

Trabajo Fin de Grado

Papel de las antocianinas como agentes antidiabéticos (Revisión bibliográfica)

Role of anthocyanins as antidiabetic agents (Bibliographic review)

Autor

Óscar Maqueda Ros

Directora

Marta Sofía Valero Gracia

Facultad de Ciencias de la Salud y del Deporte
Grado en Nutrición Humana y Dietética

2019/2020

Fecha de presentación: 10/06/2020

ÍNDICE

1. Introducción	2
2. Hipótesis/Objetivos	11
3. Material/Método.....	12
4. Resultados y discusión	14
4.1 Estudios <i>In vitro</i>	14
4.2 Estudios <i>In vivo</i>	21
4.2.1 Animales	23
4.2.2 Humanos	29
5. Conclusiones	32
6. Bibliografía	33

Abreviaturas

DM1 Diabetes mellitus tipo 1 **DM2** Diabetes mellitus tipo 2 **PKA** Proteína quinasa a **PI3K** Fosfoinositol 3-quinasa **AKT** Proteína quinasa b **PKC** Proteína quinasa c **ILK** Kinasa ligada integrina **PDK** Piruvato deshidrogenasa quinasa **GSK3** Glucógeno sintetasa 3 **GYS2** Glucógeno sintetasa 2 **G6P** Glucosa 6-fosfato **TSC** Complejo de esclerosis tuberosa **M-TORC1** Diana de rapamicina en células de mamífero **SREBP1c** Proteína de unión a elemento regulador del estero **GCK** Glucoquinasa **CHREBP** Proteína de unión al elemento de respuesta de hidratos de carbono **FoxO1** Proteína forkhead box O1 **G6PC** Glucosa 6 fosfatasa **GLUT-4** Transportador de glucosa 4 **AGES** Productos de la glicación no enzimática de macromoléculas **ROS** Especies reactivas de oxígeno **RAGES** Radicales de los productos de la glicación no enzimática de macromoléculas **HbA1c** Hemoglobina glicosilada **HepG2** Células de carcinoma de hígado humano **IC₅₀** La concentración inhibitoria media máxima **α-TNF** Factor de necrosis tumoral alfa **LDL** Lipoproteína de baja densidad **HDL** Lipoproteína de alta densidad **C3G** Cianidina-3-glucosido **PPARγ** Receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma **LXR** Receptor X del hígado **GLP-1R** Receptor péptido-1 similar al glucagón **FFAR1** Receptor de ácidos grasos libres 1 **AMPK** Proteína quinasa activada por monofosfato de adenosina **IRS-1** Sustrato receptor de insulina 1 **RBP4** Proteína de unión de retinol 4 **hs-CRP** Proteína C-reactiva de alta sensibilidad **TG** Triglicéridos **IL6, 8, 10** Interleucinas 6, 8, 10 **iNOS** óxido nítrico sintasa inducible **NF-κB** factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas **HFD** Dieta alta en grasas a base de manteca de cerdo **MCP-1** Proteína quimioatrayente de monocitos 1 **CCL2** ligando de quimioquinas 2 **CETP** Colesterol en plasma **MDA** Malondialdehído **4-HNE** 4-hidroxinonenal

1. Introducción

La **diabetes** se basa en un desorden caracterizado por una hiperglucemia persistente en sangre como resultado del déficit de secreción de insulina o por resistencia a la misma, según el tipo de diabetes que se presente. Los síntomas clásicos que esta enfermedad producen en los pacientes son muy característicos dado a que presentan una excreción excesiva de orina (poliuria), sed pronunciada (polidipsia), hambre constante (polifagia), pérdida de peso, trastornos visuales y cansancio. En los dos tipos de Diabetes, los síntomas son similares, pero con una menor intensidad por lo cual los diagnósticos de diabetes tipo 2, suelen ser más tardíos y la enfermedad ya tiene años de evolución.

Los pacientes de Diabetes Mellitus tipo 1 padecen una enfermedad de tipo autoinmune y metabólica, provocada por que el propio organismo destruye de forma selectiva las células β del páncreas y no segrega insulina. La administración de insulina en estos pacientes es necesaria dado a la falta de producción de dicha hormona. La gran parte de casos de DM1 se dan en pacientes con una serie de factores genéticos que los predisponen, pero también existen una serie de factores extrínsecos que pueden precipitar la aparición de la enfermedad como las infecciones virales, la dieta o la exposición a productos químicos.

En la Diabetes Mellitus tipo 2, el paciente segrega insulina insuficiente o este es resistente hacia ella, por lo que carece de efecto parcial o total. La incapacidad de las células para responder adecuadamente a los niveles normales de insulina, se produce principalmente en los músculos, el hígado y el tejido adiposo. En el hígado, la insulina normalmente suprime la liberación de glucosa. Sin embargo, debido a la resistencia a la insulina, el hígado libera inapropiadamente glucosa en la sangre. La proporción entre la resistencia a la insulina y la disfunción de las células beta difiere entre los individuos. Algunos tienen principalmente resistencia a la insulina y solo un defecto menor en la secreción de insulina; y otros tienen una ligera resistencia a la insulina y fundamentalmente una falta de secreción de insulina. (1)

Este tipo de patologías tienen un eje central crucial para nuestro organismo debido a que en ambas se compromete la disponibilidad de glucosa en nuestro organismo y esta, es nuestro principal sustrato energético. La capacidad de digestión y absorción de glucosa por el intestino, las concentraciones de glucosa en sangre, así como el transporte y almacenamiento de glucosa en los tejidos están estrictamente regulados por el metabolismo. Este se basa en la liberación de insulina en la fase postprandial, lo que provoca el almacenamiento de glucosa en los órganos diana, como el hígado, los músculos y los tejidos adiposos. La unión de la insulina con su receptor de membrana desencadena la autofosforilación seguida de sustratos proteicos intracelulares. También se han identificado factores clave en su vía de transducción de señales, incluyendo la

fosfoinositol 3-quinasa (PI3K). (2) Esta molécula cuenta con una amplia familia que se divide en tres clases: clase I, II y III. Se sabe que parte de las diversas funciones celulares que realiza, como estar involucrada en el crecimiento celular, proliferación, movilidad, supervivencia celular y tráfico intracelular, están provocadas por la habilidad de la PI3K de clase I a activar la vía de la proteína quinasa B (AKT). AKT es el homólogo humano del oncogen viral v-AKT (retrovirus Akt 8) y está relacionado con proteínas quinasas A (PKA) y C (PKC) en humanos. La AKT tiene tres isoformas conocidas, derivadas de distintos genes: AKT1/PKB α , AKT2/PKB β y AKT3/PKB γ . El dominio PH en la región N-terminal de AKT interactúa con 3'-fosfoinosítoles, ayudando a la agrupación de AKT hacia la membrana plasmática. Se han identificado diferentes PDK2 (isoenzima 2 de piruvato deshidrogenasa lipoamida quinasa) potenciales. Estas son proteinquinasas vinculadas en el proceso de activación de las diferentes vías de señalización, incluyendo el complejo rictor-mTOR (pero no el complejo raptor-mTOR inhibido por rapamicina y sus análogos), la ILK (*kinasa ligada a integrina*), la PKC β II e, incluso, la propia AKT, permitiendo, por tanto, un potente mecanismo de retroalimentación en la vía. Aun no hay claridad sobre el tipo de interacción de las PDK2 en la regulación de AKT; también falta esclarecer el papel relativo de la señalización de AKT en la membrana, el citosol y el núcleo. Las isoformas de AKT se han visto implicadas en funciones específicas, relacionadas con cáncer (AKT2 en motilidad/invasión y AKT3 en la independencia hormonal) (3). En ratones *knockout*, la eliminación de las diferentes isoformas conlleva a diversos defectos en el desarrollo y alteraciones en la sensibilidad a la insulina como podemos ver en la **figura 1**.

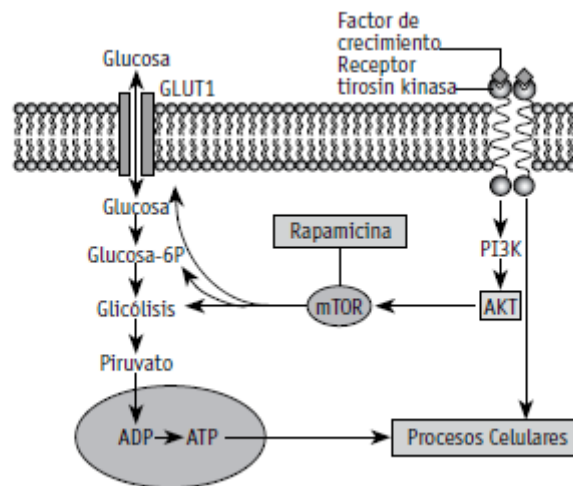


Figura 1. El rol de AKT y el blanco mamífero de la rapamicina (mTOR) en la homeostasis de la glucosa. (4)

También en diversos estudios, se demuestra que la ATK también está involucrada aparte de en la homeostasis de glucosa, en la de lípidos. A partir de la activación de la proteína AKT, se activan diferentes vías de control de la glucosa y la homeostasis lipídica como podemos ver en la **figura**

2. Se induce a la síntesis de glucógeno a través de la inhibición de glucógeno sintetasa 3 (GSK3) y de la activación de glucógeno sintetasa 2 (GYS2) a través de la glucosa 6-fosfato (G6P). La inhibición del complejo de esclerosis tuberosa (TSC) activa la diana de rapamicina en células de mamífero; (mTORC1), que a su vez activa el gen lipogénico denominado proteína de unión a elemento regulador del esteroide (SREBP1c) y la glucoquinasa (GCK), que fosforila la glucosa a G6P. Además, G6P activa la proteína de unión al elemento de respuesta de hidratos de carbono (ChREBP) lo que provoca más lipogénesis. Por último, la AKT inhibe también la acción de la FoxO1, lo que provoca una inhibición de la gluconeogénesis mediante la supresión de las proteínas glucosa 6 fosfatasa (G6PC). (5)

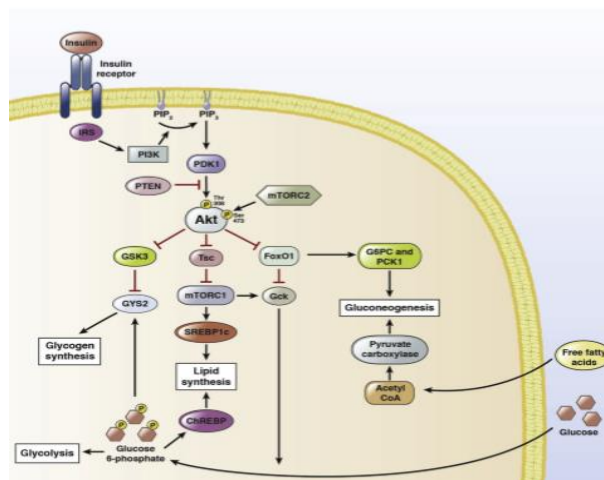


Figura 2. Esquema de la vía PI3K/AKT en el hígado centrado en niveles de glucosa y lípidos. (5)

Esta vía también está involucrada en la translocación de transportador de glucosa 4 (GLUT-4) de vesículas intracelulares a la membrana celular. Dado que GLUT-4 está implicado en el transporte de glucosa en los músculos y tejidos adiposos, es una de las principales dianas terapéuticas para la DM2.

