citoquinas-3
SOG:	Sobrecarga oral a la glucosa
STZ:	Streptozotocina

SUR1:	Receptor de sulfonilurea
TAD:	Tensión arterial diastólica
TAS:	Tensión arterial sistólica
TG:	Triglicéridos
TNF- α :	Factor de necrosis tumoral α
TTOG:	Test de tolerancia oral a la glucosa
UPR:	Unfolded protein reponse (<i>Respuesta a proteínas desplegadas</i>)
VD:	Vasodilatación
VMF:	Vasodilatación mediada por flujo

ÍNDICE DE FIGURAS, DE TABLAS Y DE ANEXOS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vías de señalización de la insulina.	44
Figura 2. Clasificación de polifenoles.....	58
Figura 3. Fruto de SB. Extraído de Cock, C (104).	62
Figura 4. Mecanismo de acción E-selectina	65
Figura 5. Cromatograma obtenido por HPLC-SI-TOF / MS. AG (a); EGCG (b) e isómeros (b1 y b2) y procianidina B2-3,3-di-O-galato (c) e isómero (c1).....	82
Figura 6. Resumen gráfico de material y métodos.....	94
Figura 7. Diagrama de flujo.....	99
Figura 8. Análisis comparativo de los grupos control y experimental en el área bajo la curva de evolución de la glucemia tras sobrecarga oral de glucosa tomando como base de la misma la glucemia basal.	102
Figura 9. Análisis comparativo de los grupos control y experimental en el área bajo la curva de evolución de la glucemia tras sobrecarga oral de glucosa tomando como base de la misma el punto cero.	104
Figura 10. Análisis comparativo de los grupos control y experimental de la glucemia máxima durante la realización de la sobrecarga oral de glucosa.....	106
Figura 11. Análisis comparativo de los grupos control y experimental de la HbA _{1c}	107
Figura 12. Análisis comparativo de los grupos control y experimental para el parámetro glucemia basal.....	109
Figura 13. Análisis comparativo de los grupos placebo y experimental de la insulinemia basal.....	110
Figura 14. Análisis comparativo del grupo placebo y experimental en la resistencia periférica a la insulina (HOMA-IR).	112
Figura 15. Análisis comparativo del grupo placebo y experimental en la resistencia periférica a la insulina (índice QUICKI)	113
Figura 16. Análisis comparativo de la función endotelial en los grupos placebo y experimental	115
Figura 17. Análisis comparativo de la vasodilatación mediada por flujo (VMF) en los grupos placebo y experimental	117
Figura 18. Análisis comparativo de niveles de colesterol total sérico en los grupos placebo y experimental.....	118

Figura 19. Análisis comparativo de niveles de triglicéridos en los grupos placebo y experimental	120
Figura 20. Análisis comparativo de niveles de colesterol LDL en los grupos placebo y experimental	121
Figura 21. Análisis comparativo de niveles de colesterol HDL en los grupos placebo y experimental	123
Figura 22. Análisis comparativo del peso corporal en los grupos placebo y experimental	125
Figura 23. Análisis comparativo del IMC en los grupos placebo y experimental	127
Figura 24. Análisis comparativo del porcentaje de grasa corporal obtenido mediante bioimpedanciometría en los grupos placebo y experimental	128
Figura 25. Análisis comparativo del ICC en los grupos placebo y experimental	130
Figura 26. Análisis comparativo de IL-6 en los grupos placebo y experimental .	132
Figura 27. Análisis comparativo de E-Selectina en los grupos placebo y experimental	134
Figura 28. Análisis comparativo de la TAS en los grupos placebo y experimental	135
Figura 29. Análisis comparativo de la TAD en los grupos placebo y experimental	137
Figura 30. Mecanismo de acción de la metformina.....	143
Figura 31. Posible mecanismo de acción de EGCG en GDH.	144
Figura 32. Mecanismo de acción de la clorpropamida.	146
Figura 33. Diagrama esquemático de las posibles vías para la secreción de insulina mediada por EC en células β -pancreáticas.....	147
Figura 34. Vía de señalización de insulina.	150
Figura 35. Acción de α -amilasa y α -glucosidasa.	152
Figura 36. Mecanismo de acción de los inhibidores de α -glucosidasas.	153
Figura 37. Posible influencia del AG en la ONSe.	156
Figura 38. Posible mecanismo de acción del AG en la formación de AGEs.....	162

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estrategia de cribado de prediabetes y diabetes.	41
Tabla 2. Flavonoides más comunes y alimentos en los que se encuentran. Modificado de (87).	56
Tabla 3. Cronograma de las visitas realizadas.....	93
Tabla 4. Distribución según la edad, el sexo y el consumo de producto.	100
Tabla 5. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) del área bajo la curva tras SOG tomando como base la glucemia basal.	101
Tabla 6. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) del área bajo la curva tras SOG tomando como base el punto cero.	102
Tabla 7. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de glucemia máxima durante la realización de SOG.....	104
Tabla 8. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de hemoglobina glicosilada.....	106
Tabla 9. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de glucemia basal	108
Tabla 10. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de insulinemia basal	109
Tabla 11. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) HOMA-IR.....	111
Tabla 12. Estadísticos descriptivos Índice QUICKI	112
Tabla 13. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la función endotelial y la vasodilatación (VD)	114
Tabla 14. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la vasodilatación mediada por flujo (VMF)	115
Tabla 15. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) del colesterol total sérico	117
Tabla 16. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de triglicéridos séricos.....	119
Tabla 17. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de colesterol-LDL	120
Tabla 18. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de colesterol-HDL	122
Tabla 19. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) del peso.....	123
Tabla 20. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) del IMC.....	125
Tabla 21. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de bioimpedanciometría.....	127
Tabla 22. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de ICC.....	129
Tabla 23. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) IL-6	130

Tabla 24. Estadísticos descriptivos E-Selectina.....	132
Tabla 25. Estadísticos descriptivos TAS	134
Tabla 26. Estadísticos descriptivos TAD	136
Tabla 27. Resumen de medias estadísticas y significación entre variables	138

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Test de FRINDRISC.....	207
Anexo 2. Hoja de información al participante.	209
Anexo 3. Consentimiento informado	211

I - INTRODUCCIÓN

I- INTRODUCCIÓN

1.1. IMPORTANCIA DEL TEMA

La diabetes mellitus (DM) comprende un grupo de enfermedades, a nivel metabólico, que se caracterizan por la hiperglucemia generada a través de diversos defectos en la acción de la insulina, en su secreción o por ambas situaciones. Se trata de un problema a gran escala para la salud pública, siendo clasificada como una de las enfermedades no transmisibles con mayor relevancia (1).

El último informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) muestra que la cifra de diabéticos a nivel mundial se ha cuadruplicado en solo 30 años. En el año 1.980, los afectados por esta enfermedad alcanzaron la cifra de 108 millones de personas. En cambio, a día de hoy, dicha cantidad se sitúa en los 422 millones de adultos (2). En el año 2.012, la diabetes llegó a producir 3.7 millones de muertes generadas no solo por la enfermedad en sí misma, sino también por las consecuencias que ocasiona al incrementar el riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV). Entre las complicaciones que puede producir la diabetes, encontramos insuficiencia renal, infartos, daños neurológicos, accidentes cerebrovasculares, etc. Además, la diabetes no controlada durante el embarazo puede dar lugar a numerosas complicaciones, como un incremento del riesgo de muerte fetal (2).

Este mismo informe, elaborado por la OMS, estima que se producirá un incremento de un 42% de los casos de diabetes en los países desarrollados. Por otro lado, en los países en vías de desarrollo dicho incremento será de hasta un 170%. Esta tendencia seguirá hasta el año 2.025 (3).

Las cifras de la enfermedad en España están aumentando de manera notable. En el año 1.998 el número de enfermos con DM tipo 2 (DM2) era de 1.5 millones, ocasionando esto un gasto de 2 billones de euros (3). Tras el estudio Di@bet.es publicado en 2.020, se consiguieron datos de gran relevancia en relación con la incidencia real de esta enfermedad en España. Ya en 2.008, la Sociedad Española de Diabetes (SED) llevó a cabo la primera parte de este estudio, gracias al cual se pudo observar que la prevalencia era del 13.8%, es decir, más de 4.5 millones de españoles padecían DM2. Por otro lado, se pudo ver que un 9.2% de la población tenía intolerancia a la glucosa (ITG), un 3.4% tenía la glucemia basal alterada (GBA)

y un 2.2% ambos estadios, estimando que un 14.8% del total de la demografía española tiene prediabetes (4). En esta segunda fase de estudio se realizó una reevaluación de la cohorte. Todos los sujetos que terminaron la fase anterior (n=5.072) fueron invitados y reclutados nuevamente. Un total de 2.408 sujetos participaron, desarrollando 154 personas la enfermedad. La incidencia acumulada en el tiempo que duró el estudio fue del 6.4%, siendo la incidencia ajustada por la estructura de edad y sexo de la población de 11.6 casos por cada 1.000 personas al año. Ese dato nos indica que cada año hay alrededor de 386.000 nuevos casos de diabetes. La incidencia de diabetes conocida solo fue de 3.71 casos por cada 1.000; cifra que se puede asimilar a la incidencia de diabetes diagnosticada en el sistema nacional de salud. Esto nos muestra que la incidencia de diabetes no conocida es de 7.9 casos por cada 1.000 personas al año. Como era de esperar, la incidencia de diabetes se incrementó con la edad y fue mayor entre los hombres (13.4 casos por cada 1.000 personas al año) que entre las mujeres (9.9 casos por cada 1.000 personas al año)(5).

La DM tipo 1 (DM1), es una enfermedad que afecta actualmente al 6-10% de la población total con diabetes. Este número sufre un incremento anual de un 3%, siendo mayor en el grupo de personas situado entre los 0 y 4 años. Suele ser el tipo de diabetes predominante en personas jóvenes. La DM1 puede clasificarse en dos tipos: la inmunomediada o 1A y la idiopática o 1B. La primera, pese a ser de etiología desconocida, se sabe que es producida por una respuesta autoinmune inapropiada contra las células β -pancreáticas; el propio sistema inmunitario ataca de forma selectiva a las células encargadas de la producción de insulina, destruyéndolas (1). Por otro lado, en la DM1B los pacientes presentan insulopenia permanente, siendo propensos a la cetoacidosis diabética, pero en ellos no hay evidencia de autoinmunidad en el páncreas. Este tipo de diabetes también es de etiología desconocida. Los pacientes con DM1, tanto A como B, son insulino dependientes (6). Los últimos estudios realizados han constatado que el mayor número de casos de esta patología se halla en países como Finlandia y Suecia, siendo cada vez la edad de inicio más temprana. La distribución por sexo suele ser similar en grupos de menores de 14 años, mientras que, tras esa edad, la enfermedad es más habitual en varones. Por otro lado, la transmisión familiar es baja, siendo la existencia de antecedentes familiares menor al 20% del total de casos (1,7).

La DM2 es una de las mayores causas de morbimortalidad en los países en vías de desarrollo y en los desarrollados, yendo en aumento su prevalencia. Esta es mayor en hombres (15.85%) que en mujeres (11.80%), incrementándose la incidencia con la edad (7). La DM2 también es conocida como “diabetes no insulino dependiente” o “diabetes del adulto”. Representa el 90-95% del total de los casos de diabetes conocidos. Esta forma comprende a aquellos individuos que tienen resistencia a la insulina (RI) y una deficiencia de esta hormona relativa (en lugar de absoluta). Se desconocen las causas específicas de esta enfermedad, pero se sabe que en este tipo de diabetes no se produce una destrucción autoinmune de las células β -pancreáticas (6). Se ha observado que el riesgo de desarrollar esta enfermedad puede depender, entre otros, de factores ambientales, epigenéticos y genéticos. Con respecto al tercer factor, algunos estudios han mostrado que la tasa de concordancia de DM2 en gemelos monocigóticos es de un 70%, mientras que la concordancia en gemelos dicigóticos comprende del 20 al 30% (8).

En situaciones no patológicas, la liberación de insulina al torrente sanguíneo a través de las células β -pancreáticas se sigue de un incremento de captación de glucosa, ácidos grasos y aminoácidos por parte de los tejidos diana. Cuando se produce un aumento de la RI, el mecanismo de acción que el organismo va a llevar a cabo para conservar la homeostasis es el incremento de la producción de esta hormona, intentando mantener así la normoglucemia. En el momento en el que las células β del páncreas no son capaces de formar la insulina suficiente para disminuir o eliminar esta resistencia generada, la glucemia comienza a aumentar. Estos estados de disglucemia son los que finalmente derivan en la DM2 (1,6).

Además de la DM1 y DM2, existen otros tipos de diabetes como la DM gestacional, diagnosticada en el segundo o tercer trimestre del embarazo; y los tipos específicos de diabetes debidos a otras causas como la diabetes monogénica; diabetes debida a patología pancreática; diabetes causada por trastornos endocrinológicos; o diabetes inducida por fármacos u otros químicos (6).

Existe una correlación entre la diabetes y otros factores de riesgo cardiovascular, como la tensión arterial elevada (el 81.8% de enfermos tenían unas cifras superiores a 140/90 mmHg), la hipercolesterolemia (el 66.9% tenían cifras de colesterol total superiores a 200 mg/dL), cardiopatía isquémica u otro tipo de ECV (un 19.7%), concentraciones muy elevadas de proteína C reactiva (PCR) ultrasensible (el 32.2% de las personas con diabetes superaban la cifra de 3 mg/L),

etc. (5,9). Las ECV son la principal causa de morbilidad y mortalidad en personas con DM2, siendo la enfermedad coronaria el motivo más común de muerte entre estos sujetos (10). La DM2 actúa como un factor de riesgo independiente para varias formas de ECV (enfermedades micro y macrovasculares). Las manifestaciones preclínicas de las enfermedades macrovasculares se desarrollan mucho antes en pacientes con DM2 recién diagnosticados y sin tratar (11). Las complicaciones microvasculares y macrovasculares diabéticas tienen mecanismos y características patogénicas muy similares. Entre las microvasculares se encuentran la retinopatía, neuropatía y nefropatía; mientras que las complicaciones macrovasculares incluyen la cardiopatía isquémica, enfermedad cerebrovascular y enfermedades vasculares periféricas (12,13). Estas complicaciones se producen principalmente debido a una disfunción endotelial, es decir, al fallo del endotelio vascular en la vasodilatación y/u homeostasis vascular, que puede llevar a una lesión aterosclerótica. El deterioro fisiológico que genera la vasculopatía diabética produce, no solo esta disfunción endotelial, sino también hiperreactividad plaquetaria, disfunción de las células musculares lisas, tendencia a la trombosis y coagulación e incremento de la inflamación (14,15). El rasgo característico de las complicaciones diabéticas incluye la progresión de la lesión aterosclerótica o la alteración de los vasos sanguíneos, que es una de las principales causas del desarrollo de ECV. La diabetes es capaz de alterar la función del músculo liso vascular, de manera que promueve la formación de lesiones ateroscleróticas, la inestabilidad de la placa y los eventos clínicos (16).

Una de las mayores preocupaciones que esta enfermedad puede causar es la fracción de población no diagnosticada, siendo muy variable la cifra de afectados según el lugar. Actualmente existe hasta un 70% de casos en África y en 38% en países desarrollados de diabetes no diagnosticada. Todo ello se debe al tiempo que tarda la persona afectada en tener síntomas, al ser una enfermedad asintomática en sus primeros años (17).

Las complicaciones generadas por la DM y su gasto supusieron en el año 2.013 un 11% del presupuesto sanitario a nivel global. Este coste varía notoriamente según el lugar afectado, siendo Estados Unidos (EE.UU.) y Europa los emplazamientos con mayor gasto sanitario (240.000 millones y 150.000 de dólares invertidos respectivamente), mientras que en África y el Sudeste Asiático estos valores se reducen a un 1% de su gasto total (17).

En 2.013 se produjeron un total de 5.1 millones de muertes a causa de la DM, produciéndose alrededor de la mitad de estos fallecimientos en personas menores de 60 años. La mayor parte de estas muertes tuvieron lugar en personas mayores de 50 años, generándose estos decesos, mayoritariamente, por causas secundarias a la mortalidad cardiovascular (7,9).

1.2. PREDIABETES O HIPERGLUCEMIA INTERMEDIA

La “hiperglucemia intermedia” o prediabetes, es un trastorno metabólico multifactorial que indica la presencia de glucemias superiores a lo categorizado como normal, sin llegar a alcanzar las cifras establecidas para el diagnóstico de diabetes (18). El riesgo de estos sujetos de desarrollar DM2 y complicaciones vasculares es mayor que en aquellos con una concentración de glucemia en sangre normal (1). Frecuentemente, esta patología está relacionada con otro tipo de problemas o afecciones cardiovasculares como dislipemia, obesidad y tensión arterial elevada (18). Fue en el año 1.997 cuando la Asociación Americana de Diabetes (ADA) estableció este término para todas aquellas personas que tenían una glucemia alterada en ayunas, estando esta entre 100 y 125 mg/dL, además de ITG tras el test de sobrecarga oral a la glucosa (TTOG), añadiendo posteriormente un componente más al diagnóstico; la hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) con valores entre 5.7 y 6.4%. Así pues, cualquier persona que presente estos niveles es diagnosticada como prediabética o intolerante a la glucosa, reconociéndose tres categorías según los resultados obtenidos en cada análisis (1,18).

1.2.1. Intolerancia a la glucosa

Para poder diagnosticar a una persona de ITG, se le debe realizar el TTOG, que se debe llevar a cabo proporcionando a la persona 75 gramos de glucosa disuelta en una cantidad total de 0.3 litros de agua, e ingerir el contenido en un tiempo inferior a los 5 minutos. Si, tras las dos horas de la prueba, los niveles de glucemia se hallan entre 140 y 199 mg/dL se diagnosticará esta intolerancia (19). La causa por la que estos niveles están alterados se encuentra en la resistencia periférica a la insulina producida, ante todo, a nivel muscular, pudiéndose

relacionar también esta prueba con un mayor índice de mortalidad cardiovascular (19).

1.2.2. Glucemia basal alterada

La ADA, en el año 2.003, estableció los niveles de glucemia basal alterada (GBA) en aquellos valores que se encontrasen entre 100 y 125 mg/dL, siendo distintos a los decretados por la OMS en el año 1.999 (110 y 125 mg/dL), afirmando que así podría igualarse la prevalencia tanto del test de ITG como de la GBA. Sin embargo, la SED publicó en el año 2.006 que los valores para establecer el criterio diagnóstico debían de estar entre 110 y 125 mg/dL (19).

La fisiopatología se basa en la disminución de la secreción de insulina e incremento de la resistencia hepática a su acción (1).

1.2.3. Hemoglobina glicosilada

La hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) se forma mediante una reacción entre la glucosa y la porción N-terminal de un aminoácido, de tal forma que se produce una cetoamina. La cantidad de HbA_{1c} generada es proporcional a la glucemia media de las 8-10 semanas anteriores a la última prueba, por lo que es un gran indicador de los niveles de glucemia a largo plazo (20). En el año 2.010, la ADA introdujo como criterio diagnóstico la HbA_{1c}, mientras que la OMS no lo aceptó al manifestar que no existían datos científicos fiables que pudiesen acreditar unas cifras determinadas con este fin (1). La ADA, desde entonces, estableció como criterio diagnóstico para la prediabetes valores de HbA_{1c} entre 5.7 y 6.4%, siendo estos un factor de riesgo cardiovascular según diversos estudios, sin tener en cuenta los valores de glucemia en ayunas (6). Sin embargo, el *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE), al igual que la SED recomienda el 6% como límite superior de la normalidad para valores de HbA_{1c}. Esta prueba debe realizarse por el método estandarizado según el DCCT (acrónimo del inglés *Diabetes Control and Complications Trial*)-NGSP (acrónimo del inglés *National Glycohemoglobin Standardization Program*) (21).

Las cifras obtenidas reflejan la cantidad de glucosa en sangre durante los 120 días anteriores en una sola medición, la cual puede realizarse en cualquier momento del día y no requiere que el individuo se encuentre en ayunas (22).

1.3. EPIDEMIOLOGÍA DE LA PREDIABETES

El estudio Di@bet.es realizado entre los años 2.009-2.010 con una población total de 5.072 participantes, estableció que un 14.8% de dicha muestra estudiada sufría alguno de los tipos de prediabetes citados anteriormente, siendo la prevalencia de ITG de un 9.2%; la de GBA de un 3.4% y de ambos tipos de un 2.2% (4). Por otro lado, si se observa esta distribución en Europa, el estudio *Diabetes Epidemiology: Collaborative Analysis of Diagnostic Criteria in Europe* (DECODE) consiguió observar que la intolerancia a la glucosa era más tendente en mujeres, incrementándose los casos a medida que dicha población avanzaba en edad; todo lo contrario de lo ocurrido en hombres, siendo estable su prevalencia según se incrementaba la edad (23).

Otro criterio empleado para el diagnóstico de la prediabetes es la hemoglobina glicosilada o HbA_{1c}. En algunos estudios como el TOPICS 3, se empleó una muestra total de 2.092 participantes, y se observó que el riesgo de padecer prediabetes era menor que con otros criterios como el de GBA (24).

En otros lugares como EE.UU., la prevalencia de la prediabetes es de un 22.6% en adultos con una edad comprendida entre los 45 y los 74 años, según el estudio *National Health and Nutrition Examination Survey III* (NANHES III). Sus cifras fueron similares a las obtenidas en otros lugares como Suecia, Singapur, Corea y Australia, lo cual reafirma que la prevalencia de la prediabetes se sitúa entre un 15 y un 25% del total de la población (25,26).

Por otro lado, el último estudio realizado por la Federación Internacional de Diabetes (IDF) (27) ha concluido y pronosticado que el número de personas con esta enfermedad aumentará de 425 millones en 2.017 a 700 millones en 2.045, con el 80% de la carga de la enfermedad en países de ingresos bajos y medianos.

1.4. ESTRATEGIAS DE CRIBADO Y DETECCIÓN

Se ha observado que un diagnóstico precoz junto con la intervención aplicada a los estilos de vida y/o al tratamiento farmacológico, es realmente útil para poder retrasar o incluso prevenir la aparición de DM2 y prediabetes. La búsqueda de estrategias de evaluación y el desarrollo de diferentes pruebas para la identificación de este grupo de riesgo es verdaderamente importante en la población, no solo con el fin de detectar la enfermedad antes de su desarrollo y con ello combatirla, sino también para evitar la realización de costosos e invasivos test de laboratorio (26).

Entre las estrategias existentes para el cribado de la diabetes se encuentran:

- a) El “cribado oportunista”, analizando la glucemia basal (GB) en poblaciones con mayor probabilidad de desarrollar DM2 (28).
- b) El empleo de reglas de predicción clínica (RPC) por medio de bases de datos o historia clínica del paciente; y la utilización de cuestionarios o escalas de riesgo (28).

Son numerosas las RPC (1) que se han elaborado con este fin, pero es verdaderamente difícil hallar una que proporcione un estimador común. Pese a todo ello, el test *Finnish Diabetes Risk Score* (FINDRISC) (Anexo 1) es uno de los más importantes y utilizados en Europa para el cribado de riesgo de diabetes (25). Esta encuesta consta de 8 apartados: edad, IMC, perímetro de cintura, medicación antihipertensiva, antecedentes de glucemia elevada (incluida DM gestacional), cumplimiento del criterio de actividad física diaria e ingesta diaria de frutas o verduras; y puede ser utilizada en la práctica clínica (29). El paciente también puede elaborarlo de forma independiente. No existe un acuerdo en relación con la puntuación del test, ya que en algunos estudios se observa un valor predictivo positivo mayor que en otros, y por ello hay diferentes recomendaciones para su uso y realización. La SED recomienda la realización de un cribado cada 4 años a partir de los 40-45 años, llevándolo a cabo de forma anual en el caso de que la persona tenga un alto riesgo de DM2 (antecedentes familiares de primer grado; hiperlipemia; obesidad; hipertensión; tratamientos con fármacos hiperglucemiantes; esteatosis hepática no alcohólica; diabetes gestacional; GBA; ITG; hiperandrogenismo funcional ovárico; o etnias de riesgo como la raza negra o la china). En el caso de obtener en el test una puntuación superior o igual a 15, la

SED recomienda la realización de GB. Si, tras la obtención de la GB, la persona no tuviese prediabetes, el test FINDRISC deberá llevarse a cabo cada año (27,29,30).

Tabla 1. Estrategia de cribado de prediabetes y diabetes.

Cribado en dos etapas con el test FINDRISC. Cada 4 años, a partir de los 40 años y en personas de riesgo de DM2 a partir de los 25 años.	
- <15 puntos:	repetir FINDRISC a los 4 años.
- ≥15 puntos:	realizar glucemia basal.
a)	Si hay prediabetes, determinar HbA _{1c} o realizar TTOG. Control anual con glucemia basal y HbA _{1c} .
b)	Si no hay prediabetes: realizar FINDRISC cada año.

Fuente: Adaptado de Novials Sardá, A y cols (1).

También se deben considerar otros factores de riesgo, como son los factores de riesgo cardiovascular (FRCV), que se pueden ver incrementados con la prediabetes y, su vigilancia, puede también prevenir o ayudar en la detención de la aparición de esta (28).

Los parámetros que suelen ser evaluados con este fin son:

- Peso: debe ser medido en cada visita, siendo calculado también el índice de masa corporal (IMC) y el perímetro de la cintura (1,28).

- Presión arterial: La presión arterial objetivo deberá situarse por debajo de la cifra de 140/90 mmHg (1,28).

- Dislipemia: Se llevará a cabo un control del perfil lipídico anualmente, siendo la cifra objetivo de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) menor a 100 mg/dL (18).

- Tabaquismo: Se deberá llevar a cabo un programa con el paciente para que, en el caso de fumar, deje dicho hábito (1,28).

- Nutrición: Es primordial conocer sus hábitos alimentarios y su ingesta calórica diaria, reconduciendo con ello al paciente a un estilo de vida saludable (28).

- Actividad física: Todas aquellas personas con prediabetes o con riesgo de padecerla deberán rellenar una encuesta relacionada con el ejercicio físico para así conocer su nivel de actividad física (28).

- Riesgo cardiovascular: Suele calcularse por medio de escalas como la SCORE (*Systematic Coronary Risk Evaluation*), informatizada y calibrada en España (1,28).

1.5. FISIOPATOGENIA DE LA PREDIABETES

Cuando una persona se encuentra en condiciones de normalidad, sus niveles de glucosa se hallan estrictamente regulados por su organismo. La prediabetes y/o la evolución de un individuo hacia la DM2 causa graves anomalías en las concentraciones de insulina y de glucosa, lo cual se produce de forma continua a lo largo de los años (12). En el año 2.004, Weir describió un modelo de desarrollo de diabetes de varias etapas que corresponde a la evolución de esta, siendo marcada cada etapa por modificaciones en la masa de las células β -pancreáticas, en su fenotipo y en su función. La primera etapa de todas se define por un largo período de RI, que va acompañado de una compensación por el incremento de la tasa de secreción de insulina y, a su vez, un incremento de la cantidad de células β -pancreáticas (31).

La segunda etapa se correspondería con la adaptación estable, un período en el que las células β -pancreáticas ya no son capaces de compensar el proceso de RI, ocasionando que haya también una modificación en el fenotipo de dichas células y que se produzca, con todo ello, un incremento de los niveles de glucosa en sangre. Dicho período suele ir acompañado de una disminución de la secreción aguda de insulina cuando las concentraciones de GB son de 100 mg/dL (32).

En la tercera etapa del desarrollo de la diabetes o período inestable de descompensación temprana, las células β -pancreáticas son incapaces de compensar la RI cuando la glucosa se halla en niveles de 130 mg/dL y, por ello, las concentraciones de glucosa comienzan a incrementarse de forma verdaderamente rápida. Dicha etapa es, seguramente, la más importante por el hecho de que el individuo comienza a manifestar DM2 (31,32).

Existe una relación bidireccional entre los tejidos que poseen sensibilidad hacia la insulina y las células β -pancreáticas, estando unido el proceso de liberación de insulina a la sangre junto con el incremento de absorción de glucosa, ácidos grasos y aminoácidos por parte de aquellos tejidos "diana" sobre los que la insulina ejerce su acción. Todo ello se encuentra en una continua homeostasis regulada por

las células β -pancreáticas (1,33). Cuando estas son incapaces de realizar su función de forma correcta, al disminuir su capacidad de producción y secreción de insulina al torrente sanguíneo, es cuando se produce el incremento de glucemia y, con ello, los distintos estados clínicos definidos anteriormente por ITG o GBA (33).

1.5.1. Resistencia a la insulina en GBA e ITG.

Todos los efectos biológicos que realiza la insulina se desarrollan mediante su interacción con su receptor específico (IR). Este receptor es un heterotetrámero que pertenece a la subfamilia de los receptores de tirosina quinasa, y se localiza en la membrana plasmática de las células diana (músculo y tejido adiposo, ante todo). En aquellas personas que tienen una sensibilidad normal a la insulina, las células β -pancreáticas liberan esta hormona en respuesta al incremento de la glucemia, como puede ocurrir en el estado postprandial. Así pues, esta hormona se encarga de la inhibición de la gluconeogénesis, entre otros procesos, mejorando la captación de glucosa por los tejidos diana. En dichos tejidos, la insulina aumenta la movilización de GLUT-4 hacia la superficie de la célula por medio de vesículas de almacenamiento celulares. Dicho proceso, denominado traslocación, también se encuentra incrementado por el ejercicio físico. Esta hormona no penetra en las células, pero se va a encargar de iniciar una señal desde el receptor de membrana plasmática a enzimas sensibles a esta por medio de una cascada de señalización, estimulando entre otras cosas la transcripción de genes específicos. El IR se encuentra formado por dos subunidades α y dos subunidades β . La unión de la hormona con las subunidades α genera una autofosforilación de las subunidades β . Esto da lugar a que IR se transforme en una tirosina quinasa activa, que fosforilará a los sustratos del receptor de insulina (IRS) 1 y 2 y Shc, entre otros (34). Por lo tanto, la activación del IR por sus ligandos inicia una cascada de eventos de fosforilación. Shc activa la vía Ras-MAPK (proteínas quinasas activadas por mitógeno; los mitógenos son señales de procedencia extracelular que inducen la mitosis y la división celular); mientras que las proteínas IRS 1 y 2 activan principalmente la vía PI3K-AKT al reclutar y activar la ruta de la fosfaditilinositol 3-quinasa (PI3K). Este proceso producirá otra cascada de segundos mensajeros que, finalmente, dará lugar a la activación de la ruta AKT (también denominada proteína quinasa B). AKT media la mayoría de los efectos metabólicos de la

insulina. Una de sus funciones es la fosforilación de la glucógeno sintasa quinasa 3 (GSK3), y con ello una activación de la glucogenogénesis. AKT también participa en la traslocación de GLUT-4 a la membrana plasmática (1,34,35).

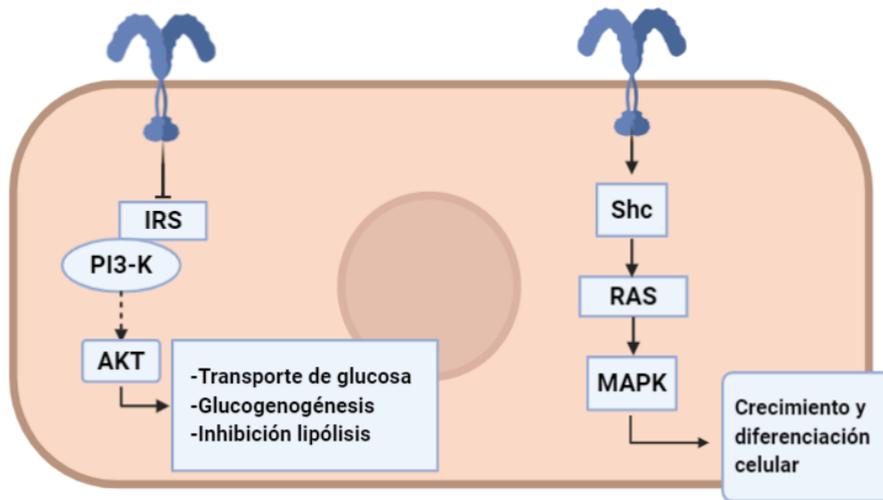


Figura 1. Vías de señalización de la insulina.

La RI puede definirse como una respuesta biológica alterada a la estimulación de esta hormona por parte de los tejidos diana. Esta RI altera la disminución de la glucemia, lo que genera un incremento compensatorio en la producción de insulina de las células β -pancreáticas, y con ello da lugar a una hiperinsulinemia (36,37). Las consecuencias metabólicas de la RI pueden resultar en hiperglucemia, hipertensión, adiposidad visceral, hiperuricemia, disfunción endotelial, dislipemia, elevación de marcadores inflamatorios y estado protrombótico. Por ello, su progresión puede provocar el denominado síndrome metabólico (SM) (38). El concepto de SM engloba en un solo término un conjunto de anomalías metabólicas que tienen en común una estrecha relación con el depósito ectópico de lípidos, RI e inflamación crónica. En muchas ocasiones, una exposición crónica a un balance calórico positivo es el estímulo necesario para la aparición y progresión de dicha condición. Los principales rasgos que podemos encontrar en el diagnóstico del SM son la hipertensión arterial, adiposidad central, hiperglucemia causada por una RI y dislipemia aterogénica (39). Entre las principales complicaciones de este síndrome se encuentra la DM2 (40).

Se cree que la RI precede al desarrollo de la DM2 en 10-15 años. El desarrollo de esta resistencia en general produce, como anteriormente se ha citado, un incremento de la producción de insulina endógena. Los niveles elevados de esta hormona se asocian directamente a dicha resistencia, y dan como resultado un incremento de peso que, a su vez, incrementan aún más esta condición. Así pues, se genera una retroalimentación positiva hasta que la actividad de las células β -pancreáticas no puede satisfacer de forma adecuada la demanda de insulina provocada por la RI, lo cual genera finalmente una hiperglucemia. Con el desajuste continuo entre la demanda de insulina y su producción, los niveles glucémicos se incrementan hasta dar lugar a la denominada DM2 (38).

La RI se produce por causas genéticas y causas adquiridas. Las causas genéticas incluyen mutaciones del receptor de insulina, del transportador de glucosa y de las proteínas de señalización (35). Las causas subyacentes de los estados de la RI también pueden clasificarse según si su efecto se produce antes del receptor de insulina (momento prerreceptor), en el propio receptor o tras el receptor de insulina (momento postreceptor). Las causas de la RI en el momento prerreceptor incluyen la presencia de anticuerpos antiinsulina y las mutaciones en esta hormona. Las causas de resistencia en el propio receptor incluyen la disminución del número de receptores, la modificación estructural del receptor y la presencia de anticuerpos que bloqueen dicho receptor. Si el efecto se produce en el momento postreceptor, esto puede deberse a fallos en la vía de señalización. Por lo general, la RI suele deberse precisamente a esta última causa. De hecho, suele tener lugar en la vía PI3K – AKT (35,41).

La RI en personas con GBA no va a ser la misma que en aquellas que tengan ITG. Esto se puede observar fácilmente en sus valores de glucemia en ayunas y tras dos horas de la realización del TTOG. Ambos grupos van a mostrar una RI, pero el lugar de origen de dicha resistencia va a ser diferente. En los estados de GBA, se observa una resistencia hepática elevada a la insulina con una sensibilidad hacia esta casi normal en el músculo esquelético. Las personas con GBA poseen, por tanto, una resistencia insulínica moderada y un deterioro precoz de la respuesta de exocitosis insulínica de las vesículas secretoras. Debido a que la respuesta insulínica de fase tardía en plasma está intacta y la sensibilidad a la insulina en músculo es normal o casi normal, tras dos horas del TTOG, los niveles de glucemia vuelven a estar en su estado inicial equivalente al de GBA en ayunas. Por otro lado,

las personas con ITG sí que tienen una moderada o incluso severa RI a nivel muscular, con pequeños cambios en su sensibilidad hepática y una insuficiencia insulínica temprana y tardía (60-120 minutos) durante el TTOG. Pese a que la intolerancia a la glucosa no suponga una elevación muy alta de la glucemia, se produce un incremento progresivo y sostenido de la concentración de esta en plasma durante el TTOG y, tras 2 horas de este, dicha cifra se mantiene muy por encima de los niveles obtenidos en ayunas (42,43).

Aunque las personas con GBA tengan valores de glucemia tras 2 horas del TTOG similares a aquellos individuos con normogluemia, el nivel de esta transcurrida una hora del test puede encontrarse elevado. Del mismo modo, los valores de glucemia tras una hora del TTOG en individuos con ITG es superior a aquellos con normogluemia, y siguen siendo superiores tras dos horas de este. En algunos estudios se ha demostrado que unos niveles de glucosa correspondientes a 155 mg/dL tras una hora del TTOG es un gran predictor de DM2 en personas con ITG (42).

1.5.2. Reducción de la masa y disfunción de células beta: desregulación de la glucosa.

Los pacientes con prediabetes comienzan a mostrar una disminución de la cantidad total de células β -pancreáticas. El origen de esta reducción es multifactorial, interviniendo procesos de glucolipototoxicidad, estrés oxidativo, fenómenos inflamatorios locales, estrés del retículo endoplasmático, etc. Así pues, en estados de RI, se va a producir una excesiva demanda de esta hormona, que no va a poder cumplir su función debido precisamente a la disminución de células β -pancreáticas (44).

Varios estudios realizados recientemente muestran que, antes de que se produzca la disminución y muerte de las células β -pancreáticas, existen métodos para intentar que dicha alteración no tenga lugar. Sin embargo, los mecanismos fisiológicos que emplea el organismo ante esta situación, como la activación de nuevas vías compensatorias, producen finalmente la destrucción de estas células (45,46).

- Desregulación de la glucosa

En ayunas, la producción de glucosa hepática tiene lugar gracias a los procesos de glucogenólisis y de gluconeogénesis, representando aproximadamente el 90% de la glucosa liberada a la circulación. Por el contrario, en el estado postprandial se suprime la producción de glucosa hepática para poder limitar el incremento de los niveles de glucosa en plasma, almacenando el hígado el exceso de este macronutriente en forma de glucógeno. Todos estos efectos se encuentran mediados en el estado de ayuno, debido a un incremento en la gluconeogénesis y una reducción de la concentración de insulina, unido a un aumento de otras hormonas como el glucagón. La insulina se va a encargar de la reducción de la producción de glucosa hepática gracias a la inhibición de enzimas gluconeogénicas como la enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK), que es inducida por la acción del glucagón sobre el hígado. Indirectamente, la insulina es capaz de reducir la producción de glucosa hepática gracias a su acción antilipolítica, al existir una fuerte correlación entre los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres y dicho proceso (47). La lipólisis es el proceso por el cual se produce una degradación de los lípidos hasta ser transformados en ácidos grasos y glicerol. Los primeros son oxidados por medio de la β -oxidación en el interior de la mitocondria celular. Esta oxidación genera coenzimas reducidos, mediante los que se obtiene energía, necesaria para procesos anabólicos como el de la gluconeogénesis. La insulina, por medio de la inhibición del proceso lipolítico, puede favorecer la inhibición de la gluconeogénesis, no solo debido a la disminución de ATP disponible, sino también por la mayor limitación del aporte de glicerol, sustrato fundamental para dicho proceso, debido precisamente a su mecanismo de acción sobre la lipólisis (48).

En estado basal, el 30% de la entrada a las células de glucosa va a estar mediado por insulina, mientras que, en estado postprandial, estos niveles se incrementan a un 85%, produciéndose la mayoría de este proceso en el músculo esquelético. Las células β -pancreáticas responden a un incremento en la concentración de glucosa con un aumento en la secreción de insulina, que depende de la sensibilidad hacia esta del individuo. Se ha observado que, gracias a la medida de la función de las células β -pancreáticas, se puede llegar a hablar hasta de una disminución del 80% de la secreción de insulina en sujetos con prediabetes, afectando a los procesos anteriormente citados (49).

1.5.3. Músculo esquelético y glucosa

La función principal de la insulina en el músculo esquelético es promover la captación de glucosa celular, un proceso controlado por medio de la traslocación desde el citoplasma a la membrana plasmática de GLUT-4. La captación de glucosa muscular estimulada por insulina es muy susceptible a la resistencia a esta hormona y, de hecho, es un componente principal de la RI típica asociada a la obesidad y a la DM2. La estimulación que realiza esta hormona sobre la síntesis de glucógeno requiere también de una captación intacta de la glucosa estimulada por insulina, para así proporcionar el sustrato necesario para llevar a cabo dicho proceso. Así pues, se producen deficiencias en la síntesis de glucógeno muscular o glucogenogénesis en personas con RI, siendo dicha reducción del 50% en sujetos con DM2 (50,51).

1.5.4. Estrés oxidativo: Función de las células β -pancreáticas

La hiperglucemia crónica que puede producirse en estos sujetos da lugar a diversas complicaciones, llegando a afectar a la función de las células β -pancreáticas por medio de la denominada "glucolipototoxicidad". Esta va a causar un proceso de retroalimentación positiva, al provocar una alteración en la secreción de insulina, agravando el ambiente que se ha generado a nivel metabólico. La combinación de niveles elevados de AGL y glucosa va a producir una menor secreción insulínica, la cual provoca también una alteración en el gen de esta y un incremento de la muerte celular (52).

En la hiperglucemia crónica, las células β -pancreáticas sobreestimuladas de forma constante muestran una disminución gradual de la secreción de insulina inducida por glucosa y de la expresión del gen de la insulina, alterando finalmente la función y la supervivencia de estas. A este proceso se le denomina glucotoxicidad. A medida que la hiperglucemia se vuelve crónica, la glucosa que normalmente sirve como combustible o sustrato se utiliza para generar metabolitos perjudiciales para las células β . La glucotoxicidad está mediada, al menos en parte, por la acumulación del exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS) producidas por varias vías metabólicas, incluida la fosforilación oxidativa mitocondrial y otras vías alternativas (53,54). La célula β -pancreática es vulnerable a las ROS porque

tiene una baja respuesta al estrés antioxidante (53). Las células β no expresan la enzima catalasa y solo son capaces de expresar niveles bajos de la enzima glutatión peroxidasa. Además, el estrés oxidativo producido por las ROS elevado es capaz de reducir la síntesis de proinsulina al disminuir la expresión de ácido ribonucleico mensajero (ARNm), por medio de la inactivación de los factores de transcripción específicos de células β , que regulan la expresión de genes de proinsulina y múltiples genes posteriores necesarios para la diferenciación, proliferación y supervivencia de estas (55). Por lo tanto, se cree que el estrés oxidativo es un factor importante en la fisiopatología de las células β .

1.5.5. Estrés de retículo endoplasmático

El retículo endoplasmático (RE) es un orgánulo muy dinámico, con un papel central en la biosíntesis de lípidos y proteínas. El RE es el encargado de sintetizar las proteínas y lípidos transmembrana para la mayoría de los orgánulos celulares y es responsable de la síntesis de casi todas las proteínas secretadas. Este orgánulo también tiene un papel importante en el almacenamiento y señalización de Ca^{2+} . La concentración de Ca^{2+} en el interior del RE en reposo es de tres a cuatro veces más alta que la concentración de Ca^{2+} citosólico. Este gradiente es generado por la ATPasa de calcio del retículo sarcoplasmático (SERCA), que bombea Ca^{2+} al RE, y a los receptores de rianodina, que liberan Ca^{2+} del RE. Debido a su capacidad para almacenar y secretar Ca^{2+} , el RE controla una amplia gama de procesos celulares como la organogénesis, la actividad transcripcional, las respuestas al estrés y la apoptosis (56). El RE es muy sensible a las alteraciones en la homeostasis, y las proteínas formadas en este pueden no lograr la conformación correcta debido a concentraciones de calcio alteradas, deprivación energética o de glucosa, glucosilación inadecuada, hipoxia, toxinas y otros componentes asociados a patógenos (1). Las proteínas deben plegarse en sus conformaciones nativas. Por lo general, son las chaperonas y algunas enzimas las encargadas de que dicho proceso de plegamiento tenga lugar de forma correcta. Sin embargo, las proteínas que no están plegadas correctamente suelen exponer superficies hidrofóbicas al exterior, que las convierten en "adhesivas", conduciendo a la formación de agregados inactivos (34). La acumulación de proteínas mal plegadas produce que estas se acumulen en la luz del RE, provocando el denominado estrés del retículo

endoplasmático y la activación de la respuesta a las proteínas desplegadas o UPR (*unfolded protein reponse*) (57,58). El objetivo de UPR es aliviar el estrés del RE, restaurar la homeostasis del orgánulo y prevenir la muerte celular. Para lograr estos objetivos, UPR induce varias respuestas coordinadas que incluyen: [1] una disminución en la llegada de nuevas proteínas al RE, evitando así el plegamiento de proteínas adicional y la sobrecarga del orgánulo; [2] un aumento en la cantidad de chaperonas del RE, aumentando así la capacidad de plegamiento de este para tratar con proteínas mal plegadas; [3] un aumento en la extrusión de proteínas plegadas irreversiblemente desde el RE y, posteriormente, la degradación de estas en el proteosoma; [4] en el caso de que los pasos descritos anteriormente fallen, se desencadena la apoptosis o muerte celular (59).

Además, el estrés del RE activa a la enzima c-Jun N-terminal quinasa (JNK) en tejido adiposo, hígado y páncreas. Esta quinasa genera RI debido a la fosforilación de los grupos serina del sustrato 1 del IRS1, un intermediario fundamental en la cascada de señalización de esta hormona, generando también la activación de vías metabólicas relacionadas con la inflamación (60,61).

1.6. TRATAMIENTO DE LA PREDIABETES

Desde hace más de 30 años, son múltiples los estudios que se han realizado en relación con la prevención de la DM2 y de la prediabetes, además del consecuente tratamiento de la segunda para que esta no se convierta en una patología como tal. La mayoría de ellos se ha efectuado en una población con una edad superior a los 40 años, especialmente en aquellos con ITG, tanto en hombres como en mujeres, siendo los lugares de realización diversos (China, Japón, Europa y América). Uno de los últimos estudios realizados fue una revisión sistemática denominada *The Community Preventive Services Task Force (Task Force)*, en EE. UU., con el fin de observar la eficacia de los programas dietéticos y de ejercicio físico en la prevención de DM2 y prediabetes. En esta revisión se obtuvieron las siguientes conclusiones en relación a los programas de ejercicio y dietas realizadas con el fin de prevenir la diabetes: (1,62)

- Disminución de la aparición de DM2 en un 41% de los casos (62).
- Reversión a normoglucemia en un 53% de los casos (62).
- Disminución de GB, aproximadamente en 2,2 mg/dL (62).

- Bajada de peso corporal de, aproximadamente, un 2,2% de los casos (62).
- Disminución de presión arterial sistólica (1,6 mmHg) y diastólica (1,6 mmHg) (62).
- Disminución de colesterol total e incremento de colesterol HDL (62).
- Decremento de HbA_{1c} en el 0,08% de los casos (62).

Así pues, una de las recomendaciones del estudio fue implementar un programa de ejercicio y la realización de dieta en aquellas personas que tuvieran algún tipo de riesgo de tener finalmente DM2 y/o prediabetes (62).

El objetivo primordial para todo tipo de tratamiento de prediabetes es, en líneas generales, conseguir reestablecer el estado de normalidad, revirtiendo con ello esta situación. Para ello, entre los objetivos más específicos se encuentran una reducción del peso corporal de cada uno de los pacientes; realización de ejercicio físico; y una reducción de la GB. Así pues, no se buscan medidas farmacológicas con dicho fin, sino la modificación de los hábitos de estilo de vida y, con ello, un incremento de la tolerancia a la glucosa y una disminución de la GBA (63,64).

Como anteriormente se ha mencionado, son múltiples los estudios realizados con el objetivo de tratar la prediabetes por medio de los hábitos dietéticos y de vida. Un gran ejemplo de ello es el *Japanese Study*, en el que se logró una disminución del 67% en el riesgo de diabetes mediante el tratamiento de la prediabetes (63–65).

Otro de los factores a tener en consideración en referencia a la prediabetes y la diabetes es el coste económico producido a nivel sanitario. Las intervenciones realizadas de forma no farmacológica no solo han demostrado ser efectivas; también han conseguido disminuir de gran forma ese coste anteriormente citado tal y como se pudo observar en el estudio DE-PLAN-CAT/PREDICE realizado en Cataluña, en el que se observó que el 36.5% de la población obtuvo resultados, consiguiendo con ello también una gran disminución del coste (66).

1.6.1. Disminución de peso como prevención

Se ha observado que uno de los objetivos más importantes en la prevención de DM2 y tratamiento de la prediabetes es la pérdida de, aproximadamente, más de un 5% del total del peso corporal. Esa pérdida de peso producida ha de mantenerse en el tiempo, conservando al mismo tiempo la masa muscular del sujeto gracias, en primer lugar, a la realización de una dieta equilibrada y a la

realización de ejercicio físico de forma periódica, consiguiendo con ello un equilibrio en la relación ingesta calórica/ ejercicio (67,68).

1.6.2. Ejercicio físico y prevención de prediabetes

El ejercicio físico (EF) es una herramienta fundamental tanto para prevenir como para abordar la prediabetes, ya que se ha observado que genera un gran cambio en el estilo y la calidad de vida de las personas que lo realizan. El programa empleado ha de ser similar a aquel utilizado en personas sedentarias sin esta afección (69).

El EF es definido como aquel movimiento de carácter voluntario que ha sido planificado previamente y tiene una estructura clara, la cual se realiza de forma repetitiva, formando parte de la actividad física global del individuo (25,69).

El plan de EF del sujeto debe tener en primer lugar una anamnesis o evaluación médica para observar el riesgo del individuo y sus posibles limitaciones. Para poder prescribir el ejercicio, hay que prestar atención a componentes como el tipo de ejercicio, la frecuencia, la duración y la intensidad de este (25,69).

El ejercicio deberá perseguir los siguientes objetivos:

- Modificar el hábito del paciente a corto plazo, abandonando el estilo de vida sedentario (69).

- Incrementar la frecuencia de ejercicio, llegando a la realización de 3 a 5 veces por semana, siendo este un objetivo a medio plazo (69).

- Conseguir un incremento de dicha frecuencia y adecuación al estilo de vida activo (69).

Este programa de ejercicio debe de ser individual para cada uno de los sujetos, de tipo aeróbico e isotónico, con una duración aproximada de unos 150 minutos por semana y de una intensidad incremental, conociendo la carga máxima de cada persona y no sobrepasando el 75% de su frecuencia cardíaca máxima, la cual puede ser estimada por medio de la fórmula de Fox y Haskell, en la que esta se obtiene restando a 220 la edad del sujeto (69,70).

1.6.3. Nutrición para la prevención de la prediabetes

La modificación del estilo de vida del individuo con prediabetes es fundamental para poder abordar esta y conseguir que el sujeto vuelva al estado de salud inicial. Para ello, uno de los pilares fundamentales que hay que abordar es la nutrición. Las metas que se quieren alcanzar con el tratamiento dietético son, entre otras, conseguir unos niveles normales de glucemia y de lipidemia; alcanzar un normopeso o cifras cercanas a este; individualizar la dieta de cada persona, al igual que el entrenamiento; y finalmente mejorar el estado de salud de los sujetos. Para todo ello, hay que tener en cuenta a cada paciente y con ello se le debe aplicar una educación nutricional adecuada, con recomendaciones a nivel dietético precisas y flexibles para conseguir el éxito. Se debe calcular la energía diaria necesaria para cada individuo y proporcionarle, según sus gustos y necesidades, una dieta o una serie de recomendaciones dietéticas que restrinjan la ingesta de ácidos grasos saturados, carbohidratos refinados y alcohol, disminuyendo también el consumo de sal (71).

Uno de los elementos que debemos tener en cuenta es el hecho de que, al menos, de un 45 a un 55% de la energía requerida por el individuo para cada día debe incorporarse en forma de carbohidratos complejos, empleando los carbohidratos simples o de rápida absorción en pequeñas cantidades, componiendo solo entre el 5 y el 10% de la energía total empleada durante el día. La cantidad diaria debe situarse entre 3-5 g/Kg/día (72).

Para controlar la glucemia de un individuo a nivel dietético, una de las estrategias importantes también podría ser conocer el índice glucémico de cada alimento, el cual se define como la medida en la que los alimentos son capaces de elevar dicha glucemia tras la ingesta, siendo comparada esa elevación con la producida por la misma cantidad de un determinado alimento (glucosa o pan blanco). Sin embargo, la ADA afirma que todavía no existen evidencias suficientes para recomendar dietas con un bajo índice glucémico (73,74).

A nivel de glucemia, otros macronutrientes como las proteínas no influyen en la concentración glucémica, pero sí en la secreción insulínica, por lo que también se debe tener en cuenta a la hora de la ingesta del individuo (72,74).

Una de las recomendaciones dietéticas que se realizan para sujetos prediabéticos es la sustitución de sacarosa por edulcorantes como polialcoholes,

sacarina, aspartamo, acesulfamo potásico, etc. Sin embargo, se aconseja “educar” al paladar y adaptarlo a los sabores auténticos de los alimentos (75).

Por último, las grasas van a influir mucho en el perfil lipídico, ante todo por la composición de ácidos grasos que tenga cada alimento. Estos ácidos grasos pueden dividirse en saturados, monoinsaturados o poliinsaturados (71). Los ácidos grasos saturados son los responsables de un incremento notorio del c-LDL, y con ello del incremento de riesgo cardiovascular. Para poder impedir que esto ocurra, se aconseja que el consumo de estas grasas no supere el 10% del total calórico (76). Por otro lado, cabe destacar la acción beneficiosa ejercida tanto por los ácidos grasos monoinsaturados como por los poliinsaturados, los cuales se caracterizan por tener un doble enlace o más de uno en su estructura. Los ácidos grasos monoinsaturados tienen un doble enlace y son capaces de incrementar el colesterol de lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) y de disminuir tanto los triglicéridos (TG) como el c-LDL. Los ácidos grasos poliinsaturados poseen más de un doble enlace. Dependiendo de dónde se sitúen se clasifican como omega 6 (tienen el primer enlace doble en el sexto carbono desde el metilo terminal y son capaces de reducir el c-LDL), omega 3 (tienen el primer doble enlace en el tercer carbono desde el metilo terminal y son capaces de reducir los triglicéridos, incrementando también el c-HDL) y omega 9 (tienen el primer doble enlace en el noveno carbono). Se aconseja que el consumo de ácidos grasos poliinsaturados abarque de un 6 a un 7% del total de los requerimientos energéticos, mientras que el de ácidos grasos monoinsaturados sea de un 13 hasta un 15% (76). Es importante reducir en gran cantidad el consumo de ácidos grasos trans de la dieta de personas con prediabetes, ya que son ácidos grasos que producen un incremento de c-LDL, y a su vez un descenso de c-HDL, generando con ello un incremento del riesgo cardiovascular (76).

En relación con la fibra dietética, esta es realmente importante en el control glucémico y lipídico. Se recomienda la ingesta de 35 a 40 gramos por día de fibra (77).

1.6.3.1. *Los nutraceuticos en la prevención de la prediabetes*

Una correcta nutrición es fundamental para poder prevenir e incluso combatir la prediabetes, ya que esta es esencial para el correcto funcionamiento de todas las funciones fisiológicas y metabólicas de nuestro organismo. Hoy día, las

nuevas disciplinas y métodos de producción alimentaria se han centrado en la fabricación de productos completamente naturales con una orientación a nivel preventivo o, incluso, terapéutico. La industria alimentaria se ha especializado en el diseño de nuevos alimentos destinados a poblaciones específicas, con el fin precisamente de prevenir enfermedades o añadir propiedades beneficiosas a dichos alimentos. Es así como aparecen los denominados nutraceuticos (78).

La palabra nutraceutico deriva de la unión de dos palabras: nutrición y farmacéutico. El término fue empleado por primera vez en el año 1.989 por Stephen L. Defelice, quien creó también la Fundación para la Innovación en Medicina en el año 1.976. En el año 2.011, Sephen L. Defelice definió nutraceutico como un alimento o parte de este, el cual actúa como un suplemento a nivel dietético, generando beneficios a nivel médico o de salud, pudiendo incidir en la prevención y el tratamiento de la enfermedad (79). El término nutraceutico se refiere a cualquier componente alimenticio no tóxico que tiene beneficios para la salud, los cuales están científicamente comprobados, y que puede intervenir en la prevención y tratamiento de enfermedades (80).

Estos componentes tienen como materia prima la botánica. Dicha industria se encuentra en un crecimiento rápido y constante, que oscila entre un 7 y un 12% anual, alcanzando el mercado global los 450 mil millones de dólares en 2.015 (81).

Los nutraceuticos se emplean para diferentes áreas terapéuticas como resfriados, trastornos del sueño, digestión, tos y prevención de diferentes enfermedades como cáncer, osteoporosis, hipertensión, hipercolesterolemia, DM2, etc. Estos, además, pueden dividirse en diferentes categorías, siendo la más común aquella basada en las fuentes alimenticias de las que este procede, además de su mecanismo de acción, su naturaleza química, etc. Si nos referimos a las fuentes alimenticias, podemos dividir estos nutraceuticos en: fibra dietética; probióticos; prebióticos; ácidos grasos poliinsaturados; vitaminas con función antioxidante; polifenoles; y especias (82,83).

- Polifenoles.

Los polifenoles forman un gran grupo de fitoquímicos producidos por las plantas como metabolitos secundarios con el fin de protegerlas del estrés que puedan sufrir a nivel físico o por ROS, teniendo por lo tanto grandes propiedades antioxidantes. Existen, aproximadamente, unas 8.000 clases distintas de estos,

siendo los principales los ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, alcoholes fenólicos y lignanos (84). Estas moléculas o sustancias se encuentran principalmente en frutas, verduras, té verde y cereales integrales. El monómero básico en los polifenoles es el anillo fenólico. Dependiendo de diversos factores como la maduración de la planta, la temperatura a la que haya crecido, la luz y/o su respuesta hacia los patógenos, la composición en estos polifenoles puede verse muy afectada (85,86).

- Flavonoides.

Es el grupo de polifenoles más presente entre las plantas. Su estructura es un difenilpropano con dos anillos aromáticos que se unen formando un heterociclo oxigenado. Dependiendo de la oxidación de la cadena de átomos de carbono, podemos encontrar una subclasificación de estos polifenoles, siendo los más comunes los siguientes: flavonas, isoflavonas, flavonoles (catequinas y proantocianidinas), antocianidinas, flavanoles y flavononas (87).

Tabla 2. Flavonoides más comunes y alimentos en los que se encuentran. Modificado de (87).

Subclase	Flavonoides	Alimentos
Flavonol	▪ Kaempferol	
	▪ Quercetina	Cebolla, vino tinto, col rizada, aceite de oliva, brócoli, manzanas, cerezas, bayas, pomelo y té.
	▪ Miricetina	
	▪ Tamarixetina	
Flavonas	▪ Crisina	
	▪ Apigenina	
	▪ Rutina	Piel de frutas, vino tinto, trigo sarraceno, pimiento rojo, piel de tomate, perejil, tomillo.
	▪ Luteolina	
	▪ Tangeretina	
Flavanonas	▪ Naringina	
	▪ Naringenina	Frutas cítricas, pomelos, limones y naranjas.
	▪ Taxifolina	
	▪ Hesperidina	

Tabla 2. *Continuación.* Modificado de (87).

Subclase	Flavonoides	Alimentos
Flavanol	▪ Catequinas	Manzanas y té
	▪ Epicatequinas	
	▪ Epigallocatequinas	
	▪ Proantocianidinas	
Antocianidinas	▪ Apigenidina	Cerezas, moras, fresas y uvas
	▪ Cianidina	
	▪ Delfinidina	
	▪ Malvidina	
Isoflavonas	▪ Genisteina	Soja y legumbres
	▪ Daidzeina	

- Ácidos fenólicos.

Entre los ácidos fenólicos están los ácidos hidroxibenzoicos como el ácido gálico (AG) y el ácido protocatecuico, que se encuentran en muy pocos alimentos de origen vegetal, destacando el té verde, los frutos rojos y el aceite de oliva; y los ácidos hidroxicinámicos, que son más usuales que los hidroxibenzoicos. Entre los hidroxicinámicos se encuentran el cafeico, el ferúlico y el cumárico. La combinación de algunos de estos, como el ácido cafeico y el quínico da lugar al ácido clorogénico, que suele encontrarse en el cacao y el café (86,88).

- Alcoholes fenólicos.

Entre ellos destacan el tirosol y el hidroxitirosol, que se encuentran ante todo en el vino, cerveza y aceite de oliva virgen extra (89,90).

- Estilbenos.

Los estilbenos no suelen estar muy presentes en los alimentos. El más representativo es el resveratrol, que podemos encontrar en gran medida en la piel de la uva, además de en el vino (91).

- Lignanos.

Los lignanos son dímeros fenólicos. Se sabe que tales compuestos existen como componentes minoritarios de muchas plantas, donde forman los componentes básicos para la formación de la lignina en la pared celular. En el centeno, los lignanos se encuentran predominantemente en la fracción del salvado (92).

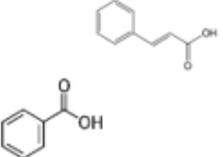
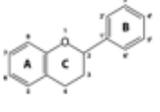
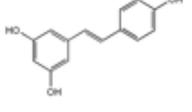
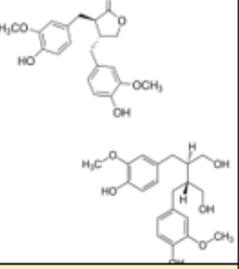
POLIFENOLES			
ÁCIDOS FENÓLICOS	FLAVONOIDES	ESTILBENOS	LIGNANOS
			
SUBCLASES MÁS IMPORTANTES			
<p>Ácido benzoico Ácido cinámico</p>	<p>Flavonoles Flavonas Flavanonas Flavanoles Antocianidinas Isoflavonas</p>	<p>Resveratrol</p>	<p>Matairesinol Secoisolariciresinol</p>

Figura 2. Clasificación de polifenoles.

1.7. SCLEROCARYA BIRREA COMO NUTRACÉUTICO EN EL TRATAMIENTO DE LA PREDIABETES

1.7.1. Taxonomía, características y distribución de *Sclerocarya birrea*

En África, una gran parte de la población (un 80% aproximadamente) sigue empleando prácticas curativas, utilizando plantas medicinales a diario para sus necesidades sanitarias, pese al gran avance tecnológico y médico existente hoy día. Desde hace pocos años, algunos de los medicamentos africanos utilizados usualmente se han seleccionado para la investigación de sus acciones a nivel

farmacológico y sus componentes químicos, en un intento de poder establecer una base científica que fundamente dichos efectos. Una de las plantas medicinales más empleadas en Sudáfrica es *Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst. Este árbol, también conocido como la marula, pertenece a la familia Anacardiaceae, y su nombre deriva de la palabra griega “skleros”, que significa “duro”, y “karyon” que significa “nuez”. Por otro lado, *birrea* deriva de “birr”, el nombre empleado de forma común en Senegal para el árbol. Este tiene múltiples usos, incluido el consumo de sus frutos, los cuales se comen frescos o, incluso, en forma de cerveza. También se utilizan los granos e incluso se extrae su aceite. Su corteza y sus hojas se emplean con fines medicinales, y su madera es tallada para elaborar cucharas y platos, así como figuras de decoración (93,94).

Su fruto es de color amarillo pálido, similar a la ciruela, de 3-4 centímetros de diámetro, suele pesar entre 15 y 25 gramos y tener carne de tipo mucilaginoso. El árbol tiene una altura comprendida entre los 7 y 17 metros, con corteza gris fisurada y ramas gruesas. Sus hojas miden unos 60 mm de largo y tienen un color verde oscuro. Suele crecer en suelos drenados (94). Este árbol se encuentra distribuido por toda África, tanto en climas cálidos como en fríos. Se encuentra en todo el este y sur de este continente, situándose en 29 países tales como Senegal, Costa de Marfil, Malí, Ghana, Sudán y Nigeria. En general, dichos árboles suelen crecer a altitudes moderadas (entre 0 y 500 metros) (95).

1.7.2. Composición y análisis bioquímico de *Sclerocarya birrea*

Los análisis realizados para conocer la composición bioquímica de *Sclerocarya birrea* (SB) han revelado que contiene una gran cantidad de ácido ascórbico y el zumo de sus frutos contiene hidrocarburos sesquiterpénicos como el cariofileno, el α -humuleno y el copaeno. Los sesquiterpenos o sesquiterpenoides son un grupo de compuestos que se encuentran dentro del grupo de los terpenos, que comprenden tres moléculas de isopreno. Por otro lado, las semillas de la fruta contienen una gran cantidad de aceite y de proteína, concretamente un 53% de aceite, un 28% de proteínas y un 8% de carbohidratos. La corteza contiene entre un 3.5% y un 20.5% de taninos y trazas de alcaloides. Los taninos y los flavonoides se encuentran presentes también en las hojas, pero no se han encontrado alcaloides, esteroides ni triterpenoides en estas (94,96). En general, la semilla de SB tiene

cantidades notorias de fósforo, calcio, potasio, hierro y cobre. Por otro lado, el contenido en sodio, manganeso y zinc se encuentra por debajo de los niveles recomendados para el crecimiento de algunos animales (94). El contenido proteico de las semillas también es considerable, predominando ante todo el ácido glutámico y la arginina. Pese a ello, tiene bajas proporciones de aminoácidos como leucina, lisina, fenilalanina, treonina y tirosina según las recomendaciones de la OMS (94). El fruto es muy rico en ácido ascórbico y el extracto de su jugo contiene hasta 33 hidrocarburos sesquiterpénicos (94,97). En dicho extracto se encuentran desde ácidos orgánicos; polifenoles pertenecientes a los ácidos hidroxibenzoicos; flavonoides; estilbenos; hasta derivados de ácidos grasos. Entre los ácidos orgánicos destacan el ácido quínico, málico, ácidos cítricos, ácido succínico y ácido dicarboxílico (98). Por otro lado, entre los polifenoles que puede contener el extracto de la corteza del tronco de SB se hallan los ácidos hidroxibenzoicos como el AG (98,99). Los flavonoides son los polifenoles más abundantes en SB, y entre ellos se pueden encontrar las proantocianidinas, además de catequinas, EC y epigallocatequinas (98,100). También están presentes flavonoles como el glucósido de quercetina y flavanonas. Entre los estilbenos destacan ante todo el trihidroxiestilbeno glucosil-O-galato y el pentametoxiestilbeno (98).

1.7.3. Usos de SB

Este árbol, conocido también como marula, ha sido realmente utilizado por la población africana debido a su gran potencia de cultivo y la gran cantidad de productos que pueden obtenerse de él. Su periodo de producción dura varios meses, y se ha identificado como una especie clave en el apoyo de diversas empresas basadas en la fruta, cerveza, aceite, etc. (101).

1.7.3.1. *Pulpa y zumo*

De la gran cantidad de nutrientes que contiene SB en su fruto, quizás el que más ha atraído la atención sea la vitamina C. De hecho, este micronutriente es realmente importante para evitar el escorbuto; una enfermedad muy abundante en la zona de cultivo del árbol. Por otro lado, el fruto contiene pequeñas cantidades de tiamina, riboflavina y ácido nicotínico. Además de su gran cantidad de ácido cítrico y ascórbico, destacan también el málico y el tartárico (101).

1.7.3.2. *Aceite de marula*

En Sudáfrica, el aceite obtenido de los granos de marula es empleado para diferentes fines. Las mujeres de la región de Limpopo lo emplean para masajear a los recién nacidos e incluso como loción corporal. Las poblaciones de Sudáfrica han estado empleándolo como protección contra la piel seca y agrietada y como champú para el cabello seco, dañado y frágil. También es empleado como base para la elaboración de jabón (102).

El aceite de marula es similar al aceite de oliva si hacemos referencia a su contenido en ácido oleico, por lo que también puede emplearse en la industria alimentaria y no solo en la cosmética (103)

1.7.3.3. *Cerveza de marula*

Esta bebida ha formado, desde antaño, parte integral de la cultura local y de la actividad social de África. Los africanos creen que tiene poder afrodisíaco. La vida útil de esta cerveza es bastante corta, de 2 a 4 días, dependiendo siempre de la temperatura ambiente a la que se encuentre, siendo la del verano superior a los 30°C. Sin embargo, se ha observado que esta bebida puede ser almacenada hasta tres años siempre y cuando se encuentre en recipientes de arcilla o plástico sellados y enterrada bajo tierra o refrigerada (101).

1.7.3.4. *Usos medicinales*

Casi todas las partes de SB se emplean con fin medicinal, pero ante todo son utilizadas la corteza y las hojas. El extracto acuoso de la corteza se ha administrado en múltiples estudios con la finalidad de controlar la diabetes, demostrando en los resultados su poder hipoglucemiante y, con ello, dando crédito a esa propiedad. La corteza es empleada también para la disentería, la diarrea, las picaduras de insectos, las quemaduras y otras enfermedades. Por otro lado, la decocción o infusión de su raíz también es empleada como antiemético, regulador de menstruación e incluso para dolencias cardíacas (101).



Figura 3. Fruto de SB. Extraído de Cock, C (104).

1.7.4. Actividad farmacológica de SB

Debido a su amplio uso a nivel medicinal, se han realizado varios estudios a nivel biológico de SB para conocer sus componentes y con ello su posible actividad farmacológica y nutracéutica. Así pues, se ha analizado su actividad antioxidante, sus propiedades antidiabéticas, sus actividades antipalúdicas, etc. observando la base de sus componentes químicos (94).

1.7.4.1. Actividad antioxidante de SB

Los metaanálisis más recientes muestran la clara asociación entre alimentos con un alto contenido en polifenoles y la disminución del riesgo de ECV por modificaciones relacionadas con los factores de riesgo, como disminución del colesterol total o de la presión arterial (105,106). Además, diversos marcadores bioquímicos de dislipemia, inflamación, estrés oxidativo y RI se encuentran entre los marcadores de riesgo cardiovascular modificables que responden a la intervención dietética (107–110).

Los extractos metanólicos de las hojas, raíces, corteza y aceite de SB fueron analizados para medir la capacidad de eliminación de radicales libres y actividad antioxidante de estos. Dichos extractos mostraron una cantidad de compuestos fenólicos bastante elevada y tuvieron una actividad muy eficaz a la hora de la inhibición o disminución de la actividad de las ROS. Según diversos estudios, el

extracto de aceite de las semillas es el más efectivo en la capacidad de eliminación de ROS, seguido de los extractos de la raíz, hojas y corteza (111).

Los compuestos fenólicos de SB, además de tener un alto poder antioxidante y ejercer una gran eliminación de ROS, parecen ser capaces de regular las vías de señalización involucradas en la supervivencia celular, el crecimiento y la diferenciación. Es por ello por lo que dietas con un alto contenido de estos compuestos pueden ayudar a fortalecer nuestro sistema de defensa antioxidante (112). La excesiva producción de radicales libres unido a la peroxidación lipídica se hallan directamente relacionados con la patogénesis de una gran cantidad de enfermedades como la aterosclerosis, isquemia, carcinogénesis, trastornos neurodegenerativos, etc. (113). De hecho, algunos estudios confirman que la DM puede producirse debido a un desequilibrio entre la formación de radicales libres y la capacidad que tienen los antioxidantes de nuestro organismo para poder combatirlos. Además, este desequilibrio puede producir alteraciones de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos; componentes que juegan un papel clave en el desarrollo y la progresión de esta enfermedad, así como de sus complicaciones (114). Los antioxidantes pueden inhibir la actividad de estos radicales libres por medio de múltiples mecanismos, como la destrucción de estos y la inhibición de su formación (115). Se ha observado que, posiblemente, los ácidos fenólicos, como los que contiene SB, pueden generar efectos moduladores en GLUT, al mejorar la expresión de GLUT-2 de las células β -pancreáticas, incrementando su expresión y promoviendo la traslocación de GLUT-4 a través de la vía de las quinasas activadas por mitógenos (MAPK) y la vía del fosfatidilinositol 3 quinasa PI3K/AKT (116,117).

Otro de las posibles acciones de los polifenoles contenidos en SB es la inhibición de la glicación de proteínas y lípidos, y con ello la menor producción de productos finales de la glicación avanzada (AGEs), los cuales pueden conllevar consigo problemas como miocardiopatías (118).

1.7.4.2. *Propiedades antiinflamatorias y analgésicas de SB*

La SB es utilizada de forma tradicional en África con fines medicinales, precisamente por su eficacia en el tratamiento contra la inflamación. Un estudio realizado por Ojewole evaluó el efecto antiinflamatorio de la corteza del árbol y los extractos metanólicos obtenidos de esta. Estos extractos redujeron, concretamente con cantidades de 500 mg/kg, el edema que tenían las ratas empleadas, causado

por inyecciones de albúmina de huevo. Dicha disminución se debió a la inhibición de la acción de la histamina y las prostaglandinas, gracias a su actividad antiinflamatoria (119,120). Otro estudio llevado a cabo por Fotio y cols. (121) consiguió observar el efecto que tenía el extracto de SB en un ensayo clínico realizado tanto *in vitro* como *in vivo*, en el que observó una disminución significativa de diversas citoquinas, entre las que se encontraba la interleuquina-6 (IL-6).

Son múltiples los estudios que nos hablan de las propiedades antiinflamatorias de los polifenoles contenidos en SB, como el AG y las catequinas y epigallocatequinas y los estilbenos, y cómo estos son capaces de generar una disminución de marcadores proinflamatorios como IL-6 y E-Selectina, y un incremento de los marcadores antiinflamatorios (121–129).

- IL-6.

La IL-6 es una de las principales citoquinas proinflamatorias. Se encuentra involucrada principalmente en varios procesos inflamatorios controlando la diferenciación, migración, proliferación y apoptosis celular. Los miocitos, células endoteliales, fibroblastos, adipocitos y células inmunitarias son las principales fuentes de producción de IL-6. El tejido adiposo es el responsable de producir de un 10% a un 35% de la cantidad total de esta interleuquina, y su concentración se incrementa con el nivel de adiposidad del sujeto. Esta interleuquina participa en el desarrollo de la RI y la DM2 a través de varias vías, como la inducción de la expresión de la proteína supresora de la señalización de citoquinas 3 (SOCS-3) que inhibe la señalización de la insulina. También es capaz de alterar la fosforilación del IRS1 (130,131).

- E-selectina.

El reclutamiento y la adhesión de los monocitos en el endotelio vascular es una de las señales más tempranas que se producen en la aterosclerosis (132). Las selectinas son moléculas pertenecientes a la familia de las moléculas de adhesión celular (MAC), dependientes de calcio. Estas se involucran principalmente en la movilización de leucocitos hacia el lugar en el que se ha producido una inflamación

(133). Normalmente, las células endoteliales vasculares no suelen adherirse a los leucocitos, pero al ser estimuladas por sustancias inflamatorias son capaces de expresar moléculas de adhesión en su superficie, como integrinas leucocitarias LFA-1, que incrementan dicha adhesividad y el rodamiento de los leucocitos a lo largo del endotelio por medio de la diapédesis, lo que genera que estos puedan llegar a la matriz extracelular donde se está produciendo el proceso inflamatorio, gracias a la interacción con las moléculas de adhesión vascular, como VCAM-1 e ICAM-1 (134). La E-selectina es la encargada de actuar en la adhesión del leucocito que tiene lugar en el endotelio, tras haber sido estimulada de forma previa por medio de interleuquina-1 (IL-1) y otros agentes de tipo inflamatorio como el Factor de Necrosis Tumoral (TNF) (132,133).

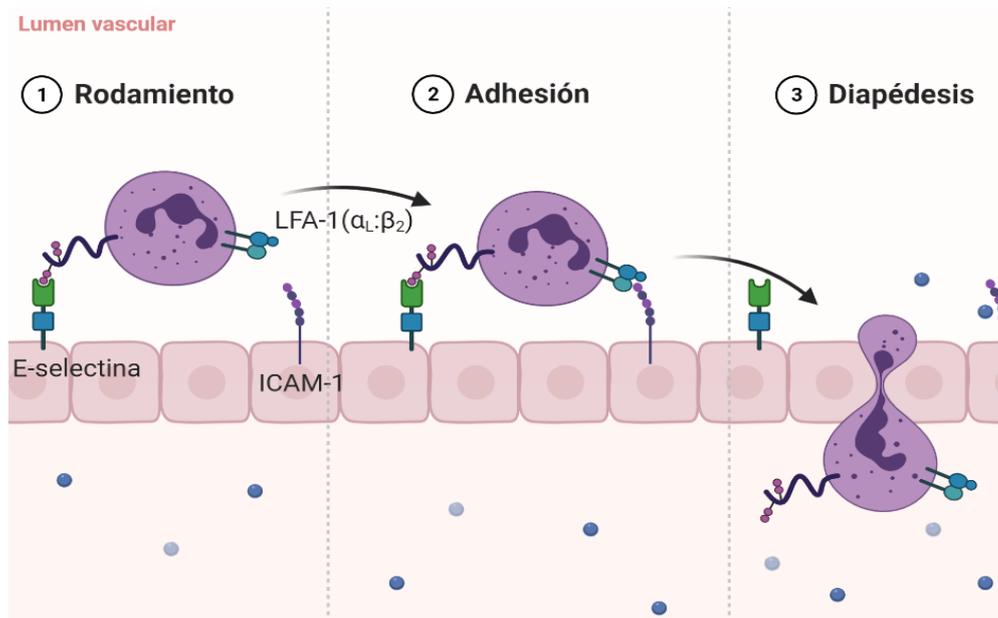


Figura 4. Mecanismo de acción E-selectina

1.7.4.3. *Propiedades antimicrobianas de SB*

Varios estudios han demostrado la utilidad de las plantas medicinales en varias enfermedades como la tripanosomiasis o enfermedad del sueño, enfermedad parasitaria que depende de un vector específico para su propagación.

Los extractos metanólicos de las hojas, corteza y tronco de SB mostraron su letalidad frente al microorganismo *Trypanosoma brucei brucei in vitro*. Pese a todo, no se conoce el mecanismo de acción concreto por el cual se produce esta mortalidad. Por otro lado, la marula mostró actividades antipalúdicas *in vitro* e *in vivo* frente a *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium berguei*, siendo el primero más sensible a los extractos de SB (135,136).

En otro estudio, se observó la eficacia de la marula y el extracto metanólico y etanólico de su corteza contra *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*, siendo el halo de inhibición superior o igual a 10 mm. En *S. typhimurium* se consiguió un halo de inhibición de 20 mm, mientras que en *E. coli*, este fue de 17 mm (137).

Además, SB también puede impedir el crecimiento de organismos fúngicos patógenos como *Candida albida*s y *Candida parapsilosis* gracias al extracto acetónico contenido en su corteza, siendo su concentración mínima inhibitoria de 0.12 mg/mL en *Candida albida*s. También se ha comprobado cómo el extracto etanólico de su raíz es capaz de inhibir el crecimiento de *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida kruseii*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans* y *Candida parapsilosis* (138).

1.7.4.4. Propiedades antihipertensivas de SB

Algunos estudios muestran la actividad antihipertensiva de SB y sus efectos vasodilatadores, causados por los extractos de la corteza del tronco del árbol. Estos efectos vasodilatadores se encuentran mediados por la producción de óxido nítrico (ON). En una investigación realizada *in vivo* con animales, se inyectó de forma intravenosa el extracto de la corteza del árbol de la marula (25-400 mg/Kg), provocando reducciones significativas de la presión arterial sistémica y de la frecuencia cardíaca. Otro estudio comprobó que la administración intravenosa de forma crónica (5 semanas) del extracto de SB (120 mg/Kg) en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina (STZ) y no diabéticas, se produjo un descenso significativo de la presión arterial media en relación con grupo control (139,140). La STZ es un antibiótico con acción citotóxica sobre las células β -pancreáticas, lo que genera hipoinsulinemia e hiperglucemia, y suele ser muy empleado en ensayos clínicos con ratas.