Con el tiempo, la diabetes en todas sus formas, puede causar daños considerables en nuestro organismo si no es tratada como es debido. Estas **complicaciones** se focalizan en la formación de una serie de compuestos denominados productos finales de la glicación (AGEs). Estos son los productos de la glicación no enzimática de macromoléculas (proteínas, lípidos y ácidos nucleicos) con un azúcar reductor, conocida como la reacción de Maillard. El exceso de estrés oxidativo y un marcado aumento en las especies reactivas de oxígeno (ROS) pueden dañar las proteínas y estimular su modificación. El aumento de la producción de lípidos oxidados y glucosa, además de las proteínas dañadas, puede conducir a la formación de AGE. Las AGEs generalmente se consideran moléculas estructuralmente heterogéneas. La ruta común de la generación de AGE en humanos con diabetes comienza inicialmente con la combinación del grupo carbonilo de un azúcar reductor o aldehído con residuos de aminoácidos de lisina y arginina. Los AGE pueden inducir una vía de señalización intrínseca dentro de las células y promover el desarrollo de

receptores de AGE en las membranas celulares. En humanos con diabetes, los ligandos de carboximetilsina de los AGE son los ligandos habituales de RAGE. Aparte de esta reacción no enzimática de glucosa con macromoléculas, los AGE pueden formarse de manera endógena a través de la vía del poliol y la peroxidación lipídica. Además, los AGE se pueden producir en situaciones distintas de la hiperglucemia y la diabetes (6). Envejecimiento, inflamación, insuficiencia renal, aumento del estrés intracelular y extracelular, estrés oxidativo, comer alimentos procesados ricos en grasas (ricos en ácidos grasos saturados), alimentos ricos en proteínas tratados con calor (lípidos y / o azúcar), fumar cigarrillos y el consumo crónico de alcohol puede causar la producción de AGE.

Estos compuestos son los que provocan las complicaciones en el corazón, los vasos, los ojos, los riñones y los nervios. Estas moléculas deben sus efectos nocivos a su capacidad de interacción con proteínas de la matriz extracelular afectando así a las propiedades mecánicas de los tejidos, interacción con proteínas intracelulares alterando sus funciones fisiológicas y por último, por su unión a receptores de superficie provocando así la inducción de cascadas metabólicas. Los adultos con diabetes tienen un riesgo de 2 a 3 veces mayor de enfermedad cardiovascular y de accidentes cerebrovasculares. Este riesgo, lo podemos interpretar mediante un producto de la glicosilación denominado hemoglobina glicosilada (HbA1). Este compuesto se forma por la unión de la glucosa a la hemoglobina de manera irreversible, durando este compuesto en el organismo los 120 días que tiene de vida el glóbulo rojo. Esta patología en combinación con la reducción del flujo sanguíneo y la afección de neuropatías, aumenta la probabilidad de úlceras en las extremidades, especialmente en los pies (Pie diabético) y en la retina (retinopatía diabética). La cual requiere especial atención en estos pacientes ya que se produce por el daño acumulado en los vasos sanguíneos de la retina y puede llevar a causar ceguera. Por último, el daño en los vasos en estos pacientes también afecta al aparato renal, pudiendo llegar a ocasionar enfermedades renales tales como la insuficiencia renal (nefropatía diabética).

observa un creciente aumento de peso, va incrementado con el paso de los años llegándose a detectar el doble de casos que en las décadas anteriores. Además, este aumento de peso en nuestra sociedad provoca que enfermedades que están asociadas al sobrepeso y obesidad aumenten su prevalencia de la misma manera, es decir, que enfermedades como la diabetes, aumenta su prevalencia a casi el doble si la persona afectada sufre sobrepeso u obesidad. (1)

Las **antocianinas** son un subgrupo de la serie de productos naturales englobados dentro de los polifenoles que, a su vez, pertenecen a una amplia familia, los flavonoides. Estas son nombradas así por tener uno o más anillos aromáticos con al menos un grupo hidroxilo (un fenol) y se hallan en las vacuolas vegetales que otorgan el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores o frutos tales como las uvas, la soja, chocolate, vino, o en la mayoría de las bayas. Los polifenoles se clasifican comúnmente en cuatro grupos: flavonoides, ácidos fenólicos, lignanos y estilbenos. Los flavonoides, a su vez, también pueden desglosarse en subclases, incluyendo en este grupo las antocianinas, las flavonas, flavones, etc...

Las 6 antocianinas más abundantes, se recogen en la **figura 3**, son malvidina, petunidin, delphinidin, peonidano, pelargonidina y cianidina.

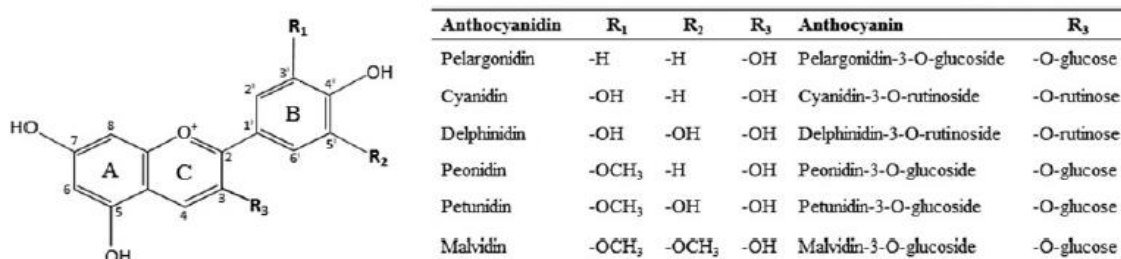
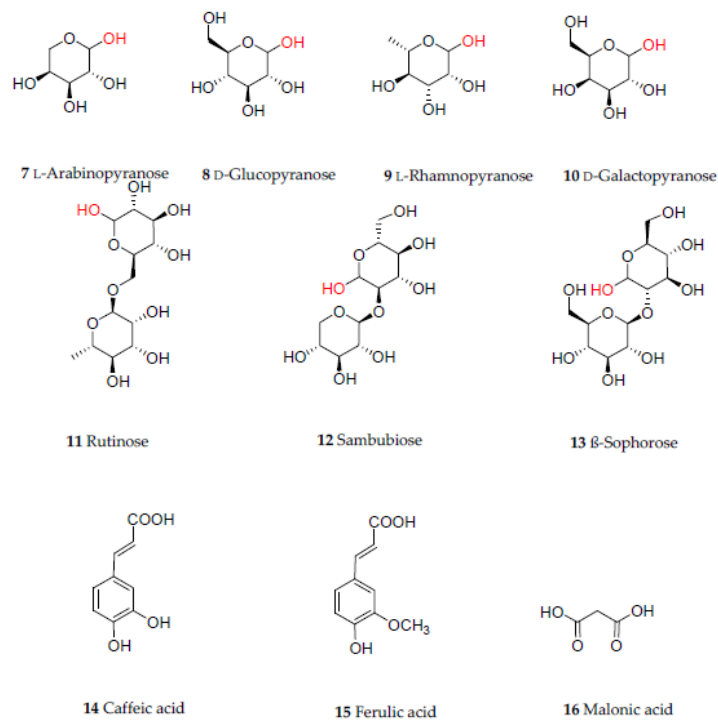


Figura 4. En esta figura se ve representada en la parte izquierda, los grupos químicos que comparten las antocianinas, y a la derecha vemos todos los grupos funcionales que varían entre los 6 grupos. (3)

Dependiendo del número de grupos hidroxilo, el sitio de unión de las unidades de azúcar, el tipo de azúcar (p. Ej., Arabinosa, galactosa, glucosa, ramnosa y xilosa que se encuentran con frecuencia), el enlace glucosídico (o enlace) y la complejidad de los azúcares (mono-, di- y trisacárido) se sabe que existen diversos grupos de antocianinas en las plantas. La mayoría de las antocianinas bioactivas discutidas en las siguientes secciones poseen una unidad de azúcar principalmente como formas 3-O-glucósido de arabinosa (7), glucosa (8), ramnosa (9) y galactosa (10) en sus formas de piranosido. Las formas de diglicósidos que incluyen rutinoside (11),

sambubiosa (12) y soforosa (13) también son comunes, mientras que la acilación con cafeína (14), ferúlica (15) y malónica (16). (**Figura 4**)



Compound	Cyanidin Glycosides	Compound	Delphinidin, Pelargonidin and Peonidin Glycosides
17	Cyanidin-3-O-arabinoside	26	Delphinidin-3-O-galactoside
18	Cyanidin-3-O-galactoside	27	Delphinidin-3-O-glucoside
19	Cyanidin-3-O-glucoside	28	Delphinidin-3-O-sambubioside-5-O-glucoside
20	Cyanidin-3-O-glucosyl-rutinoside	29	Pelargonidin-3-O-galactoside
21	Cyanidin-3-O-rutinoside	30	Pelargonidin-3-O-glucoside3
22	Cyanidin-3-O-sambubioside	31	Pelargonidin-3-O-rutinoside
23	Cyanidin-3-O-sophoroside	32	Pelargonidin-3-O-(2-O-(6-O-(E-3-O-(β-D-glucopyranosyl)caffeyl)-β-D-glucopyranosyl)-6-O-E-caffeyl-β-D-glucopyranoside)-5-O-β-D-glucopyranoside
24	Cyanidin-3,5-O-diglucoside	33	Peonidin-3-O-rutinoside
25	Cyanidin-3-O-malonylglicoside	34	Peonidin-3-O-(2-O-(6-O-E-feruloyl-β-D-glucopyranosyl)-6-O-E-caffeyl-β-D-glucopyranoside)-5-O-β-D-glucopyranoside

Figura 5. Azúcares comunes y derivados de éster de antocianinas discutidos en este artículo.La posición de los azúcares con el esqueleto flavonoide se muestra en rojo. (2)

El contenido en antocianinas en los alimentos varía considerablemente según variemos entre las especies de plantas y frutas, el tiempo de maduración, la calidad del suelo, la climatología del lugar, la forma de cultivar...Las principales fuentes de esta sustancia siguen siendo las bayas como las moras, arándanos, frambuesas... pero también las podemos encontrar en todo tipo de vegetales y frutas como podemos ver en la **tabla 1.** (6)

Product	Cyanidin	Delphinidin	Malvidin	Pelargonidin	Peonidin	Petunidin	Total
Blackberries	99.95	0.0	0.0	0.45	0.21	0.0	100.61
Blueberries	8.46	35.43	67.59	0.0	20.29	31.53	163.30
Cherries	32.57	nd	nd	nd	0.87	nd	33.44
Cranberries	46.43	7.67	0.44	0.32	49.16	0.0	104.02
Black currants	62.46	89.62	nd	1.17	0.66	3.87	157.78
Red currants	65.54	9.32	nd	nd	0.16	nd	75.02
Red grapes	1.16	2.27	39.00	0.02	3.62	1.97	48.04
Raspberries	45.77	1.32	0.13	0.98	0.12	0.31	48.63
Strawberries	1.68	0.31	0.01	24.85	0.05	0.11	27.01
Gooseberries	8.73	0.01	nd	nd	0.77	nd	9.51
Apples	1.57	0.0	0.0	0.0	0.02	0.0	1.59
Bananas	0.0	7.39	0.0	0.0	0.0	0.0	7.39
Red cabbage	209.83	0.10	nd	0.02	nd	nd	209.95
Radish	0.0	0.0	0.0	63.13	0.0	0.0	63.13
Eggplant	nd	85.69	nd	nd	nd	nd	85.69
Red onion	3.19	4.28	nd	0.02	2.07	nd	9.56
Beans (black, mature seeds, raw)	nd	18.50	10.61	nd	nd	15.41	44.52
Almonds	2.46	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.46
Pistachios	7.33	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.33
Red wine (Cabernet Sauvignon)	nd	4.18	26.24	nd	1.85	3.32	35.59
Red wine (sweet)	nd	3.90	94.83	nd	3.93	6.63	109.29

Tabla 1. Tabla con la concentración de antocianinas en los alimentos más representativos. (6)

La investigación con antocianinas ha dado fruto a un gran listado de funciones en el organismo. Las antocianinas desde que se demostró su **efecto antioxidante**, han sido sometidas a numerosos estudios que profundizaban más en otros ámbitos en los que esta sustancia podía ser beneficiosa para nuestro organismo. En particular en los últimos años, donde la preocupación por la salud ha ido en aumento proporcionalmente con el consumo de productos naturales, se han relacionado con diversas funciones en distintos procesos de nuestro cuerpo como puede ser la prevención de la obesidad y la diabetes.

Su papel **antioxidante** es bien conocido, ya que eliminan las especies reactivas de oxígeno (ROS). Entre todas las diferentes especies de antocianinas, en particular la cianidina-3-glucosido tiene una gran absorbancia de radicales de oxígeno. El Delphinidin ha sido revelado como el más activo contra el anión superóxido. En estudios han demostrado que esta antocianina tiene efectos protectores contra el estrés oxidativo a nivel celular. Todas estas actividades en este nivel, contribuirían en la reducción de los factores de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares y el crecimiento de varias líneas carcinógenas. (8)

Por otra parte, se ha demostrado también que el consumo de antocianinas disminuye la cantidad que podemos almacenar de lípidos aportados en la dieta y también, se vio que se **disminuye la síntesis de lípidos**. Por último, se demostró que estas sustancias, a parte de este efecto, también **ayudan a controlar los niveles séricos de glucosa en humanos**. En investigaciones de años

anteriores, se demostró que la suplementación de antocianinas de arándanos, en una dieta alta en grasas suponía una inhibición del aumento de peso y de la acumulación de grasa en el tejido adiposo. Este hallazgo fue confirmado por otro estudio, realizado por el mismo grupo de investigación, pero esta vez usando zumo de arándano. Los resultados de este estudio, confirmaron que las personas que consumieron el zumo ganaron menos peso y acumularon menos tejido graso (9).

Las antocianinas de otro tipo de bayas también han sido objeto de estudio para saber si contaban con los mismos efectos o si carecían de ellos. Por ejemplo, un estudio planteó la investigación sobre los efectos que producían la frambuesa, para relacionar el efecto que estas podían producir en el organismo con el efecto y sabido del arándano así demostrar que otro tipo de bayas también tienen efectos beneficiosos. Para ello se realizó el estudio en personas y se vio que, en forma de zumo o concentrado, no tenía el mismo efecto inhibitorio de la ganancia de peso y de la acumulación de grasa ya que se obtuvieron valores mayores respecto al arándano (10).

Otro caso es el de la mora, en el que se realizó un estudio con los zumos concentrados de mora y se vio que se reducía la ganancia de peso (11).

Y por último en los arándanos, yendo a total contracorriente de los otros, se vio que producían un aumento de la acumulación de grasa y de glucosa sérica en una dieta alta en fructosa (12).

Los **efectos preventivos** de las antocianinas con respecto al **cáncer** han sido demostrados en distintos estudios, basando todas las evidencias en el efecto antiinflamatorio con el que cuentan estas. Por ejemplo, el delphinidín ha demostrado que cuenta con este efecto, ya que se une directamente a la proteína quinasa activada por los mitógenos 4 y PIK3 para inhibir ambas enzimas, suprimiendo así la expresión de la ciclooxigenasa 2 (13).

Otro efecto que se le atribuye a las antocianinas es el de la **mejora de la visión**. Con este efecto existe una famosa leyenda en la que decía que los soldados de la fuerza aérea del bando japonés tomaban una baya para contar con una mayor percepción en la visión nocturna. Esto se desmintió años después, concretamente en 2004 mediante estudios que probaban que tal efecto no era posible con estas bayas (14).

Sin embargo, sí que se ha demostrado que las antocianinas presentes en la composición de los arándanos cuentan con efecto neuroprotector en el tejido ocular y a través del efecto antiangiogénico, reduciendo la posibilidad de producir retinopatías en la diabetes (15).

Además, varios estudios han demostrado que las antocianinas de la grosella negra mejoran la función visual debido a que reducen la fatiga ocular, mejoran la adaptación lumínica del ojo y aumenta el flujo sanguíneo de la retina en el glaucoma (16).

Por último, se le atribuyen efectos en la **mejora de memoria y nivel cognitivo** por reducir la degeneración de la función neural (17).

Otro estudio que realizó el se demostró que la ingesta de arándanos inducía a la activación de AMP-cíclico, que produce un aumento en el nivel de factor neurotrófico derivado del cerebro, en el que intervienen las quinasas 1 y 2, relacionadas con la señalización extracelular (18).

Otro efecto que puede estar relacionado con la mejora de la función cerebral es que mejoran el paso de flujo sanguíneo cerebrovascular (19).

2. Hipótesis/Objetivos

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica crónica caracterizada por hiperglucemia, hiperinsulinemia y/o desregulación lipídica. La diabetes tipo 2 es la diabetes más común asociada a hábitos de vida poco saludables. Los sensibilizantes de insulina son una clase de medicamentos utilizados para tratar la diabetes y los trastornos metabólicos asociados. Además, se han sugerido para prevenir este tipo de enfermedades y como tratamiento la introducción en la dieta de productos naturales o suplementos alimenticios. Un grupo de estos productos naturales son las antocianinas, un grupo de flavonoides conocidos por su capacidad antioxidante y por sus diversos beneficios en el organismo, como su efecto antidiabético.

Por ello el objetivo de este Trabajo Fin de Grado es realizar una revisión bibliográfica sobre los efectos beneficiosos de las antocianinas en la diabetes, de una forma aislada o bien, mediante extractos de plantas que los contengan, así como conocer los diferentes mecanismos de acción de por los cuales las antocianinas realizan estas bioactividades. Para ello, nos centraremos en estudios *in vitro*, *in vivo* y en ensayos con humanos para conocer el efecto de las antocianinas en la diabetes.

3. Material/Método

Esta revisión bibliográfica fue realizada siguiendo la metodología PRISMA (Figura 3). Para ello, realizamos una búsqueda bibliográfica de artículos de investigación en las webs de referencia, tales como Pubmed y Web of Science, en un tiempo que transcurrió entre el 18 de febrero de 2020 y 18 de marzo de 2020, actualizando en todo momento las búsquedas para descubrir si en el momento de la búsqueda de información surgía una nueva investigación que nos pudiera ayudar en la tarea. Los keywords de búsqueda en las diferentes buscadores para encontrar la información fueron: *“Anthocyanins” “Diabetes” “Last 10 years” “Review” “Free full text” “Humans” “Animals” “in vitro” “in vivo”*. La búsqueda de artículos fue realizada en ingles exclusivamente.