1.7.4.5. *Propiedades antidiabéticas de SB*

Son múltiples los estudios que se han realizado en relación con la actividad hipoglucémica llevada a cabo por SB. Uno de ellos comprobó que la administración aguda del extracto de corteza del tronco del árbol (60-240 mg/Kg) en ratas no diabéticas y ratas diabéticas tratadas con STZ, produjo una disminución de los niveles de glucosa dependiente a la dosis. Este efecto hipoglucémico se mantuvo de forma más predominante en ratas diabéticas que en las no diabéticas. Por otro lado, el mismo estudio llevado a su vertiente crónica, administrando el extracto de SB (120 mg/Kg) durante 5 semanas, produjo una disminución significativa de la glucemia en ratas diabéticas tratadas con STZ, mientras que dicho efecto no fue significativo en el grupo de ratas no diabéticas. Estos hallazgos han hecho postular a varios autores la posibilidad de que el extracto de la corteza del árbol pueda, en parte, ejercer ese efecto antihiperoglucémico por medio de mecanismos semejantes a los de la metformina (139).

En otro estudio, el extracto de diclorometano:metanol (1:1) contenido en la corteza de SB fue capaz de disminuir la glucemia e incrementar los niveles de insulina en plasma en ratas tratadas con STZ. Así pues, en dicho estudio, hubo una mejora significativa de la tolerancia a la glucosa en las ratas diabéticas tratadas durante un periodo de tiempo de tres semanas, que produjo además un incremento significativo en la reducción de la ingesta de alimentos y líquidos, pese a que dicho factor no produjo una disminución significativa del peso corporal final (141).

1.7.5 Toxicidad de SB

Diferentes estudios han establecido que la dosis letal media del extracto de SB (DL50) se encuentra por encima de los 3000 mg/Kg de peso corporal. A nivel de toxicidad aguda, en general no se observó en ratas cambios en el comportamiento como excitación, convulsiones e incluso coma; en cambio, se pudo ver una reacción reducida al ruido externo, lo que sugiere que el extracto puede tener un efecto depresor del sistema nervioso central al ingerir estas dosis (142).

En otro estudio se observó una disminución significativa en proteínas séricas y albúmina, lo cual muestra una disfunción hepática posiblemente causada por el alto contenido en taninos que contiene el extracto. En este mismo, también se observó un incremento significativo de la bilirrubina en ratas a las que se les había

proporcionado una cantidad de 3000 y 4000 mg/Kg de extracto de SB, lo cual puede indicar también su interferencia con el metabolismo de esta en el hígado (143).

En otras investigaciones se ha demostrado el incremento de alanina transaminasa (ALT) y aspartato transaminasa (AST), marcadores enzimáticos específicos del hígado y de posibles lesiones de este, se han visto incrementados tras la ingesta de cantidades superiores a la DL50 en ratas; incremento que puede estar causado por los fitocompuestos de los extractos del árbol (144).

Además, no solo se ha demostrado la posible toxicidad a nivel hepático, sino también a nivel renal, al producirse una disminución significativa de sodio y un incremento de potasio en ratas tratadas con 3.000 y 4.000 mg/Kg de peso corporal, siendo signos de insuficiencia renal (144).

II - JUSTIFICACIÓN

II – JUSTIFICACIÓN

Según la OMS, la salud es *“un estado de completo bienestar físico, mental y social y no simplemente la ausencia de enfermedad o dolencia”* (145). Para poder disfrutar de dicho estado, por lo tanto, se requiere de una serie de hábitos saludables y preventivos adaptados como estilo de vida: una dieta equilibrada; la realización de ejercicio físico diario; evitar rutinas y prácticas tóxicas para el organismo; etc.

La delgada línea que divide el estado de salud del estado de enfermedad es apenas imperceptible en ocasiones, y puede llevar a desarrollar estados intermedios que, más adelante, generen una afección crónica para la cual haya que emplear medicación de por vida.

Uno de estos estados intermedios a los que se puede llegar por llevar un estilo de vida inadecuado es, precisamente, la prediabetes. Esta condición se refiere a la afección que sufre aquella persona con niveles de glucosa en sangre superiores a lo establecido como normal, pero no lo suficientemente altos para ser diagnosticado como diabético. Así pues, la prediabetes es un factor de riesgo que puede derivar en el desarrollo de DM2, SM y ECV.

El diagnóstico temprano de esta condición es vital para poder prevenir las posibles patologías que pueden surgir de dicho estado. Sin embargo, uno de los problemas que puede acontecer es, precisamente, que esta evaluación y diagnóstico precoz es bastante complicada; no solo la información actual es muy heterogénea, sino que tampoco se tienen en cuenta diversos factores modificables que pueden revertir este estado.

La prediabetes como tal no es una enfermedad crónica y puede llegar a revertirse, pero para ello uno de los factores para tener en cuenta es la modificación de los hábitos de vida (nutrición, ejercicio, etc.).

Una de las características principales de la población actual es la preferencia por sustancias menos artificiales y prefabricadas, no solo a nivel de alimentación, sino también en relación con los fármacos. Así pues, los nutracéuticos van incrementando su importancia con respecto a de confianza del ciudadano.

Una buena baza en la reversión de este estado podría ser el empleo de nutracéuticos hipoglucemiantes o antihiperoglucemiantes, cuya efectividad se haya demostrado mediante los ensayos clínicos pertinentes. Estos nutracéuticos son suplementos alimenticios que podrían ayudar a regular nuevamente el metabolismo glucémico.

En este trabajo se aborda la eficiencia y eficacia de un nutracéutico compuesto por extracto de *Sclerocarya birrea*. Existen evidencias de su efectividad para disminuir la glucosa en sangre, permitiendo que se produzca nuevamente la homeostasis glucémica y disminuyendo la posibilidad de padecer DM, SM y/o ECV.

III - OBJETIVOS

III – OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO PRINCIPAL

- Evaluar la eficacia del extracto de la corteza de *Sclerocarya birrea* frente a placebo, en el control del metabolismo glucídico en sujetos prediabéticos, durante el periodo de consumo.

3.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Evaluar de la eficacia de *Sclerocarya birrea* en el control del metabolismo lipídico en sujetos con prediabetes en comparación con placebo.

- Determinar las modificaciones que produce la ingesta de *Sclerocarya birrea* en la función endotelial en sujetos con prediabetes en comparación con placebo.

- Analizar las modificaciones que produce la ingesta de *Sclerocarya birrea* sobre el estado inflamatorio mediante la medición de moléculas inflamatorias en sujetos con prediabetes, en comparación con placebo.

- Evaluar las modificaciones que produce la ingesta de *Sclerocarya birrea* en la composición corporal en sujetos con prediabetes en comparación con placebo.

- Valorar la tolerabilidad y seguridad de los productos en investigación.

IV - MATERIAL Y MÉTODO

IV- MATERIAL Y MÉTODO

4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.

Ensayo clínico aleatorizado por estratos (sexo), controlado con placebo, doble ciego, con dos ramas paralelas atendiendo al producto de consumo (placebo o producto en experimentación) y unicéntrico.

4.1.1. Población objeto de la investigación

Antes de comenzar con el estudio, el Comité de Ética de la Universidad aprobó el consentimiento informado del ensayo clínico (código CE-061611), y este fue registrado en clinicaltrials.gov con código NCT04132908.

La investigación tuvo lugar en el Laboratorio de Fisiología del Ejercicio de la Universidad Católica de San Antonio de Murcia (UCAM), iniciándose con una muestra de 105 sujetos de ambos sexos, de los cuales 32 fueron excluidos por no cumplir con los criterios de inclusión, y 3 de ellos por recusar finalmente su participación en el ensayo. Se aleatorizó la muestra, siendo 35 los sujetos que participaron por cada brazo del estudio. Los sujetos del brazo A consumieron placebo, mientras que a los sujetos del brazo B se les entregó producto. Abandonaron un total de 3 individuos; 1 sujeto del brazo A o placebo y 2 sujetos del brazo B o producto experimental.

La captación de individuos se llevó a cabo mediante la difusión de información a través de distintos medios de comunicación, charlas en diversos centros de la mujer, centros de ancianos y asociaciones de vecinos. Se informó a la población acerca de la finalidad del estudio de investigación. También se les explicó los criterios de inclusión y exclusión.

Se llevó a cabo una única fase de reclutamiento teniendo en cuenta que la toma de este fue de 90 días. Así pues, este proceso se realizó en enero, tras el período vacacional navideño.

Debido al carácter voluntario de la participación en el estudio, los sujetos pudieron abandonar el mismo sin que fuera necesario especificar las razones que los llevaban a hacerlo y sin sufrir ninguna desventaja personal.

4.1.1.1. *Criterios de selección*

- Criterios de inclusión

Para poder ser incluidos, los sujetos deberán cumplir los siguientes criterios:

- Edad: 18-65 años.
- Diagnóstico de prediabetes según la ADA.
- Glucosa en ayunas alterada (100 – 125 mg/dL) (146).
- Sujetos con IMC entre 20-35 Kg/m².
- No consumo de alimentos o suplementos con *Sclerocarya birrea*.
- Hábitos alimentarios estables: no hay ganancia ni pérdida de peso de más de 5 kg en las diez últimas semanas.

- Criterios de exclusión:

Fue motivo de exclusión del ensayo clínico la presencia de al menos uno de los siguientes criterios:

- Sujetos con antecedentes de cualquier tipo de patología hepática o renal.
- Uso de medicamentos que puedan interferir con el metabolismo de la glucosa.
- Consumo de alcohol mayor de 20 g/día.
- Antecedentes de hipersensibilidad alérgica o mala tolerancia a cualquier componente de los productos en estudio.
- Participación en otro ensayo clínico en los tres meses anteriores al estudio.
- Falta de voluntad o la incapacidad de cumplir con los procedimientos de ensayos clínicos.
- Embarazo.

4.1.1.2. *Abandono de participantes*

Al comenzar el estudio, todos y cada uno de los participantes fueron informados de la posibilidad y derecho de dejar el ensayo clínico en cualquier

momento, sin necesidad de especificar las razones debidas y sin ningún tipo de penalización. Al mismo tiempo, el investigador tenía el poder de excluir a cualquier sujeto del estudio según su criterio, quedando esto reflejado y registrado en el cuaderno de recogida de datos.

4.1.1.3. *Criterios de retirada*

El ensayo clínico y, con ello, el protocolo, podía ser interrumpido de forma prematura en caso de que:

- Se produjese una violación del protocolo.
- Tuviese lugar algún acontecimiento adverso para el sujeto.
- Así lo decidiese el investigador.
- Se produjese una renuncia del propio individuo.
- Se perdiera el seguimiento del sujeto.

4.1.2 **Producto administrado**

4.1.2.1. *Producto propuesto para investigar*

El producto empleado para la realización de este estudio fue extracto de la corteza de *Sclerocarya birrea* en polvo, encapsulado, con una dosis total diaria de 100 mg, administrado en dos dosis diarias de 50 mg, una en el desayuno y otra en la cena. La duración de esta posología fue de 90 días.

El producto está registrado a nivel comercial como Sclerobigenol® (HERBAFOR S.L.; Fortuna, Murcia).

A nivel cualitativo, en este extracto se han identificado un total de 95 compuestos: ácidos orgánicos, polifenoles, derivados de ácidos grasos, etc. De entre todos ellos destacaron los polifenoles, concretamente los dímeros de epicatequinas (EC), epigalocatequinas, epigalocatequina-3-galato (EGCG), procianidinas B2-3,3-di-O-galato y ácidos orgánicos como el AG (98).

Para identificar sus componentes de forma cuantitativa, y con ello la composición fenólica del producto, se realizó una cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas por electropulverización (HPLC-ESI-TOF/MS), tal y como describe Jiménez-Sánchez y cols. (98). Tras esta cuantificación se observó que el principal compuesto identificado fue el AG (1588

$\mu\text{g/g}$) constituyendo el 45% de la fracción fenólica total cuantificada. Otros compuestos representativos fueron el galato de epicatequina ($593 \mu\text{g/g}$), representando un 17% del total, y el di-O-galato de procianidina B2 ($511 \mu\text{g/g}$), 15% del total. Todo ello puede verse representado en la figura 5.

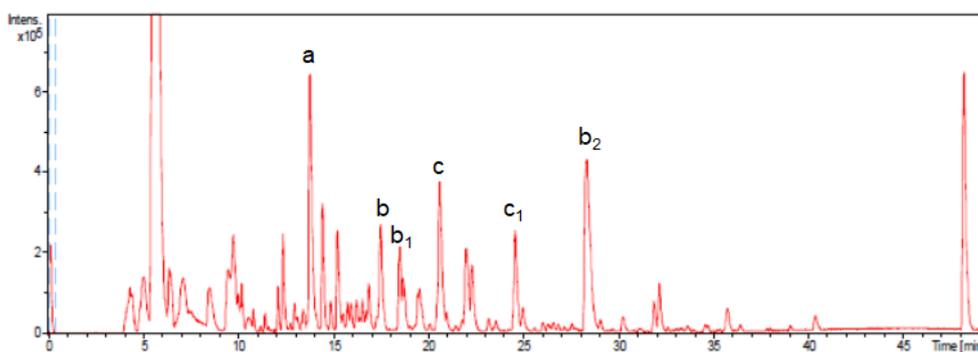


Figura 5. Cromatograma obtenido por HPLC-SI-TOF / MS. AG (a); EGCG (b) e isómeros (b1 y b2) y procianidina B2-3,3-di-O-galato (c) e isómero (c1).

4.1.2.2. *Placebo*

Durante este estudio también se administró a los participantes placebo, compuesto por celulosa microcristalina, con igual posología que el producto a estudio (50 mg por cápsula).

4.1.2.3. *Cumplimiento de la ingesta del producto*

Para poder saber si el sujeto a estudio consumía diariamente el tratamiento asignado, se contabilizó la cantidad de producto sobrante al final del periodo de consumo. De esta forma, se observó si los participantes siguieron las pautas indicadas y la posología debida.

4.1.3 **Métodos de asignación de los sujetos a los grupos.**

Tras firmar el consentimiento informado y pasar el proceso de selección cumpliendo los criterios de inclusión, los individuos pasaron a ser considerados como sujetos a estudio. La aleatorización realizada en la muestra se llevó a cabo

mediante el software Epidat 3.1, el cual dio lugar a una codificación de los sujetos a estudio por generación de números de manera pseudoaleatoria. La lista de aleatorización fue realizada por un investigador independiente y ajeno al equipo de investigación.

Los sujetos fueron asignados aleatoriamente en dos grupos, A y B.

- Grupo A: Placebo.
- Grupo B: Producto en investigación.

4.1.4 Cegamiento.

El ensayo clínico se realizó mediante el método de doble ciego, siendo tanto el placebo como el producto experimental etiquetados y referenciados de forma aleatoria, de tal forma que ni el investigador ni el sujeto pudiesen saber cuál era cualquiera de ellos.

El placebo entregado a los sujetos se encapsuló de forma que se mantuvieran las condiciones de cegado del estudio, manteniendo un peso y una apariencia que lo hicieran indistinguible por los participantes e investigadores del estudio en relación con el producto a estudio.

4.1.5 Lugar de realización

Las 3 visitas realizadas por los sujetos a estudio se hicieron en la Cátedra de Fisiología del Deporte de la UCAM (Murcia), al igual que las pruebas médicas efectuadas.

Por otro lado, los análisis sanguíneos fueron efectuados en Laboratorios Munuera S.L. y en el Laboratorio de Fisiología del Ejercicio de la UCAM.

4.2 VARIABLES DEL ESTUDIO.

4.2.1 Variable principal.

4.2.1.1. Cambios en el área bajo la curva de glucemia tras test de tolerancia oral de glucosa.

Se realizó el TTOG con la finalidad de conocer la curva de glucemia de cada uno de los voluntarios, además de hallar el área bajo la curva. Este test consistió en la administración de 75 gramos de preparado oral de glucosa Nuter-Tec a cada uno de los participantes durante un período de tiempo máximo de cinco minutos (147). Antes de ello, se tomó la glucemia capilar basal por medio del glucómetro One Touch Select Plus Flex, obteniendo una muestra sanguínea de cada uno de los sujetos a través de la punción en el pulpejo del dedo por medio de lancetas MenaLancet® pro. Tras la ingesta de glucosa, se tomó y registró la glucemia en los minutos 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120. Los sujetos debían acudir en ayunas (ayuno de 12 horas) y sin haber realizado ejercicio físico, para que ninguno de esos factores pudiese influir en su glucemia basal.

Se midieron dos variables; el área bajo la curva (AUC) tomando como base la glucemia basal y el AUC tomando como base el eje X o la concentración de glucemia de 0 mg/dL (punto 0). Esta área se calculó por medio del método trapezoidal.

4.2.2 Variables secundarias.

4.2.2.1. Metabolismo glucídico.

- *Glucemia máxima*

Se midió la glucemia máxima de cada uno de los sujetos alcanzada tras el TTOG. Esta variable se expresó en mg/dL.

- *Cambios en la HbA_{1c}:*

Se realizó una comparación de los resultados obtenidos mediante analítica sanguínea de HbA_{1c} al inicio del estudio, a los 40 y a los 90 días en todos los participantes del estudio. Para la obtención de la muestra sanguínea, necesaria para

el metabolismo glucídico, lipídico y los marcadores inflamatorios, los sujetos acudieron en ayunas al laboratorio de fisiología de la UCAM. La extracción de sangre venosa se realizó a partir de una de las venas situadas en la fosa antecubital, acorde a las medidas de asepsia obligatorias. Esta se llevó a cabo por medio de personal cualificado y con el siguiente material:

- Gasas Texpol.
- Jeringuillas Braun 5 mL.
- Compresor.
- Agujas Braun 0.8 x 25 mm.
- Tiritas.
- Alcohol 95% Benit^oPárraga.

Las muestras fueron analizadas mediante cromatografía líquida (H.P.L.C.) en Laboratorios Munuera S.L., conservando la cadena de frío. Esta prueba se realizó por el método estandarizado según el DCCT-NGSP, expresando el resultado en % (21,148).

- *Cambios en la glucemia basal:*

La glucemia basal fue medida en tres ocasiones, siendo estas a principio del ensayo clínico (previamente al consumo del producto), a los 40 días y tras los 90 días de consumo. Se midió mediante la técnica denominada Glucosa oxidasa/peroxidasa, con los reactivos de Bio Systems y con el analizador BA 400 BioSystems en Laboratorios Munuera S.L en suero. La unidad de medida fue mg/dL.

- *Cambios en la insulinemia basal:*

Al igual que la glucemia basal, la insulinemia basal se midió en suero en tres ocasiones mediante analítica sanguínea. El método empleado fue el sistema de inmunoensayo por quimioluminiscencia mediante el analizador Mindray CL-1200i en Laboratorios Munuera S.L. La unidad de medida fue mU/L.

• *Cambios en la resistencia periférica a la insulina medida como HOMA IR e Índice QUICKI:*

Se calculó el índice homeostasis model assessment o índice HOMA-IR (149), que consiste en la aplicación de una fórmula validada en la que se relacionan los valores de glucemia e insulinemia de los sujetos en ayunas. La fórmula empleada fue:

$$\mathbf{HOMA - IR} = \frac{\text{Insulinemia en ayunas } \left(\frac{\mu\text{U}}{\text{mL}}\right) \times \text{glucemia en ayunas } \left(\frac{\text{mmol}}{\text{L}}\right)}{22,5}$$

Por otro lado, también se tuvo en cuenta el índice QUICKI (150) (Quantitative Insuline Sensitivity Check Index), en el que se emplean nuevamente los valores de glucemia e insulinemia en ayunas, relacionándolos por medio de la siguiente fórmula:

$$\mathbf{QUICKI} = \frac{1}{[(\log \text{insulinemia ayunas } \left(\frac{\mu\text{U}}{\text{mL}}\right) + \log \text{glucemia ayunas } \left(\frac{\text{mmol}}{\text{L}}\right)) - 3.5]}$$

4.2.2.2. Metabolismo lipídico.

Mediante las analíticas efectuadas en ayunas a los sujetos del estudio, se observaron y estudiaron los valores del metabolismo lipídico.

El análisis bioquímico efectuado fue llevado a cabo por Laboratorios Munuera S.L., mediante la técnica denominada Colesterol oxidasa/peroxidasa, con los reactivos de Bio Systems y con el analizador BA 400 BioSystems. Todos los resultados fueron expresados en mg/dL.

Se analizaron los siguientes parámetros:

- Cambios en los niveles séricos de colesterol total.
- Cambios en los niveles séricos de colesterol-LDL.
- Cambios en los niveles séricos de colesterol-HDL.
- Cambios en los niveles séricos de triglicéridos.

4.2.2.3. Tensión arterial.

La presión arterial se midió coincidiendo con la extracción de sangre por la mañana con un tensiómetro o esfigmomanómetro OMRON M6 AC (Omron Healthcare, España). Los sujetos se sentaron cómodamente, con ambas piernas en contacto con el suelo, en un lugar tranquilo durante un total de 5 minutos. Se tomó la tensión arterial en los dos brazos de cada sujeto, escogiendo como brazo control aquél que presentó los valores más altos. Para ello, se colocó el manguito en la zona superior a la fosa antecubital. Se midió la presión arterial un total de tres veces, con 2 minutos de diferencia entre cada una de ellas, y se calculó el promedio de la última medición, según la guía de la Sociedad Europea de Cardiología y la Sociedad Europea de Hipertensión (ECS/ESH) (151). Las medidas se realizaron en las tres visitas que efectuaron los participantes.

4.2.2.4. Función endotelial.

- *Cambios en la reactividad de la arteria braquial medida a través de vasodilatación dependiente de endotelio por medio de Eco-Doppler:*

La función endotelial se determinó mediante la prueba de vasodilatación mediada por flujo (VMF) y la cuantificación milimétrica de la dilatación arterial. La VMF se evaluó en la arteria braquial empleando un sistema de ultrasonido eco-Doppler de alta resolución (SonoSite MicroMaxx HFL38) con un transductor de matriz lineal de 6 a 13 MHz, de acuerdo con las directrices de la *International Brachial Artery Reactivity Task Force* (152,153). La prueba medida por flujo comprende la visualización de la arteria braquial, al igual que la medición de su diámetro y la velocidad del flujo sanguíneo. Un estímulo hiperérmico genera la liberación del ON. Mediante pletismografía vascular y las imágenes obtenidas de esta, el ON se cuantifica como indicativo de la función vasomotora (154).

Para realizar esta medición, primero se colocó un manguito de presión arterial con esfigmomanómetro por encima de la fosa antecubital. Se consiguió así una imagen basal de la arteria braquial en reposo, y se tomaron las medidas del diámetro de esta. Tras ello, se generó la oclusión arterial a través del inflado del manguito a presión suprasistólica durante un periodo de tiempo de 5 minutos. Tras desinflar el manguito y esperar 1 minuto, se realizó una nueva medición. Los

resultados se expresaron como porcentaje del cambio del diámetro arterial en mm después de la oclusión, en respuesta a la hiperemia por encima del diámetro inicial, empleando la siguiente ecuación:

$$\text{VMF} = ((\text{pico del diámetro hiperémico} - \text{diámetro arterial basal}) / \text{diámetro arterial basal}) \times 100.$$

- VMF: Vasodilatación mediada por flujo (%).
- Pico del diámetro hiperémico: Flujo sanguíneo postisquémico máximo (mm).
- Diámetro arterial basal: Diámetro de la arteria sin estímulos isquémicos, en situación basal (mm).

Las mediciones se realizaron siempre en el brazo derecho.

También se tuvo en cuenta la diferencia entre la dilatación en el momento basal de la arteria braquial y en el día 90 de estudio, para comprobar si se había producido o no un incremento significativo en los sujetos tras el consumo de SB. Esta medida se expresó en milímetros y se denominó vasodilatación arterial.

4.2.2.5. Composición e índices de proporcionalidad corporal.

Se evaluaron las variaciones en la composición corporal de los individuos del ensayo a lo largo del estudio, entendiéndose como composición corporal las medidas de: índice de masa corporal, índice cintura-cadera y masa grasa.

- *Índice de masa corporal:*

Variable de tipo cuantitativo. El índice de masa corporal o índice de Quetelet se midió en las tres visitas realizadas por todos los voluntarios. Este índice se obtiene al dividir el peso en Kg por la altura en metros al cuadrado, expresándose:

$$IMC = \frac{Kg}{m^2}$$

- IMC: índice de masa corporal del individuo.

- Peso del sujeto en Kg. Variable cuantitativa. Se midió mediante un bioimpedanciómetro o tanita (Tanita BC-420M. Tanita Corporation, Arlington Heights, IL, USA).
- Estatura del sujeto al cuadrado en m². Variable cuantitativa. Se midió mediante el tallímetro SECA 216.

- *Perímetro abdominal:*

Variable de tipo cuantitativo expresada en cm. Mediante una cinta perimetral (Seca 201) se midió el perímetro abdominal de cada uno de los participantes en todas las visitas realizadas. Se pidió a los pacientes que pusieran sus brazos cruzados sobre el tórax, midiendo así la zona de la cintura de menor recorrido, situada entre la décima costilla y la cresta ilíaca, tras una espiración normal (155).

- *Perímetro cadera:*

Variable de tipo cuantitativo expresada en cm. Para poder medir el perímetro de la cadera, se les pidió a los pacientes que cruzasen los brazos sobre el tórax y, mediante la cinta perimetral, se determinó la medida al situar esta alrededor de la prominencia mayor de las nalgas, generalmente situada sobre la sínfisis púbica (155).

- *Índice cintura/cadera:*

Variable adimensional. Se midió el índice cintura/cadera, haciendo una relación entre ambos perímetros obtenidos y comparando los valores de cada medida durante las tres fases del estudio.

- *Composición corporal*

Se midió la composición corporal de cada uno de los individuos por medio de bioimpedanciometría (BIA), determinándose con esta prueba el porcentaje de masa grasa. Se vio con ello las variaciones que tuvieron durante el consumo del producto. Dicha metodología se fundamenta en la capacidad que poseen los tejidos biológicos para conducir electricidad y la impedancia que estos pueden presentar ante la misma. El tejido graso, al tener una menor cantidad de agua y electrolitos

poseerá una mayor impedancia (resistencia al paso de la corriente eléctrica) y, con ello, en él se producirá una menor conducción de esta. La medición se llevó a cabo en condiciones de ayuno de 12 horas, al comienzo del estudio (visita 1), a los 40 días (visita 2) y en el día 90 (visita 3). Además del ayuno, se tuvieron en cuenta las recomendaciones específicas para la realización de la BIA como el no hacer ejercicio físico antes de la prueba o no beber alcohol desde el día anterior. También se tuvo en cuenta que ninguna de las mujeres estuviese embarazada y que ninguno de los pacientes tuviese un marcapasos o un stent metálico. Para llevar a cabo la medida, se empleó un bioimpedanciómetro o tanita BC-420M. Tanita Corporation, Arlington Heights, IL, USA.

4.2.2.6. *Inflamación.*

Se estudiaron diferentes variables relacionadas con la inflamación (E-selectina e interleuquina-6) por medio del análisis sanguíneo a través del suero. Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Fisiología de la UCAM mediante kit's ELISA.

Los niveles plasmáticos de E-selectina se obtuvieron por medio del kit ELISA E-Selectina de IBL Internacional (Se-Selectin ELISA REF. BE59061 96T; Hamburgo, Alemania). La unidad de medida fue ng/mL.

Los niveles plasmáticos de IL-6 se obtuvieron mediante el kit ELISA de Interleuquina 6 de alta sensibilidad de IBL Internacional (Interleukin-6 high sensitivity ELISA REF. BE58061 96T; Hamburgo, Alemania). La unidad de medida fue pg/mL.

4.2.3 **Tolerabilidad y seguridad.**

Se evaluó por medio de los acontecimientos adversos detectados y registrados, así como por la analítica sanguínea de seguridad que se realizó a los sujetos, previo al estudio y al acabar el mismo.

Los acontecimientos adversos se registraron por medio de un cuestionario directo al sujeto en la visita 2 (día 40) y 3 (día 90).

En la analítica sanguínea se midieron los posibles cambios en el recuento de hemáties, enzimas hepáticas y los niveles séricos de nitrógeno ureico en sangre y creatinina.

4.3 DESARROLLO DEL ESTUDIO

4.3.1 Reclutamiento (Visita 0. Día -15).

Los sujetos fueron entrevistados previamente al comienzo del estudio para recoger todos los datos necesarios acorde al ensayo clínico. Los pacientes tuvieron que rellenar y realizar los siguientes cuestionarios/test:

- Firma y autorización mediante el consentimiento informado.
- Corroboración del cumplimiento de todos y cada uno de los criterios de inclusión y ninguno de exclusión.
- Anamnesis e historia clínica.
- Medición de glucemia basal mediante glucómetro.

Tras la fase de selección, los pacientes que cumplieron con todos los criterios de inclusión y ninguno de los de exclusión, se asignaron aleatoriamente a uno de los grupos de tratamiento mediante el software *Epidat 3.1*, que generó una codificación por generación de números de manera pseudoaleatoria.

Los sujetos fueron estratificados sexo en dos grupos para la realización de la fase experimental, entregándoles el producto pertinente según el grupo al que perteneciesen.

4.3.2 Fase experimental

La primera visita que realizaron los sujetos fue la de selección, tras la que se realizó la conformación de los grupos que iban a componer el estudio (A y B). Dos semanas más tarde, se citó nuevamente a los participantes en el Laboratorio de Fisiología del Ejercicio de la UCAM para comenzar la fase experimental. Todos los procesos efectuados pueden verse evidenciados en la tabla 2.

La primera visita de la fase experimental comprendió un período de tres días, en los que se les realizó a todos los participantes las diferentes pruebas y test, sin haber consumido en ningún momento los productos a estudio, para poder comparar así los valores iniciales con los obtenidos en el resto de las visitas.

La segunda visita de la fase experimental se realizó a los 40 días de la entrega del producto, realizando las mismas pruebas a los pacientes que en la primera visita e incluyendo los acontecimientos adversos que podían haber tenido.

La última visita de la fase experimental tuvo lugar el día 90 de estudio, y en ella se recogió el producto sobrante y se realizaron a los sujetos las pruebas pertinentes.

• **Visita 1. Día 1.**

- Analítica sanguínea basal: De ella se obtuvieron datos como el perfil glucémico, el perfil lipídico y las variables de seguridad. También se obtuvo el suero para la obtención de marcadores inflamatorios (IL-6 y E-selectina).

- Test de tolerancia oral a la glucosa.

- Tensión arterial: Se midió la presión arterial sistólica y la presión arterial diastólica.

- Bioimpedanciometría: Obtención del porcentaje de masa grasa.

- Medición perímetro cintura.

- Medición perímetro cadera

- Eco-Doppler: para la obtención de la VMF y la vasodilatación arterial.

- Entrega de producto/placebo.

• **Visita 2. Día 40.**

- Analítica sanguínea basal: De ella se obtuvieron datos como el perfil glucémico, el perfil lipídico y las variables de seguridad. También se obtuvo el suero para la obtención de marcadores inflamatorios (IL-6 y E-selectina).

- Test de tolerancia oral a la glucosa.

- Tensión arterial: Se midió la presión arterial sistólica y la presión arterial diastólica.

- Bioimpedanciometría: Obtención del porcentaje de masa grasa.

- Medición perímetro cintura.

- Medición perímetro cadera

- Eco-Doppler: para la obtención de la VMF y la vasodilatación arterial.

- Acontecimientos adversos.

• **Visita 3. Día 90.**

- Analítica sanguínea basal: De ella se obtuvieron datos como el perfil glucémico, el perfil lipídico y las variables de seguridad. También se obtuvo el suero para la obtención de marcadores inflamatorios (IL-6 y E-selectina).

- Test de tolerancia oral a la glucosa.

- Tensión arterial: Se midió la presión arterial sistólica y la presión arterial diastólica.

- Bioimpedanciometría: Obtención del porcentaje de masa grasa.

- Medición perímetro cintura.

- Medición perímetro cadera

- Eco-Doppler: para la obtención de la VMF y la vasodilatación arterial.

- Acontecimientos adversos.

Tabla 3. Cronograma de las visitas realizadas

	Visita de selección (V0)	V. inicial (V1)	V. intermedia (V2)	V. final (V3)
Consentimiento informado	X			
Historia clínica	X			
Criterios de inclusión/exclusión	X			
Glucemia basal con glucómetro	X			
Aleatorización	X			
Entrega de producto/placebo		X		
Extracción sanguínea		X	X	X
Test de tolerancia oral a la glucosa		X	X	X
Analítica sanguínea basal		X	X	X
Bioimpedanciometría		X	X	X
Medición perímetro cintura		X	X	X
Medición perímetro cadera		X	X	X
Tensión arterial		X	X	X
Eco-Doppler		X	X	X
Acontecimientos adversos			X	X

cambios que aparezcan en la evolución de las variables de los distintos grupos no podrán ser imputadas a la existencia de diferentes condiciones iniciales.

Para comparar la evolución de cada una de las variables entre los grupos en estudio (experimental y placebo), se realizó test paramétrico como ANOVA para medidas repetidas con dos factores a estudio: un factor intrasujeto (Tiempo: basal, 40 días y 90 días) y un factor intersujeto (Producto: experimental y placebo).

Las variables cualitativas, en cambio, fueron analizadas mediante un test de homogeneidad basado en la distribución de Chi-cuadrado, siempre y cuando los valores esperados lo hicieron posible, y mediante test exactos de Fisher en caso contrario.

De la aplicación de este tipo de pruebas estadística en este estudio, se obtuvo:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial.
- Evolución de cada uno de los grupos por separado.
- Comparación entre grupos: comparación de la evolución de las variables entre cada uno de los grupos a estudio (placebo frente a experimental).

En el conjunto de pruebas estadísticas, el nivel de significación empleado fue 0,05. Los análisis estadísticos se realizaron por medio del programa SPSS v 21.0.

4.5 ASPECTOS ÉTICOS

El estudio se realizó siguiendo las Normas de Buena Práctica Clínica, y todas aquellas condiciones que se delimitan en la Declaración de Helsinki, por las que se deben regir los estudios de investigación con seres humanos.

4.5.1 Hoja de información para el participante y consentimiento informado

En primer lugar, se entregó la Hoja de Información al Participante (anexo 2). Una vez los pacientes comprendieron todo lo referente al estudio, otorgaron su conformidad firmando el Consentimiento Informado aprobado por el Comité de Ética (código CE-061611, 3 de junio de 2016) (anexo 3). Se les dio el tiempo suficiente para poder revisar todo el documento y preguntar las dudas pertinentes en cuanto a este.

Todos los sujetos fueron informados de forma oral y escrita (hoja de información al participante) de los procedimientos llevados a cabo en el estudio,

comunicándoles también los posibles riesgos o efectos indeseables que podían aparecer como consecuencia de las distintas determinaciones que se realizaron. De la misma forma, fueron informados de la voluntariedad del proyecto tanto en lo referido a su participación como al abandono en cualquier momento de este. Asimismo, todos fueron conocedores de las características del producto que ingirieron y de los efectos secundarios a los que estaban expuestos durante su toma. Todo ello se realizó antes de llevar a cabo cualquier tipo de procedimiento del ensayo clínico.

La totalidad de los sujetos que participaron en el estudio firmaron el consentimiento informado.

4.5.2 Confidencialidad de los datos

Los datos obtenidos durante este ensayo clínico se mantuvieron bajo máxima confidencialidad, siguiendo la legislación vigente a nivel nacional de protección de datos según el BOE-A-1999-23750 (Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, de 13 de diciembre). La identidad de los participantes se codificó de tal forma que solo el personal autorizado podía tener acceso a dichos datos.

A su vez, el investigador fue el encargado de informar a cada uno de los sujetos del estudio de que su información personal sería almacenada en una base de datos informatizada, cuya utilización solo tenía fines a nivel de investigación.

Todos los datos recogidos se trataron de forma confidencial, de tal forma que en ningún lugar apareciese el nombre de los participantes; siendo incorporados a una base de datos propiedad de la Universidad.

En el momento en que dejen de ser empleados y necesarios, serán cancelados.

4.5.3 Evaluación del comité de ética de investigación

El estudio fue sometido al Comité de Ética de la Universidad Católica San Antonio de Murcia, siguiendo las recomendaciones generales acerca de la investigación con seres humanos. Este comité fue aprobado el 3 de junio de 2016.

V - RESULTADOS

V - RESULTADOS

5.1 INICIO DE LA INVESTIGACIÓN Y FECHA DE FINALIZACIÓN.

El ensayo clínico comenzó el 1 de octubre de 2016, fecha en la que se inscribió al primer sujeto del estudio. El 30 de diciembre de 2018 se inscribió al último sujeto, finalizando la investigación el 4 de enero de 2019.

5.2 DIAGRAMA DE FLUJO.

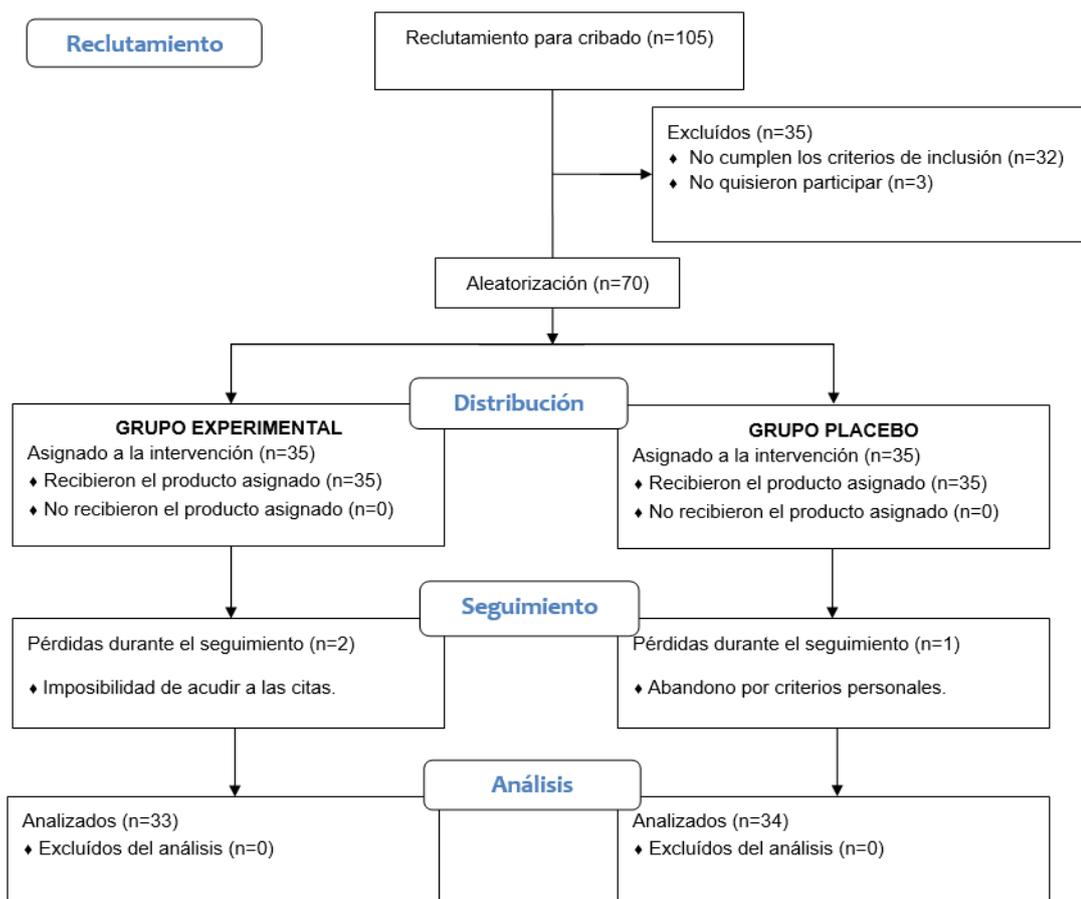


Figura 7. Diagrama de flujo

Iniciaron el estudio 105 sujetos de los que 35 fueron excluidos por motivo de incumplimiento de los criterios de selección. Los 70 sujetos restantes fueron aleatorizados en los dos grupos a estudio. Durante el estudio se perdieron en el seguimiento 2 sujetos en el grupo experimental y 1 en el placebo, debido tanto a criterios personales como a la imposibilidad de acudir a las citas establecidas. Al final de estudio, quedaron 67 sujetos, de los cuales 31 eran mujeres y 36 hombres.

5.3 DEMOGRAFÍA DE LOS SUJETOS A ESTUDIO.

La distribución del producto y del placebo fue homogénea para ambos sexos ($p = 0.534$), tal y como puede observarse en la tabla 4.