En nuestra primera búsqueda se obtuvieron 97 artículos científicos que cumplieron nuestro primer filtro de requisitos. Posteriormente, retiramos de la revisión los artículos que estaban duplicados en las dos fuentes de búsqueda. El tercer paso que realizamos en esta revisión fue elegir los estudios que nos interesaban para la misma. Eliminamos 7 artículos de los posibles por contar con una muestra en su estudio insuficiente, no mayor de 20, como para tener una relevancia en el estudio. Junto a estos, eliminamos otros 9, por tener un acceso imposible al estar los recursos inhabilitados en las web científicas de referencia. También, eliminamos 3 artículos por falta de correlación de los componentes con el efecto que queremos enfatizar. Eliminamos otros 7, dado a que no hablaban de los mecanismos de acción del proceso en el que nos hemos centrado, refiriéndose a efectos sobre el cáncer, poder oxidativo... Y por último, eliminamos otros 6 artículos más, por hablar de una manera inespecífica y sin profundizar en el tema que hemos elegido. De esta manera, obtuvimos de nuestra selección 49 artículos que utilizaremos para realizar esta revisión, utilizando 6 para la parte cualitativa y 44 para nuestro meta-análisis.



PRISMA 2009 Flow Diagram

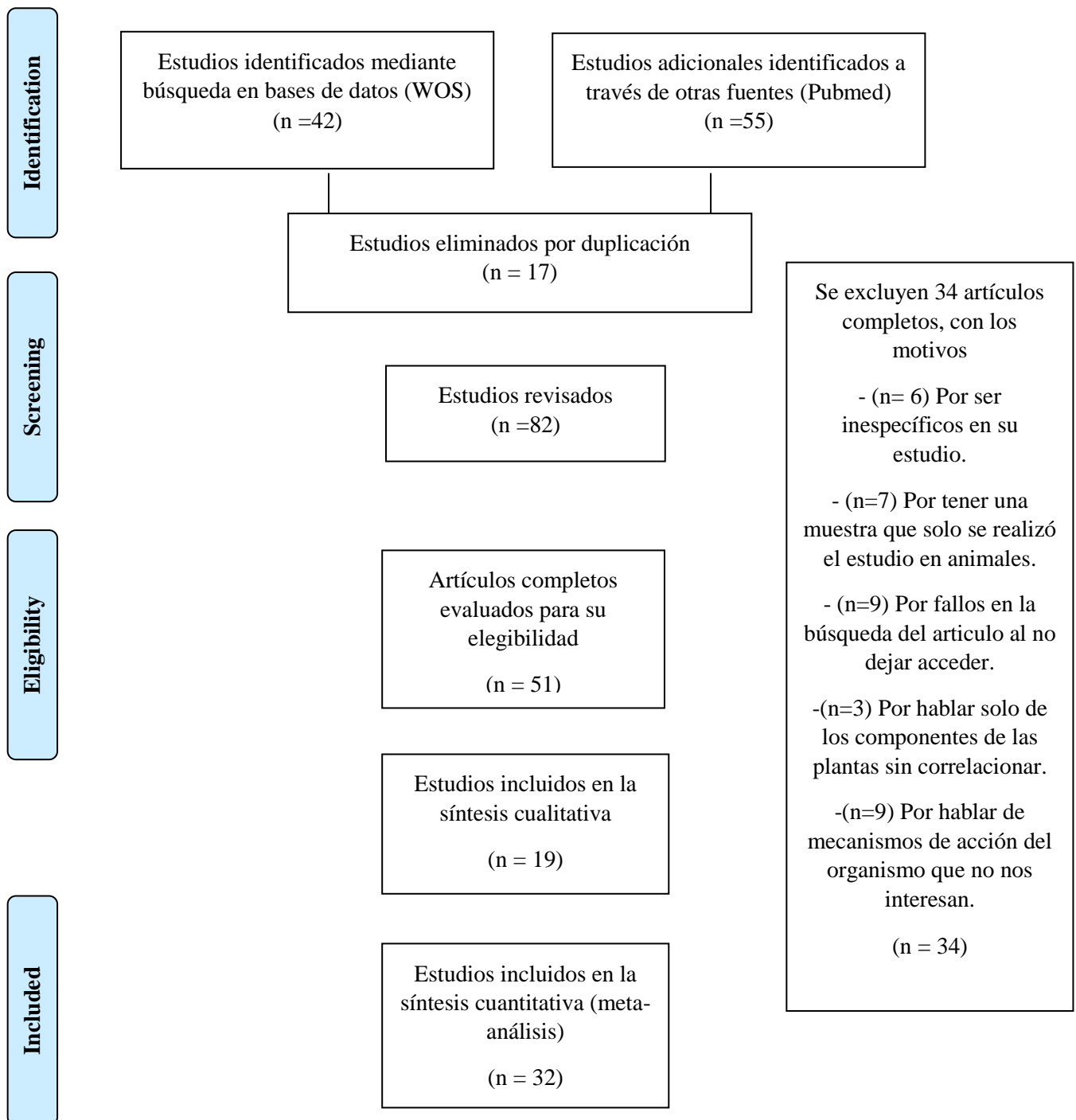


Figura 6. Esquema del método prisma, junto a los criterios de selección para los artículos de la revisión.

4. Resultados y discusión

4.1 Estudios *In vitro*

Algunos hallazgos seleccionados se reflejan a modo de resumen en la **tabla 2**. Las actividades inhibitoras de enzimas y otros efectos se obtienen de experimentos basados en cultivos celulares *in vitro* con antocianinas. La **glucosidasa y la amilasa pancreática** son los principales objetivos de las antocianinas que indudablemente contribuyen a sus efectos antidiabéticos (20-30).

La inhibición de la **α -Glucosidasa** interfiere en la absorción intestinal de hidratos de carbono, disminuyendo la hiperglucemia postprandial al inhibir de forma competitiva la acción de las alfa-glucosilasas intestinales, por lo que se disminuye la hidrólisis de enlaces glucosídicos para generar glúcidos menores y favorecer la absorción de los glúcidos. En este grupo se encuentran la acarbosa y el miglitol, siendo este último una de las novedades en el tratamiento farmacológico de la diabetes tipo 2.

La **α -amilasa** es otro agente que cataliza la hidrólisis de los enlaces alfa-glucosídicos, de los polisacáridos de alto peso molecular, tales como el almidón y el glucógeno, liberando glucosa y maltosa, es decir, monosacáridos que son más fáciles de absorber por nuestro organismo.

Esto significa que las antocianinas comparten algunos mecanismos antidiabéticos comunes con medicamentos como la acarbosa que se dirigen a la digestión de carbohidratos en el intestino, lo que limita la disponibilidad de glucosa liberada a la sangre. Los resultados de la investigación hasta el momento parecen sugerir que las antocianinas, como los cianidina, la pelargonidina, la delfinidina y los glucósidos de petunidina comunes, son inhibidores eficaces de las enzimas digestivas de los carbohidratos. La actividad de inhibición de la glucosidasa intestinal y la amilasa pancreática se encontró mayor en la posición 3-O de cianadina sustituida con glucosa o galactosa. Entre todo el análogo de cianadina probado, la mayor actividad se registró en cianidin-3-galactósido seguido de cianidin-3-glucósido, cianidina y cianidin-3,5-di-O-glucósido.

Además, los estudios *in vitro* sobre el cultivo celular, se han llevado a cabo para evaluar el potencial de las antocianinas en la resistencia a la insulina, incluyendo el estudio sobre los hepatocitos resistentes a la insulina (células HepG2), los adipocitos humanos (como los adipocitos clásicos 3T3-L1), las células hepáticas de rata (incluyen las células H4IIE), las células pancreáticas de los roedores y las células satélite. Es por esto, que a partir de estos informes, se puede resumir que las antocianinas pueden aumentar la sensibilidad a la insulina y la absorción de glucosa en órganos vitales como los músculos y los tejidos adiposos, y por lo tanto puede mejorar la resistencia a la insulina en condiciones de diabetes. (29)

Tabla 2. Resumen de los distintos mecanismos *in vitro* de las antocianinas. (31)

Antocianinas	Parte de la planta	Mecanismo <i>in vitro</i>	Modelo	Referencia
Extractos acuosos y metanol	Fresas (<i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i>)	α -Glucosidasa y α -amilasa / Inhibición enzimática	Celula animal porcina Dosis: 10,50,100 $\mu\text{g/ml}$	(20)
Extractos de etanol y metanol y antocianinas purificadas: -Cianidin-3-O-Glucosido -Cianidin-3-O-Sambubiosido	Bayas de saúco (<i>Sambucus nigra</i>)	α -Glucosidasa y α -amilasa/ Inhibición enzimática y células del músculo esquelético / Estimula la absorción de glucosa	Celula humana del musculo esquelético Dosis: 7.2 ± 1.3 $\mu\text{g/mL}$ α -glucosidasa, 6.8 ± 2.1 $\mu\text{g/mL}$ α -amilasa	(21)
Extractos acuosos de metanol que contienen Antocianinas: -Cianidin-3-O-Rutinosido -Cianidin-3-5-O-Diglucosido -Pelargonidin-3-O-Rutinosido	Frutos de higuera <i>Ficus carica</i>	α -Glucosidasa y α -amilasa / Inhibición enzimática	Celula humana α -amilasa pancreática α -glucosidasa intestinal Dosis: IC50 3,58 y 17,3 18,2 y 19,5 (mg de frutos secos/mL)	(22)
Compuesto: -Cianidin-3-O-Galactosido -Cianidin-3-O-Glucosido -Cianidin-3-5-O-Diglucosido	Fuente sintética	α -Glucosidasa y α -amilasa pancreática/ Inhibición enzimática	Celula animal α -amilasa pancreática porcina α -glucosidasa intestinal de rata Dosis: IC50 1.42 - 0.25 $\mu\text{g/ml}$	(23)
Antocianina purificada: -Cianidin-3-5-O-Diglucosido	Uva muscadina integral (<i>Vitis rotundifolia</i>)	α -Glucosidasa y lipasa pancreática/ Inhibición enzimática	Celula animal α -Glucosidasa <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , lipasa	(24)

			pancreatica porcina Dosis: IC50 Extracto 46.51-0.62 Integral 166.99 -0.88 mg/100 g	
Extracto acuoso enriquecido en antocianinas	Batata de pulpa púrpura	α -Glucosidasa/ Inhibicion enzimatica	Celula humana HepG2 Dosis: IC50 0.21-0.29 g/l	(25)
Compuesto: -Cianidin-3-O-Glucósido -Cianidin-3-O-Rutinosido -Pelargonidin-3-O- Rutinosido -Peonidin-3-O-Rutinosido	Pulpa de cereza (<i>Prunus avium</i>)	α -Glucosidasa/ Inhibicion enzimatica	Celula humana Eritrocitos Dosis: IC50 11.38-0.48 μ g/mL	(26)
Extracto de etanol	Futos de <i>Syzygium dessiflorum</i>	α -amilasa/ Inhibicion enzimatica	Celula humana α -amilasa pancreatica α -glucosidasa intestinal Dosis: IC50 2.87-0.86 μ g/mL	(27)
Extracto acuoso que contiene -Cianidin-3-O-Glucosido -Cianidin-3-O- Malonilglucosido	Lechuga escarlata Rutgers	Hepatoma de rata con células H4IIE / inhibición de producción de glucosa	Celula animal Ratones H4IIE Dosis: IC50 25-18 μ g/mL	(28)
Extracto de etanol acidificado y antocianinas purificadas: -Cianidin-3-O-Glucosido -Cianidin-3-O-Rutinosido -Pelargonidin-3-O-Glucosido	Mora (<i>Morus alba</i>)	Células HepG2 / Incremento captación de glucosa	Celula animal Ratones HepG2 Dosis: 50 and 125 mg/kg	(29)

Antocianina purificada: -Cianidin-3-O-Glucosido	Referencia estándar	Adipocitos omental humanos y Células 3T3- L1 / Aumento de glucosa transporte, membrana GLUT4 translocación e insulina sensibilidad (actividad similar a la insulina)	Celula humana Adipocitos omental Dosis: 100 µg/ml	(30)
---	------------------------	---	---	-------------

En el estudio de Cheplick, S. y cols. (2010) **(20)**, se ve lo complicado que es realizar una homogenización de todos los efectos de las antocianinas, dado a que en un mismo estudio, revisa 14 subgéneros de fresa en los que ni la cantidad de antocianinas es igual, ni la potencia de efecto es la misma. El mecanismo de acción de estas es claro, pero según la especie, varía el índice de inhibición para 100 µg/ml de dosis. Los cultivos de las especies *Honeoye*, *Idea*, *Jewel* cuentan con un IC₅₀ con una dosis de 100 µg/ml. También se resalta el caso de la especie *Ovation*, dado a que es una de las que menos efecto tiene en la inhibición de la α -amilasa, y sin embargo es de las que más efecto cuentan en la inhibición de la α -Glucosidasa.

En el estudio propuesto por Ho, G.T.T. y cols. (2017) **(21)** refleja que los efectos de los extractos de agua fueron menos prominentes que los de los extractos ricos en fenoles, donde sólo la mayor concentración de extractos de agua (50 µg/mL) mostró un aumento significativo de la absorción de glucosa. El sesgo que encontramos en este tipo de investigaciones es que no todos los extractos a estudio son puros, es decir, que cuentan con varias antocianinas en su composición. Esto hace que atribuir efectos únicos sea muy difícil para correlacionar una antocianina con un efecto propio de esta. Además, en este estudio tampoco se ve muy clara la interacción molecular de la cianidina y sus glucósidos en sitios específicos de unión en los músculos del esqueleto humano.

En el estudio de Aneta Wojdyło. y cols. (2016) **(22)** se encontraron diferencias significativas entre los frutos analizados en su actividad inhibidora hacia la amilasa y la glucosidasa. La inhibición IC₅₀ de la α -amilasa y la α -glucosidasa osciló entre 3,58 y 17,3 y 18,2 y 19,5 mg de frutos secos/mL, respectivamente. En general, los frutos de higo examinados en este estudio mostraron una fuerte actividad inhibidora hacia la α -amilasa pero sólo un efecto inhibidor moderado hacia la α -glucosidasa. Debido al método de medidas que utilizan en este estudio, utilizando el fruto seco como tal, no podemos comparar los resultados con los anteriores estudios.

El primer estudio que investiga las relaciones estructura/actividad de la cianidina y sus glucósidos en la inhibición de la glucosidasa intestinal (maltasa y sacarasa) y la amilasa pancreática es el de Akkarachiyasit, S. y cols. (2010) **(23)**. De acuerdo con los resultados, la inhibición de la sacarasa intestinal por la cianidina y sus glucósidos es más específica que la inhibición de la maltasa intestinal. Además, la cianidina es un inhibidor débil de la amilasa pancreática y de la sacarasa

intestinal, mientras que el cianidin-3-glucósido es un inhibidor más potente que la cianidina. Estos resultados indican que la presencia de 3-O-glucósido es importante para inducir una potente inhibición contra la amilasa pancreática y la sacarasa intestinal. Un hallazgo interesante es que el reemplazo de 3-O-glucosa de cianidina-3-glucósido por un residuo de galactosa aumenta directamente la actividad inhibidora de la sacarasa intestinal, mientras que disminuye drásticamente la actividad inhibidora de la amilasa pancreática. Al comparar la estructura de la glucosa y la galactosa, las moléculas tienen la misma fórmula molecular pero diferentes fórmulas estructurales. La posición del grupo hidroxilo (-OH) en el C-4 es la única distinción entre la glucosa y la galactosa. Por lo que la diferencia estructural del azúcar en la posición 3-O puede ser un factor importante para modular la inhibición de la sacarasa intestinal y la amilasa pancreática. La interacción molecular de la cianidina y sus glucósidos en un sitio de unión específico de la glucosidasa intestinal y la amilasa pancreática sigue sin estar clara. A partir de la información sobre flavonoles y flavonas mencionada anteriormente, se puede suponer que la cianidina y sus glucósidos pueden interactuar con la proteína utilizando grupos hidroxilo en su estructura molecular, lo que da lugar a la formación de enlaces de hidrógeno con los grupos polares (grupos amida, guanidina, péptido, amino y carboxilo) en el sitio activo de las proteínas mediante interacciones covalentes y/o no covalentes. A pesar de todo esto, en este estudio utilizan un compuesto que es la acarbosa, que es un oligosacárido que se obtiene del *Actinoplanes utahensis* utilizado como medicamento para tratar la diabetes mellitus tipo 2 y, en algunos países para tratar la prediabetes, y es en resumen, un inhibidor de la α -glucosidasa, teniendo también efectos sobre la alfa amilasa, por lo que los resultados de este estudio no sabemos si están ligados al efecto de las antocianinas o simplemente es el efecto de la acarbosa.

En el estudio de You, Q. y cols. (2011) (24) los resultados mostraron que el valor IC₅₀ de la cianidina (0,04 mg/mL) para la inhibición de la α -glucosidasa era mucho más bajo que el de la cianidina-3,5-diglucósido (6,01mg/mL), lo que significa que la cianidina tiene una actividad antidiabética mucho más fuerte que su forma glucósida, hecho que en el anterior estudio era al contrario, la cianidina contaba con un efecto inhibitorio menor. Además, esto sugiere que las antocianinas pueden ejercer una mayor actividad inhibidora sobre la α -glucosidasa después de ser hidrolizadas en el intestino. También se muestran los equivalentes de la cianidina y el cianidin-3,5diglucósido por su actividad inhibidora de la lipasa, que fueron 0,07 y 0,35 mg/mL. Mientras tanto, sus valores de IC₅₀ fueron de 0,17 y 0,89 mg/mL, respectivamente. Sobre la base de los resultados, la antocianidina mostró una actividad inhibidora de la lipasa mucho más fuerte que su antocianina glucosídica, lo que también puede sugerir que las antocianinas de la muscadina podrían ser los principales compuestos bioactivos que contribuyen a la actividad inhibidora de la lipasa y podrían ejercer una mayor actividad inhibidora de la lipasa pancreática después de ser hidrolizadas en el intestino humano.

Esatbeyoglu, T. y cols. (2017) **(25)** siguen las líneas que establecieron en el estudio de Akkarachiyasit, S. y cols. (2010), dado a que refleja que la estructura de las antocianinas las revela como claves para sus distintos efectos antidiabéticos destacando el mayor efecto inhibidor de las formas diacetiladas frente a las formas más simples. También demuestra que el reemplazo de 3-O-glucosa de cianidina-3-glucósido por un residuo de galactosa aumenta directamente la actividad inhibidora de la α -Glucosidasa.

En el estudio de Gonçalves, A. y cols. (2017) **(26)** todos los extractos probados fueron capaces de inhibir esta enzima de manera dependiente de la dosis. Hedelfinger ($IC_{50} = 10,25 \pm 0,49 \mu\text{g/mL}$) fue la más activa, seguida de Saco ($IC_{50} = 10,79 \pm 0,40 \mu\text{g/mL}$) y Maring ($IC_{50} = 11,38 \pm 0,48 \mu\text{g/mL}$). Esta problemática también la encontrábamos en el estudio de las fresas de Cheplick, S. y cols. (2010), en los que la gran heterogeneidad en las especies y cultivos, no permiten homogeneizar unos efectos concretos para cada estirpe. Pero a diferencia del otro estudio, los valores IC_{50} obtenidos fueron mucho más bajos que los de la acarbosa de control positivo ($IC_{50} = 306.66 \pm 0.84 \mu\text{g/mL}$), por lo que las antocianinas, se postulan como remedio natural que nos pueden a esta patología teniendo menos efectos secundarios como dolor intestinal, flatulencia y diarrea. Sin embargo, el siguiente estudio de Krishnasamy, G. y Muthusamy, K. (2015) **(27)** no coloca a las antocianinas como una alternativa, dado a que el mejor resultado lo obtiene la acarbosa de manera destacada.

En el estudio de Cheng, D. y cols. (2014) **(28)** el extracto de esta lechuga y los compuestos aislados (ácido clorogénico, cianidina malonil-glucósido, quercetina malonil-glucósido y quercetina) fueron evaluados para la inhibición de la producción de glucosa en las células del hepatoma de rata H4IIE. El estudio demostró una inhibición dependiente de la dosis, de la producción de glucosa con una reducción estadísticamente significativa observada en las concentraciones de 10 y 20 $\mu\text{g/mL}$. El ácido clorogénico, uno de los principales componentes de este tipo de lechuga (55 mg/g de extracto), también demostró una respuesta dependiente de la dosis. La cianidina malonil glucósido, la quercetina malonil-glucósido y la quercetina no demostraron efectos inhibitorios significativos en la producción de glucosa en concentraciones de hasta 10 μM .