La edad media de los sujetos fue de 32.3 ± 14.1 años. En el grupo control, la edad media fue de 31.5 ± 15.2 años. Por otro lado, la edad media de los sujetos que consumieron el producto fue de 33.1 ± 13.2 años.

Tabla 4. Distribución según la edad, el sexo y el consumo de producto.

	CONTROL	EXPERIMENTAL	VALOR DE p
EDAD (años)	31.5 ± 15.2	33.1 ± 13.2	0.652
HOMBRES (n)	17	19	0.534
MUJERES (n)	17	14	

5.4 ANÁLISIS DE LAS VARIABLES A ESTUDIO.

5.2.1 Metabolismo glucídico.

- Área bajo la curva de evolución de la glucemia tras sobrecarga oral de glucosa tomando como base de la misma la glucemia basal.

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 5. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) del área bajo la curva tras SOG tomando como base la glucemia basal.

AUC (mg/dL x min)	PRODUCTO	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA	N
INICIAL	Control	4755	2265	34
	Experimental	5286	2260	33
DÍA 40	Control	4394	1879	34
	Experimental	4526	2543	33
DÍA 90	Control	4636	1969	34
	Experimental	3786	1817	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.341$), por lo que se puede afirmar que ambos grupos eran homogéneos.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, no se puede afirmar que el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. Se observan diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p < 0.001$); por lo que el consumo del producto en experimentación mejora los niveles de esta durante la ingesta.

- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, se observan diferencias significativas ($p < 0.004$), por lo que se puede afirmar que el producto experimental mejora el valor de esta variable en mayor medida que el producto placebo.

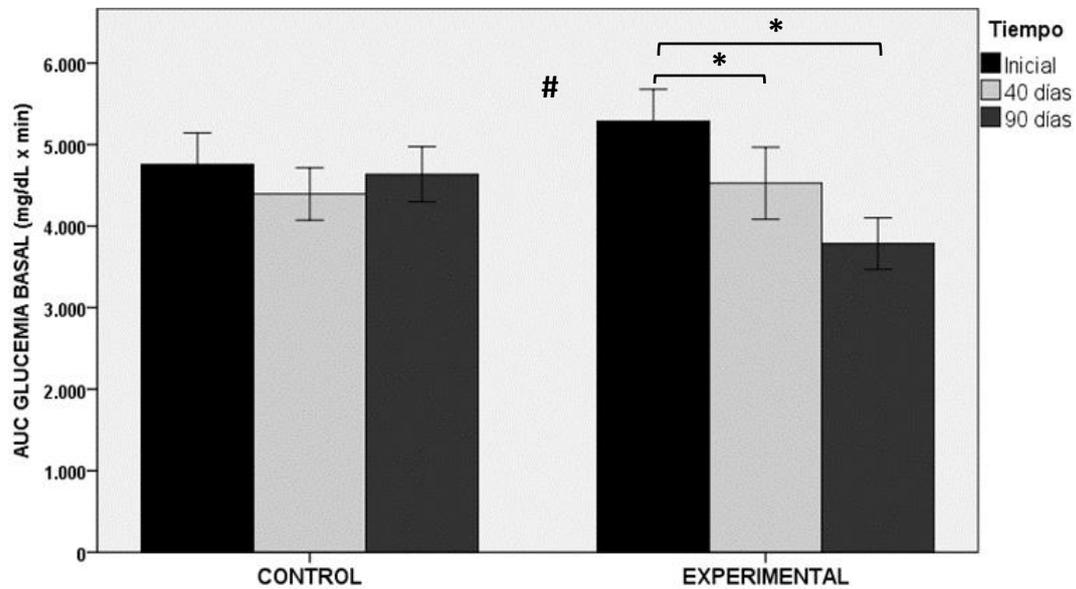


Figura 8. Análisis comparativo de los grupos control y experimental en el área bajo la curva de evolución de la glucemia tras sobrecarga oral de glucosa tomando como base de la misma la glucemia basal.

- **Área bajo la curva (AUC) de evolución de la glucemia tras sobrecarga oral de glucosa tomando como base de la misma el punto cero.**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 6. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) del área bajo la curva tras SOG tomando como base el punto cero.

AUC (mg/dL x min)	PRODUCTO	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA	N
AUC INICIAL	Control	17401	2284	34
	Experimental	17809	2534	33
AUC DÍA 40	Control	16892	1933	34
	Experimental	16908	2825	33
AUC DÍA 90	Control	17229	2152	34
	Experimental	16219	2176	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.491$), por lo que se puede afirmar que ambos grupos eran homogéneos para esta al inicio del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, no se puede afirmar que el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. Se observan diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p < 0.001$) por lo que se puede deducir que el consumo del producto en experimentación mejora los niveles de esta durante la ingesta.

- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, se observan diferencias significativas ($p < 0.002$), por lo que se puede afirmar que el producto experimental mejora el valor de esta variable en mayor medida que el producto placebo.

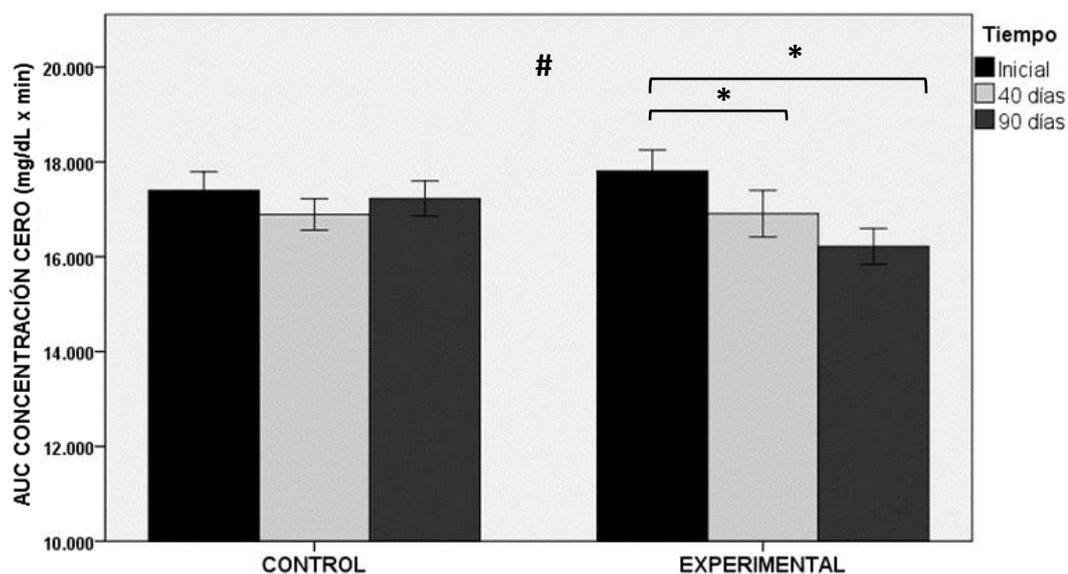


Figura 9. Análisis comparativo de los grupos control y experimental en el área bajo la curva de evolución de la glucemia tras sobrecarga oral de glucosa tomando como base de la misma el punto cero.

- **Glucemia máxima durante la realización de la sobrecarga oral de glucosa.**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 7. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de glucemia máxima durante la realización de SOG.

GLUCEMIA (mg/dL)	PRODUCTO	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA	N
MÁX INICIAL	Control	179	29	34
	Experimental	181	34	33
MÁX DÍA 40	Control	174	25	34
	Experimental	170	32	33
MÁX DÍA 90	Control	175	22	34
	Experimental	161	28	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.732$), por lo que podemos afirmar que ambos grupos eran homogéneos para esta al comienzo del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, no podemos afirmar que el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. Se observan diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p < 0.001$) por lo que podemos afirmar que el consumo del producto en experimentación mejora los niveles de esta durante la ingesta.

- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, observamos diferencias significativas ($p < 0.011$), por lo que podemos afirmar que el producto experimental mejora el valor de esta variable en mayor medida que el producto placebo.

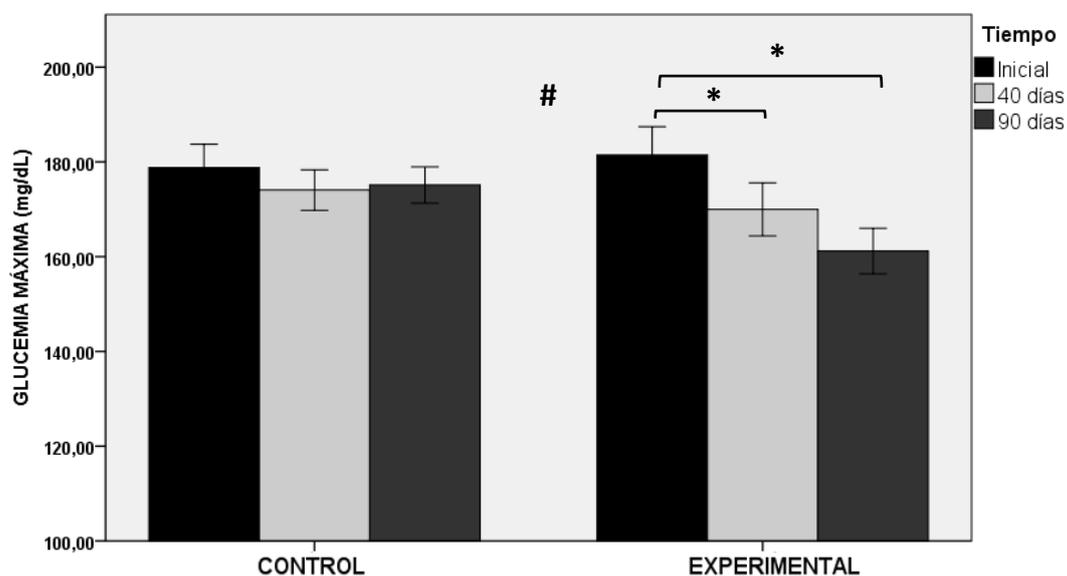


Figura 10. Análisis comparativo de los grupos control y experimental de la glucemia máxima durante la realización de la sobrecarga oral de glucosa.

- **Hemoglobina glicosilada**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 8. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de hemoglobina glicosilada

HBA _{1C} (%)	PRODUCTO	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA	N
INICIAL	Control	5.22	0.36	34
	Experimental	5.33	0.44	33
DÍA 40	Control	5.23	0.40	34
	Experimental	5.35	0.42	33
DÍA 90	Control	5.22	0.37	34
	Experimental	5.24	0.43	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.286$), por lo que ambos grupos eran homogéneos para esta al inicio del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, el consumo del placebo no ha modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. Se puede apreciar un descenso en los valores de esta variable, aunque esta bajada no presenta significación estadística ($p = 0.543$).

- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, no se observan diferencias significativas ($p = 0.469$), por lo que no se puede afirmar que el producto experimental mejore más el valor de esta variable que el producto placebo.

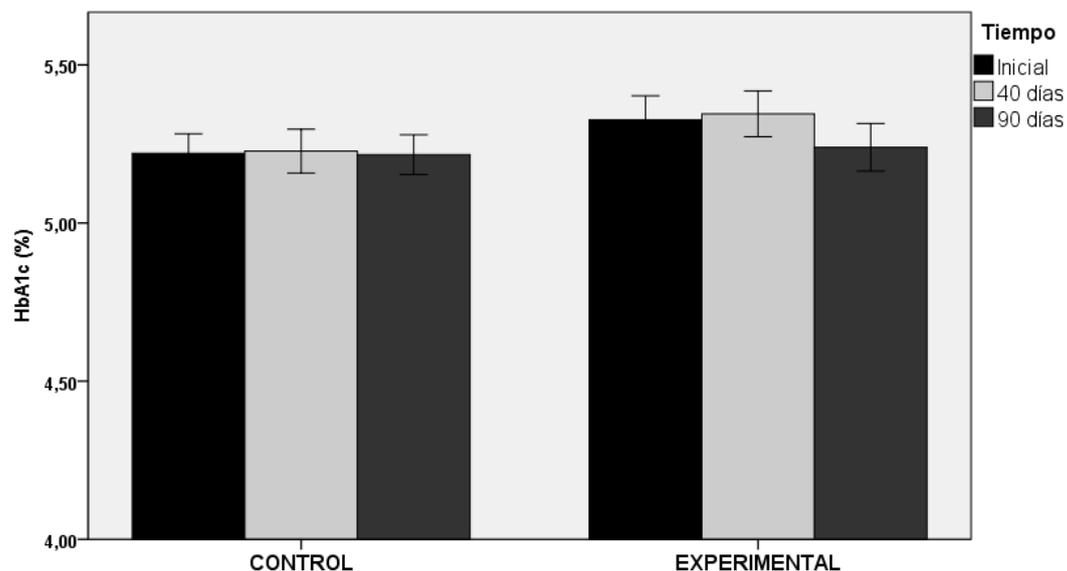


Figura 11. Análisis comparativo de los grupos control y experimental de la HbA_{1c}.

- **Glucemia basal**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 9. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de glucemia basal

GLUCEMIA (mg/dL)	PRODUCTO	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA	N
BASAL INICIAL	Control	103.4	3.0	34
	Experimental	104.2	5.0	33
BASAL DÍA 40	Control	102.6	4.9	34
	Experimental	104.3	5.9	33
BASAL DÍA 90	Control	103.6	5.4	34
	Experimental	102.9	5.3	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.391$), por lo que ambos grupos eran homogéneos para esta al comienzo del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, no se puede afirmar que el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. Se puede apreciar un descenso en los valores de esta variable, aunque este descenso no presenta significación estadística ($p = 0.329$).

- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, no se observaron diferencias significativas ($p = 0.107$), por lo que no se puede afirmar que el producto experimental mejore más el valor de esta variable que el producto placebo.

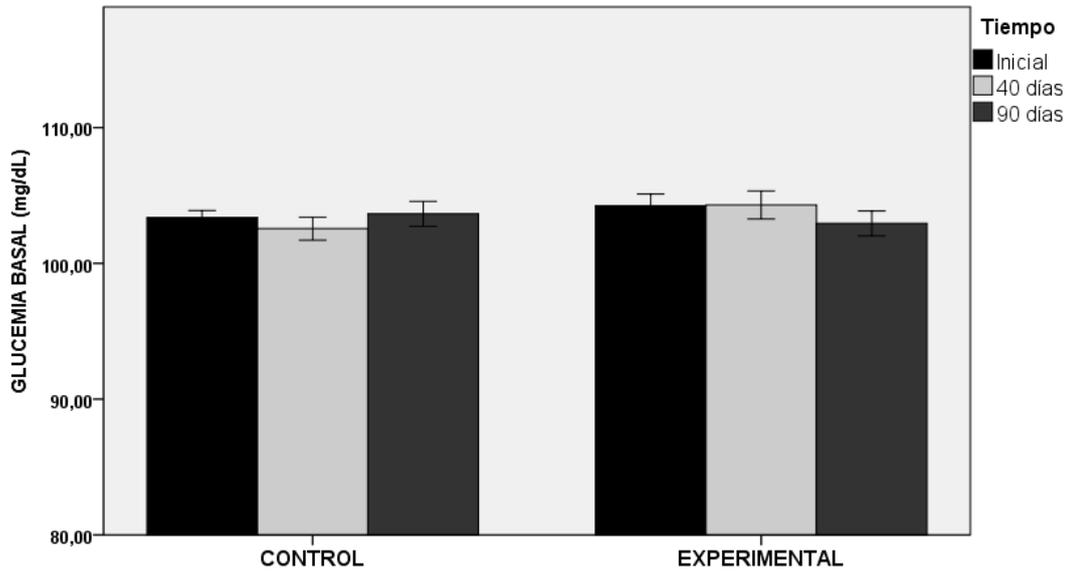


Figura 12. Análisis comparativo de los grupos control y experimental para el parámetro glucemia basal.

- **Insulinemia basal**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 10. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de insulinemia basal

INSULINEMIA (mU/L)	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	9.36	6.55	34
	Experimental	9.78	6.82	33
DÍA 40	Control	10.80	8.09	34
	Experimental	7.70	5.07	33
DÍA 90	Control	10.16	6.18	34
	Experimental	8.11	4.46	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.797$), por lo que ambos grupos eran homogéneos para esta al inicio del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.
 - Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, no se puede afirmar que el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.
 - Grupo experimental. Se observa un descenso en los valores de esta variable, aunque este descenso no presenta significación estadística ($p = 0.148$).
- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, se observan diferencias significativas ($p < 0.027$), por lo que se puede afirmar que el producto experimental mejora el valor de esta variable en mayor medida que el producto placebo.

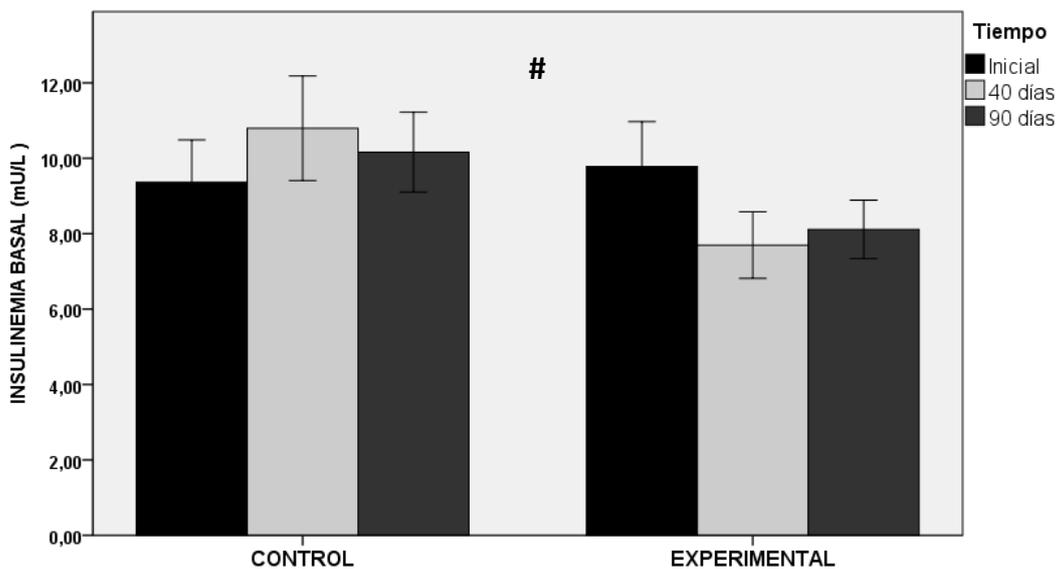


Figura 13. Análisis comparativo de los grupos placebo y experimental de la insulinemia basal.

- **Resistencia periférica a la insulina (HOMA-IR e índice QUICKI).**

- a. **HOMA-IR**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 11. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) HOMA-IR

HOMA-IR	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	2.40	1.70	34
	Experimental	2.54	1.80	33
DÍA 40	Control	2.76	2.13	34
	Experimental	2.01	1.38	33
DÍA 90	Control	2.61	1.62	34
	Experimental	2.08	1.20	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.746$), por lo que ambos grupos eran homogéneos para esta al comienzo del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, no se puede afirmar que el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. Se puede apreciar un descenso en los valores de esta variable, aunque esta bajada no presenta significación estadística ($p = 0.313$).

- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, se pueden observar diferencias significativas ($p < 0.034$), por lo que se puede afirmar que el producto experimental mejora el valor de esta variable en mayor medida que el producto placebo.

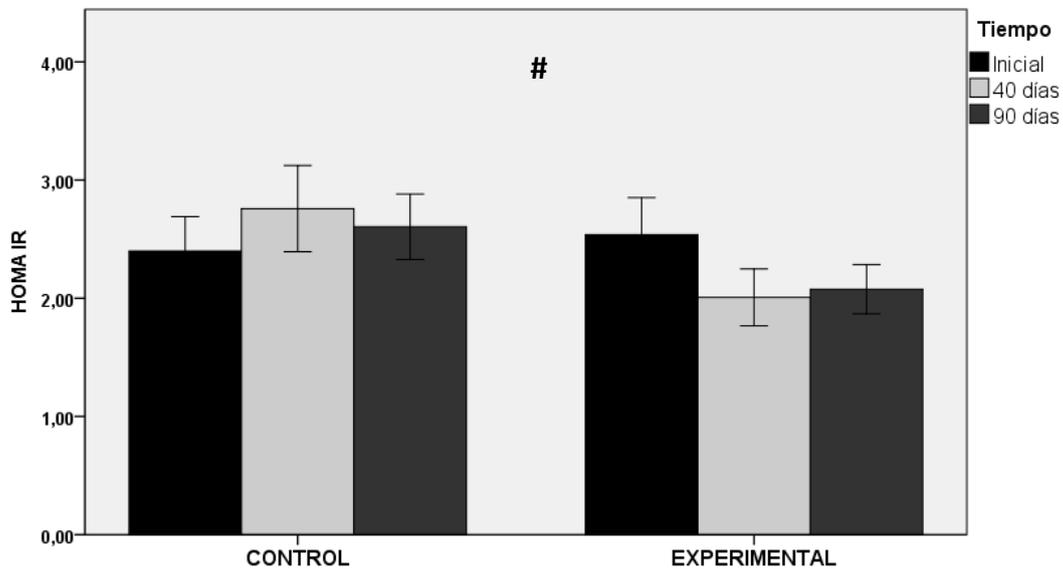


Figura 14. Análisis comparativo del grupo placebo y experimental en la resistencia periférica a la insulina (HOMA-IR).

b. Índice QUICKI

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 12. Estadísticos descriptivos Índice QUICKI

I. QUICKI	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	0.35	0.03	34
	Experimental	0.35	0.03	33
DÍA 40	Control	0.34	0.03	34
	Experimental	0.36	0.03	33
DÍA 90	Control	0.34	0.03	34
	Experimental	0.35	0.03	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.891$), por lo que ambos grupos eran homogéneos para esta en el instante inicial del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 0.632$); por tanto, no se puede afirmar que el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. Se puede apreciar un descenso en los valores de esta variable, aunque este descenso no presenta significación estadística ($p = 0.070$).

- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, se observan diferencias significativas ($p < 0.034$), por lo que se puede afirmar que el producto experimental mejora el valor de esta variable en mayor medida que el producto placebo.

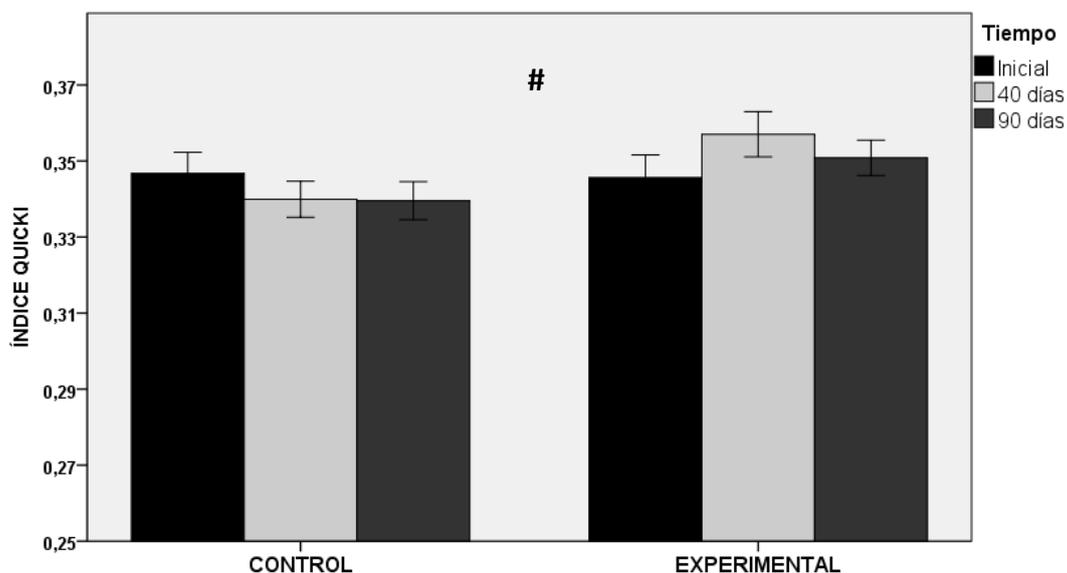


Figura 15. Análisis comparativo del grupo placebo y experimental en la resistencia periférica a la insulina (índice QUICKI)

5.2.2 Función endotelial.

- Modificación de la vasodilatación arterial (VD).

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 13. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la función endotelial y la vasodilatación (VD)

VD (mm)	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	0.027	0.014	33
	Experimental	0.021	0.016	28
FINAL	Control	0.025	0.021	33
	Experimental	0.030	0.017	28

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación entre ambos grupos en el estado inicial. En el momento inicial del estudio, los sujetos de ambos grupos parten de valores homogéneos en cuanto a la vasodilatación milimétrica de la arteria cubital, ya que no se aprecian diferencias significativas para esta variable ($p = 0.171$).

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 0.559$); por tanto, no se puede afirmar que el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. Se observan diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p < 0.019$) por lo que podemos afirmar que el consumo del producto en experimentación mejora los niveles de esta durante la ingesta. Los sujetos que han consumido el producto sufren una mayor vasodilatación arterial.

- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, se observan diferencias significativas ($p < 0.034$), por lo que se puede afirmar que el

producto experimental mejora más el valor de esta variable que el producto placebo, es decir, los sujetos que consumieron el producto experimental mejoraron en mayor medida la vasodilatación arterial que los que consumieron el producto placebo.

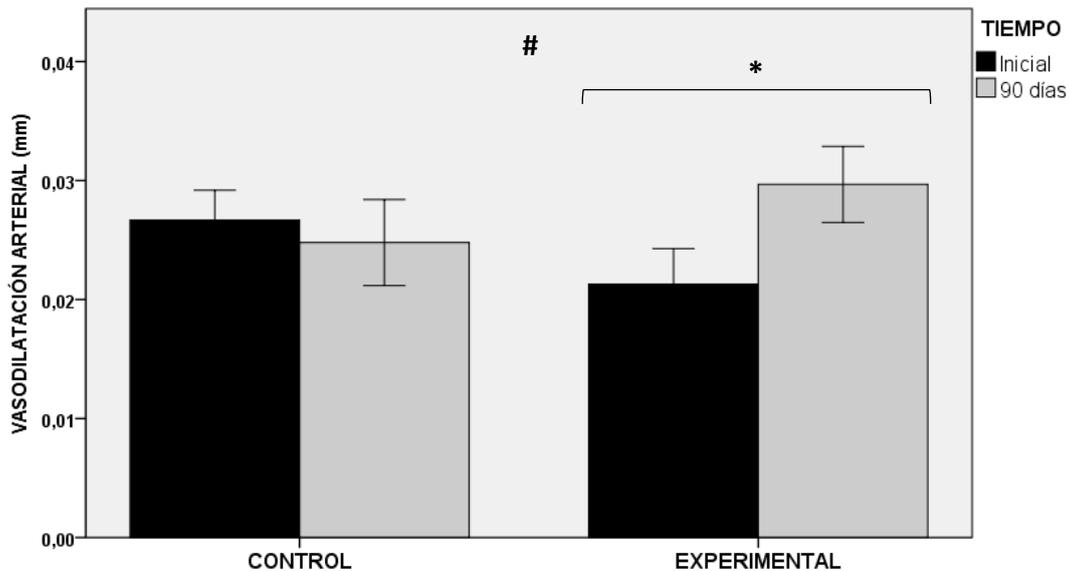


Figura 16. Análisis comparativo de la función endotelial en los grupos placebo y experimental

- Vasodilatación mediada por flujo (VMF).

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 14. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la vasodilatación mediada por flujo (VMF)

VMF (%)	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	7.761	5.038	33
	Experimental	6.518	5.114	28
FINAL	Control	7.146	5.910	33
	Experimental	8.611	5.223	28

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación entre ambos grupos en el estado inicial. En el momento inicial del estudio, los sujetos de ambos grupos parten de valores homogéneos en cuanto a la vasodilatación mediada por flujo, ya que no se aprecian diferencias significativas para esta variable ($p = 0.344$).

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 0.505$); por tanto, no se puede afirmar que el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta variable durante la ingesta.

- Grupo experimental. Se observan diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p < 0.040$) por lo que podemos afirmar que el consumo del producto en experimentación mejora los niveles de esta durante la ingesta. Los sujetos que han consumido el producto experimental incrementan la vasodilatación dependiente de endotelio, por lo que mejora su función endotelial.

- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, se observan diferencias significativas ($p < 0.050$), por lo que se puede afirmar que el producto experimental mejora más el valor de esta variable que el producto placebo, es decir, los sujetos que consumieron el producto experimental mejoraron en mayor medida la vasodilatación mediada por flujo que los que consumieron el producto placebo.

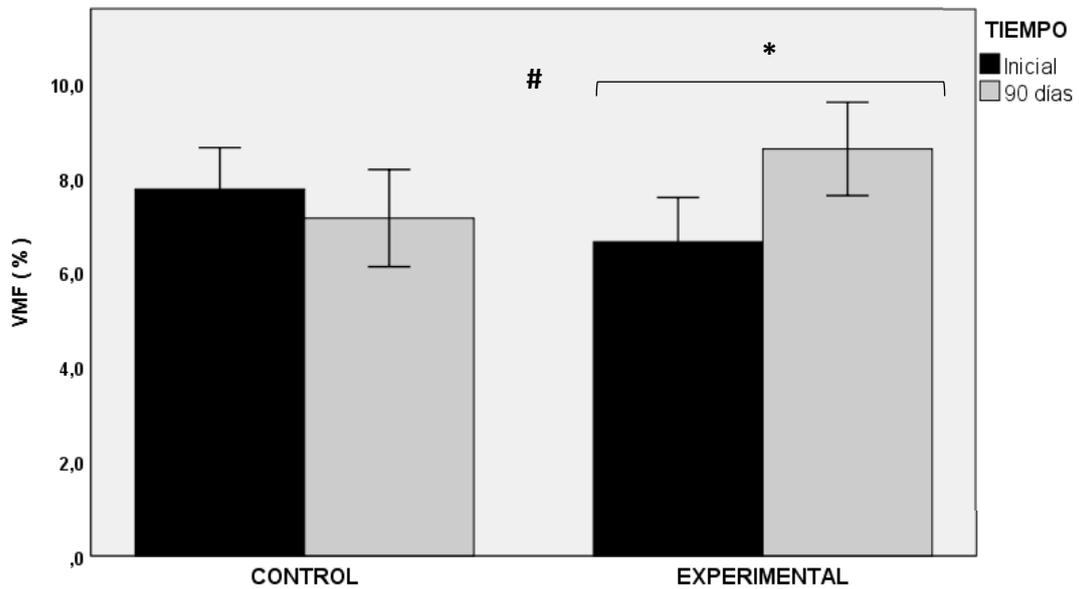


Figura 17. Análisis comparativo de la vasodilatación mediada por flujo (VMF) en los grupos placebo y experimental

5.2.3 Metabolismo lipídico.

- **Colesterol total sérico.**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 15. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) del colesterol total sérico

COLESTEROL (mg/dL)	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	194	34	34
	Experimental	191	36	33
DÍA 40	Control	192	36	34
	Experimental	187	38	33
DÍA 90	Control	198	41	34
	Experimental	189	38	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.753$), por lo que ambos grupos eran homogéneos para esta en el instante inicial del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, el consumo del placebo no ha modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, el consumo del producto experimental no ha modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, no se observan diferencias significativas ($p = 0.641$), por lo que no se puede afirmar que el producto experimental mejore más el valor de esta variable que el producto placebo.

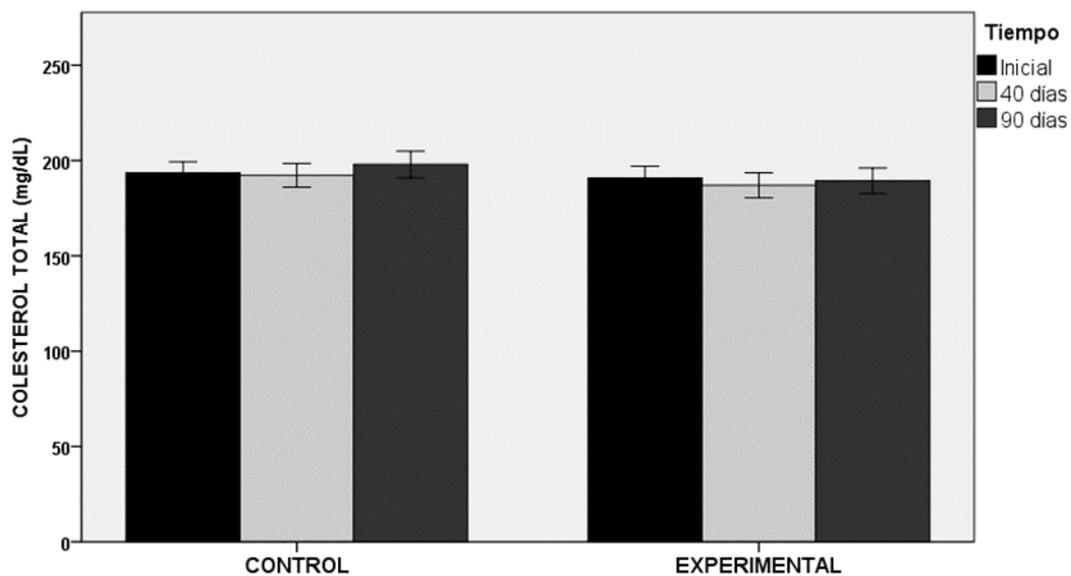


Figura 18. Análisis comparativo de niveles de colesterol total sérico en los grupos placebo y experimental

- **Triglicéridos séricos.**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 16. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de triglicéridos séricos

TRIGLICÉRIDOS (mg/dL)	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	94	57	34
	Experimental	98	54	33
DÍA 40	Control	99	61	34
	Experimental	87	48	33
DÍA 90	Control	99	54	34
	Experimental	89	42	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación entre ambos grupos en el estado inicial. En el momento inicial del estudio, los sujetos de ambos grupos parten de valores homogéneos en cuanto a los niveles de triglicéridos, ya que no se aprecian diferencias significativas para esta variable ($p = 0.725$).

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de los niveles de esta variable en las personas que han consumido placebo ($p = 1.000$).
- Grupo experimental. No se aprecian diferencias significativas ($p = 0.531$) en la evolución de los niveles de la variable.

- Comparación de la evolución de esta variable entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, no se observan diferencias significativas ($p = 0.101$) para la variable triglicéridos tras el consumo del producto, pero existe una tendencia a la disminución en la cantidad de triglicéridos en el grupo experimental en comparación con el placebo.

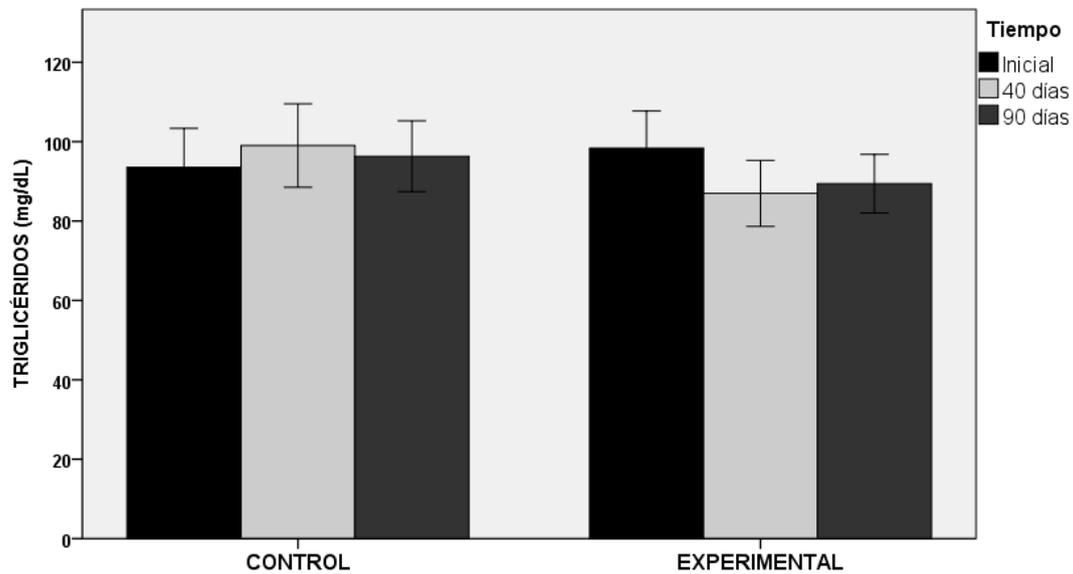


Figura 19. Análisis comparativo de niveles de triglicéridos en los grupos placebo y experimental

- **Colesterol-LDL.**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 17. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de colesterol-LDL

C-LDL (mg/dL)	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	113.4	25.2	34
	Experimental	102.8	27.2	33
DÍA 40	Control	114.8	33.7	34
	Experimental	108.1	30.7	33
DÍA 90	Control	118.1	28.1	34
	Experimental	111.4	34.6	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el

instante inicial ($p = 0.102$), por lo que se puede afirmar que ambos grupos eran homogéneos para esta en el instante inicial del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.
 - Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 0.610$); por tanto, el consumo de placebo no ha modificado los niveles de esta durante la ingesta.
 - Grupo experimental. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 0.851$); por tanto, el consumo del producto experimental no ha modificado los niveles de esta durante la ingesta.
- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, no se observan diferencias significativas ($p = 0.662$), por lo que no se puede afirmar que el producto experimental mejore más el valor de esta variable que el producto placebo.

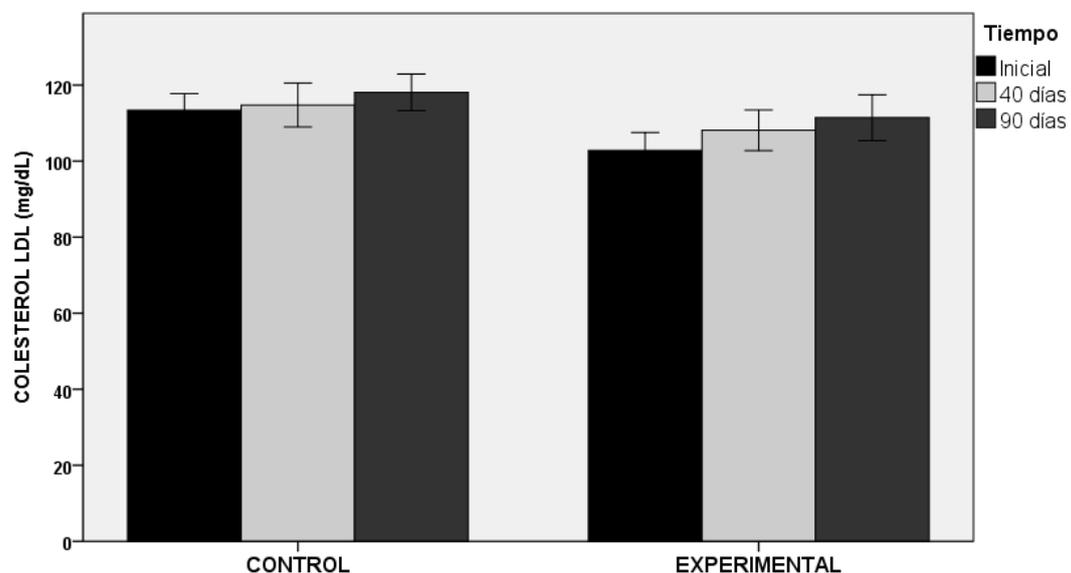


Figura 20. Análisis comparativo de niveles de colesterol LDL en los grupos placebo y experimental

- **Colesterol-HDL.**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 18. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de colesterol-HDL

C-HDL (mg/dL)	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Placebo	60.1	15.1	34
	Experimental	59.9	12.1	33
DÍA 40	Placebo	59.0	15.3	34
	Experimental	58.3	12.1	33
DÍA 90	Placebo	58.1	13.2	34
	Experimental	59.1	10.8	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.957$), por lo que ambos grupos eran homogéneos para esta variable en el instante inicial del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 0.252$); por tanto, no se puede afirmar que en el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, el consumo del producto experimental no ha modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, no observamos diferencias significativas ($p = 0.639$), por lo que no se puede afirmar que el producto experimental mejore más el valor de esta variable que el producto placebo.