Los componentes menores del extracto, incluidos el 3-glucósido de cianidina y el 3-glucósido de quercetina, inhibieron la producción de glucosa en concentraciones de hasta el 48 y el 56% en 10 μM , respectivamente, centrando la mayoría de la atribución del efecto. Esto solo hace que en este estudio se le atribuya otro efecto antidiabético más a estas antocianidinas a parte de la inhibición de la de la glucosidasa y la amilasa.

Además, este estudio introduce que este tipo de sustancias también tiene efectos remarcables sobre factores antiinflamatorios que son cruciales en la aparición de la DM2 como la reducción de TNF- α de la señalización de la insulina.

En esta misma línea, sigue el estudio de Yan, F.; Zheng, X. (2017) (29), mostró otro posible mecanismo, como el deterioro del daño oxidativo por la activación de la señalización de AMPK. Para proteger las células dañadas por la glucosa y los ácidos grasos libres, así como las patologías relacionadas con el DM2 en ratones db/db se observa en el extracto de mora múltiples beneficios. Las pruebas acumuladas sugieren que el estrés oxidativo debido a un exceso de generación de ROS es el principal factor del inicio y la progresión de las complicaciones diabéticas en condiciones de obesidad o hiperglucemia.

Por último, en el estudio de Scazzocchio, B. y cols. (2011) (30), se demuestra que el Cianidin-3-Glucosido y su principal metabolito, el ácido protocatechuico (PCA) fueron capaces de contrarrestar completamente el deterioro del mecanismo de transporte de la glucosa inducido por el oxLDL en los adipocitos omentales. Y lo que es más importante, proporcionamos pruebas de una actividad similar a la de la insulina de los polifenoles que eran capaces de regular la internalización de la glucosa. C3G y PCA aumentaron la captación de glucosa de los adipocitos y la translocación de la membrana GLUT4. Significativamente también se mostraron incrementos en la actividad del PCA, así como en las expresiones de adiponectina y GLUT4. Es interesante que la inhibición del PPAR γ (receptor gamma activado por proliferador de peroxisomas) contrarrestó las elevaciones de adiponectina y GLUT4 inducidas por polifenoles, lo que sugiere una participación directa del PPAR γ en este proceso.

Estos últimos estudios, presentan factores antiinflamatorios cruciales para la prevención de la DM2. Todos estos factores, los desarrollaremos con más detenimiento en los resultados *in vivo*. Otro sesgo que refleja este tipo de estudios es que es difícil establecer una conclusión certera dado a que la estructura fisiológica de una célula humana y la de un roedor son distintas y no podemos extrapolar resultados. Por último, se podrían haber incluido otras enzimas interesantes como GLUT4, Adiponectina, PPAR, LXR, GLP-1R, FFAR1, ya que después en investigaciones *in vivo*, cuentan con mecanismos relevantes a tener en cuenta para el efecto antidiabético, que de esta manera se obvian.

Biodisponibilidad de antocianinas

La mayoría de los compuestos bioactivos que son bien conocidos por sus grandes beneficios para la salud generalmente son ingeridos por los alimentos, el estudio de los alimentos como una mezcla de sus compuestos bioactivos es más relevante. Además del contenido total de compuestos bioactivos en los alimentos, la biodisponibilidad, incluido el metabolismo y la excreción, también es crítica. Aunque se ha informado que las antocianinas tienen baja biodisponibilidad. Después

de evaluar los niveles plasmáticos después de la ingestión de alimentos ricos en antocianinas, los estudios recientes han comenzado a centrarse en los metabolitos de antocianinas que no se pudieron detectar previamente, utilizando métodos tradicionales, curiosamente, se informó que la biodisponibilidad de los metabolitos de antocianinas era 42 veces mayor que la de las antocianinas originales (32).

Además, se han realizado varios intentos para mejorar la biodisponibilidad de los flavonoides, incluidas las antocianinas, utilizando un nuevo sistema de administración. Se han estudiado las nanopartículas, la encapsulación de alimentos, los liposomas y las inmersiones en gel para mejorar la absorción intestinal de los alimentos (33).

4.2 Estudios *In vivo*

Se han realizado una gran cantidad de estudios revisando las actividades protectoras *in vivo* de antocianinas contra la diabetes y la condición de obesidad con resistencia a la insulina. La mayoría de estos estudios se desarrollan en un modelo en el que se centran en el perfil de animal obeso diabético resistente a la insulina, utilizando como efector extracto rico en antocianinas o compuestos aislados.

Los mecanismos más relevantes postulados hasta ahora incluyen, el aumento de las translocaciones de GLUT-4, la activación de la AMPK y las enzimas lipolíticas, la disminución de la fosforilación de la serina del IRS-1 (sustrato receptor de insulina 1), la regulación negativa de la expresión de unión al retinol 4, SREBP-1 (regulador de esteroides proteína de unión a elementos 1) nivel de ARNm e inhibición de la enzima de síntesis de triglicéridos y ácidos grasos y actividad lipogénica. Todos estos desempeñaron un papel eficaz para aumentar la sensibilidad a la insulina y revertir la condición diabética / obesa (29, 34,35).

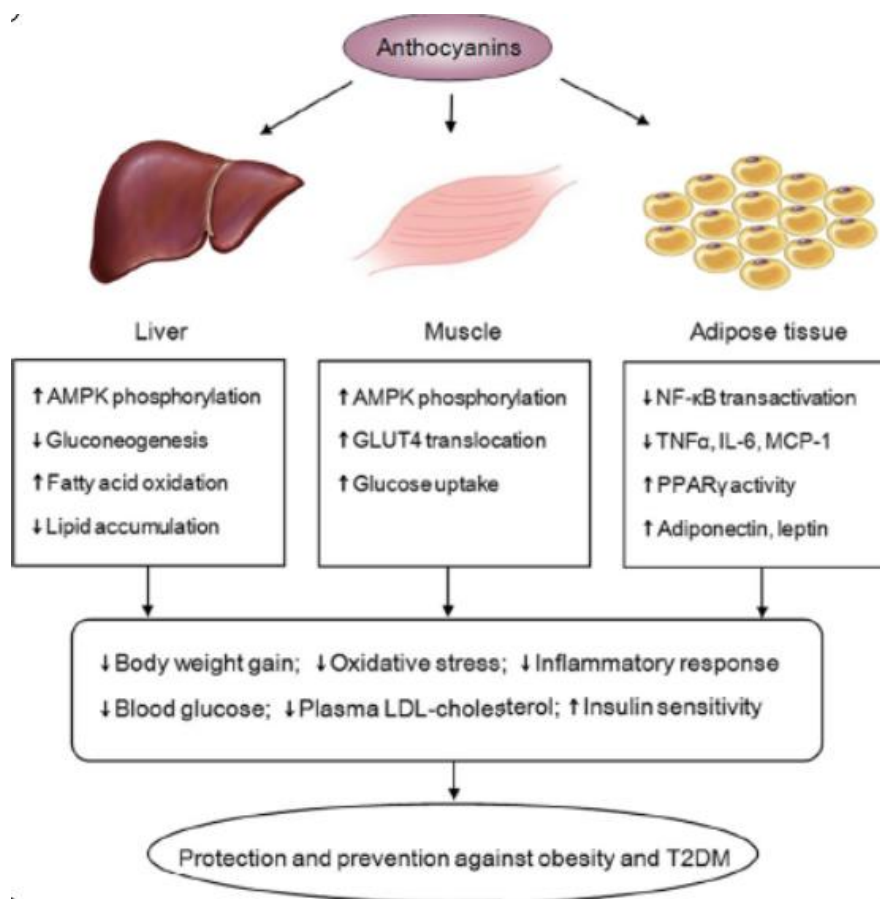


Figura 7. Esquema con los principales mecanismos antidiabéticos y antilipogénicos con los que cuentan las antocianinas en el organismo. (36)

Se ha demostrado que la disminución de la resistencia a la insulina y la mejora de la sensibilidad a la insulina por parte de las antocianinas en los órganos diana están mediadas por la activación de la AMPK (proteína quinasa activada por monofosfato de adenosina) y regulan negativamente la fosforilación de la serina de IRS-1 (sustrato receptor de insulina 1), mejor translocación de GLUT4 (transportador de glucosa 4) al aumentar la actividad de PPAR-γ (receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma), disminuyendo la concentración de hs-CRP (proteína reactiva C de alta sensibilidad) y reducción de la expresión de unión a retinol 4 (RBP4). La reducción del aumento de peso por antocianinas también se informa a través de mecanismos incluida la reducción en el nivel de ARNm de SREBP-1 (proteína de unión a elementos reguladores de esteroides 1) e inhibición de las enzimas de síntesis de ácidos grasos (FA) y triglicéridos (TG), así como la regulación negativa de factores lipogénicos y la regulación positiva de enzimas lipolíticas.

La obesidad está fuertemente asociada con la resistencia a la insulina, y la mejora de la resistencia a la insulina es importante para prevenir el desarrollo de DM2. La eficacia de las antocianinas para prevenir la resistencia a la insulina se ha demostrado en diferentes modelos en cuanto a animales. (37,38)

4.2.1 Animales

En **animales** se suele utilizar el modelo de animal obeso, que a su vez, pueden clasificarse en dos grupos, los modelos monogénicos y los poligénicos. En los modelos monogénicos, los ratones ob/ob son C57BL/6 que se vuelven obesos espontáneamente debido a una mutación en el gen de la leptina responsable de controlar el apetito (39). Las ratas Zucker son un modelo de obesidad monogénica en el que las ratas son autosómicas recesivas a una mutación en los receptores de leptina y, por consiguiente, presentan síntomas metabólicos como hiperglucemia y resistencia a la insulina. A pesar del fenotipo de trastorno metabólico que se muestra en estos modelos monogénicos, estos modelos están limitados en su representación de la obesidad humana, ya que son inducidos a través de una mutación de un gen.

Para paliar esta problemática se propusieron modelos de obesidad inducida por la dieta como se refleja en la **tabla 3**. En cambio, estos animales son alimentados con dietas de alta energía como las de alto contenido de grasa (45% o 60% de energía kcal de la grasa por la diferencia de contenido de manteca), de alta fructosa y de alto colesterol. Se utilizan comúnmente ratones C57BL/6. Estos modelos poligénicos desarrollados por las dietas de alta energía han mostrado los síntomas característicos de los trastornos metabólicos como la intolerancia a la glucosa y el aumento del colesterol y los triglicéridos en el plasma de los animales. Las ratas obesas inducidas por la dieta son otro modelo poligénico en el que las ratas han sido criadas selectivamente a través de varias generaciones para que se vuelvan obesas sin la suplementación de una dieta de alta energía. Estos modelos válidos pueden llevarnos a predecir el mecanismo y la eficacia de las moléculas objetivo para la obesidad humana. (40)

Tabla 3. Resumen de los estudios en ratones (C57BL/6) (46)

N=	Modelo	Alimento	Composición	Estudio	Resultado	Ref
60	Ratón (C57BL/6) Masa: Normal	Col roja Dosis: 33.36 nmol/g	(1)	Dieta alta en grasas vs. dieta normal durante 8 semanas	↓LDL ↓Colesterol ↓Tg ↓CRP ↓TNF-α	41
56	Ratón (C57BL/6) Masa: Obeso	Saúco negro Dosis: 20–40 mg/kg 100–200 mg/kg	(2)	Dieta alta en grasas vs. dieta normal durante 16 semanas	↓Tg ↓Colesterol ↓Ácido graso sintasa ↓ARNm de SREBP-1 ↓Insulina ↓TNF-α	42

48	Ratón (C57BL/6) Masa: Normal	Zumo arándanos Dosis: 4.09 mg/mL	(3)	Dieta alta en grasas vs. dieta normal durante 12 semanas	↓Leptina ↓Cholesterol ↓HDL y LDL ↓Adiponectina ↓Tg ↓TNF- α ↓IL-6	43
60	Ratón (C57BL/6) Masa: Normal	Mora y cereza Dosis: 200 mg/kg	(4)	Dieta alta en grasas vs. dieta normal durante 16 semanas	↓Glucosa ↓Leptina ↓TNF- α ↓IL-6 ↓iNOS ↓NF- κ B	44
48	Ratón (C57BL/6) Masa: Normal	Zumo de mora Dosis: 21.86 mg/mL	(5)	Dieta alta en grasas vs. dieta normal durante 12 semanas	↓Leptina ↑Adiponectina ↓TNF- α ↓IL-6	43
30	Ratón (C57BL/6) Masa: Normal	Soja negra Dosis: 12.48 mg/g	(6)	Dieta alta en grasas vs. dieta normal durante 12 semanas	↓TG ↓Cholesterol ↓TNF- α ↓IL-6 ↑IL-10	45

Tabla 4. Composición de antocianinas de los alimentos de la tabla 3. (47)

Alimento	Antocianinas
1	-cianidina (3-diglucósido-5-glucósido) -cianidina (3-(sinapoyl)-diglucósido-5-glucósidos) -cianidina (3-(glucosil)(sinapoyl)(p-cumaroil)sophorsido-5-glucósido) -cianidina (3-(glucosil)(sinapoyl)(feruloyl)sophorside-5-glucósido) -cianidina (3-diferuloilsoforósido-5-glucósido) -cianidina (3-(cumaroil)sophoroside-5-glucósido) -cianidina (3-(feruloil)sophoroside-5-glucósido) -cianidina (3-diferuloilsoforósido-5-glucósido) -cianidina (3-(sinapoyl)(feruloyl)sophorosido-5-glucósido) -cianidina (3-(sinapoyl)(sinapoyl)sophorosido-5-glucósido)
2	-cianidina (3-glucósido) -cianidina (3-sambubiósido)
3	-cianidina (3-galactosido) -cianidina (3-arabinosida) -delfinidina (3-glucósido) -delphinidin (3-galactosido) -delfinidina (3-arabinosido) -petunidina (3-glucósido) -petunidina (3-arabinosido) -malvidina (3-galactosido)

	-malvidina (3-glucósido)
4	-cianidina (3-glucósido) -cianidina (3-rutinoside) -pelarginidina (3-glucosa)
5	-cianidina (3-glucósido) -cianidina (3-rutinosido) -pelargonidina (3-glucósido) -pelargonidina (3-rutinosido)
6	-delphinidin(3-Glucósido) -cianidina (3-glucósido) -petunidina (3-glucósido) -pelargonodina (3-glucósido) -peonidina (3-Glucósido)

En el estudio de Huang, H. y cols. (2016) (41) observamos que una suplementación de col roja en una dieta alta en grasas durante ocho semanas, el peso corporal se ve atenuado en comparación con la dieta control. La lipoproteína **LDL** circulante en elevados valores es un factor de riesgo conocido para las enfermedades cardiovasculares. El suplemento de col roja mejoró los perfiles de lipoproteínas en la sangre al reducir los niveles de LDL inducidos por una dieta alta en grasas y, por lo tanto, puede reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, y como vemos en la **figura 7**, también es factor de protección frente a la DM2. La hipercolesterolemia inducida por una dieta alta en grasas y la inflamación crónica también están asociadas con el desarrollo de varias enfermedades crónicas, como la DM2, la obesidad, el cáncer, etc. Los animales alimentados con dietas con suplementos de col roja mostraron reducciones en el éster de colesterol hepático, los niveles de triacilglicerol y la expresión de la citoquina inflamatoria (**CRP y TNF- α**).

Cuando se produce un daño tisular o una infección, el factor de necrosis tumoral (**TNF- α**) desarrolla una acción pro-inflamatoria tanto por sí mismo como a través de la regulación de otros mediadores inflamatorios, como las **interleucinas 1 y 6**. Su acción se produce a dos niveles: a nivel celular favorece el reclutamiento de linfocitos y neutrófilos así como el reconocimiento de antígeno; a nivel tisular produce la remodelación y recuperación de los tejidos.

Cuando el sistema inmune funciona correctamente, el TNF- α trabaja de manera beneficiosa para proteger el organismo. Sin embargo, alteraciones en los niveles de TNF- α pueden dar lugar a patologías importantes.

La proteína C reactiva (**PCR**) es miembro de la clase de reactivos de fase aguda o proteína de fase aguda y su nivel aumenta dramáticamente durante los procesos inflamatorios que ocurren en el cuerpo. Este incremento se debe a un aumento en la concentración plasmática de IL-6, que es

producida por macrófagos, células endoteliales y linfocitos T, como también lo hacen los adipocitos. Se piensa que colabora con el complemento ligándose a células extrañas y dañadas, y que realice la fagocitosis hecha por macrófagos, quienes expresan un receptor para PCR. Por lo tanto, podemos deducir que el suplemento de col roja tiene un efecto beneficioso en contra de la DM2.

En el estudio de Farrell NJ. y cols. (2015) (42) los ratones fueron alimentados con una dieta baja en grasas (n 8), una dieta alta en grasas a base de manteca de cerdo (HFD; n 16), otra dieta HFD + 0-25 % Extracto de baya de sauco (0-25 %; n 16) y una última dieta HFD + 1-25 % de extracto de baya de sauco (1-25; n 16) durante 16 semanas. Las dietas de 0-25 % de extracto de baya de sauco (0-034 % de antocianina, p/p) y 1-25 % de extracto de baya de sauco (0-17 % de antocianina, p/p) correspondieron a dosis estimadas de antocianina de 20-40 mg y 100-200 mg por kg de peso corporal, respectivamente. Después de 16 semanas, ambos grupos de dietas con baya de sauco tuvieron significativamente menor peso del hígado, **TG** en suero, evaluación de modelo de homeostasis y la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (**MCP-1**) en suero comparada con la HFD sin extracto de baya de sauco. La **MCP-1**, también es conocida como **CCL2** (ligando de quimioquinas 2). CCL2 fue la primera quimioquina descubierta en humanos. Es sintetizada y secretada por distintos tipos celulares, como células de músculo liso vascular, endotelio, monocitos o macrófagos entre otros. Está implicada en el reclutamiento o migración de leucocitos y más concretamente de monocitos, a los focos de donde está teniendo lugar la respuesta inflamatoria.

El grupo de dietas con extracto de baya de sauco también tenía menos insulina en suero y **TNF α** comparado con HFD. El **ARNm de la sintasa** del ácido graso hepático fue menor en ambos grupos de las dietas con extracto de baya de sauco, mientras que **PPAR γ** , el ARNm y el colesterol del hígado fueron menores en la dieta 1-25 %- extracto de baya de sauco, sugiriendo una disminución de la síntesis de lípidos hepáticos. El **PPAR γ** es un receptor nuclear que tiene la capacidad de acoplarse con una gran variedad de moléculas (ligandos) que al hacerlo inducen modificaciones estructurales con lo cual se reclutan coactivadores transcripcionales y el complejo resultante se une a regiones específicas (región de respuesta) del ADN. De acuerdo con la naturaleza del ligando es diferente el cambio estructural del PPAR γ y esto determina finalmente el acoplamiento con el ADN y la acción biológica que puede ser tanto de ampliación transcripcional como transrepresional, es decir efectos contrarios. El PPAR γ se puede expresar en varios tejidos en donde modula la transcripción de múltiples genes y de esta manera se comporta como un “amplificador” de la red genética, y utiliza como mediador al ARNm para en este caso producir lípidos hepáticos.

Estos resultados sugieren que las dietas con extracto de baya de sauco pueden haber mejorado algunas alteraciones metabólicas presentes en este modelo de ratón de la obesidad mediante la reducción del **TG** sérico, los marcadores inflamatorios y la resistencia a la insulina siguiendo la misma línea que el estudio de Huang, H. y cols. (2016) (41). La gran diferencia entre estos estudios es que en cuanto al **LDL** y al **HDL**, no se ven mejoras en el perfil lipídico con respecto a sus valores, a diferencia al estudio de Huang, H. y cols. (2016) (41), en el que sí demuestra una bajada de colesterol LDL, mejorando así el perfil lipídico.