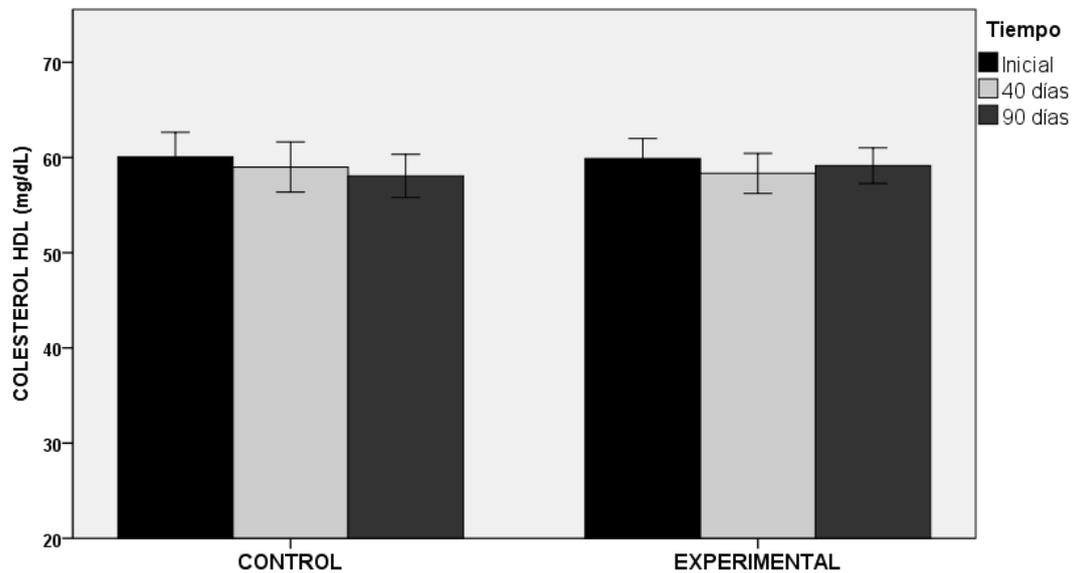


Figura 21. Análisis comparativo de niveles de colesterol HDL en los grupos placebo y experimental

5.2.4 Composición corporal.

- **Peso.**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 19. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) del peso

PESO (Kg)	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	75.2	18.2	34
	Experimental	75.2	18.3	33
DÍA 40	Control	75.2	18.1	34
	Experimental	74.9	18.3	33
DÍA 90	Control	75.2	17.9	34
	Experimental	74.7	18.3	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.989$), por lo que ambos grupos eran homogéneos para esta en el instante inicial del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, no se puede concluir que en el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. Se puede apreciar un descenso en los valores de esta variable, aunque este descenso no presenta significación estadística ($p = 0.543$); es decir los sujetos que consumieron el producto experimental disminuyeron su peso, pero esta diferencia no es estadísticamente significativa.

- Comparación entre grupos. A pesar de la diferente evolución de esta variable en ambos grupos (no se aprecia modificación del peso en el grupo control y se aprecia descenso de 0.5 kg en el grupo experimental), al comparar la evolución entre ambos grupos, no se observan diferencias significativas ($p = 0.469$), por lo que no se puede afirmar que el producto experimental mejore más el valor de esta variable que el producto placebo.

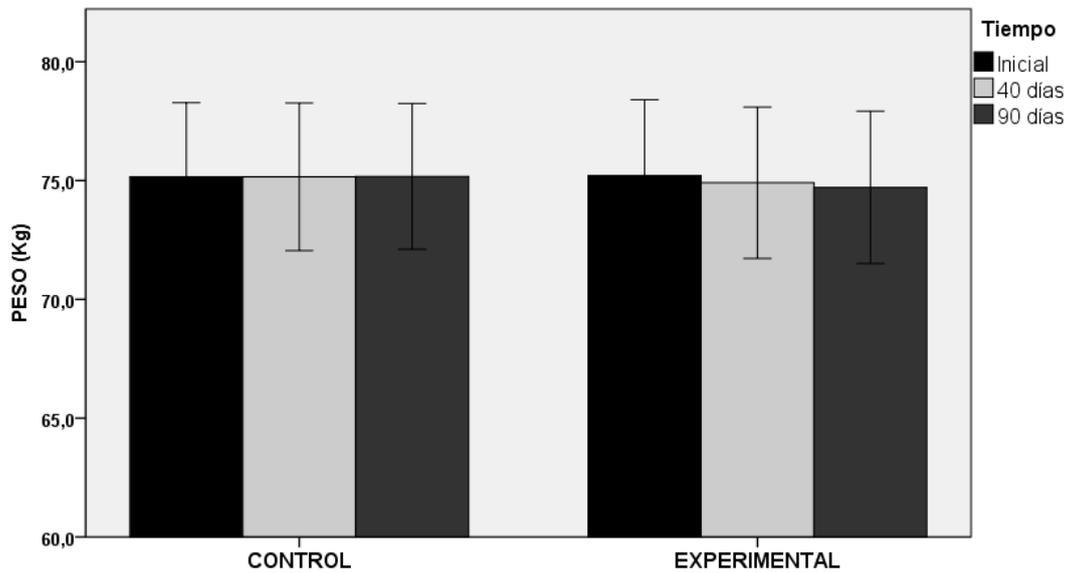


Figura 22. Análisis comparativo del peso corporal en los grupos placebo y experimental

- **Índice de masa corporal**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 20. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) del IMC

IMC (Kg/m ²)	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	26.1	5.3	34
	Experimental	25.9	6.9	33
DÍA 40	Control	26.1	5.2	34
	Experimental	25.9	6.9	33
DÍA 90	Control	26.1	5.2	34
	Experimental	25.8	7.0	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.925$), por lo que ambos grupos eran homogéneos para esta en el instante inicial del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, no se puede afirmar que en el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. Se observa un descenso en los valores de esta variable, aunque este descenso no presenta significación estadística ($p = 0.304$); es decir los sujetos que consumieron el producto experimental disminuyeron su IMC, pero esta diferencia no es estadísticamente significativa.

- Comparación entre grupos. A pesar de la diferente evolución de esta variable en ambos grupos, al comparar entre ellos, no se observan diferencias significativas ($p = 0.261$), por lo que no se puede concluir que el producto experimental mejore más el valor de esta variable que el producto placebo.

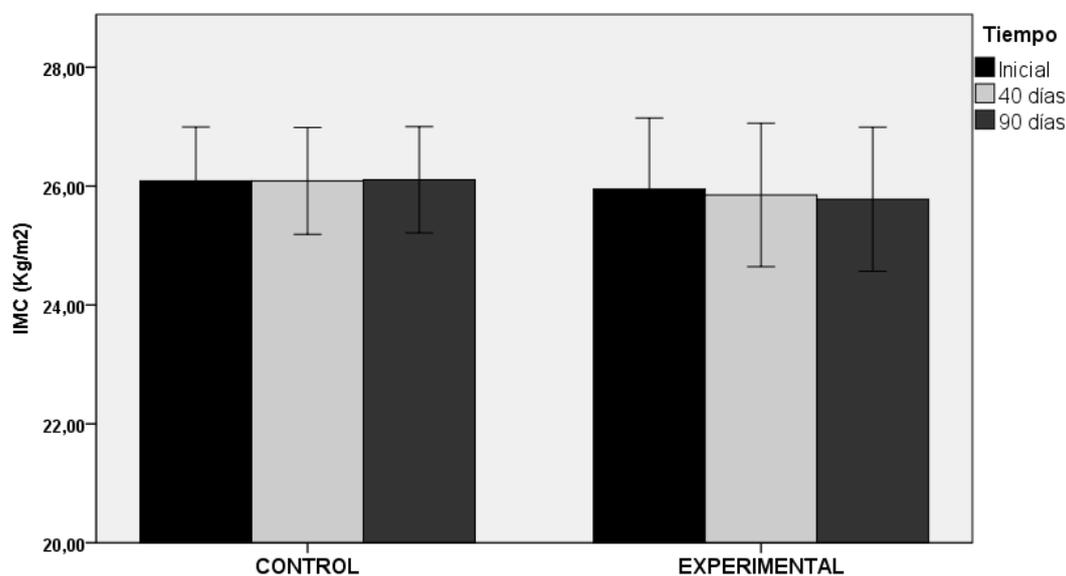


Figura 23. Análisis comparativo del IMC en los grupos placebo y experimental

- **Porcentaje de grasa corporal (Bioimpedanciometría).**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 21. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de bioimpedanciometría

MASA GRASA (%)	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Placebo	25.4	9.3	34
	Experimental	29.1	10.4	33
DÍA 40	Placebo	25.3	9.3	34
	Experimental	29.1	10.6	33
DÍA 90	Placebo	25.4	9.0	34
	Experimental	29.3	10.4	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.300$), por lo que se puede afirmar que ambos grupos eran homogéneos para esta en el instante inicial del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.
 - Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, el consumo del placebo no ha modificado los niveles de esta durante la ingesta.
 - Grupo experimental. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, no se puede afirmar que en el consumo del producto experimental haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.
- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, no se observan diferencias significativas ($p = 0.890$), por lo que no se puede afirmar que el producto experimental mejore más el valor de esta variable que el producto placebo.

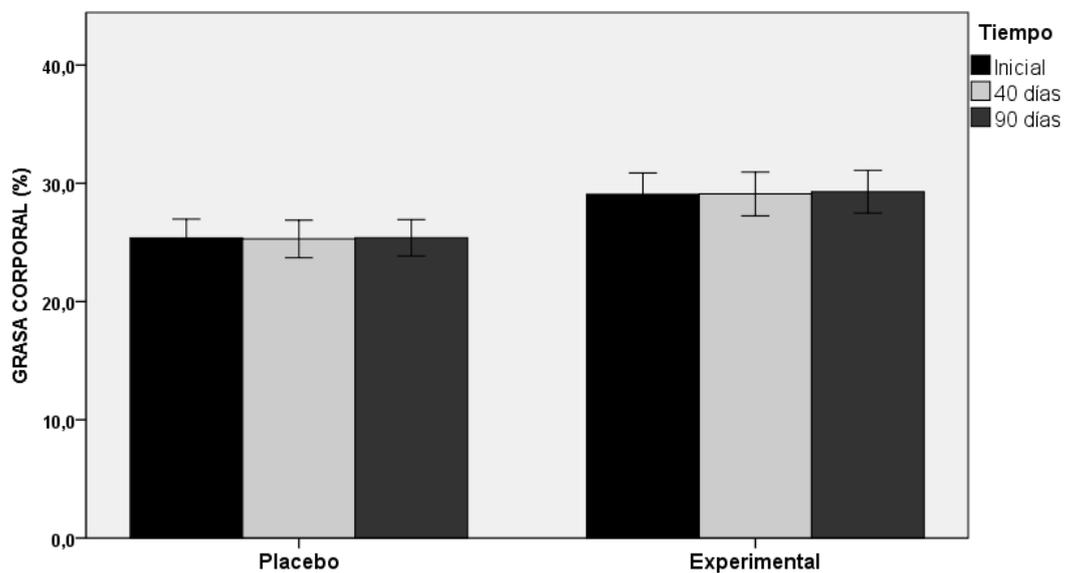


Figura 24. Análisis comparativo del porcentaje de grasa corporal obtenido mediante bioimpedanciometría en los grupos placebo y experimental

- **Índice cintura-cadera (ICC)**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 22. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de ICC

ICC	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	0.79	0.09	34
	Experimental	0.79	0.10	33
DÍA 40	Control	0.79	0.10	34
	Experimental	0.78	0.10	33
DÍA 90	Control	0.79	0.10	34
	Experimental	0.79	0.10	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.905$), por lo que se puede afirmar que ambos grupos eran homogéneos para esta en el instante inicial del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$), por lo tanto, no se puede afirmar que en el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, no se puede que en el consumo del producto experimental haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, no se observan diferencias significativas ($p = 0.928$), por lo que no se puede afirmar que el producto experimental mejore más el valor de esta variable que el producto placebo.

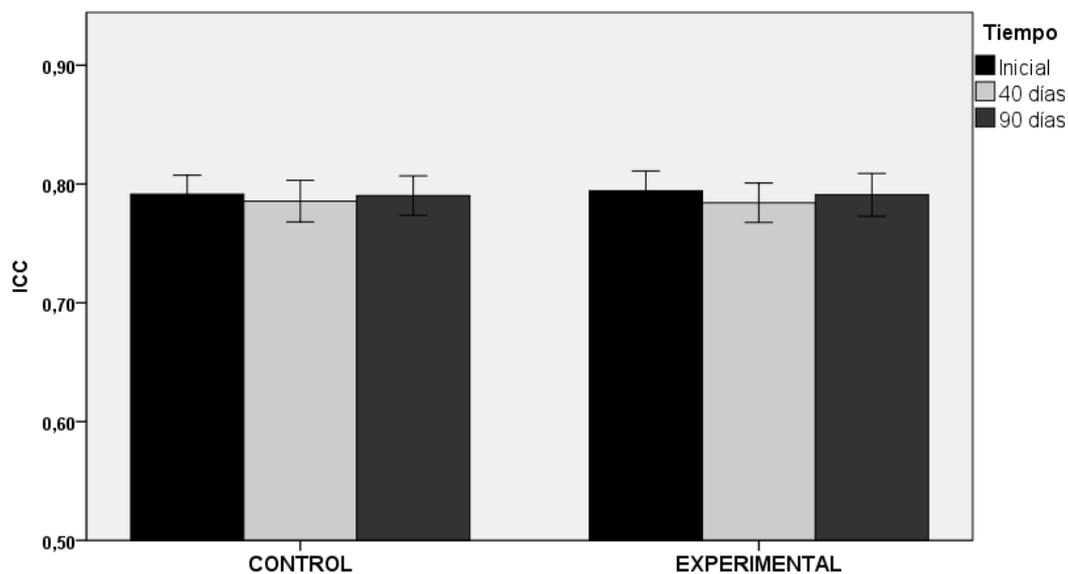


Figura 25. Análisis comparativo del ICC en los grupos placebo y experimental

5.2.5 Componente inflamatorio.

Se determinaron y se evaluaron los posibles cambios, a lo largo del periodo de tratamiento, de los niveles séricos de distintos metabolitos séricos proinflamatorios.

- **Interleuquina 6 (IL-6)**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 23. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) IL-6

IL-6 (pg/mL)	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	4.37	1.37	34
	Experimental	4.34	1.79	32
DÍA 40	Control	4.43	1.25	34
	Experimental	4.17	1.71	32
DÍA 90	Control	4.36	1.41	34
	Experimental	4.08	1.41	32

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.935$), por lo que ambos grupos eran homogéneos para esta en el instante inicial del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, no se puede afirmar que el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. Se observa un descenso en los niveles de interleuquina 6 durante los 90 días de seguimiento, pero la disminución de esta variable no es estadísticamente significativa ($p = 0.159$).

- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, no se observan diferencias significativas ($p = 0.284$), por lo que no se puede afirmar que el producto experimental mejore más el valor de esta variable que el producto placebo.

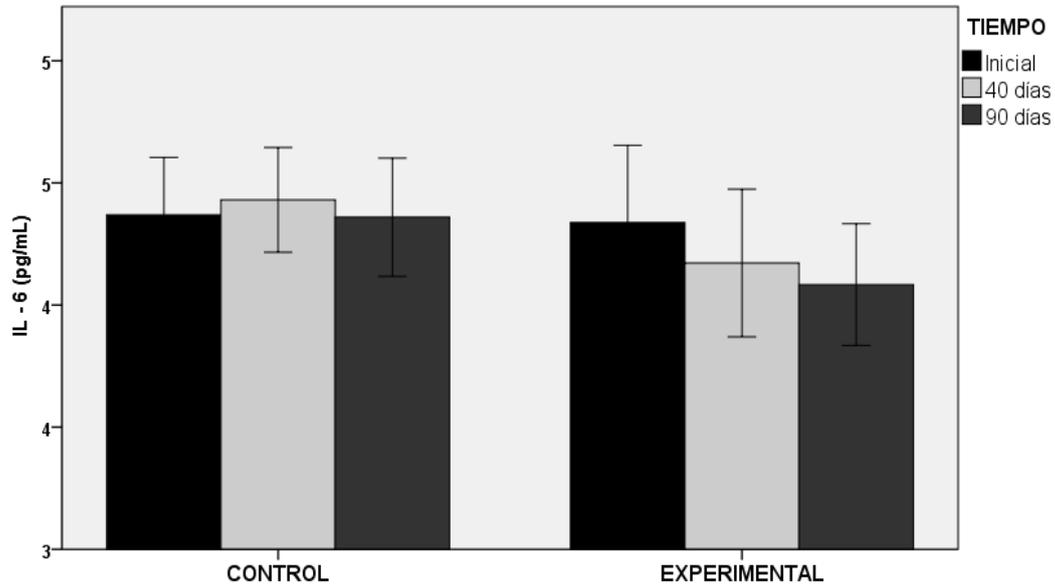


Figura 26. Análisis comparativo de IL-6 en los grupos placebo y experimental

- **E-Selectina.**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 24. Estadísticos descriptivos E-Selectina

E-SELECTINA (ng/mL)	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	16.62	1.53	28
	Experimental	17.59	1.11	22
DÍA 40	Control	16.49	1.45	28
	Experimental	16.52	0.99	22
DÍA 90	Control	16.23	0.96	28
	Experimental	15.70	1.06	22

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta en el instante inicial ($p = 0.170$), por lo que se puede afirmar que ambos grupos son homogéneos.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 0.295$); por tanto, no se puede afirmar que el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. Se observa un descenso estadísticamente significativo ($p < 0.001$) en los niveles de E-Selectina durante los 90 días de seguimiento. Los sujetos que han consumido el producto experimental disminuyen los niveles de E-Selectina.

- Comparación entre grupos. Al comparar la evolución entre ambos grupos, se observan diferencias significativas ($p < 0.001$), por lo que se puede afirmar que el producto experimental mejora más el valor de esta variable que el producto placebo, es decir, el consumo del producto en experimentación disminuye los niveles basales de E-Selectina en mayor medida que el placebo.

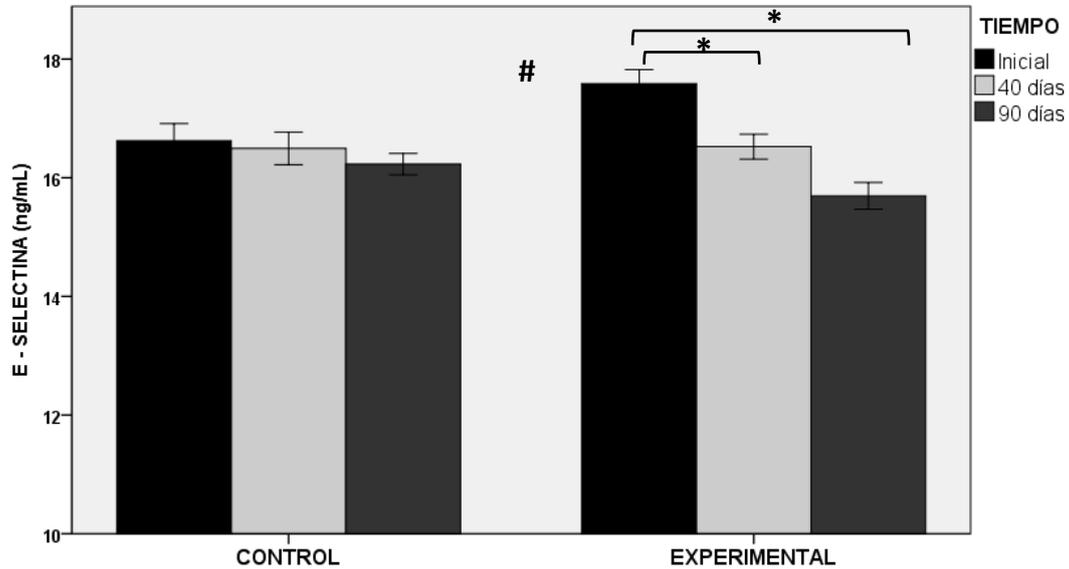


Figura 27. Análisis comparativo de E-Selectina en los grupos placebo y experimental

5.2.6 Tensión arterial.

- **Tensión arterial sistólica (TAS).**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 25. Estadísticos descriptivos TAS

TAS (mmHg)	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	120	18	34
	Experimental	125	18	33
DÍA 40	Control	119	17	34
	Experimental	122	18	33
DÍA 90	Control	120	16	34
	Experimental	119	17	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta variable en el instante inicial ($p = 0.284$), por lo que ambos grupos eran homogéneos para esta en el instante inicial del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.
 - Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, no se puede afirmar que en el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.
 - Grupo experimental. Se observan diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p < 0.001$) por lo que se puede afirmar que el consumo del producto en experimentación mejora los niveles de esta variable durante la ingesta.
- Comparación entre grupos. El grupo control no modifica la TAS durante el consumo del placebo y el grupo experimental disminuye esta variable en 6 mmHg. A pesar de esta diferencia observada en los sujetos durante la ingesta de los dos productos, al comparar la evolución de ambos grupos no se aprecia significación estadística ($p = 0.259$).

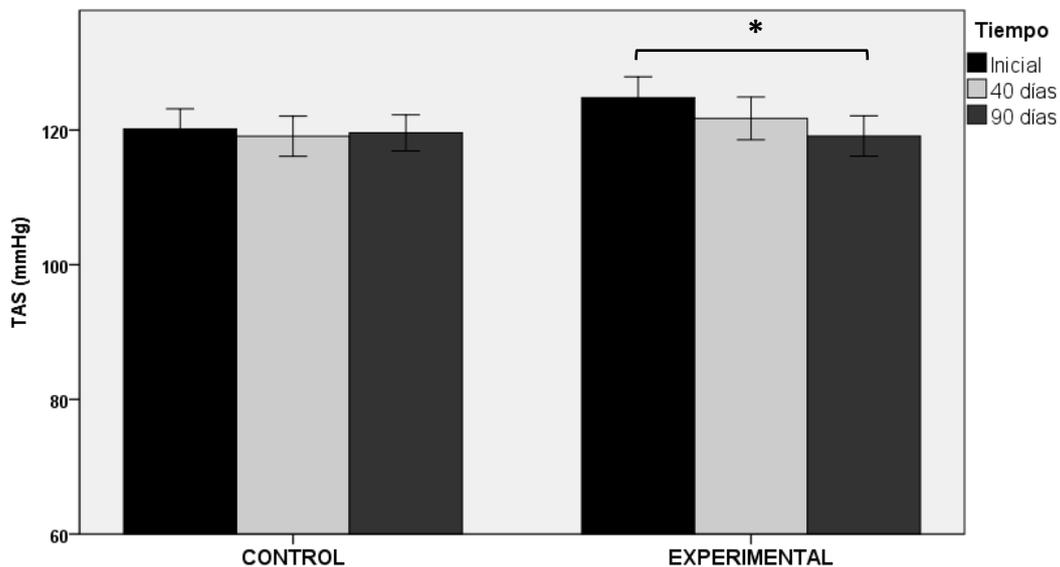


Figura 28. Análisis comparativo de la TAS en los grupos placebo y experimental

- **Tensión arterial diastólica (TAD)**

Los estadísticos descriptivos se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 26. Estadísticos descriptivos TAD

TAD (mmHg)	PRODUCTO	Media	Desviación típica	N
INICIAL	Control	76	11	34
	Experimental	78	10	33
DÍA 40	Control	78	10	34
	Experimental	76	11	33
DÍA 90	Control	76	9	34
	Experimental	76	12	33

Al realizar el análisis comparativo se obtuvieron los siguientes resultados:

- Comparación de los valores de la variable en el estado inicial. No se aprecian diferencias significativas al comparar los valores de esta en el instante inicial ($p = 0.352$), por lo que ambos grupos eran homogéneos para esta variable en el instante inicial del estudio.

- Evolución de cada uno de los grupos por separado.

- Grupo placebo. No se aprecian diferencias significativas en la evolución de esta variable ($p = 1.000$); por tanto, no se puede afirmar que en el consumo del placebo haya modificado los niveles de esta durante la ingesta.

- Grupo experimental. Se observa un descenso de 2 mmHg en los sujetos que consumieron el producto experimental pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p = 0.265$).

- Comparación entre grupos. El grupo control no modifica la TAD durante el consumo del placebo y el grupo experimental disminuye esta variable ligeramente. A pesar de esta diferencia observada en los sujetos durante la ingesta de los dos productos, al comparar la evolución de ambos grupos no se aprecia significación estadística ($p = 0.132$).

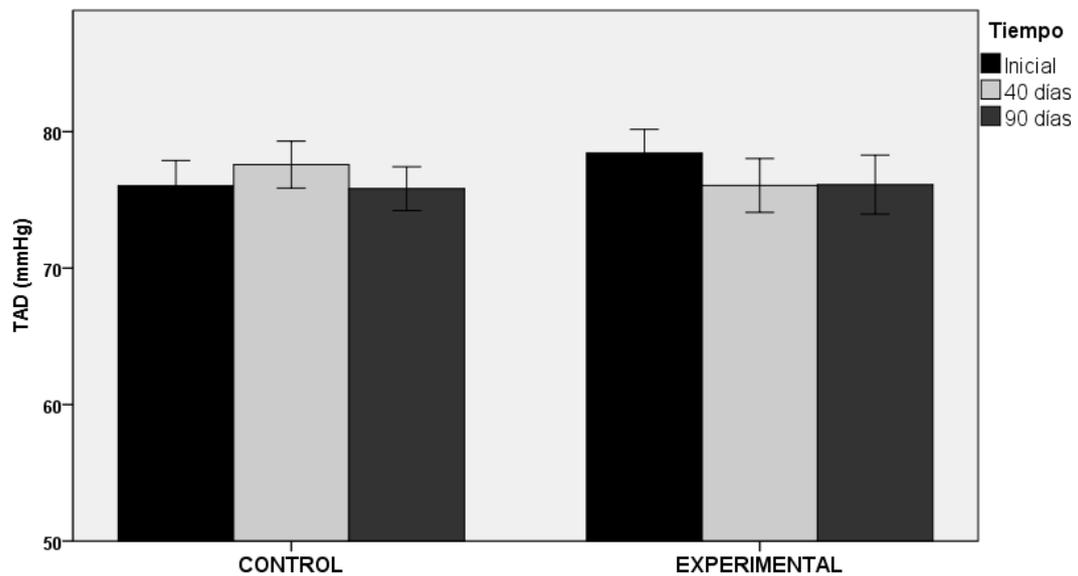


Figura 29. Análisis comparativo de la TAD en los grupos placebo y experimental

5.2.7 Tolerabilidad y seguridad.

No se han evidenciado acontecimientos adversos relacionados con la ingesta del producto en ninguno de los sujetos del estudio. Tampoco se ha evidenciado modificaciones en el hemograma, ni en la función hepática ni renal de los sujetos evaluados.

Por tanto, la ingesta del producto es segura.

Tabla 27. Resumen de medias estadísticas y significación entre variables

Variables	Grupo experimental			Grupo placebo					
	Basal ± DT	40-días ± DT	90-días ± DT	P intragrupal	Basal ± DT	40-días ± DT	90-días ± DT	P intragrupal	P intergrup
AUC basal (mg/dL x min)	5286 ± 2260	4526 ± 2543	3786 ± 1817	0.001	4755 ± 2265	4394 ± 2543	4636 ± 1969	1.000	0.004
AUC punto 0 (mg/dL x min)	17809 ± 2534	16908 ± 2825	16219 ± 2176	0.001	17401 ± 2284	16892 ± 1933	17229 ± 2152	1.000	0.002
Glucemia máxima (mg/dL)	181 ± 34	170 ± 32	161 ± 28	0.001	179 ± 29	174 ± 25	175 ± 22	1.000	0.011
HbA1c (%)	5.33 ± 0.44	5.35 ± 0.42	5.24 ± 0.43	0.543	5.22 ± 0.36	5.23 ± 0.40	5.22 ± 0.37	1.000	0.469
Glucemia basal (mg/dL)	104.2 ± 5.0	104.3 ± 4.9	102.9 ± 5.3	0.329	103.4 ± 3.0	102.6 ± 4.9	103.6 ± 5.3	1.000	0.107
Insulinemia basal (mU/L)	9.78 ± 6.82	7.70 ± 5.07	8.11 ± 4.46	0.148	9.36 ± 6.55	10.80 ± 8.09	10.16 ± 6.18	1.000	0.027
HOMA-IR	2.54 ± 1.80	2.01 ± 1.38	2.08 ± 1.20	0.313	2.40 ± 1.70	2.76 ± 2.13	2.61 ± 1.62	1.000	0.034
I. QUICKI	0.35 ± 0.03	0.36 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.070	0.35 ± 0.03	0.34 ± 0.03	0.34 ± 0.03	0.632	0.034
Vasodilatación arterial (mm)	0.021 ± 0.016	-	0.030 ± 0.017	0.019	0.027 ± 0.014	-	0.025 ± 0.021	0.559	0.034
VMF (%)	6.518 ± 5.114	-	8.611 ± 5.233	0.040	7.761 ± 5.938	-	7.146 ± 5.223	0.502	0.050
Colesterol total (mg/dL)	191 ± 36	187 ± 38	189 ± 38	1.000	194 ± 34	192 ± 36	198 ± 41	1.000	0.641
Triglicéridos séricos (mg/dL)	98 ± 54	87 ± 48	89 ± 42	0.531	94 ± 57	99 ± 61	99 ± 54	1.000	0.101
Colesterol LDL (mg/dL)	102.8 ± 27.2	108.1 ± 30.7	111.4 ± 34.6	0.851	113.4 ± 25.2	114.8 ± 33.7	118.1 ± 28.1	0.610	0.662
Colesterol HDL (mg/dL)	59.9 ± 12.1	58.3 ± 12.1	59.1 ± 10.8	1.000	60.1 ± 15.1	59.0 ± 15.3	58.1 ± 13.2	0.252	0.639
Peso (Kg)	75.2 ± 18.3	74.9 ± 18.3	74.7 ± 18.3	0.543	75.2 ± 18.2	75.2 ± 18.1	75.2 ± 17.9	1.000	0.469
IMC (Kg/m ²)	25.9 ± 6.9	25.9 ± 6.9	25.8 ± 7.0	0.304	26.1 ± 5.3	26.1 ± 5.2	26.1 ± 5.2	1.000	0.261
Grasa corporal (%)	29.1 ± 10.4	29.1 ± 10.6	29.3 ± 10.4	1.000	25.4 ± 9.3	25.3 ± 9.3	25.4 ± 9.0	1.000	0.890
ICC	0.79 ± 0.10	0.78 ± 0.10	0.79 ± 0.10	1.000	0.79 ± 0.09	0.79 ± 0.10	0.79 ± 0.10	1.000	0.928
IL-6 (pg/mL)	4.34 ± 1.79	4.17 ± 1.71	4.08 ± 1.41	0.159	4.37 ± 1.37	4.43 ± 1.25	4.36 ± 1.41	1.000	0.284
E-selectina (ng/mL)	17.59 ± 1.11	16.52 ± 0.99	15.70 ± 1.06	0.001	16.62 ± 1.53	16.59 ± 1.45	16.23 ± 0.96	0.295	0.001
TAS (mmHg)	125 ± 18	122 ± 18	119 ± 17	0.001	120 ± 18	119 ± 17	120 ± 16	1.000	0.259
TAD (mmHg)	78 ± 10	76 ± 11	76 ± 12	0.265	76 ± 11	78 ± 10	76 ± 9	1.000	0.132

VI - DISCUSIÓN

VI - DISCUSIÓN

La prediabetes es el principal factor de riesgo para el desarrollo posterior de DM2. Además, existen otros factores como antecedentes familiares, diabetes gestacional, obesidad o SM que pueden incrementar dicho riesgo. La incidencia y la prevalencia de esta se está incrementando tanto en los países desarrollados como en aquellos que se encuentran en vías de desarrollo debido a, entre otras cosas, la mayor ingesta de productos refinados y procesados, unido al sedentarismo propio de la población actual (156).

El objetivo principal de este estudio fue observar la efectividad del extracto de *Sclerocarya birrea* en personas prediabéticas y, con ello, su actividad hipoglucemiante, hipotensiva, hipocolesterolemia, etc. Para poder observar ese efecto, se dividió a los participantes en dos brazos, proporcionándole al brazo A placebo y al brazo B producto. Con ello y con la ingesta de estos durante 90 días, se obtuvieron mejoras en variables relacionadas con el metabolismo glucídico, VDE y antiinflamatorios, que se discuten a continuación.

6.1 METABOLISMO GLUCÍDICO

El objetivo principal de este ensayo clínico fue observar la eficacia del producto a estudio en sujetos prediabéticos en todos los parámetros relacionados con el metabolismo glucídico de estos, tras un consumo crónico del extracto de SB. Los resultados obtenidos mostraron que durante los 90 días en los que los participantes ingirieron el nutraceutico, se produjeron modificaciones relevantes en varias de las variables analizadas.

En primer lugar, hubo una mejora en el AUC obtenida tras la realización del TTOG, tomando como base del área determinada la glucemia basal y el punto cero. La primera se produce en el grupo experimental de forma significativa ($p < 0.001$) al observar la evolución de dicha variable en los 90 días que dura el estudio; y también en la comparación de los grupos experimental y control durante el desarrollo del estudio ($p < 0.004$). Por otro lado, la mejora del AUC tomando como base el punto cero tiene la misma evolución, habiendo diferencias significativas de

igual forma en el grupo experimental durante el desarrollo del proyecto ($p < 0.001$), y en la comparación entre grupos tras el tiempo establecido ($p < 0.002$).

Todo ello está directamente relacionado con la mejora significativa producida en la comparación de la glucemia máxima obtenida tras el TTOG, cuya comparativa muestra su mejoría en el grupo experimental tras el estudio ($p < 0.001$) y también en la comparación del grupo experimental y el control tras la ingesta durante 90 días del producto y del placebo ($p < 0.011$).

Ngueguim y cols. (157) realizaron un estudio con ratas Wistar, que fueron divididas en dos grupos; uno de ellos sometido a una dieta normal y otro a dieta especial rica en grasas oxidadas y azúcares durante un periodo de tiempo de 16 semanas. Tras ese tiempo, se dividió en cuatro grupos a las ratas sometidas a la dieta especial a las que se les indujo DM2. Dependiendo del grupo, se les administró glibenclamida; grasas oxidadas y azúcares; y dos dosis distintas de extracto de SB (150 mg/Kg y 300 mg/Kg). Se sometió a la muestra al TTOG, siendo los resultados obtenidos muy similares a los de esta investigación, al producirse una disminución significativa de la glucemia máxima tras dicho test ($p < 0.001$). Estos datos muestran que el extracto de la corteza del árbol podría actuar a niveles periféricos por medio de varios mecanismos, como la reducción de la absorción de glucosa desde el tracto gastrointestinal por una inhibición de las enzimas α -glucosidasas y α -amilasas, o incluso por estimular el empleo de glucosa periférica gracias a tener un mecanismo de acción similar al de la clorpropamida y/o la metformina (158–161).

- *Sclerocarya birrea*: posible mecanismo de acción similar a la metformina.

La metformina es un fármaco antidiabético de la familia de las biguanidas. Tiene efectos antihiper glucemiantes; no interviene en la secreción de insulina, por lo que no causa hipoglucemia. Posee una cadena lateral metilada, generando un comportamiento similar al de un catión hidrofílico a pH fisiológico, lo cual provoca que no pueda emplear un transporte de difusión pasiva por las membranas celulares, y tenga que depender de transportadores de cationes orgánicos (COT) para poder introducirse en el interior de la célula. Su mecanismo de acción se basa en inhibir el complejo I (NADH-CoQ reductasa) situado en la cadena respiratoria

mitocondrial, generando una disminución en la síntesis de ATP. Así pues, tienen lugar un conjunto de procesos metabólicos por los cuales, la célula intenta suplir e incrementar la energía que supuestamente falta. Se activa la AMPK, y comienza a fosforilar enzimas clave que van a reducir los procesos anabólicos y todos aquellos que consuman energía (162). La activación de AMPK tiene efectos en una multitud de tejidos (163). En el músculo esquelético, su activación estimula la captación de glucosa, la oxidación de ácidos grasos y la translocación de los GLUT-4, mientras que inhibe la síntesis de proteínas y glucógeno (164). De manera similar, en el músculo cardíaco, la activación de AMPK estimula la captación de glucosa, la oxidación de ácidos grasos y la glucólisis (165). AMPK estimula la captación de glucosa y la oxidación de ácidos grasos en el hígado, mientras inhibe la gluconeogénesis, así como la síntesis de colesterol, ácidos grasos y proteínas (166).

El resultado final es una mejora de la acción insulínica, tanto en el músculo esquelético como en el hígado, y una mayor captación total de glucosa. Así pues, con ello se va a generar una disminución de glucemia y de HbA_{1c} (162,167).

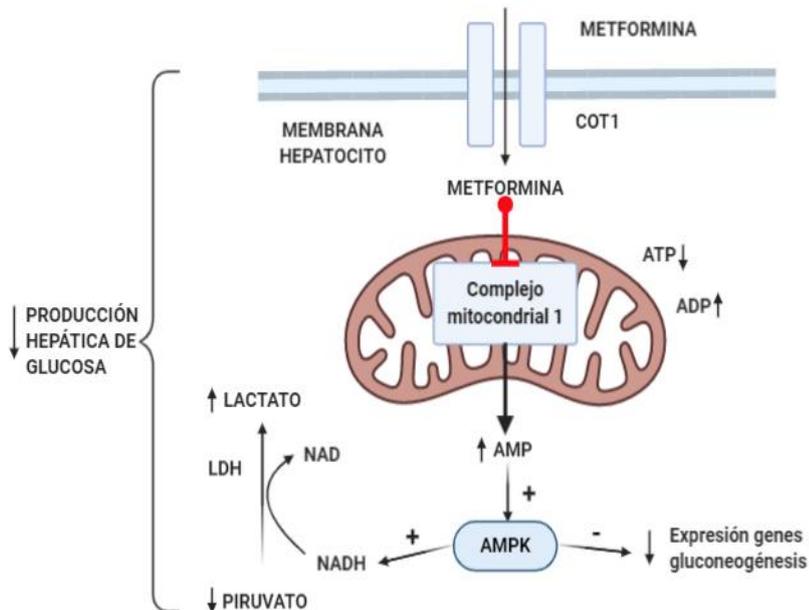


Figura 30. Mecanismo de acción de la metformina.

La EGCG y la EC, que parecen tener un efecto similar a la metformina (168) podrían dar lugar a dos mecanismos de acción: [1] inhibición de la enzima mitocondrial glutamato deshidrogenasa (GDH) que participa en la respuesta secretora de insulina, produciéndose por lo tanto un descenso notorio de la liberación de la hormona (168,169); [2] la activación de la AMPK de la misma forma que lo haría la metformina, generando una disminución de los niveles de glucosa en sangre y una mayor sensibilidad a la insulina. Así pues, el mecanismo de acción de algunos de los polifenoles contenidos en SB como EC y EGCG es similar a los de la metformina produciría un mayor control en la secreción de insulina, una disminución de los niveles de glucosa en sangre y mayor sensibilidad a la insulina, lo que generaría un incremento del control metabólico (168,170).

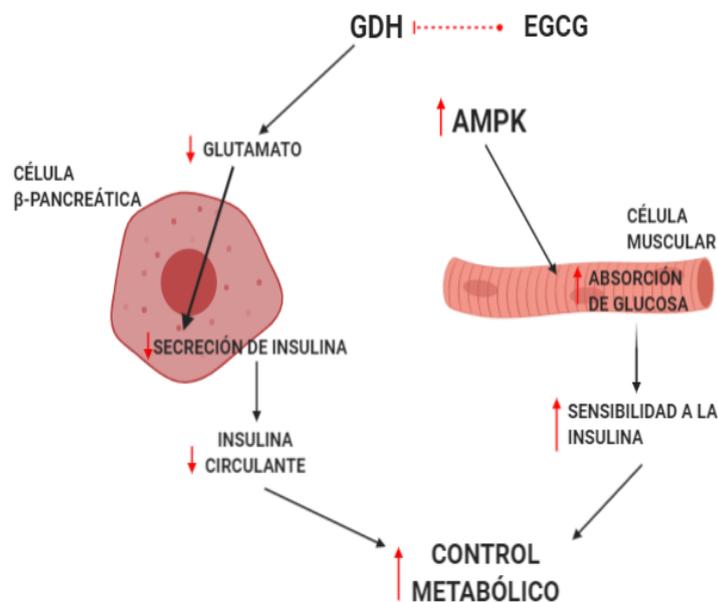


Figura 31. Posible mecanismo de acción de EGCG en GDH.

En este ensayo clínico, no se observaron diferencias significativas al medir la hemoglobina glicosilada y la glucemia basal de los pacientes tras el periodo de consumo, mientras que sí se obtuvieron al observar el comportamiento de la insulinemia basal del grupo placebo frente al grupo experimental, comparando la

evolución de dicha variable durante la investigación, produciéndose un descenso de los niveles de esta hormona en sangre.

Un estudio llevado a cabo por Dimo y cols. (141) reveló que el tratamiento con el extracto acuoso de este árbol tiene un efecto similar a este fármaco, reduciendo significativamente la concentración media de glucosa tras el TTOG y siendo esta calculada por medio del AUC. Similar a esta investigación fue la realizada por Gondwe (139), en la que se emplearon ratas Wistar, dividiéndolas en cuatro grupos (grupo control, grupo de ratas diabéticas inducidas por STZ, grupo control sin diabetes y grupo no diabético tratado). Todas ellas se sometieron a un ayuno de 18 horas para, posteriormente, medir su glucemia y ser sometidas a un TTOG, tras la ingesta de SB. La respuesta a dicho test se evaluó y se observó que la concentración media de glucosa en ratas no diabéticas disminuyó de forma significativa tras 4 horas del test, mientras que en las ratas diabéticas no se produjo esa mejora significativa. La administración oral de diferentes dosis de SB produjo una disminución de la glucemia dependiente de dosis.

- *Sclerocarya birrea*: posible mecanismo de acción similar a la clorpropamida.

El incremento de glucemia va a ser la señalización necesaria para que se produzca la liberación de insulina desde las células β -pancreáticas. La glucosa se introducirá en estas células por medio de difusión facilitada por GLUT-2, se fosforilará por medio de la enzima glucoquinasa y será oxidada, generando ATP. Un incremento de la proporción ATP / adenosín difosfato (ADP) cerrará los canales de potasio sensibles o dependientes de ATP, lo cual provocará la despolarización de la célula y la apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje. Esto, a su vez, dará lugar a un incremento de la concentración del calcio citosólico (171). Este calcio es el encargado de activar la enzima calcio calmodulina quinasa II (CaMKII) (172,173), una serina/treonina quinasa multifuncional que juega un papel primordial en la regulación del metabolismo de los nutrientes, la expresión génica, la excitabilidad de la membrana, el ciclo celular y la comunicación neuronal. Se expresa en las células β -pancreáticas y actúa como señal desencadenante en la secreción de insulina inducida por glucosa (174).

La clorpropamida es un fármaco perteneciente a la familia de las sulfonilureas, cuyo mecanismo de acción consiste en incrementar las concentraciones de insulina en plasma, además de generar una disminución del aclaramiento hepático de esta hormona, teniendo con ello un mecanismo hipoglucemiante (175). Este fármaco actúa uniéndose a un receptor específico (receptor de sulfonilurea o SUR 1) que se encuentra en la membrana celular de las células β -pancreáticas de los islotes de Langerhans. Dicho receptor se localiza en los canales de potasio, dependientes de ATP, y la unión de la clorpropamida va a generar su bloqueo, impidiendo la salida del ion. El flujo de potasio al exterior de la célula β -pancreática no se produce, lo cual da lugar a la despolarización de la membrana celular, generando con ello la mayor entrada de calcio en la célula. Dicho incremento de calcio produce la exocitosis de la insulina almacenada, que por lo tanto se secreta rápidamente en mayores cantidades, produciéndose con ello la acción secretagoga mencionada (175,176).

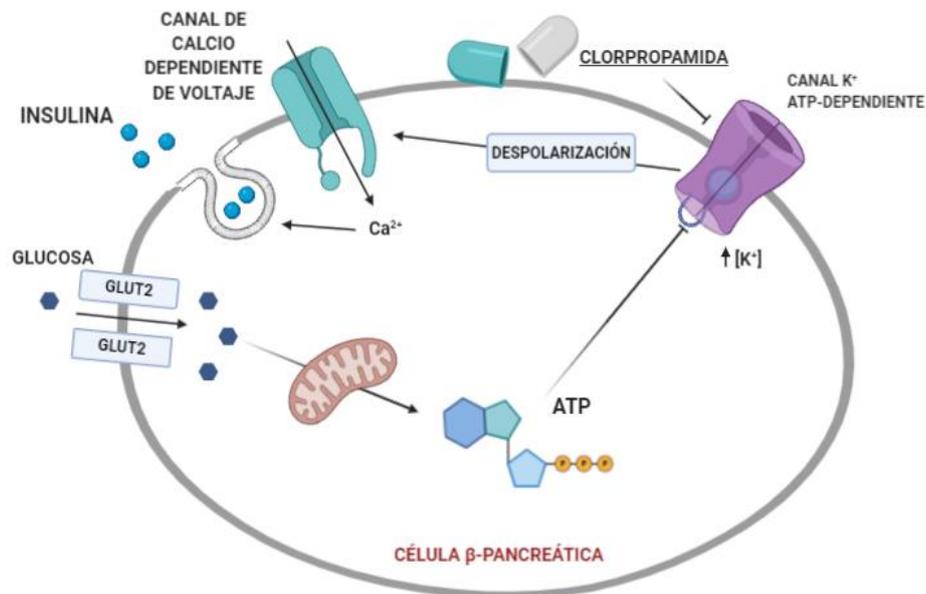


Figura 32. Mecanismo de acción de la clorpropamida.

El mecanismo de acción de los polifenoles contenidos en SB sería similar al producir también un aumento en la concentración del calcio citosólico. Algunos polifenoles de la SB como la EC son capaces de activar el receptor acoplado a proteína G40, incrementando aún más la concentración de calcio por medio de su

liberación del retículo endoplasmático (177). El incremento de la concentración de calcio citosólico también podría generar una activación de la enzima adenilil ciclasa (AC) sensible al calcio, lo que incrementaría la concentración de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc). Este hecho daría lugar a la activación de la enzima proteína quinasa A (PKA), cuya actividad se correlaciona estrechamente con los picos de calcio y la liberación aguda y sostenida de insulina (178,179). Se ha observado que puede tener un papel fundamental en todo el proceso de secreción de insulina, al inhibir a la proteína fosfatasa 1 (PP1), encargada de desfosforilar la CaMKII (180).

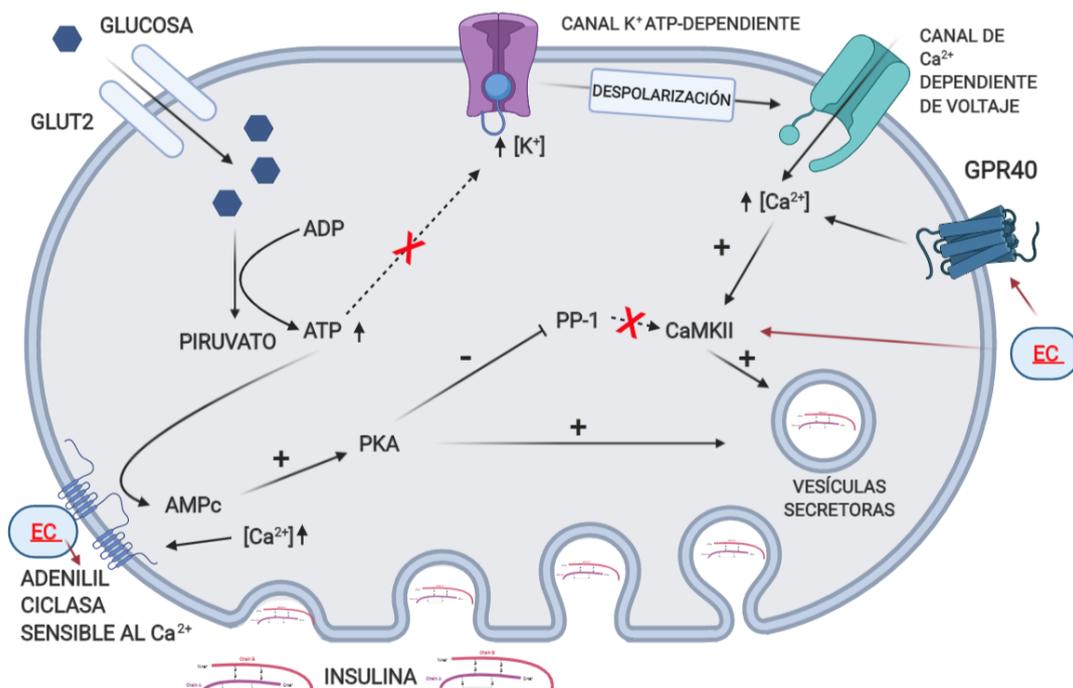


Figura 33. Diagrama esquemático de las posibles vías para la secreción de insulina mediada por EC en células β-pancreáticas.

En este ensayo clínico se obtuvieron resultados estadísticamente significativos en relación con la insulinemia basal, comparando el grupo experimental y control a lo largo de este. También se obtuvieron resultados significativos al realizar el índice HOMA-IR y el QUICKI, observando con ello una

disminución a la resistencia periférica a la insulina y con ello una mejora en el grupo que ingirió el extracto de SB.

Ndifossap y cols. (159), mostraron que el extracto acuoso de SB tenía acción hipoglucémica sobre ratas Wistar, y que dicho extracto era capaz de actuar sobre las células β -pancreáticas al mejorar la secreción insulínica, tal y como antes se ha mencionado. A dichas ratas se les indujo diabetes por medio una inyección de STZ y, tras un periodo de dos semanas de tratamiento con SB a diferentes dosis (150 mg/Kg y 300 mg/Kg), se produjo una disminución de la glucemia basal significativa, con una eficacia similar a la de la glibenclamida. Ngueguim y cols. (157) también mostraron que, la administración concomitante del extracto del árbol junto al suplemento dietético de aceite oxidado y azúcar que emplearon, no supuso un incremento de la glucemia en la muestra, e incluso se produjo una disminución de la glucemia basal en comparación con los valores iniciales, siendo mayor dicha disminución en el grupo al que se le administró 300mg/Kg del extracto de SB que en aquél al que se le suministró una dosis de 150mg/Kg.

Ojewole (181) realizó una investigación con ratones BALB/c, los cuales estuvieron en ayunas durante 12 horas y fueron divididos en dos grupos: A o experimental y B o control. Al grupo A se le indujo DM por medio de inyecciones de STZ. A un grupo se le administró SB y al otro clorpropamida. El grupo A tratado con SB sufrió una disminución significativa dependiente de la dosis ($p < 0,05 - 0,001$) de la glucemia basal en comparación con el grupo control. Del mismo modo, Deh y cols. (182) realizaron un estudio en el que dividieron a la muestra, compuesta por 32 ratas Wistar, en cuatro grupos, a los cuales administraron glibenclamida, dos dosis distintas del extracto de SB (35 mg/Kg y 7350 mg/Kg) y agua destilada. Midieron posteriormente el efecto de cada uno de los tratamientos durante cuatro horas, partiendo de la hora anterior al inicio de la administración, y realizando en total 10 mediciones. Con esos datos y durante un total de 3 días con el mismo procedimiento, observaron que el extracto de SB generaba una gran reducción de la glucemia en la muestra, siendo mucho más marcado el descenso en el grupo tratado con 35 mg/Kg, produciendo una disminución del 38% de esta. Por otro lado, la disminución de la glucosa en sangre producida por la dosis de 7350 mg/Kg fue de un 25%.

En los cuatro estudios anteriores (157,159,181,182) se menciona el mecanismo de acción similar que tendría SB con las sulfonilureas. Algunos autores han

comparado la clorpropamida con SB y han concluido que coinciden en la forma de actuar.

Por otro lado, en el estudio citado anteriormente, realizado por Ndifossap y cols. (159) en ratas, trataron de comprobar si SB producía una amplificación de la señal de calcio citosólico midiendo la cantidad de ATP generado en la célula. Observaron que había una mayor oxidación de glucosa en aquellas ratas tratadas con SB, y con ello una mayor cantidad de ATP. Todo ello apunta también a las mitocondrias como objetivo de la SB, ya que estas son capaces de generar metabolitos y nucleótidos tras la fosforilación que dan lugar, junto con la mayor proporción ATP/ADP, a una mayor secreción de insulina por el incremento de la concentración de calcio (183).

EC sería capaz, por lo tanto, de tener tres vías de acción en la célula β -pancreática: activar la CaMKII, produciendo su autofosforilación (179); activar el receptor acoplado a la proteína G40; y activar la enzima AC sensible al calcio. Estas hipótesis nos posicionarían en un mismo fin, una amplificación de la señal de calcio que daría lugar a una mayor secreción de insulina, tal y como ocurre en el caso del fármaco.

Existen otros estudios, sin embargo, como el que realizaron Gondwe y cols. (139), en el que se observó que las concentraciones de insulina en plasma de las ratas diabéticas inducidas por STZ y no diabéticas, no fueron modificadas en el tratamiento realizado de forma diaria durante 5 semanas con extracto de SB.

- *Sclerocarya birrea*: posible mecanismo de acción en vías de señalización celular.

Entre los componentes de SB, uno de los más abundantes es el AG. Se ha intentado explicar el mecanismo de acción que el AG tendría sobre el metabolismo glucídico, y se ha visto cómo este ácido podría ser capaz de activar la MAPK y la vía PI3K/AKT (117).

La primera de las vías participa de forma directa en la regulación de la expresión de genes que juegan un papel primordial en el crecimiento y la diferenciación celular. La segunda genera la fosforilación de la quinasa AKT, siendo responsable de la acción metabólica de la insulina (184).

AKT es la encargada de catalizar la fosforilación de la proteína AS160, que estimula la traslocación de los transportadores de glucosa GLUT-4 desde las vesículas citoplasmáticas a la superficie de la membrana celular y, por lo tanto, aumenta el transporte de glucosa dependiente de insulina hacia la célula (184). La proteína GLUT-4 se acumula en la membrana plasmática de la célula debido al incremento de exocitosis producido por AS160. Es así como la glucosa dependiente de este transportador puede introducirse a la célula (117). Además, la AKT es responsable de desencadenar la fosforilación de la GSK3, que estimula la glucogenogénesis en el hígado y en el músculo esquelético (185). Esta vía se encuentra bajo estricto control y sus alteraciones son la causa de muchas enfermedades, incluida principalmente la resistencia a la insulina (186).

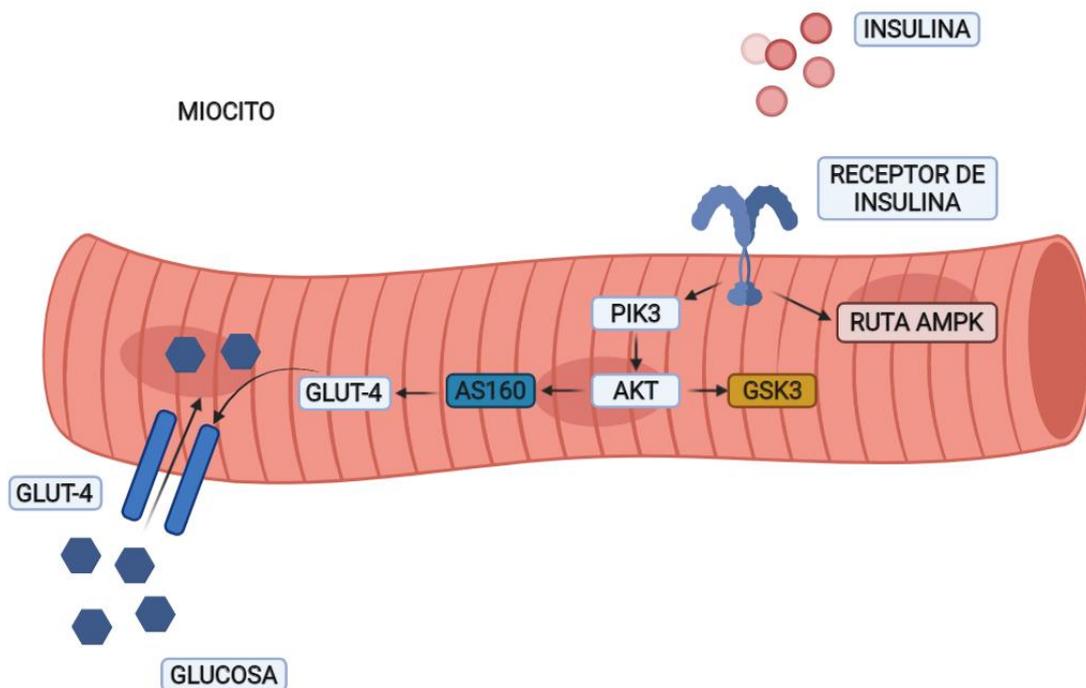


Figura 34. Vía de señalización de insulina.

Elahi y cols. (187), mostraron la acción del AG. Realizaron un estudio en el que formaron 3 grupos con 15 ratas Wistar, de 5 ratas cada uno. Uno de los grupos estaba formado por ratas no diabéticas; el segundo lo formaban ratas diabéticas; y el tercer grupo lo conformaban ratas diabéticas tratadas con AG. A los dos últimos

grupos les inyectaron aloxano (un compuesto diabetogénico) durante un periodo de 14 días. Se observó que el grupo que no había sido tratado con AG tenía unos niveles de glucemia mucho más elevados.

Al igual que ocurre con el AG, la EGCG tiene propiedades similares, tal y como se mostró en un estudio llevado a cabo por Cao y cols. (188) en el que se cogió una muestra de ratas Wistar a las que se les dio un tratamiento dietético con una alta concentración de este polifenol durante un periodo de 6 semanas, produciendo un incremento de GLUT-4 en los miocitos. Por otro lado, un experimento con ratones macho C57BL/6J realizado por Nishiumi y cols. (189) mostró resultados similares. Se les proporcionó durante 14 semanas una dieta rica en grasas con una alta concentración de EGCG, no produciéndose ningún incremento de peso corporal ni de deposición de grasa en el tejido adiposo blanco; y generándose un incremento de GLUT-4.

- *Sclerocarya birrea*: posible mecanismo de acción similar a α -amilasas y α -glucosidasas.

La α -amilasa es una enzima encargada de una parte de la digestión del almidón, gracias a su acción catalítica en la hidrólisis de los enlaces α -1,4-glucano de almidón, maltodextrinas y maltooligosacáridos. En los seres humanos, la digestión de este polisacárido implica varias etapas. Inicialmente se produce una digestión parcial por la amilasa salival, dando como resultado la degradación del sustrato polimérico en oligómeros más pequeños. Una vez que este material se encuentra parcialmente digerido, llega al intestino donde se hidroliza, formando oligosacáridos más pequeños por medio de la amilasa pancreática. El resultado de esta degradación pasa por el borde en cepillo de los enterocitos, donde las glucosidasas transforman los oligosacáridos restantes en glucosa, que posteriormente se dirige hacia el torrente sanguíneo (190).

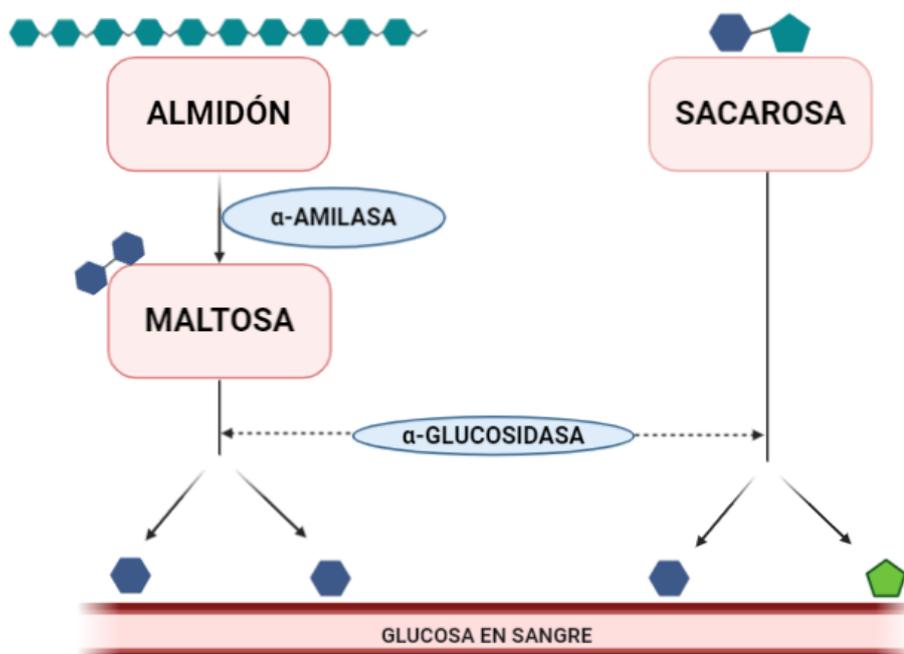


Figura 35. Acción de α -amilasa y α -glucosidasa.

Diversos autores afirman que SB es un inhibidor de la enzima α -amilasa. Esta inhibición puede reducir de forma significativa el incremento de glucemia postprandial, tras una dieta mixta basada en carbohidratos. Por ello, puede ser una estrategia importante en el tratamiento de la prediabetes y la DM2, ya que estos inhibidores provocarían una disminución de dicha hidrólisis, y con ello una disminución de la glucemia postprandial (190–192).

Se han realizado múltiples ensayos *in vitro* para observar esta capacidad. Uno de ellos, llevado a cabo por Kato y cols. (193) comprobó como el AG es capaz de inhibir las α -amilasas pancreáticas y salivales cuando el sustrato es el almidón. Otro ensayo clínico *in vitro* llevado a cabo por Quesille y cols. (194) mostró que AG, EGCG y EC pueden producir una inhibición de las enzimas α -amilasas.

Por otro lado, la investigación llevada a cabo por Nikolova y cols. (195) consiguió demostrar un efecto inhibitorio del AG en las α -glucosidasas.

Como anteriormente se ha mencionado, tras la degradación realizada por las enzimas α -amilasas, los oligosacáridos llegan al borde en cepillo de los enterocitos, donde las enzimas α -glucosidasas continúan con el proceso de digestión (190).

Las α -glucosidasas (maltasas, dextrinasas, sacarosas y glucoamilasas), son aquellas enzimas encargadas de la degradación de maltosa, sacarosa y demás oligosacáridos, transformándolos en sus formas monoméricas. Los inhibidores de las α -glucosidasas bloquean competitivamente su acción a nivel intestinal. Así pues, se produce un mecanismo similar al de las α -amilasas, retrasando la digestión de estos hidratos de carbono y, con ello, disminuyendo los picos glucémicos que se generan tras la digestión. El resultado es la digestión incompleta de los carbohidratos, siendo posteriormente eliminados o fermentados por las bacterias intestinales, generando con ello la formación de ácidos grasos de cadena corta (115).

Al igual que en el caso de las α -amilasas, diversos autores han observado la acción inhibitoria que tiene SB frente a estas enzimas (161).

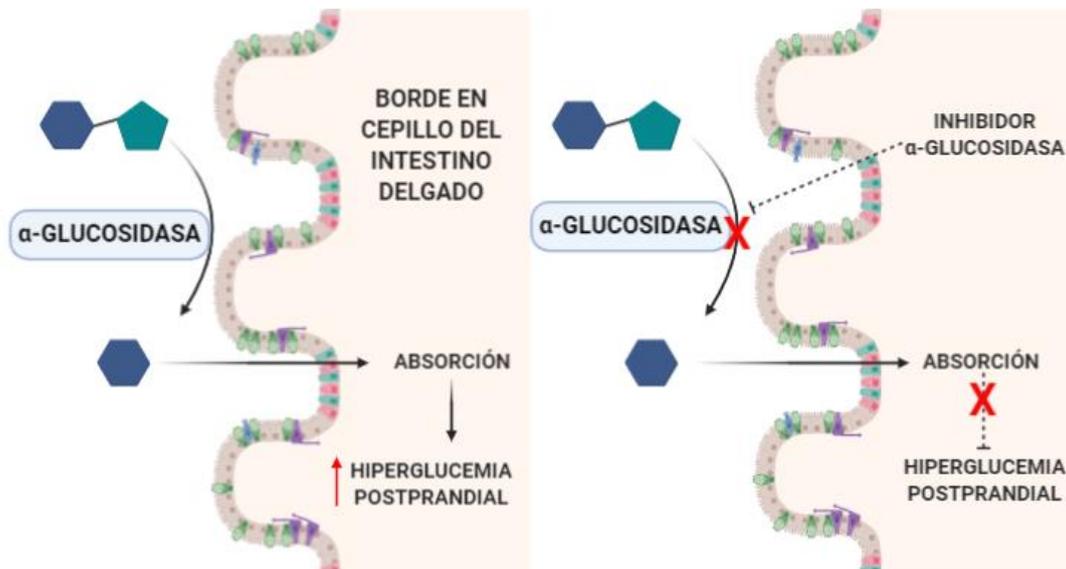


Figura 36. Mecanismo de acción de los inhibidores de α -glucosidasas.

Uno de estos estudios mostró, no solo una actividad inhibitoria realmente prometedora de las α -glucosidasas, sino también un efecto inhibitor en las enzimas dipeptidil peptidasa-IV (DPP-IV), lo cual generaría que no se produjese su acción proteolítica sobre el péptido inhibidor gástrico (GIP), incretina que promueve la homeostasis de la glucosa estimulando la secreción de insulina a nivel pancreático, además del crecimiento y la diferenciación de las células β -pancreáticas, y la inhibición de la secreción de glucagón (196). Precisamente, este mecanismo de

acción sería el mismo que emplearía el antidiabético sitagliptina como inhibidor de DPP-IV.

La inhibición o la disminución de la actividad de estas enzimas produciría un retraso en la digestión de estos macronutrientes, y con ello una disminución de los picos de glucemia (115).

6.2 FUNCIÓN ENDOTELIAL

La disfunción endotelial genera una serie de alteraciones que suelen producirse en individuos con DM, que van a afectar a los mecanismos de difusión, síntesis, liberación o degradación de los factores liberados por el endotelio. Las alteraciones de tipo vascular producidas en sujetos con DM, las cuales tienen lugar debido, entre otros factores, a la hiperglucemia crónica, son las que producen esta mayor predisposición. La hipertensión arterial y el metabolismo lipídico alterado que presentan estos sujetos también puede contribuir a su aparición (197).

En el ensayo clínico realizado, se observa que la ingesta del producto durante 90 días provocó una mejora en la VMF de los sujetos del grupo experimental ($p < 0.040$) tras el estudio de esta variable mediante pletismografía arterial. También se obtuvieron diferencias significativas en la comparación realizada entre el grupo experimental y el placebo, produciéndose, como anteriormente se ha mencionado, una mayor VMF en el primero en relación con el segundo ($p < 0.05$).

En otros estudios, como el realizado por Ojewole (140), el cual empleó el extracto de SB en ratas Wistar, se produjo un incremento significativo de la VMF, dependiente de la concentración del extracto ($p < 0.05 - 0.001$), lo cual se atribuyó a la formación y liberación del ON mediante la activación de la enzima óxido nítrico sintasa (ONS), gracias, según el autor, a los fitoquímicos presentes en el extracto de la corteza de este árbol. Por otro lado, se han realizado ensayos clínicos con algunos de los compuestos que forman parte de SB, como es el caso del AG. De Oliveira y cols. (198) realizaron un experimento en el que emplearon ratas Wistar hembra, observando la vasodilatación de la aorta torácica. Concluyeron que el AG produjo un efecto vasodilatador en los anillos aórticos. Sin embargo, el estudio realizado por Mawoza y cols. (199) muestra resultados contrarios al anterior, exhibiendo el efecto contráctil de SB en el anillo aórtico de conejos, siendo este efecto dependiente de la concentración del extracto. Estos resultados pueden deberse a los

vasoconstrictores derivados del endotelio como las prostaglandinas y la endotelina-1, así como por la afluencia de calcio extracelular y la liberación de calcio intracelular.

A la SB, tal y como se ha mencionado, se le ha atribuido ser un vasodilatador dependiente de endotelio. Para poder explicar las posibles propiedades vasodilatadoras del extracto, primero se debe conocer el mecanismo subyacente por el que se produce este proceso.

Las células endoteliales se encargan de regular la función de las células vasculares del músculo liso, cuya relajación está mediada por medio del ON. El ON se sintetiza por medio de la oxidación de L-arginina a L-citrulina en presencia de la enzima ONS. La enzima ONS se encuentra en tres isoformas; ONS inducible (ONSi), ONS endotelial (ONSe) y ONS neuronal (ONS_n). Dependiendo de la isoforma de ONS, el ON que se genera juega un papel diferente (200,201). El ON generado por ONSi es un potente mediador proinflamatorio, mientras que el ON generado por ONSe controla la homeostasis cardiovascular. Se ha observado que algunos polifenoles como el AG influyen en la fosforilación de la ONSe, al depender de la vía PI3K-Akt (201), razón por la cual SB podría ser capaz de mejorar la vasodilatación dependiente de endotelio.

El ON generado en las células endoteliales difunde a las células vasculares del músculo liso, donde produce un incremento del AMPc o del guanosín monofosfato cíclico (GMPc), que conducen a una relajación de los vasos sanguíneos subyacentes (202).

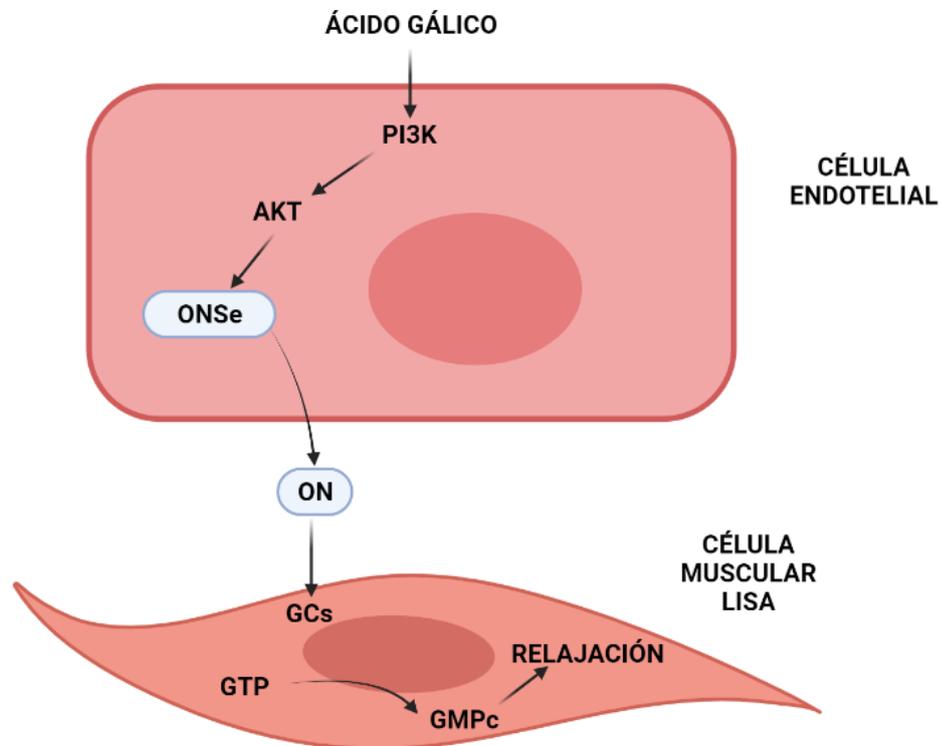


Figura 37. Posible influencia del AG en la ONSe.

El ON producido por la enzima ONSe generaría una relajación de los vasos sanguíneos por incremento de AMPc o GMPc, al activar la guanilato ciclasa soluble (GCs) (203). De la misma manera, un estudio realizado por Gil-Longo y cols. (204) mostró que el AG generó vasodilatación dependiente e independiente de endotelio.

6.3 METABOLISMO LIPÍDICO

Otro de los parámetros medidos en este estudio fue el metabolismo lipídico para observar la influencia del extracto de SB en este. Los pacientes con DM2 suelen presentar la denominada triada aterogénica, consistente en hipertrigliceridemia, bajos niveles de HDL y altos niveles de LDL pequeñas y densas (205). El vínculo establecido entre estos factores es el incremento de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (206,207).

En este ensayo clínico no se obtuvieron resultados significados en la mejora de los parámetros de c-LDL, colesterol total, TG y c-HDL. Sin embargo, la ingesta del producto durante 90 días produjo una tendencia positiva en relación con la disminución de TG totales en el grupo experimental frente al control o placebo, pese a que no se hayan producido diferencias significativas.

En el estudio realizado por Ngueguim y cols. (157), en el que le administraron una dieta rica en ácidos grasos oxidados y azúcar a ratas Wistar, se produjo una disminución significativa de TG, colesterol total, c-LDL e índice aterogénico en aquellas a las que se les administró el extracto de SB (150-300 mg/Kg) durante tres semanas, en comparación con el control. Aquellas a las que se les aportó una dosis mayor del extracto tuvieron mejoras más significativas. Se realizó otra investigación similar a la nuestra (112) con diez voluntarios sanos, sin trastornos metabólicos, no fumadores y con niveles de colesterol en plasma por debajo de 200 mg/dL. A estos sujetos se les dio a consumir 200 mililitros de zumo de marula durante un periodo de tres semanas. Se realizó un análisis sanguíneo en el momento cero, tras las tres semanas de consumo y cuatro semanas después del final de la ingesta (periodo de lavado). Con todo ello, se observó una disminución significativa de la concentración de colesterol total y de c-LDL. Sin embargo, esos valores volvieron a sus niveles basales tras las cuatro semanas de lavado. El c-HDL se incrementó y los TG sufrieron una reducción, ambos de manera significativa, sin volver a sus niveles basales tras el lavado.

Dimo y cols. (141) realizaron otro estudio con ratas Wistar a las que se dividió en cinco grupos de seis ratas diabéticas cada uno, a las que se les había inducido diabetes por medio de STZ. A dos de esos grupos se les administró extracto de SB a diferentes dosis (150-300 mg/Kg) durante un periodo de tres semanas. El grupo al que se le dio 300 mg/Kg tuvo una tendencia a la reducción de los niveles de colesterol total y TG, sin embargo, no alcanzó la significación estadística.

Se han realizado varios estudios con algunos de los polifenoles que forman parte de SB, como es el caso de EGCG. En uno de ellos, llevado a cabo por Raederstorff et cols. (208) se trató a ratas Wistar con EGCG. Las ratas fueron divididas en cuatro grupos. El primero no recibió EGCG; al segundo se le administró un 0.25% de extracto de EGCG; al tercero un 0.5% y al cuarto un 1%. Fue precisamente en ese cuarto grupo en el que se apreció, tras cuatro semanas de tratamiento, una disminución de colesterol total y del c-LDL. Otros estudios como

el de Lee et cols. (209) y Kah Hui et cols. (210) demuestran que la EGCG y el AG son capaces de incrementar la expresión del receptor de c-LDL en células hepáticas, lo cual puede generar una disminución de las lipoproteínas de baja densidad a nivel sistémico.

6.4 COMPOSICIÓN CORPORAL

En este estudio se llevó a cabo la medida de la composición corporal de los sujetos como variable de control. Entre las variables que se midieron para ver la evolución de la composición corporal e índices de proporcionalidad estaban el peso corporal, porcentaje de grasa corporal, IMC e ICC, comparando estas en el grupo experimental y placebo en el momento 0, tras 40 días de estudio y tras los 90 días de consumo.

No se han encontrado diferencias significativas al comparar estas cuatro variables entre los grupos placebo y experimental, pero hay que destacar la tendencia a la disminución de peso e IMC producido en el grupo que consumió el producto durante el tiempo del estudio, pese a que dicha modificación no sea significativa.

En el estudio realizado por Dimo y cols. (141), se observó que, al final de este, el peso corporal de las ratas diabéticas que no se trataron con el extracto de SB fue más bajo que el de las ratas tratadas con 300 mg/Kg del extracto, por lo que se produjo un incremento de este y del IMC en aquellas a las que se les administró SB. Por otro lado, sí tuvo lugar una disminución del agua ingerida por las ratas tratadas con SB, y un incremento menor de ingesta de comida que en aquellas ratas diabéticas no tratadas. Ndifossap y cols. (159) también quisieron medir, en ratas Wistar diabéticas, el posible efecto de SB en la pérdida de peso tras el tratamiento con el extracto. Observaron que, tras dos semanas de administración, se produjo una disminución del 10% del peso corporal estadísticamente significativa ($p < 0.02$) en comparación con aquellas no diabéticas. Del mismo modo, en la investigación llevada a cabo por Ngueguim y cols. (157), se observa una disminución significativa de la ingesta de alimentos en ratas en relación con el grupo control. Dicho descenso fue mayor en aquellas a las que se les administró una dosis superior (300 mg/Kg).

6.5 COMPONENTE INFLAMATORIO

El papel emergente de la inflamación tanto en la fisiopatología de la DM1 como en la DM2 y los trastornos metabólicos asociados, han generado un interés creciente en incidir en esta situación para conseguir mejorar la prevención y el control de la enfermedad. La inflamación sistémica causada por la DM se caracteriza por el incremento de las citoquinas inflamatorias y macrófagos en tejidos periféricos (211).

En esta investigación se midieron los valores de IL-6 y E-selectina con el fin de observar el grado de inflamación de los sujetos a estudio y, con ello, ver la acción antiinflamatoria del extracto de SB tras 90 días de consumo. Se obtuvieron resultados significativos para E-selectina al comparar el grupo experimental con el grupo control, produciéndose una disminución de los valores de este parámetro estadísticamente significativa durante los 90 días de consumo. Por otro lado, la IL-6 también mostró una tendencia al descenso, pero no mostró resultados estadísticamente significativos.

Autores como Ojewole (181), trataron de ver el poder antiinflamatorio del extracto de la corteza de SB. Para ello, este investigador empleó ratas Wistar a las cuales dividió en tres grupos (A, B y C), de ocho ratas cada uno. Estos animales tenían un edema en la pata trasera inducido por medio de una inyección intraplantar de albúmina de huevo fresco (0.5 mL/Kg). Dependiendo del grupo, las ratas recibieron agua destilada (2 mL/Kg), SB (800 mg/Kg) o diclofenaco (100 mg/Kg) como tratamiento. El extracto de SB produjo una reducción significativa y sostenida de la inflamación producida en la pata de las ratas.

Otro estudio realizado por Fotio y cols. (121) consiguió observar *in vitro* e *in vivo* los efectos del extracto de metanol procedente de SB. Así pues, se examinó la producción de factor tumoral alfa (TNF- α), IL-6 y otros marcadores de inflamación producidos por macrófagos procedentes de la médula ósea empleando SB. Se observó como SB fue capaz de inhibir la producción de TNF- α , IL-6 y otros marcadores de inflamación de manera dependiente a su concentración.

Hay numerosas investigaciones que destacan el papel antiinflamatorio que posee SB. Se ha observado que este papel podría reducir las ROS, además de los AGEs.

Las complicaciones macro y microvasculares producidas por la hiperglucemia crónica en la diabetes y la prediabetes pueden generar numerosos problemas a nivel de salud y homeostasis metabólica. Entre todos ellos, se encuentra el incremento del estrés oxidativo; un desequilibrio entre los sistemas de generación y de eliminación de radicales libres; es decir, una mayor producción de estos y una menor actividad antioxidante (212,213). El estrés oxidativo es uno de los rasgos más característicos de las enfermedades inflamatorias, en las que las células del sistema inmune generan ROS en respuesta a un estímulo (214).

Las ROS son una serie de moléculas muy reactivas que derivan del metabolismo del oxígeno. Estas incluyen el anión superóxido (O_2^-), radical hidroxilo (OH^\bullet), peróxido (ROO) y otro tipo de especies como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el ácido hipocloroso (HOCl). Una de las características fisiopatológicas clave del SM, la resistencia a la insulina, se caracteriza precisamente por la mayor generación de ROS (215).

Existen múltiples fuentes de producción de ROS en la diabetes, incluyendo las de origen mitocondrial y no mitocondrial. Los radicales libres aceleran los cuatro mecanismos moleculares implicados en el daño tisular oxidativo inducido por hiperglucemia (216,217)

- **Fuente mitocondrial de ROS**

La cadena respiratoria mitocondrial es una gran fuente de producción de ROS. El incremento de la glucosa a nivel intracelular da lugar a una mayor cantidad de dadores de electrones generados en el ciclo de Krebs, lo cual da lugar a un potencial de membrana interna mitocondrial positivo. Una de las hipótesis de la formación de ROS es el hecho de que la generación incrementada de piruvato por la glucólisis en condiciones hiperglucémicas puede provocar una saturación mitocondrial y, con ello, la generación de estos radicales en el complejo II de la cadena respiratoria. Las especies reactivas de oxígeno dan lugar a la oxidación de c-LDL y su transformación en LDL oxidado (LDL-ox), proteínas no reconocidas por los receptores de c-LDL, siendo posteriormente absorbidas por macrófagos, dando lugar a células espumosas e iniciando la formación de la placa de ateroma (218,219).

- **Fuente no mitocondrial de ROS**

Las fuentes no mitocondriales de formación de radicales libres incluyen: NAD(P)H oxidasa, xantina oxidasa, lipoxigenasa, ciclooxigenasa, enzimas del citocromo P450, óxido nítrico sintasa 3 (ONS3) y otras hemoproteínas (220).

Se ha identificado la xantina oxidasa como una fuente de estrés oxidativo en la patogénesis de la aterosclerosis y la DM (221).

Una de las fuentes de ROS que cabe destacar es, precisamente, aquella que tiene lugar debido al ON. Al producirse una inflamación, una reacción secundaria que puede tener lugar es la del ON con el O_2 , formando así el peroxinitrito; una especie reactiva del nitrógeno y un oxidante fuerte.

La inhibición o reducción de la formación de radicales libres daría lugar a una estrategia terapéutica realmente eficaz para la prevención del estrés oxidativo y las posibles complicaciones vasculares producidas en diabéticos y prediabéticos. Los antioxidantes de SB podrían actuar de diferentes formas: inhibiendo la formación de ROS o eliminándolos; o incrementando las capacidades de defensa antioxidante. La suplementación con antioxidantes podría ser capaz de mejorar de forma potencial la disfunción endotelial producida en la diabetes al volver a acoplar la enzima ONS y su funcionalidad, así como disminuir la actividad de la NAD(P)H oxidasa vascular (216). Se ha analizado en múltiples estudios la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de SB y se ha observado la efectividad de esta y su utilidad en relación con la protección contra radicales libres y su acción en el organismo (222–224).

Otro de los mecanismos que los compuestos de SB podrían llevar a cabo sería la disminución de AGEs debido, precisamente, a la reducción de radicales libres que acabamos de mencionar. Durante el estado de hiperglucemia, el incremento de azúcar en sangre conduce a la formación de AGEs. Estos fueron identificados por primera vez en la reacción de Maillard, una glicación no enzimática producida entre azúcares y proteínas, generándose una serie de reordenamientos y deshidrataciones que derivan en moléculas reticuladas, dando lugar a una mayor rigidez de estos productos (225). Los AGEs tienen la capacidad de promover el estrés oxidativo (formación de ROS) y la inflamación, por medio de su unión con receptores para AGEs (RAGEs) o por la alteración de la estructura y función de

determinadas proteínas corporales (226). A su vez, los propios ROS son capaces de alterar los residuos de lisina y arginina, dando lugar con ello nuevamente a la formación de AGEs (227). Son muchas las etapas que se producen para la formación de estos productos, por lo que hay diferentes hipótesis acerca de la posible actuación del AG sobre estos. Una de ellas es la reducción de ROS durante el propio proceso de glicación; con ello tendría lugar una disminución del estrés oxidativo y de la alteración de los residuos de lisina y arginina. Otro de los posibles mecanismos propuestos podría ser el bloqueo de los propios RAGEs, y con ello la disminución del posterior estrés oxidativo producido por estos productos (228). También se ha mencionado la capacidad que podría tener el AG de reducir los productos generados en la reacción de Maillard, que darán lugar finalmente a los AGEs (229). Pese a desconocer el mecanismo de acción concreto, las dos hipótesis sugeridas darían lugar a la disminución de ROS y AGEs, debido a la menor oxidación e inflamación generada.

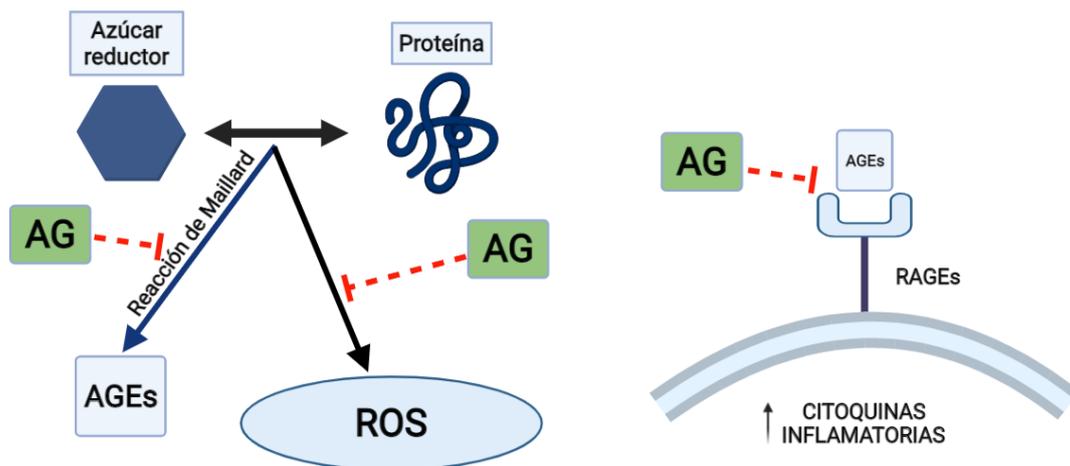


Figura 38. Posible mecanismo de acción del AG en la formación de AGEs.

6.6 TENSIÓN ARTERIAL

La tensión arterial elevada se encuentra estrechamente relacionada con el incremento del volumen del líquido circulatorio y la resistencia vascular periférica. Los pacientes con DM experimentan una mayor resistencia arterial periférica producida por un mayor volumen de líquido corporal asociado con la

hiperglucemia causada en la resistencia a la insulina. Así pues, se va a producir un incremento de la presión arterial sistémica asociada a esta patología (230).

En este ensayo clínico se ha tratado de ver la influencia del extracto de SB en los parámetros relacionados con la tensión arterial, en este caso la TAS y la TAD. En relación con los resultados tras el tiempo de consumo del producto, se ha observado una tendencia muy clara al descenso de ambos parámetros. En la tensión arterial sistólica referente a la evolución del grupo experimental tras los 90 días, se produce una disminución significativa ($p < 0.001$) de la variable. En el estudio llevado a cabo por Gondwe y cols. (139), se observa también esta tendencia. Este investigador empleó ratas Wistar a las que indujo diabetes por medio de STZ, y observó el efecto de SB de forma aguda sobre la tensión arterial medida por medio de monitorización ambulatoria de presión arterial (MAPA). El tratamiento con el extracto de SB durante 5 semanas produjo una reducción significativa de la presión arterial en todos los grupos de animales a los que se les administró. Belemtougri (231) realizó otro estudio con el mismo fin, empleando ratas Wistar a las que canalizó la arteria carótida izquierda. Por otro lado, midió su presión sanguínea por medio de un transductor. En la cánula, introdujo diferentes sustancias: SB, sulfato de atropina, cloruro sódico, practolol y piperoxano, con el fin de observar su acción hipotensiva. Finalmente pudo demostrar que el extracto de SB produce hipotensión dosis-dependiente en ratas normotensas.

La hipertensión se produce por una vasoconstricción, incrementándose la resistencia de las paredes de los vasos sanguíneos. El endotelio forma parte de la superficie interior de estos vasos y juega un papel primordial en la regulación del tono vascular, al liberar varios mediadores químicos y mantener un equilibrio entre vasoconstricción y vasodilatación. Es por lo que la hipertensión y la vasodilatación se encuentran directamente relacionados, estando directamente asociada la hipertensión crónica con cambios estructurales y funcionales en el endotelio vascular. Se ha observado que los ratones que carecen del gen para la formación de ONSe desarrollan hipertensión. Por otro lado, la función del endotelio se encuentra alterada en la hipertensión (202).

Cabe destacar que una de las estrategias terapéuticas más empleadas como tratamiento antihipertensivo son los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA). La enzima convertidora de angiotensina (ECA) se encarga de convertir a angiotensina I en angiotensina II, la cual es una hormona peptídica y

también un potente vasoconstrictor, encargado de degradar la bradiquinina; uno de los mayores vasodilatadores dependientes de endotelio al liberar prostaciclina y óxido nítrico, entre otros. Es por ello por lo que la vasodilatación y la hipertensión se hallan relacionadas la una con la otra (201), y tal y como se ha expuesto anteriormente, SB podría ser capaz de generar un incremento de ONSe, y con ello de la VMF, generando con ello una disminución de la presión arterial. Por otro lado, tal y como se ha observado en los estudios anteriormente citados (157,159), es posible que SB genere un descenso del peso corporal y de la masa grasa. Precisamente, los adipocitos del tejido adiposo blanco son capaces de sintetizar la ECA (232), habiendo una relación directa entre la reducción del peso corporal y porcentaje de masa grasa con la disminución de la tensión arterial.

VII - CONCLUSIONES

VII CONCLUSIONES

Tras el consumo diario de *Sclerocarya Birrea* durante 90 días en sujetos diagnosticados de prediabetes se puede concluir que:

- Existe una mejora del perfil glucémico. El consumo de este producto ha equilibrado la curva de sobrecarga oral de glucosa, ha bajado los niveles de insulinemia basal y ha generado una disminución de la resistencia periférica a la insulina en los sujetos de nuestra muestra.

- No se produce una modificación del perfil lipídico de los individuos.

- Se produce una mejora de la función endotelial. La ingesta del producto en experimentación produce una mejora de la vasodilatación arterial mediada por flujo inducida mediante isquemia en mayor medida que el producto placebo, por acción de la óxido nítrico sintasa endotelial. Dicha disminución de la resistencia vascular periférica genera una disminución de la presión arterial sistólica, sin modificaciones significativas en la diastólica.

- Existe una mejora del componente inflamatorio basal en mayor medida que el producto placebo.

- No hay cambios en el peso y el IMC de los sujetos.

- El consumo diario de *Sclerocarya birrea* durante 90 días no muestra acontecimientos adversos relacionados con la ingesta del producto en ninguno de los sujetos del estudio ni en la función hepática ni renal de los sujetos evaluados en el control de la tolerabilidad y seguridad.

VIII – LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

VIII –LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Una de las mayores limitaciones a la hora de realizar esta tesis doctoral ha sido la escasa cantidad de ensayos clínicos encontrados en la bibliografía, además de la dificultad para establecer un mecanismo de acción concreto por el cual se podría producir este efecto antihiperoglucemiante de *Sclerocarya birrea*. Además, el tamaño muestral también ha sido un factor que ha podido influir en los resultados. Una muestra mayor, seguramente, aportaría modificaciones en aquellas variables que tienen tendencia al descenso.

Para futuras líneas de investigación, se proponen los siguientes puntos:

- Abordar cómo los polifenoles de este nutraceutico son capaces de ejercer su actividad sobre diferentes dianas metabólicas observando la absorción, metabolismo, distribución y excreción de dichos compuestos. Esta labor podría llevarse a la práctica por medio de compuestos fenólicos marcados radioactivamente.
- Realizar un ensayo clínico en el que se compare la acción de *Sclerocarya birrea* y su efecto antihiperoglucemiante con antidiabéticos orales, observando su efecto a distintas dosis.
- Observar la biodisponibilidad de algunos de los polifenoles de *Sclerocarya birrea* como las epicatequinas y el ácido gálico.
- Realizar una mayor cantidad de ensayos clínicos con *Sclerocarya birrea* en humanos.
- Medir la insulinemia durante todas las fases del test de tolerancia oral a la glucosa, para posteriormente obtener índices como el de Matsuda; gold standard para evaluar la sensibilidad a la insulina.

IX - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IX – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Menéndez Torre, E, Barrio Castellanos, R, Novials Sardá A. Tratado de Diabetes Mellitus. 2 ed. Panamericana, editor. Madrid; 2017.
2. Organización Mundial de la Salud. Informe mundial sobre la diabetes [Internet]. OMS. 2016 [cited 2019 Oct 8]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254649/9789243565255-spa.pdf?sequence=1>
3. SORIANO PERERA P, de Pablos Velasco P. Epidemiología de la diabetes mellitus. *Endocrinol y Nutr* [Internet]. 2007;54:2–7. Available from: <http://www.elsevier.es/es/linksolver/ft/pii/13112118>
4. Soriguer F, Valdes S, Rojo G. El estudio Di@bet.es, ¿y ahora qué? *Av en Diabetol* [Internet]. 2012;28(2):35–7. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-avances-diabetologia-326-articulo-el-estudio-dibet-es-y-ahora-S1134323012000683> ER
5. Rojo-Martínez G, Valdés S, Soriguer F, Vendrell J, Urrutia I, Pérez V, et al. Incidence of diabetes mellitus in Spain as results of the nationwide cohort di@bet.es study. *Sci Rep* [Internet]. 2020;10(1):2765. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59643-7>
6. Association AD. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes-2021. *Diabetes Care* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2021 May 1];44(Supplement 1):S15–33. Available from: <https://doi.org/10.2337/dc21-S002>
7. Harjutsalo V, Sjöberg L, Tuomilehto J. Time trends in the incidence of type 1 diabetes in Finnish children: a cohort study. *Lancet* (London, England). 2008 May;371(9626):1777–82.
8. Prasad RB, Groop L. Genetics of type 2 diabetes—pitfalls and possibilities. *Genes* (Basel) [Internet]. 2015 Dec 24 [cited 2021 May 6];6(1):87–123. Available from: www.mdpi.com/journal/genes
9. Forouhi NG, Wareham NJ. Epidemiology of diabetes. *Medicine* (Abingdon) [Internet]. 2014 Dec;42(12):698–702. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25568613>

10. Sowers JR. Diabetes mellitus and vascular disease. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)*. 2013 May;61(5):943–7.
11. Rahman S, Ismail AA-S, Ismail SB, Naing NN, Rahman ARA. Early manifestation of macrovasculopathy in newly diagnosed never treated type II diabetic patients with no traditional CVD risk factors. *Diabetes Res Clin Pract*. 2008 May;80(2):253–8.
12. Rydén L, Grant PJ, Anker SD, Berne C, Cosentino F, Danchin N, et al. ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: the Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and developed in collaborati. *Eur Heart J*. 2013 Oct;34(39):3035–87.
13. Cooper ME, Bonnet F, Oldfield M, Jandeleit-Dahm K. Mechanisms of diabetic vasculopathy: an overview. *Am J Hypertens [Internet]*. 2001 May 1;14(5):475–86. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0895-7061\(00\)01323-6](https://doi.org/10.1016/S0895-7061(00)01323-6)
14. Paneni F, Beckman JA, Creager MA, Cosentino F. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *Eur Heart J*. 2013 Aug;34(31):2436–43.
15. Lüscher TF, Creager MA, Beckman JA, Cosentino F. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part II. *Circulation*. 2003 Sep;108(13):1655–61.
16. Madonna R, De Caterina R. Atherogenesis and Diabetes, Focus on Insulin Resistance and Hyperinsulinemia. *Rev Española Cardiol (English Ed [Internet]*. 2012;65(4):309–13. Available from: <https://www.revespcardiol.org/en-atherogenesis-and-diabetes-focus-on-articulo-S1885585712000059> ER
17. IDF. IDF Diabetes Atlas [Internet]. 2019 [cited 2019 Oct 9]. Available from: <https://diabetesatlas.org/across-the-globe.html>
18. Wilson ML. Prediabetes: Beyond the Borderline. *Nurs Clin North Am*. 2017 Dec;52(4):665–77.
19. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care [Internet]*. 2014;37(Supplement 1):S81--S90. Available from:

https://care.diabetesjournals.org/content/37/Supplement_1/S81

20. McCowen KC, Smith RJ. Diabetes Mellitus: Classification and Chemical Pathology. In: Encyclopedia of Human Nutrition. Elsevier Inc.; 2012. p. 17–24.

21. Álvarez-García E. HbA1c, estandarización y expresión de resultados. *Endocrinol y Nutr* [Internet]. 2010 May 1 [cited 2021 May 1];57(5):177–81. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-endocrinologia-nutricion-12-articulo-hba1c-estandarizacion-expresion-resultados-S1575092210000422>

22. American Diabetes Association. Tests of Glycemia in Diabetes. *Diabetes Care* [Internet]. 2004;27(suppl 1):s91--s93. Available from: https://care.diabetesjournals.org/content/27/suppl_1/s91

23. American Diabetes Association. Age- and Sex-Specific Prevalences of Diabetes and Impaired Glucose Regulation in 13 European Cohorts. *Diabetes Care* [Internet]. 2003 Jan 1;26(1):61 LP – 69. Available from: <http://care.diabetesjournals.org/content/26/1/61.abstract>

24. Heianza Y, Hara S, Arase Y, Saito K, Fujiwara K, Tsuji H, et al. HbA1c 5·7-6·4% and impaired fasting plasma glucose for diagnosis of prediabetes and risk of progression to diabetes in Japan (TOPICS 3): a longitudinal cohort study. *Lancet* (London, England). 2011 Jul;378(9786):147–55.

25. Rosas Saucedo J, Caballero A, Brito-Córdova G, García-Bruce H, Costa-Gil J, Lyra R, et al. Consenso de Prediabetes. Documento de posición de la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD). *Alad*. 2017 Dec 13;7.

26. Stone BM, Reynolds CR. Can the National Health and Nutrition Examination Survey III (NHANES III) data help resolve the controversy over low blood lead levels and neuropsychological development in children? *Arch Clin Neuropsychol* [Internet]. 2003;18(3):219–44. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887617703000052>

27. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes

Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res Clin Pract* [Internet]. 2019 Nov 1;157. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107843>

28. Mata-Cases M, Menéndez S, Escalada F, Ezkurra-Loyola P, Ferrer-García JC, Pérez JA, et al. Consenso sobre la detección y el manejo de la prediabetes. Grupo de Trabajo de Consensos y Guías Clínicas de la Sociedad Española de Diabetes. *Atención Primaria*. 2015 Aug 1;47.

29. Paulweber B, Valensi P, Lindström J, Lalic NM, Greaves CJ, McKee M, et al. A European evidence-based guideline for the prevention of type 2 diabetes [Internet]. Vol. 42, *Hormone and Metabolic Research*. Georg Thieme Verlag; 2010 [cited 2021 May 1]. p. S3–36. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0029-1240928>

30. NICE. Preventing type 2 diabetes: risk identification and interventions for individuals at high risk. NICE public health guidance 38. [Internet]. 2012 [cited 2019 Oct 23]. Available from: <http://www.nice.org.uk/guidance/ph38>

31. Weir GC, Bonner-Weir S. Five of stages of evolving β -cell dysfunction during progression to diabetes. In: *Diabetes* [Internet]. Diabetes; 2004 [cited 2020 Sep 8]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15561905/>

32. Tabák AG, Herder C, Rathmann W, Brunner EJ, Kivimäki M. Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. *Lancet (London, England)*. 2012 Jun;379(9833):2279–90.

33. Bergman M. Pathophysiology of prediabetes and treatment implications for the prevention of type 2 diabetes mellitus [Internet]. Vol. 43, *Endocrine*. Endocrine; 2013 [cited 2020 Sep 8]. p. 504–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23132321/>

34. Nelson David L. *Lehninger Principios de Bioquímica*. Séptima. Ediciones Omega BCN, S.L. 2019, editor. Nueva York: 2019; 2017.

35. Boucher J, Kleinridders A, Kahn CR. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2014 Jan 1;6(1):a009191. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24384568>

36. Deacon CF. Physiology and Pharmacology of DPP-4 in Glucose Homeostasis and the Treatment of Type 2 Diabetes. *Front*

Endocrinol (Lausanne) [Internet]. 2019 Feb 15;10:80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30828317>

37. Seong J, Kang JY, Sun JS, Kim KW. Hypothalamic inflammation and obesity: a mechanistic review. *Arch Pharm Res*. 2019 May;42(5):383–92.

38. Freeman AM, Pennings N. Insulin Resistance. In *Treasure Island (FL)*; 2020.

39. O'Neill S, O'Driscoll L. Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obes Rev an Off J Int Assoc Study Obes*. 2015 Jan;16(1):1–12.

40. Salehinia F, Abdi H, Hadaegh F, Serahati S, Valizadeh M, Azizi F, et al. Abdominal obesity phenotypes and incident diabetes over 12 years of follow-up: The Tehran Lipid and glucose study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018 Oct;144:17–24.

41. Govindarajan G, Gill H, Rovetto M, Sowers JR, Sowers J. What is insulin resistance?

42. Abdul-Ghani MA, Ali N, Abdul-Ghani T, Defronzo RA. One-hour plasma glucose concentration and the metabolic syndrome identify subjects at high risk for future type 2 diabetes. *Diabetes Care* [Internet]. 2008 Aug [cited 2020 Sep 8];31(8):1650–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18487478/>

43. Abdul-Ghani MA, Lyssenko V, Tuomi T, Defronzo RA, Groop L. Fasting versus postload plasma glucose concentration and the risk for future type 2 diabetes: Results from the botnia study. *Diabetes Care* [Internet]. 2009 Feb 1 [cited 2020 Sep 8];32(2):281–6. Available from: <http://creativecommons>.

44. Jurgens CA, Toukatly MN, Fligner CL, Udayasankar J, Subramanian SL, Zraika S, et al. β -Cell loss and β -cell apoptosis in human type 2 diabetes are related to islet amyloid deposition. *Am J Pathol* [Internet]. 2011 [cited 2020 Sep 8];178(6):2632–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21641386/>

45. Ferrannini E, Natali A, Muscelli E, Nilsson PM, Golay A, Laakso M, et al. Natural history and physiological determinants of changes in glucose tolerance in a non-diabetic population: The RISC Study.

Diabetologia [Internet]. 2011 Jun [cited 2020 Sep 8];54(6):1507–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21424899/>

46. Rahier J, Guiot Y, Goebbels RM, Sempoux C, Henquin JC. Pancreatic β -cell mass in European subjects with type 2 diabetes. In: Diabetes, Obesity and Metabolism [Internet]. Blackwell Publishing Ltd; 2008 [cited 2020 Sep 8]. p. 32–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18834431/>

47. Feinglos MN, Feinglos MN, Bethel MA (Mary A, service) S (Online. Type 2 diabetes mellitus : an evidence-based approach to practical management [Internet]. 1st ed. 20. Totowa, NJ: Humana Press; 2008. Available from: <http://public.ebookcentral.proquest.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=364071>

48. Teijón JM. Fundamentos de bioquímica metabólica. Cuarta. Flores T, editor. Madrid; 2017.

49. Abdul-Ghani MA, Stern MP, Lyssenko V, Tuomi T, Groop L, DeFronzo RA. Minimal contribution of fasting hyperglycemia to the incidence of type 2 diabetes in subjects with normal 2-h plasma glucose. Diabetes Care [Internet]. 2010 Mar [cited 2020 Sep 8];33(3):557–61. Available from: </pmc/articles/PMC2827507/?report=abstract>

50. Seino S, Shibasaki T, Minami K. Dynamics of insulin secretion and the clinical implications for obesity and diabetes [Internet]. Vol. 121, Journal of Clinical Investigation. J Clin Invest; 2011 [cited 2020 Sep 8]. p. 2118–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21633180/>

51. Petersen MC, Shulman GI. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. Physiol Rev [Internet]. 2018 Oct 1;98(4):2133–223. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30067154>

52. Poitout V, Amyot J, Semache M, Zarrouki B, Hagman D, Fontés G. Glucolipotoxicity of the pancreatic beta cell [Internet]. Vol. 1801, Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids. Biochim Biophys Acta; 2010 [cited 2020 Sep 8]. p. 289–98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19715772/>

53. Robertson RP. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes. J

Biol Chem. 2004 Oct;279(41):42351–4.

54. Cunha DA, Hekerman P, Ladrière L, Bazarra-Castro A, Ortis F, Wakeham MC, et al. Initiation and execution of lipotoxic ER stress in pancreatic β -cells. *J Cell Sci* [Internet]. 2008 Jul 15 [cited 2020 Sep 8];121(14):2308–18. Available from: <http://jcs.biologists.org/cgi/content/full/121/14/2308/DC1>

55. Robertson RP. Oxidative stress and impaired insulin secretion in type 2 diabetes. *Curr Opin Pharmacol*. 2006 Dec;6(6):615–9.

56. Berridge MJ. The endoplasmic reticulum: A multifunctional signaling organelle. Vol. 32, *Cell Calcium*. Elsevier Ltd; 2002. p. 235–49.

57. Zheng Z, Shang Y, Tao J, Zhang J, Sha B. Endoplasmic Reticulum Stress Signaling Pathways: Activation and Diseases. *Curr Protein Pept Sci*. 2019;20(9):935–43.

58. Zhang K, Kaufman RJ. Protein folding in the endoplasmic reticulum and the unfolded protein response. *Handb Exp Pharmacol*. 2006;(172):69–91.

59. Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2007;8(7):519–29. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrm2199>

60. Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell*. 2010 Mar;140(6):900–17.

61. Bastarrachea RA, Curran J, Bolado VE, Kent J, López-Alvarenga J, Téllez-Mendoza J, et al. Vinculando la respuesta inflamatoria, la obesidad y la diabetes con la sobrecarga (estrés) del retículo endoplásmico a través de las acciones de la selenoproteína S. undefined. 2006;

62. Balk EM, Earley A, Raman G, Avendano EA, Pittas AG, Remington PL. Combined diet and physical activity promotion programs to prevent type 2 diabetes among persons at increased risk: A systematic review for the community preventive services task force [Internet]. Vol. 163, *Annals of Internal Medicine*. American College of Physicians; 2015 [cited 2020 Sep 8]. p. 437–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26167912/>

63. Umpierrez GE, Pasquel FJ. Primary prevention of type 2 diabetes by lifestyle intervention in primary care setting [Internet]. Vol. 214,

Revista Clinica Espanola. Ediciones Doyma, S.L.; 2014 [cited 2020 Sep 8]. p. 79–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24332118/>

64. Viscogliosi G, Cipriani E, Liguori ML, Marigliano B, Saliola M, Ettorre E, et al. Mediterranean dietary pattern adherence: Associations with prediabetes, metabolic syndrome, and related microinflammation. *Metab Syndr Relat Disord* [Internet]. 2013 Jun 1 [cited 2020 Sep 8];11(3):210–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23451814/>

65. Kosaka K, Noda M, Kuzuya T. Prevention of type 2 diabetes by lifestyle intervention: A Japanese trial in IGT males. *Diabetes Res Clin Pract* [Internet]. 2005 Feb [cited 2020 Sep 8];67(2):152–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15649575/>

66. Sagarra R, Costa B, Cabré JJ, Solà-Morales O, Barrio F, Pinel BC, et al. Coste-efectividad de la intervención sobre el estilo de vida para prevenir la diabetes tipo 2. *Rev Clin Esp*. 2014 Mar 1;214(2):59–68.

67. Bansal N. Prediabetes diagnosis and treatment: A review. *World J Diabetes* [Internet]. 2015 [cited 2020 Sep 8];6(2):296. Available from: </pmc/articles/PMC4360422/?report=abstract>

68. Beck J, Greenwood DA, Blanton L, Bollinger ST, Butcher MK, Condon JE, et al. 2017 national standards for diabetes self-management education and support. *Diabetes Care* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2020 Sep 8];40(10):1409–19. Available from: <https://doi.org/10.2337/dci17-0025>

69. Castelo Elías-Calles, Lizet, Hernández Rodríguez, José, Rodríguez Anzardo, Berta, Machado Chaviano M. Prediabetes y ejercicios. *Rev Cuba Endocrinol* [Internet]. 2011 [cited 2020 Sep 8];22(1):26–8. Available from:

https://www.researchgate.net/publication/317521993_Prediabetes_y_ejercicios

70. Fox SM, Haskell WL. Physical activity and the prevention of coronary heart disease. *Bull New York Acad Med J Urban Heal* [Internet]. 1968 Aug [cited 2020 Sep 8];44(8):950–65. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1750298/>

71. Elías-Calles L, Rodríguez J, Anzardo B, Chaviano M. Necesidades nutricionales en la prediabetes. *Rev Cuba Endocrinol*. 2011 Apr 1;22:29–35.

72. Livesey G, Taylor R, Livesey HF, Buyken AE, Jenkins DJA, Augustin LSA, et al. Dietary glycaemic index and load and the risk of type 2 diabetes: Assessment of causal relations [Internet]. Vol. 11, *Nutrients*. MDPI AG; 2019 [cited 2020 Sep 8]. Available from: [/pmc/articles/PMC6628270/?report=abstract](https://pmc/articles/PMC6628270/?report=abstract)
73. Livesey G, Livesey H. Coronary Heart Disease and Dietary Carbohydrate, Glycaemic Index, and Glycaemic Load: Dose-Response Meta-analyses of Prospective Cohort Studies. *Mayo Clin Proc Innov Qual Outcomes* [Internet]. 2019 Mar [cited 2020 Sep 8];3(1):52–69. Available from: [/pmc/articles/PMC6410335/?report=abstract](https://pmc/articles/PMC6410335/?report=abstract)
74. Irwin T. New dietary guidelines from the American Diabetes Association. [Internet]. Vol. 25, *Diabetes care*. American Diabetes Association; 2002 [cited 2020 Sep 8]. p. 1262–1262. Available from: <https://care.diabetesjournals.org/content/25/7/1262.1>
75. García-Almeida, JM, Casado-Fernández, GM, Alemán J. Una visión global y actual de los edulcorantes. Aspectos de regulación. *Nutr Hosp* [Internet]. 2013;28:17–31. Available from: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013001000003&nrm=iso
76. Abdelhamid AS, Martin N, Bridges C, Brainard JS, Wang X, Brown TJ, et al. Polyunsaturated fatty acids for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease [Internet]. Vol. 2018, *Cochrane Database of Systematic Reviews*. John Wiley and Sons Ltd; 2018 [cited 2020 Sep 8]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30019767/>
77. McRae MP. Dietary Fiber Intake and Type 2 Diabetes Mellitus: An Umbrella Review of Meta-analyses [Internet]. Vol. 17, *Journal of Chiropractic Medicine*. Elsevier USA; 2018 [cited 2020 Sep 8]. p. 44–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29628808/>
78. Nasri H, Baradaran A, Shirzad H, Kopaei MR. New concepts in nutraceuticals as alternative for pharmaceuticals. *Int J Prev Med* [Internet]. 2014 [cited 2020 Sep 8];5(12):1487–99. Available from: [/pmc/articles/PMC4336979/?report=abstract](https://pmc/articles/PMC4336979/?report=abstract)
79. Aronson JK. Defining ‘nutraceuticals’: neither nutritious nor pharmaceutical [Internet]. Vol. 83, *British Journal of Clinical Pharmacology*.

Blackwell Publishing Ltd; 2017 [cited 2020 Sep 8]. p. 8–19. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26991455/>

80. Crandell, KM, Duren S. Nutraceuticals: What Are They And Do They Work? - Kentucky Equine Research [Internet]. 2001 [cited 2020 Sep 8]. p. 29–36. Available from: <https://ker.com/published/nutraceuticals-what-are-they-and-do-they-work-2/>

81. Shinde N. Nutraceuticals: A Review on current status. *Res J Pharm Technol*. 2014 Jan 1;7:110–3.

82. Kokate, CK, Purohit, AP, Gokhale S. Nutraceutical and Cosmaceutical. *Pharmacognosy*. 2002;21:542–9.

83. Das L, Bhaumik E, Raychaudhuri U, Chakraborty R. Role of nutraceuticals in human health. *J Food Sci Technol* [Internet]. 2012 Apr [cited 2020 Sep 8];49(2):173–83. Available from: </pmc/articles/PMC3550857/?report=abstract>

84. Ferruelo A, Romero I, Cabrera PM, Arance I, Andrés G, Angulo JC. Effects of resveratrol and other wine polyphenols on the proliferation, apoptosis and androgen receptor expression in LNCaP cells [Internet]. Vol. 38, *Actas Urologicas Espanolas*. Elsevier Ltd; 2014 [cited 2020 Sep 8]. p. 397–404. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24726691/>

85. Hollman PCH, Katan MB. Health effects and bioavailability of dietary flavonols. In: *Free Radical Research* [Internet]. Harwood Academic Publishers GmbH; 1999 [cited 2020 Dec 29]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10694044/>

86. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: Food sources and bioavailability [Internet]. Vol. 79, *American Journal of Clinical Nutrition*. American Society for Nutrition; 2004 [cited 2020 Dec 29]. p. 727–47. Available from: <https://academic.oup.com/ajcn/article/79/5/727/4690182>

87. Karak P. Biological activities of flavonoids: an overview [Internet]. *IJPSR*. 2019 [cited 2020 Dec 29]. p. 1567–74. Available from: <https://ijpsr.com/bft-article/biological-activities-of-flavonoids-an-overview/?view=fulltext>

88. Naveed M, Hejazi V, Abbas M, Kamboh AA, Khan GJ,

Shumzaid M, et al. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2018;97:67–74. Available from:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332217339963>

89. Pérez-Mañá C, Farré M, Rodríguez-Morató J, Papaseit E, Pujadas M, Fitó M, et al. Moderate consumption of wine, through both its phenolic compounds and alcohol content, promotes hydroxytyrosol endogenous generation in humans. A randomized controlled trial. *Mol Nutr Food Res*. 2015 Jun;59(6):1213–6.

90. Covas M-I, Miró-Casas E, Fitó M, Farré M, Gimeno E, Marrugat J, et al. Bioavailability of tyrosol, an antioxidant phenolic compound present in wine and olive oil, in humans. *Drugs Exp Clin Res*. 2003 Feb 1;29:203–6.

91. Guerrero R, Garcia-Parrilla M, Puertas B, Cantos-Villar E. Wine, Resveratrol and Health: A Review. *Nat Prod Commun*. 2009 Jun 1;4:635–58.

92. Zitterman A. DIETARY FIBER | Bran. In: Caballero BBT-E of FS and N (Second E, editor. Oxford: Academic Press; 2003. p. 1844–50. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B012227055X003461>

93. Palmer, E, Pitman N. *Trees of Southern Africa*. 3rd ed. Cape Town; 1972.

94. Mariod A, Abdelwahab S. *Sclerocarya birrea* (Marula), An African Tree of Nutritional and Medicinal Uses: A Review. *Food Rev Int - FOOD REV INT*. 2012 Oct 1;28.

95. Mokgolodi NC, Ding Y fang, Setshogo MP, Ma C, Liu Y jun. The importance of an indigenous tree to southern African communities with specific relevance to its domestication and commercialization: A case of the marula tree. Vol. 13, *Forestry Studies in China*. 2011. p. 36–44.

96. Aganga AA, Mosase KW. Tannin content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capassa*, *Zizyphus mucronata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Anim Feed Sci Technol*. 2001 May 16;91(1–2):107–13.

97. Glew RS, VanderJagt DJ, Huang YS, Chuang LT, Bosse R,

Glew RH. Nutritional analysis of the edible pit of *Sclerocarya birrea* in the Republic of Niger (daniya, Hausa). *J Food Compos Anal*. 2004 Feb 1;17(1):99–111.

98. Jiménez-Sánchez C, Lozano-Sánchez J, Gabaldón-Hernández JA, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. RP-HPLC-ESI-QTOF/MS2 based strategy for the comprehensive metabolite profiling of *Sclerocarya birrea* (marula) bark. *Ind Crops Prod*. 2015 Sep 1;71:214–34.

99. Hamzaoui M, Renault JH, Nuzillard JM, Reynaud R, Hubert J. Stepwise elution of a three-phase solvent system in centrifugal partition extraction: A new strategy for the fractionation and phytochemical screening of a crude bark extract. *Phytochem Anal [Internet]*. 2013 Jul [cited 2020 Dec 30];24(4):367–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23427023/>

100. Li HJ, Deinzer ML. Tandem mass spectrometry for sequencing proanthocyanidins. *Anal Chem [Internet]*. 2007 Feb 15 [cited 2020 Dec 30];79(4):1739–48. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac061823v>

101. Shackleton SE, Shackleton CM, Cunningham T, Lombard C, Sullivan CA, Netshiluvhi TR. Knowledge on *sclerocarya birrea* subsp. *caffra* with emphasis on its importance as a non-timber forest product in south and southern africa: A summary. *South African For J [Internet]*. 2002 Jul 1 [cited 2020 Sep 8];194(1):27–41. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/20702620.2002.10434589>

102. Vermaak I, Kamatou GPP, Komane-Mofokeng B, Viljoen AM, Beckett K. African seed oils of commercial importance - Cosmetic applications. *South African J Bot*. 2011 Oct;77(4):920–33.

103. Zimba N, Wren S, Stucki A. Three major tree nut oils of southern central Africa: Their uses and future as commercial base oils. *Int J Aromather*. 2005;15(4):177–82.

104. I.E. Cock C. Medicinal Plant Images. *Pharmacogn Commun*. 2018 Jun 18;8(2):95–95.

105. García-Conesa MT, Chambers K, Combet E, Pinto P, Garcia-Aloy M, Andrés-Lacueva C, et al. Meta-analysis of the effects of foods and derived products containing ellagitannins and anthocyanins on

cardiometabolic biomarkers: Analysis of factors influencing variability of the individual responses [Internet]. Vol. 19, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2018 [cited 2020 Dec 30]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29495642/>

106. Krga I, Milenkovic D. Anthocyanins: From Sources and Bioavailability to Cardiovascular-Health Benefits and Molecular Mechanisms of Action. J Agric Food Chem [Internet]. 2019 Feb 20 [cited 2020 Dec 30];67(7):1771–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30698008/>

107. Liu Z, Ren Z, Zhang J, Chuang CC, Kandaswamy E, Zhou T, et al. Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases [Internet]. Vol. 9, Frontiers in Physiology. Frontiers Media S.A.; 2018 [cited 2020 Sep 8]. Available from: [/pmc/articles/PMC5966868/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/325966868/)

108. Bozzetto L, Annuzzi G, Pacini G, Costabile G, Vetrani C, Vitale M, et al. Polyphenol-rich diets improve glucose metabolism in people at high cardiometabolic risk: a controlled randomised intervention trial. Diabetologia [Internet]. 2015 Jul 20 [cited 2020 Dec 30];58(7):1551–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25906754/>

109. Del Bo C, Martini D, Porrini M, Klimis-Zacas D, Riso P. Berries and oxidative stress markers: An overview of human intervention studies [Internet]. Vol. 6, Food and Function. Royal Society of Chemistry; 2015 [cited 2020 Dec 30]. p. 2890–917. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26226324/>

110. Vlachojannis C, Erne P, Schoenenberger AW, Chrubasik-Hausmann S. A critical evaluation of the clinical evidence for pomegranate preparations in the prevention and treatment of cardiovascular diseases. Phyther Res [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2020 Dec 30];29(4):501–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25611333/>

111. Moyo M, Ndhkala AR, Finnie JF, Van Staden J. Phenolic composition, antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Sclerocarya birrea* and *Harphephyllum caffrum* (Anacardiaceae) extracts. Food Chem. 2010 Nov 1;123(1):69–76.

112. Borochoy-Neori H, Judeinstein S, Greenberg A, Fuhrman B, Attias J, Volkova N, et al. Phenolic antioxidants and antiatherogenic effects

of marula (*Sclerocarya birrea* subsp. *caffra*) fruit juice in healthy humans. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2008 Nov 12 [cited 2020 Sep 9];56(21):9884–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18844360/>

113. Petersen RC, Reddy MS, Liu P-R. Advancements in Free-Radical Pathologies and an Important Treatment Solution with a Free-Radical Inhibitor. *SF J Biotechnol Biomed Eng* [Internet]. 2018/02/21. 2018;1(1):1003. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29984367>

114. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* [Internet]. 2004 [cited 2020 Dec 30];114(12):1752–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15599400/>

115. Patil P, Mandal S, Tomar SK, Anand S. Food protein-derived bioactive peptides in management of type 2 diabetes [Internet]. Vol. 54, *European Journal of Nutrition*. Dr. Dietrich Steinkopff Verlag GmbH and Co. KG; 2015 [cited 2020 Sep 9]. p. 863–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26154777/>

116. Vishnu Prasad CN, Anjana T, Banerji A, Gopalakrishnapillai A. Gallic acid induces GLUT4 translocation and glucose uptake activity in 3T3-L1 cells. *FEBS Lett*. 2010 Feb 5;584(3):531–6.

117. Gandhi GR, Jothi G, Antony PJ, Balakrishna K, Paulraj MG, Ignacimuthu S, et al. Gallic acid attenuates high-fat diet fed-streptozotocin-induced insulin resistance via partial agonism of PPAR γ in experimental type 2 diabetic rats and enhances glucose uptake through translocation and activation of GLUT4 in PI3K/p-Akt signaling pathway. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2014 Dec 15 [cited 2020 Dec 30];745:201–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25445038/>

118. Umadevi S, Gopi V, Vellaichamy E. Inhibitory effect of gallic acid on advanced glycation end products induced up-regulation of inflammatory cytokines and matrix proteins in H9C2 (2-1) cells. *Cardiovasc Toxicol* [Internet]. 2013 Dec [cited 2020 Dec 30];13(4):396–405. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24062022/>

119. Fotio AL, Dimo T, Nguenefack TB, Dzeufiet PDD, Ngo Lemba E, Temdie RJ, et al. Acute and chronic anti-inflammatory properties of the

stem bark aqueous and methanol extracts of *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae). *Inflammopharmacology*. 2009 Aug;17(4):229–37.

120. Ojewole JAO. Evaluation of the anti-inflammatory properties of *Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst. (family: Anacardiaceae) stem-bark extracts in rats. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2003 [cited 2020 Sep 9];85(2–3):217–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12639743/>

121. Fotio AL, Olleros ML, Vesin D, Tauzin S, Bisig R, Dimo T, et al. In vitro inhibition of lipopolysaccharide and *Mycobacterium bovis* bacillus calmette guérin-induced inflammatory cytokines and in vivo protection from D-galactosamine/LPS -mediated liver injury by the medicinal plant *Sclerocarya birrea*. *Int J Immunopathol Pharmacol* [Internet]. 2010 [cited 2020 Sep 10];23(1):61–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20377995/>

122. Noronha NY, Pinhel MAS, Nicoletti CF, Quinhoneiro DC, Pinhanelli VC, de Oliveira BAP, et al. Green tea supplementation improves oxidative stress biomarkers and modulates il-6 circulating levels in obese women. *Nutr Hosp* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2020 Dec 30];36(3):583–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31192690/>

123. Chen H, Ma C-Y, Chen X, Geng Y, Yang C, Jiang H-Z, et al. The effect of rhein and gallic acid on the content of IL-10, IL-1 β and TNF- α in serum of rats with endotoxemia. Available online www.jocpr.com *J Chem Pharm Res* [Internet]. 2014 [cited 2020 Dec 30];6(10):296–9. Available from: www.jocpr.com

124. Bustami A, Sopia P, Muharam R, Wibowo H. Effects of gallic acid and its derivatives on inflammatory regulation of endometriotic primary cultures: Study on NF- κ B mRNA expression and IL-6 secretion. *Biomed Pharmacol J*. 2018 Sep 1;11(3):1479–84.

125. Murase T, Kume N, Hase T, Shibuya Y, Nishizawa Y, Tokimitsu I, et al. Gallates inhibit cytokine-induced nuclear translocation of NF- κ B and expression of leukocyte adhesion molecules in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 1999 [cited 2020 Dec 30];19(6):1412–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10364071/>

126. Babu PVA, Si H, Liu D. Epigallocatechin gallate reduces

vascular inflammation in db/db mice possibly through an NF- κ B-mediated mechanism. *Mol Nutr Food Res* [Internet]. 2012 Sep [cited 2020 Dec 30];56(9):1424–32. Available from:

[/pmc/articles/PMC3816509/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22711111/)

127. Fan FY, Sang LX, Jiang M, McPhee DJ. Catechins and their therapeutic benefits to inflammatory bowel disease [Internet]. Vol. 22, *Molecules*. MDPI AG; 2017 [cited 2020 Dec 30]. Available from: [/pmc/articles/PMC6155401/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31309655/)

128. Cheng AW, Tan X, Sun JY, Gu CM, Liu C, Guo X. Catechin attenuates TNF- α induced inflammatory response via AMPK-SIRT1 pathway in 3T3-L1 adipocytes. *PLoS One* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2020 Dec 30];14(5). Available from: [/pmc/articles/PMC6524818/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31309655/)

129. Haghghatdoost F, Hariri M. The effect of green tea on inflammatory mediators: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials [Internet]. Vol. 33, *Phytotherapy Research*. John Wiley and Sons Ltd; 2019 [cited 2020 Dec 30]. p. 2274–87. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31309655/>

130. Bastard J-P, Maachi M, Lagathu C, Kim M, Caron M, Vidal H, et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *undefined*. 2006;

131. Rehman K, Akash MSH, Liaqat A, Kamal S, Qadir MI, Rasul A. Role of interleukin-6 in development of insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* [Internet]. 2017 [cited 2020 Dec 30];27(3):229–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29199608/>

132. Jude EB, Douglas JT, Anderson SG, Young MJ, Boulton AJM. Circulating cellular adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, P- and E-selectin in the prediction of cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Eur J Intern Med* [Internet]. 2002 [cited 2020 Dec 30];13(3):185–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12020626/>

133. Endler G, Exner M, Raith M, Marculescu R, Mannhalter C, Endler L, et al. The E-selectin S128R polymorphism is not a risk factor for coronary artery disease in patients with diabetes mellitus type 2. *Thromb Res*. 2003;112(1–2):47–50.

134. Macías C, Villaescusa R, del Valle L, Boffil V, Cordero G, Hernández A, et al. Moléculas de adhesión endoteliales ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina en pacientes con síndrome coronario agudo. *Rev Esp Cardiol* [Internet]. 2003 Feb 1 [cited 2021 May 1];56(2):137–44. Available from: <http://www.revespcardiol.org/es-moleculas-adhesion-endoteliales-icam-1-vcam-1-articulo-13043219>
135. Mikail HG. In vitro trypanocidal effect of methanolic extract of *Sclerocarya birrea*, *Commiphora kerstingii* and *Khaya senegalensis*. *African J Biotechnol* [Internet]. 2009 [cited 2020 Sep 9];8(10):2047–9. Available from: <http://www.academicjournals.org/AJB>
136. Gathirwa JW, Rukunga GM, Njagi ENM, Omar SA, Mwitari PG, Guantai AN, et al. The in vitro anti-plasmodial and in vivo anti-malarial efficacy of combinations of some medicinal plants used traditionally for treatment of malaria by the Meru community in Kenya. *J Ethnopharmacol*. 2008 Jan 17;115(2):223–31.
137. Manzo LM, Bako HD, Idrissa M. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Stem Bark, Leaf and Root Extract of *Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst. *Int J Enteric Pathog*. 2017 Sep 23;5(4):127–31.
138. Ojewole JAO, Mawoza T, Chiwororo WDH, Owira PMO. *Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hochst. [‘Marula’] (Anacardiaceae): A review of its phytochemistry, pharmacology and toxicology and its ethnomedicinal uses. Vol. 24, *Phytotherapy Research*. 2010. p. 633–9.
139. Gondwe M, Kamadyaapa DR, Tufts M, Chuturgoon AA, Musabayane CT. *Sclerocarya birrea* [(A. Rich.) Hochst.] [Anacardiaceae] stem-bark ethanolic extract (SBE) modulates blood glucose, glomerular filtration rate (GFR) and mean arterial blood pressure (MAP) of STZ-induced diabetic rats. *Phytomedicine* [Internet]. 2008 Sep 3 [cited 2020 Sep 9];15(9):699–709. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18406590/>
140. Ojewole JA. Vasorelaxant and hypotensive effects of *Sclerocarya birrea* (A Rich) Hochst (Anacardiaceae) stem bark aqueous extract in rats. *Cardiovasc J South Africa* [Internet]. 2006 May 1 [cited 2020 Sep 9];17(3):117–23. Available from: <https://europepmc.org/article/med/16807627>

141. Dimo T, Rakotonirina S V., Tan P V., Azay J, Dongo E, Kamtchouing P, et al. Effect of *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae) stem bark methylene chloride/methanol extract on streptozotocin-diabetic rats. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2007 Apr 4 [cited 2020 Sep 9];110(3):434–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874106005514>
142. Muhammad S, Hassan LG, Dangoggo SM, Hassan SW, Umar RA, Umar KJ. Acute and Subchronic Toxicity Studies of *Sclerocarya birrea* Peels Extract in Rats. *Int J Sci Basic Appl Res* [Internet]. 2014 Jan 24 [cited 2020 Sep 10];13(1):111–8. Available from: <http://gssrr.org/index.php?journal=JournalOfBasicAndApplied>
143. Oboh G. Hepatoprotective property of ethanolic and aqueous extracts of fluted pumpkin (*Telfairia occidentalis*) leaves against garlic-induced oxidative stress. *J Med Food* [Internet]. 2005 Dec [cited 2020 Sep 10];8(4):560–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16379574/>
144. Hassan LDSHMSUK. Serum biochemical response of rats fed with *Sclerocarya birrea* juice extracts. *African J Food Sci* [Internet]. 2011 [cited 2020 Sep 10];5(4):208–12. Available from: <https://www.cabdirect.org/globalhealth/abstract/20113197882>
145. Organización Mundial de la Salud. Constitución de la Organización Mundial de la Salud [Internet]. [cited 2021 Jan 4]. Available from: <https://www.who.int/es/about/who-we-are/constitution>
146. Association AD. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2021 Jan 1];43(Supplement 1):S14–31. Available from: <https://doi.org/10.2337/dc20-S002>
147. Pryce IG. Glucose-tolerance Tests [Internet]. Vol. 2, *British Medical Journal*. StatPearls Publishing; 1959 [cited 2021 Jan 1]. p. 191–2. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532915/>
148. Crofford OB, Genuth S, Baker L. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT): Results of feasibility study. *Diabetes Care* [Internet]. 1987 Jan 1 [cited 2021 Jan 1];10(1):1–19. Available from: <https://care.diabetesjournals.org/content/10/1/1>

149. Hernández Yero JA, Tuero Iglesias Á, Vargas González D. Utilidad del índice HOMA-IR con una sola determinación de insulinemia para diagnosticar resistencia insulínica. *Rev Cuba endocrinol* [Internet]. 2011 [cited 2021 Apr 12];69–77. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532011000200002
150. García Cuartero B, García Lacalle C, Jiménez Lobo C, González Vergaz A, Calvo Rey C, Alcázar Villar MJ, et al. Índice HOMA y QUICKI, insulina y péptido C en niños sanos. Puntos de corte de riesgo cardiovascular. *An Pediatr* [Internet]. 2007 May 1 [cited 2021 Apr 12];66(5):481–90. Available from: <https://www.analesdepediatria.org/es-indice-homa-quicki-insulina-peptido-articulo-13102513>
151. Williams B, Mancia G, Spiering W, Rosei EA, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension [Internet]. Vol. 39, *European Heart Journal*. Oxford University Press; 2018 [cited 2021 Jan 1]. p. 3021–104. Available from: www.escardio.org/guidelines
152. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Miller O. 1., Sullivan ID, Lloyd JK, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* [Internet]. 1992 Nov 7 [cited 2021 Jan 1];340(8828):1111–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1359209/>
153. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: A report of the international brachial artery reactivity task force. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2002 Jan 16 [cited 2021 Jan 1];39(2):257–65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11788217/>
154. Kuvin JT, Patel AR, Sliney KA, Pandian NG, Sheffy J, Schnell RP, et al. Assessment of peripheral vascular endothelial function with finger arterial pulse wave amplitude. *Am Heart J* [Internet]. 2003 Jul 1 [cited 2020 Sep 10];146(1):168–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12851627/>
155. Esparza-Ros F. Protocolo internacional para la valoración

antropométrica. Perfil completo. Murcia: International Society for the Advancement of Kinanthropometry - ISAK; 2019.

156. Edwards CM, Cusi K. Prediabetes: A Worldwide Epidemic [Internet]. Vol. 45, Endocrinology and Metabolism Clinics of North America. W.B. Saunders; 2016 [cited 2020 Sep 10]. p. 751–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27823603/>

157. Ngueguim FT, Esse EC, Dzeufiet PDD, Gounoue RK, Bilanda DC, Kamtchouing P, et al. Oxidised palm oil and sucrose induced hyperglycemia in normal rats: Effects of sclerocarya birrea stem barks aqueous extract. BMC Complement Altern Med [Internet]. 2015 [cited 2020 Sep 10];16(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26841874/>

158. Pasello G, Urso L, Conte P, Favaretto A. Effects of Sulfonylureas on Tumor Growth: A Review of the Literature. Oncologist. 2013 Oct;18(10):1118–25.

159. Ndifossap IGM, Frigerio F, Casimir M, Tsofack FN, Dongo E, Kamtchouing P, et al. Sclerocarya birrea (Anacardiaceae) stem-bark extract corrects glycaemia in diabetic rats and acts on β -cells by enhancing glucose-stimulated insulin secretion. J Endocrinol. 2010 Apr;205(1):79–86.

160. Yang CY, Yen YY, Hung KC, Hsu SW, Lan SJ, Lin HC. Inhibitory effects of pu-erh tea on alpha glucosidase and alpha amylase: a systemic review. Vol. 9, Nutrition and Diabetes. Nature Publishing Group; 2019.

161. Da Costa Mousinho NMH, Van Tonder JJ, Steenkamp V. In vitro anti-diabetic activity of Sclerocarya birrea and Ziziphus mucronata. Nat Prod Commun [Internet]. 2013 Sep 1 [cited 2020 Sep 9];8(9):1279–84. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1934578X1300800924>

162. He L, Wondisford FE. Metformin action: Concentrations matter [Internet]. Vol. 21, Cell Metabolism. Cell Press; 2015 [cited 2020 Sep 9]. p. 159–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25651170/>

163. O'Neill HM. AMPK and exercise: Glucose uptake and insulin sensitivity [Internet]. Vol. 37, Diabetes and Metabolism Journal. Korean Diabetes Association; 2013 [cited 2020 Dec 31]. p. 1–21. Available from: [/pmc/articles/PMC3579147/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25651170/)

164. Jäer S, Handschin C, St-Pierre J, Spiegelman BM. AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1 α . *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2007 Jul 17 [cited 2020 Dec 31];104(29):12017–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17609368/>
165. Srivastava RAK, Pinkosky SL, Filippov S, Hanselman JC, Cramer CT, Newton RS. AMP-activated protein kinase: An emerging drug target to regulate imbalances in lipid and carbohydrate metabolism to treat cardio-metabolic diseases [Internet]. Vol. 53, *Journal of Lipid Research*. American Society for Biochemistry and Molecular Biology; 2012 [cited 2020 Dec 31]. p. 2490–514. Available from: </pmc/articles/PMC3494254/?report=abstract>
166. Zang M, Xu S, Maitland-Toolan KA, Zuccollo A, Hou X, Jiang B, et al. Polyphenols stimulate AMP-activated protein kinase, lower lipids, and inhibit accelerated atherosclerosis in diabetic LDL receptor-deficient mice. *Diabetes* [Internet]. 2006 Aug [cited 2020 Dec 31];55(8):2180–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16873680/>
167. Rena G, Pearson ER, Sakamoto K. Molecular mechanism of action of metformin: Old or new insights? [Internet]. Vol. 56, *Diabetologia*. *Diabetologia*; 2013 [cited 2020 Sep 9]. p. 1898–906. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23835523/>
168. Pournourmohammadi S, Grimaldi M, Stridh MH, Lavallard V, Waagepetersen HS, Wollheim CB, et al. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) activates AMPK through the inhibition of glutamate dehydrogenase in muscle and pancreatic β -cells: A potential beneficial effect in the pre-diabetic state? *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 2017 Jul 1 [cited 2020 Dec 31];88:220–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28137482/>
169. Carobbio S, Frigerio F, Rubi B, Vetterli L, Bloksgaard M, Gjinovci A, et al. Deletion of glutamate dehydrogenase in β -cells abolishes part of the insulin secretory response not required for glucose homeostasis. *J Biol Chem* [Internet]. 2009 Jan 9 [cited 2020 Dec 31];284(2):921–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19015267/>
170. Kim YA, Keogh JB, Clifton PM. Polyphenols and glycémie control [Internet]. Vol. 8, *Nutrients*. MDPI AG; 2016 [cited 2020 Dec 31].

Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26742071/>

171. Costanzo LS. *Fisiología*. 4th ed. Barcelona: Elsevier; 2011.
172. Tabuchi H, Yamamoto H, Matsumoto K, Ebihara K, Takeuchi Y, Fukunaga K, et al. Regulation of insulin secretion by overexpression of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II in insulinoma MIN6 cells. *Endocrinology* [Internet]. 2000 [cited 2020 Dec 31];141(7):2350–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10875234/>
173. Braun AP, Schulman H. The multifunctional calcium/calmodulin- dependent protein kinase: From form to function. *Annu Rev Physiol* [Internet]. 1995 [cited 2020 Dec 31];57:417–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7778873/>
174. Easom RA, Filler NR, Ings EM, Tarpley J, Landt M. Correlation of the activation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II with the initiation of insulin secretion from perfused pancreatic islets. *Endocrinology* [Internet]. 1997 [cited 2020 Dec 31];138(6):2359–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9165023/>
175. Sabiu S, Madende M, Ayokun-nun Ajao A, Adepemi Ogundeji O, Lekena N, Adekunle Alayande K. The scope of phytotherapy in southern African antidiabetic healthcare. *Trans R Soc South Africa* [Internet]. 2019 Jan 2 [cited 2020 Dec 31];74(1):1–18. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/0035919X.2019.1575927>
176. Fajans SS, Brown MB. Administration of sulfonylureas can increase glucose-induced insulin secretion for decades in patients with maturity-onset diabetes of the young. *Diabetes Care* [Internet]. 1993 [cited 2020 Sep 9];16(9):1254–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8404429/>
177. Burant CF. Activation of GPR40 as a therapeutic target for the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care* [Internet]. 2013 Aug [cited 2021 Jan 1];36(SUPPL.2):S175. Available from: </pmc/articles/PMC3920793/?report=abstract>
178. Ni Q, Ganesan A, Aye-Han NN, Gao X, Allen MD, Levchenko A, et al. Signaling diversity of PKA achieved via a Ca²⁺ -cAMP-PKA oscillatory circuit. *Nat Chem Biol* [Internet]. 2011 [cited 2020 Dec 31];7(1):34–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21102470/>

179. Yang K, Chan CB. Epicatechin potentiation of glucose-stimulated insulin secretion in INS-1 cells is not dependent on its antioxidant activity. *Acta Pharmacol Sin* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2020 Dec 31];39(5):893–902. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29417944/>
180. Munton RP, Vizi S, Mansuy IM. The role of protein phosphatase-1 in the modulation of synaptic and structural plasticity. In: *FEBS Letters* [Internet]. FEBS Lett; 2004 [cited 2020 Dec 31]. p. 121–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15165904/>
181. Ojewole JAO. Evaluation of the analgesic, anti-inflammatory and anti-diabetic properties of *Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst. stem-bark aqueous extract in mice and rats. *Phyther Res* [Internet]. 2004 Aug [cited 2020 Sep 10];18(8):601–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15476310/>
182. Deh, ZH, Koffi, DP, Monteomo G. Antihyperglycemic activity of *Sclerocarya birrea* in rats. *EJPMR*. 2018;5(2):23–7.
183. Maechler P, Carobbio S, Rubi B. In beta-cells, mitochondria integrate and generate metabolic signals controlling insulin secretion [Internet]. Vol. 38, *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. Elsevier Ltd; 2006 [cited 2021 Jan 1]. p. 696–709. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357272505004140>
184. Sano H, Eguez L, Teruel MN, Fukuda M, Chuang TD, Chavez JA, et al. Rab10, a Target of the AS160 Rab GAP, Is Required for Insulin-Stimulated Translocation of GLUT4 to the Adipocyte Plasma Membrane. *Cell Metab* [Internet]. 2007 Apr 4 [cited 2021 Jan 1];5(4):293–303. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17403373/>
185. Hanada M, Feng J, Hemmings BA. Structure, regulation and function of PKB/AKT - A major therapeutic target. In: *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics* [Internet]. *Biochim Biophys Acta*; 2004 [cited 2021 Jan 1]. p. 3–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15023346/>
186. Taniguchi CM, Emanuelli B, Kahn CR. Critical nodes in signalling pathways: Insights into insulin action [Internet]. Vol. 7, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. *Nat Rev Mol Cell Biol*; 2006 [cited 2021 Jan

- 1]. p. 85–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16493415/>
187. Elahi E, Ashfaq Ahmad M, Mustafa S. Impact of Gallic Acid on Oxidative Stress in Diabetes. Vol. 12.
188. Cao H, Hininger-Favier I, Kelly MA, Benaraba R, Dawson HD, Coves S, et al. Green tea polyphenol extract regulates the expression of genes involved in glucose uptake and insulin signaling in rats fed a high fructose diet. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2007 Jul 25 [cited 2021 Jan 1];55(15):6372–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17616136/>
189. Nishiumi S, Bessyo H, Kubo M, Aoki Y, Tanaka A, Yoshida KI, et al. Green and black tea suppress hyperglycemia and insulin resistance by retaining the expression of glucose transporter 4 in muscle of high-fat diet-fed C57BL/6J mice. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2010 Dec 22 [cited 2021 Jan 1];58(24):12916–23. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf102840w>
190. Tundis, R, Loizzo, MR, Menichini F. Natural Products as α - Amylase and α -Glucosidase Inhibitors and their Hypoglycaemic Potential in the Treatment of Diabetes: An Update. *Mini-Reviews Med Chem*. 2010;10:315–31.
191. Díaz B E, Aguirre P C, Gotteland R M. EFECTO DE UN INHIBIDOR DE (-AMILASA SOBRE LA REDUCCION DE PESO DE MUJERES OBESAS. *Rev Chil Nutr* [Internet]. 2004 Dec [cited 2020 Sep 9];31(3):306–17. Available from: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182004000300006&lng=es&nrm=iso&tlng=es
192. Mogale AM, Lebelo LS, Thovhogi N, de Freitas AN, Shai LJ. α -amylase and α -glucosidase inhibitory effects of sclerocarya birrea [(A. Rich.) Hochst.] subspecies caffra (Sond) Kokwaro (Anacardiaceae) stem-bark extracts. *African J Biotechnol*. 2011 Oct 26;10(66):15033–9.
193. Kato-Schwartz CG, Bracht F, Gonçalves G de A, Soares AA, Vieira TF, Brugnari T, et al. Inhibition of α -amylases by pentagalloyl glucose: Kinetics, molecular dynamics and consequences for starch absorption. *J Funct Foods*. 2018 May 1;44:265–73.
194. Quesille-Villalobos AM, Torricoa JS, Ranilla LG. Phenolic

compounds, antioxidant capacity, and in vitro α -amylase inhibitory potential of tea infusions (*Camellia sinensis*) commercialized in Chile. *CYTA - J Food*. 2013 Feb;11(1):60–7.

195. Nikolova M, Alexandrov A, Iliev I. Alpha-glucosidase inhibitory effect and antioxidant properties of different extracts from *Lycium barbarum* L. *J Biosci Biotechnol* [Internet]. 2018 [cited 2021 Jan 1];7(2–3):91–5. Available from: <http://www.jbb.uni-plovdiv.bg>

196. Matsabisa MG, Chukwuma CI, Chaudhary SK. South African traditional herbal formulation inhibits α -glucosidase, DPP-IV and glycation activities, and modulates glucose utilisation in Chang liver cells and 3T3-L1 adipocytes. *South African J Bot*. 2019 Mar 1;121:121–7.

197. Virgós Señor B, Nebra Puertas AC, Suárez Pinilla MA, Cornudella Lacasa R, Portero Pérez P, Morón Gimenez A. Disfunción endotelial, enfermedad coronaria y diabetes mellitus. *Endocrinol nutr (Ed impr)*. 2007;467–72.

198. de Oliveira LM, de Oliveira TS, da Costa RM, de Souza Gil E, Costa EA, Passaglia R de CAT, et al. The vasorelaxant effect of gallic acid involves endothelium-dependent and -independent mechanisms. *Vascul Pharmacol* [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2021 Jan 1];81:69–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26643780/>

199. Mawoza T, Ojewole JAO, Owira PMO. Contractile effect of *Sclerocarya birrea* (A Rich) Hochst (Anacardiaceae) (*Marula*) leaf aqueous extract on rat and rabbit isolated vascular smooth muscles. *Cardiovasc J Afr* [Internet]. 2012 Feb [cited 2020 Sep 10];23(1):12–7. Available from: </pmc/articles/PMC3721934/?report=abstract>

200. Akbari G. Molecular mechanisms underlying gallic acid effects against cardiovascular diseases: An update review [Internet]. Vol. 10, *AJP*. Mashhad University of Medical Sciences; 2020 [cited 2021 Jan 1]. Available from: </pmc/articles/PMC6941690/?report=abstract>

201. Kang N, Lee JH, Lee WW, Ko JY, Kim EA, Kim JS, et al. Gallic acid isolated from *Spirogyra* sp. improves cardiovascular disease through a vasorelaxant and antihypertensive effect. *Environ Toxicol Pharmacol* [Internet]. 2015 [cited 2021 Jan 1];39(2):764–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25727171/>

202. Oliveira LM de, Oliveira TS de, Costa RM da, Martins JLR, Freitas CS de, Gil E de S, et al. Caryocar brasiliense induces vasorelaxation through endothelial Ca²⁺/calmodulin and PI3K/Akt/eNOS-dependent signaling pathways in rats. *Rev Bras Farmacogn*. 2018 Nov 1;28(6):678–85.
203. Durazo-Quiroz F. I. El óxido nítrico en medicina [Internet]. Vol. 143. 2007 [cited 2021 May 31]. Available from: www.anmm.org.mx
204. Gil-Longo J, González-Vázquez C. Vascular pro-oxidant effects secondary to the autoxidation of gallic acid in rat aorta. *J Nutr Biochem* [Internet]. 2010 Apr [cited 2021 Jan 1];21(4):304–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19369049/>
205. Athyros VG, Doumas M, Imprialos KP, Stavropoulos K, Georgiou E, Katsimardou A, et al. Diabetes and lipid metabolism [Internet]. Vol. 17, *Hormones*. Springer; 2018 [cited 2021 May 15]. p. 61–7. Available from: <https://doi.org/10.1007/s42000-018-0014-8>
206. Subramanian S, Chait A. Hypertriglyceridemia secondary to obesity and diabetes. Vol. 1821, *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*. Elsevier; 2012. p. 819–25.
207. Haas ME, Attie AD, Biddinger SB. The regulation of ApoB metabolism by insulin [Internet]. Vol. 24, *Trends in Endocrinology and Metabolism*. NIH Public Access; 2013 [cited 2021 May 15]. p. 391–7. Available from: [/pmc/articles/PMC3810413/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24310413/)
208. Raederstorff DG, Schlachter MF, Elste V, Weber P. Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats. *J Nutr Biochem* [Internet]. 2003 Jun 1 [cited 2021 Jan 1];14(6):326–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12873714/>
209. Lee SM, Kim CW, Kim JK, Shin HJ, Baik JH. GCG-Rich Tea Catechins are Effective in Lowering Cholesterol and Triglyceride Concentrations in Hyperlipidemic Rats. *Lipids* [Internet]. 2008 May [cited 2021 Jan 1];43(5):419–29. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18365267/>
210. Kah Hui C, Majid NI, Mohd Yusof H, Mohd Zainol K, Mohamad H, Mohd Zin Z. Catechin profile and hypolipidemic activity of *Morinda citrifolia* leaf water extract. *Heliyon*. 2020 Jun 1;6(6):e04337.
211. Tsalamandris S, Antonopoulos AS, Oikonomou E,

Papamikroulis GA, Vogiatzi G, Papaioannou S, et al. The role of inflammation in diabetes: Current concepts and future perspectives [Internet]. Vol. 14, *European Cardiology Review*. Radcliffe Cardiology; 2019 [cited 2020 Sep 10]. p. 50–9. Available from: [/pmc/articles/PMC6523054/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3523054/)

212. Dal S, Sigrist S. The Protective Effect of Antioxidants Consumption on Diabetes and Vascular Complications. *Diseases* [Internet]. 2016 Jul 11 [cited 2020 Sep 9];4(4):24. Available from: [/pmc/articles/PMC5456287/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30456287/)

213. Bashan N, Kovsan J, Kachko I, Ovadia H, Rudich A. Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species [Internet]. Vol. 89, *Physiological Reviews*. Physiol Rev; 2009 [cited 2020 Sep 9]. p. 27–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19126754/>

214. Baynes J. *Bioquímica médica*. 5th ed. Barcelona: Elsevier; 2019.

215. Vinayagam R, Jayachandran M, Xu B. Antidiabetic Effects of Simple Phenolic Acids: A Comprehensive Review [Internet]. Vol. 30, *Phytotherapy Research*. John Wiley and Sons Ltd; 2016 [cited 2020 Dec 31]. p. 184–99. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26634804/>

216. Bajaj S, Khan A. Mini Review Antioxidants and diabetes. *Indian J Endocrinol Metab* [Internet]. 2014 [cited 2020 Sep 10];16(Suppl 2):S267-71. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3603044>

217. Rolo AP, Palmeira CM. Diabetes and mitochondrial function: Role of hyperglycemia and oxidative stress [Internet]. Vol. 212, *Toxicology and Applied Pharmacology*. Toxicol Appl Pharmacol; 2006 [cited 2020 Sep 10]. p. 167–78. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16490224/>

218. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi SI, Matsumura T, Kaneda Y, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* [Internet]. 2000 Apr 13 [cited 2020 Sep 10];404(6779):787–90. Available from: <https://www.nature.com/articles/35008121>

219. Quinlan CL, Orr AL, Perevoshchikova I V., Treberg JR,

Ackrell BA, Brand MD. Mitochondrial complex II can generate reactive oxygen species at high rates in both the forward and reverse reactions. *J Biol Chem* [Internet]. 2012 Aug 3 [cited 2020 Sep 10];287(32):27255–64. Available from: [/pmc/articles/PMC3411067/?report=abstract](#)

220. Yung L, Leung F, Yao X, Chen Z-Y, Huang Y. Reactive Oxygen Species in Vascular Wall. *Cardiovasc Hematol Disord Targets* [Internet]. 2012 Nov 14 [cited 2020 Sep 10];6(1):1–19. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16724932/>

221. Schmidt HM, Kelley EE, Straub AC. The impact of xanthine oxidase (XO) on hemolytic diseases [Internet]. Vol. 21, *Redox Biology*. Elsevier B.V.; 2019 [cited 2020 Sep 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30580157/>

222. Mariod AA, Matthäus B, Eichner K, Hussein IH. Antioxidant activity of extracts from *Sclerocarya birrea* kernel oil cake. *Grasas y Aceites* [Internet]. 2006 Oct 31 [cited 2020 Sep 10];57(4):361–6. Available from: <http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/60>

223. Russo D, Kenny O, Smyth TJ, Milella L, Hossain MB, Diop MS, et al. Profiling of Phytochemicals in Tissues from *Sclerocarya birrea* by HPLC-MS and Their Link with Antioxidant Activity . *ISRN Chromatogr*. 2013;2013:1–11.

224. Didier K, Salomé K, Joanne B, Pierre A, Fernand G, Bénédicte K-K, et al. Chemical composition, in vitro antioxidant and antiparasitic properties of the essential oils of three plants used in traditional medicine in Benin. *J Med Plants Res*. 2019 Sep 30;13(16):384–95.

225. Sharma C, Kaur A, Thind SS, Singh B, Raina S. Advanced glycation End-products (AGEs): an emerging concern for processed food industries [Internet]. Vol. 52, *Journal of Food Science and Technology*. Springer India; 2015 [cited 2021 May 21]. p. 7561–76. Available from: [/pmc/articles/PMC4648888/](#)

226. Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, Cai W, Chen X, Pyzik R, et al. Advanced Glycation End Products in Foods and a Practical Guide to Their Reduction in the Diet. *J Am Diet Assoc* [Internet]. 2010 [cited 2021 Jun 3];110(6). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20497781/>

227. Adisakwattana S, Thilavech T, Sompong W, Pasukamonset P. Interaction between ascorbic acid and gallic acid in a model of fructose-mediated protein glycation and oxidation. *Electron J Biotechnol*. 2017 May 1;27:32–6.
228. Yeh WJ, Hsia SM, Lee WH, Wu CH. Polyphenols with antiglycation activity and mechanisms of action: A review of recent findings. Vol. 25, *Journal of Food and Drug Analysis*. Elsevier Taiwan LLC; 2017. p. 84–92.
229. Rabbani N, Xue M, Thornalley PJ. Dicarbonyls and glyoxalase in disease mechanisms and clinical therapeutics. *Glycoconj J* [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2021 Jun 3];33(4):513–25. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10719-016-9705-z>
230. Ohishi M. Hypertension with diabetes mellitus: Physiology and pathology review-article [Internet]. Vol. 41, *Hypertension Research*. Nature Publishing Group; 2018 [cited 2020 Sep 10]. p. 389–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29556093/>
231. Belemtougri RG, Dzamitika SA, Ouedraogo Y, Sawadogo L. Effects of water crude leaf extract of *Sclerocarya birrea* (A. Rich) Hochts (anacardiaceae) on normotensive rat blood pressure. *J Biol Sci*. 2007 Apr 1;7(3):570–4.
232. Tejpal S, Sanghera N, Manoharan V, Planas-Iglesias J, Bastie CC, Klein-Seetharaman J. Angiotensin converting enzyme (ACE): A marker for personalized feedback on dieting. *Nutrients* [Internet]. 2020 Mar 1 [cited 2021 Jun 7];12(3). Available from: [/pmc/articles/PMC7146434/](https://pmc/articles/PMC7146434/)

X - ANEXOS

Anexo 1. Test de FRINDRISC.

1. Edad		Puntuación
Menos de 35 años		0 puntos
Entre 35 y 44 años		1 puntos
Entre 45 y 54 años		2 puntos
Entre 55 y 64 años		3 puntos
Mayor de 64 años		4 puntos
2. IMC		Puntuación
Menor de 25 Kg/m ²		0 puntos
Entre 25 Kg/m ² -30 Kg/m ²		1 puntos
Mayor de 30 Kg/m ²		3 puntos
3. Perímetro de la cintura		Puntuación
Varones		
Menos de 90 cm		0 puntos
Entre 90 y 102 cm		3 puntos
Más de 102 cm		4 puntos
Mujeres		
Menos de 80 cm		0 puntos
Entre 80 y 88 cm		3 puntos
Más de 88 cm		4 puntos
4. Realiza ejercicio físico durante, al menos, 30 minutos al día		Puntuación
Sí		0 puntos
No		2 puntos
5. ¿Con qué frecuencia come fruta o verduras?		Puntuación
Diario		0 puntos

No diario	1 punto
6. ¿Toma medicación para la hipertensión?	Puntuación
Sí	2 puntos
No	0 puntos
7. ¿Le han encontrado alguna vez niveles elevados de glucemia?	Puntuación
Sí	5 puntos
No	0 puntos
8. ¿A algún miembro de su familia le han diagnosticado DM?	Puntuación
No	0 puntos
Sí (abuelos, tíos, primos hermanos)	3 puntos
Sí (padres, hermanos o hijos)	5 puntos
Puntuación total:	

Si tiene entre 50 y 69 años y la puntuación que ha obtenido es mayor de 14, debe ponerse en contacto con el centro de salud que le corresponda para que le realicen una valoración médica de su riesgo de diabetes y le den información sobre cómo evitarla o retrasarla.

Anexo 2. Hoja de información al participante.**DOCUMENTO DE INFORMACIÓN**

1. **EN QUÉ CONSISTE Y PARA QUÉ SIRVE:** Consiste en la ingesta, durante un periodo de tiempo de 90 días, de un nutracéutico (extracto natural de *Sclerocarya birrea*). Sirve para estudiar el posible efecto del control sobre el metabolismo glucídico, en personas prediabéticas.
2. **CÓMO SE REALIZA:** Se trata de un ensayo clínico, durante el cual se medirán analíticamente ciertos parámetros del metabolismo glucídico. También se determinarán otras variables secundarias como perfil lipídico, marcadores inflamatorios, tensión arterial, función endotelial y composición corporal.
3. **QUÉ EFECTOS LE PRODUCIRÁ:** Esperamos que se mejore el control del metabolismo glucídico, con reducción en los niveles de glucemia, insulinemia, hemoglobina glicosilada etc. También se espera una mejora de los niveles de colesterol, mejor respuesta de la función endotelial, mejora en los valores de tensión arterial y reducción de la grasa corporal.
4. **EN QUÉ LE BENEFICIARÁ:** La mejora del control del metabolismo glucídico y lipídico, control de la tensión arterial dentro de los valores normales y la reducción de la grasa corporal, conducirán a un mejor estado de salud general y reducirán el nivel de riesgo cardiovascular.
5. **QUÉ RIESGOS TIENE:** No se conoce ninguno, según la bibliografía consultada, a las dosis que se van a manejar en este estudio. Los estudios previos de toxicidad realizados en animales tampoco revelan riesgos a las dosis empleadas.
6. **SITUACIONES ESPECIALES QUE DEBEN SER TENIDAS EN CUENTA:** Los participantes en el estudio no podrán modificar sus hábitos alimenticios durante el

estudio ni haber iniciado un régimen de adelgazamiento los 3 meses previos al estudio. Tampoco se deben modificar los hábitos en cuanto a realización de ejercicio físico, ni los nicotínicos (consumo de tabaco).

7. OTRAS INFORMACIONES DE INTERÉS (a considerar por el/la profesional): Los participantes en el proyecto deben comprometerse a no tomar suplementos nutricionales o realizar dietas por su cuenta, durante el tiempo que dure el estudio, sin consultar con el equipo científico del mismo.

8. CONSENTIMIENTO INFORMADO: Le pediremos firmar un consentimiento en el momento que le demos toda la información en relación con el estudio y lo firmará solo si ha entendido el procedimiento y quiere participar en él. Esto no quiere decir que no pueda abandonarlo en el momento que usted desee.

Para la publicación científica de los resultados que puedan derivarse de dicho estudio, se tendrá en cuenta, por supuesto, la confidencialidad de los datos personales de los participantes, de acuerdo con la ley vigente de protección de datos.

9. COMPENSACIÓN ECONÓMICA: Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto y le serán reintegrados los gastos extraordinarios (por ejemplo: comidas y traslados). Usted no tendrá que pagar por los productos intervinientes en el estudio.

10. PREGUNTAS

Si tiene alguna duda o pregunta con relación al estudio, no dude en comunicárselo al equipo de investigación. Puede ponerse en contacto con nosotros en el teléfono 968.27.87.57.

Ellos estarán dispuestos a contestarle todas sus dudas y preguntas antes, durante, y después del estudio.

Anexo 3. Consentimiento informado**HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

TÍTULO DEL ESTUDIO	Ensayo clínico aleatorizado para determinar la eficacia de <i>Sclerocarya birrea</i> en el control metabólico glucídico de sujetos con prediabetes.
---------------------------	--

Yo,.....,
 con
 DNI.....

- He leído la hoja de información que se me ha entregado sobre el estudio.
 He podido hacer preguntas sobre el estudio.
 He recibido suficiente información sobre el estudio.
 He hablado con.....(nombre del investigador)
 Comprendo que mi participación es voluntaria.
 Comprendo que puedo retirarme del estudio:
 - Cuando quiera.
 - Sin tener que dar explicaciones.

Recibiré una copia firmada y fechada de este documento de consentimiento informado.
 Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del participante

Firma del investigador

Fecha: ____/____/____

Fecha: ____/____/____

"No se puede sanar al mundo sin sanarse primero a sí mismo".

Elisabeth Kübler-Ross (1926-2004).