En el estudio desarrollado por Wu, T. y cols. (2013) (43) se siguió la línea de los anteriores estudios, los ratones alimentados con HFD mostraron un aumento de peso corporal, resistencia a la insulina, suero y lípidos hepáticos. En comparación, el zumo de arándanos y moras, disminuyó el colesterol en suero, redujo la resistencia a la insulina, atenuó la acumulación de lípidos como en estudios anteriores, pero a diferencia de estos, el zumo de arándanos y mora inhibió el aumento de peso corporal, en cuanto al colesterol disminuye el colesterol LDL pero también el HDL y por último, disminuyó la secreción de **leptina** y disminuyó la **adiponectina**.

La **adiponectina** es una hormona sintetizada por el tejido adiposo que participa en el metabolismo de la glucosa y los ácidos grasos. Es la adipoquina (sustancias derivadas de los adipocitos) más abundante secretada por los adipocitos. Diversos estudios han comprobado que la adiponectina aumenta la sensibilidad a la insulina en diversos tejidos como hígado, músculo esquelético y tejido adiposo.

La **leptina**, es una adipoquina producida en su mayoría por los adipocitos (células grasas) aunque también se expresa en el hipotálamo, el ovario y la placenta. Cuando aumenta la masa de tejido adiposo más allá del punto de equilibrio, aumenta la síntesis y secreción de leptina por lo que se estimulan varios efectos compensadores en el hipotálamo: Disminución del apetito por estimulación de péptidos anorexigénicos (que producen pérdida de apetito) y aumento del gasto energético elevando la tasa de metabolismo basal y la temperatura corporal, además de la modificación del punto de equilibrio hormonal para reducir la lipogénesis (producción de grasas) y aumentar la lipólisis (uso de grasa acumulada para producir energía) en el tejido adiposo.

Que estos dos factores los tengamos disminuidos hacen que pueda ser contraproducente su consumo en individuos diabéticos ya que el aumento del apetito y la pérdida de sensibilidad a la insulina son dos factores a evitar en cualquier tratamiento. En cambio en el mismo estudio, utilizando otro tipo de baya (Mora), se demuestra que se elevan con la toma del zumo los niveles de adiponectina, reflejando así que la diferencia de antocianinas en su composición entre una baya y otra puede producir un efecto distinto.

En el estudio de Wu T. y cols. (2016) (44) el consumo de mora y cereza a 200 mg/kg de alimento redujo el aumento de peso corporal en un 29,6 y 32,7%, respectivamente, en los ratones C57BL/6 alimentados con HFD. La suplementación de mora y cereza podría mejorar eficazmente los perfiles de lípidos, disminuir los niveles de **glucosa** y **leptina** sérica, y regular a la baja la expresión de los genes **TNF**, **IL-6**, **óxido nítrico sintasa inducible (iNOS)** y **NF-κB**.

El **NF-κB** (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas) es un complejo proteico que controla la transcripción del ADN. NF-κB se encuentra en la mayoría de tipos de células animales y está implicado en la respuesta celular frente a estímulos como el estrés, las citoquinas, radiación ultravioleta, LDL oxidadas y antígenos bacterianos o virales, por lo que es bueno que este valor se disminuya como factor de protección.

En cambio se reflejan más dudas en las **iNOS**, dado a que es importante reconocer que la inducción de la iNOS por lo general ocurre en un ambiente oxidativo, por lo que los altos niveles de óxido nítrico tienen la oportunidad de reaccionar con especies reactiva de nitrógeno (superóxido) que conducen a la toxicidad celular aumentando el estrés oxidativo.

En cambio, estas propiedades pueden definir las funciones de la iNOS en la inmunidad del huésped, lo que permite su participación en actividades antimicrobianas y antitumorales como parte de la explosión oxidativa de los macrófagos.

Por lo tanto, siguiendo la línea de anteriores estudios, el contenido en antocianinas presentes en las moras y las cerezas pueden potencialmente disminuir el peso corporal aliviando la oxidación el estrés y la inflamación en la obesidad inducida por la dieta. El único inconveniente es que estas disminuyen los niveles de leptina como pasaba en el estudio anterior de Wu T. y cols. (2013), llegando a ser inconveniente su toma en pacientes con DM2.

Y por último en el estudio de Younmi Jeon. y cols. (2015) (45), continuamos en la línea de los anteriores estudios, la toma de soja disminuye los niveles séricos de TG, de colesterol, pero como ya pasaba en el estudio Farrell NJ. y cols. (2015), no se puede demostrar que exista un efecto sobre el LDL o el HDL que mejore el perfil lipídico. Además, este estudio demuestra otro efecto muy interesante, dado a que la soja negra aumenta los niveles de **IL10**. La interleucina-10, también conocida como factor de inhibición de la síntesis de citocinas, es una citocina con propiedades antiinflamatorias capaz de inhibir la síntesis de citocinas proinflamatorias por los linfocitos T y los macrófagos.

En resumen, en la **tabla 4** se presentan los efectos beneficiosos de las antocianinas alimentarias en los marcadores metabólicos relacionados con la obesidad, los marcadores inflamatorios y los marcadores diabéticos los organismos animales. En estos vemos reflejada la dificultad para demostrar los efectos antiinflamatorios y antiadipogénicos en la misma línea celular, debido a las

diferentes características de cada célula. En la mayoría de estos estudios no se nombra ningún efecto concreto sobre la **HbA1C**, pero en la mayoría se nombra que mediante los parámetros que se ven reducidos este parámetro mejorara con el tratamiento con este compuesto. También en estos estudios, vemos reflejado el sesgo de que no son extractos puros lo que se somete a estudio, sino que son alimentos con varias antocianinas, como se puede ver en la **tabla 5**, y otros componentes. Este hecho hace que sea difícil correlacionar cualquier efecto de beneficioso a cualquier antocianina, dado a que es muy difícil individualizar cualquier evidencia de estos estudios. De todas formas, se ve que en los alimentos donde estas están en una cantidad pronunciada y tomados con frecuencia, tienen efecto antidiabético.

4.2.2 Humanos

En cuanto a **humanos**, el potencial antidiabético de los alimentos ricos en antocianinas ha sido bien documentado en el contexto de sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias e hipolipidémicas. Sin embargo, es posible que estos hallazgos reflejen otros componentes de la dieta que coexisten en los alimentos ricos en antocianinas, por lo que se necesitan ensayos aleatorios para establecer los efectos que pueden atribuirse específicamente a las antocianinas. Por lo tanto, los esfuerzos recientes se han dirigido a dilucidar el impacto del consumo de antocianinas purificadas en el desarrollo y la progresión de la obesidad y el DM2. Por ejemplo, se ha visto que el consumo de antocianinas aisladas de las bayas produjo efectos favorables en los perfiles de lipoproteínas en la sangre, incluyendo el aumento del colesterol HDL y la disminución del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) **(48)**. La suplementación con antocianina purificada también disminuyó la actividad de la proteína de transferencia del éster de colesterol en plasma (CETP) y aumentó la actividad de la paraoxonasa-1 asociada con el HDL, lo que condujo a un aumento de la capacidad del flujo de colesterol y a la promoción de los efectos antioxidantes sobre el HDL **(49)**. Más recientemente, en un estudio informaron de que la suplementación con antocianina purificada durante 12 semanas redujo significativamente glucosa sanguínea en ayunas y aumento de la adiponectina sérica concentraciones en pacientes con DM2 **(50)**.

Tabla 5. Resumen de los estudios realizados en humanos con distintos perfiles de patología. **(56)**

<u>N=</u>	<u>Patología</u>	<u>Duración intervención</u>	<u>Dosis/ forma</u>	<u>Resultados</u>	<u>Ref</u>
44	Síndrome metabólico	8 semanas	Bebida de arándanos liofilizados; 742 mg/día	↓Plasma oxidado LDL ↓malondialdehído y concentraciones hidroxinonenales	(51)
16	Obesidad	4 semanas	Zanahoria púrpura o naranja seca; 118,5 mg/día	No hay cambios significativos en la masa corporal, la presión sanguínea, los lípidos plasmáticos o el hs-CRP	(52)
58	DM2	12 semanas	Extracto rico en antocianinas del arándano y la grosella negra; 320 mg/día	↓ Glucosa en sangre en ayunas ↑ GLUT4 ↑ Adiponectina en suero	(50)
18	Sobrepeso	6 semanas	Polvo de arándanos liofilizados; 375 mg/día	↓ Daño del ADN inducido por la oxidación en las células mononucleares de la sangre	(53)
44	Hígado graso no alcohólico	4 semanas	Zumo de bayas; 415 mg/día	↓ Niveles plasmáticos de grupos de carbonilos proteicos, TNFα y IL-8; ↓ Marcadores apoptóticos de plasma antígeno específico de polipéptido de tejido y citoqueratina-18 fragmento M30	(54)
80	Hiperlipidemia	2 meses	Extracto rico en antocianinas del arándano; 1050 mg/día	↓ Colesterol total en plasma, triglicéridos y colesterol LDL ↑ Colesterol HDL en plasma	(55)

En este conjunto de estudios resumidos en la **tabla 5** se reflejan los efectos de las diferentes antocianinas en diversos estados patológicos. En los estudios en humanos podemos confirmar bastantes indicios que se presentaban en las pruebas en ratones. Disminución del plasma oxidado **LDL**, disminución del **colesterol** total, disminución de **TG**, disminución de las señales de respuesta al aumento del estrés oxidativo: **TNF α** , **IL-8**, **malondialdehído (MDA)** y **concentraciones hidroxinonenales (4-HNE)**. En el estudio de Liu Y. y cols. (2014) (**50**) se refleja un aumento en el nivel de adiponectina, factor interesante en el tratamiento debido a que diversos estudios han comprobado que la adiponectina aumenta la sensibilidad a la insulina en diversos tejidos como hígado, músculo esquelético y tejido adiposo. También, a diferencia de los estudios en animales se ve reflejado un aumento en los niveles de **HDL** como demuestra Kianbakht S. et al (2014) (**55**).

En esta revisión podemos ver como en un estudio de Wright OR (2013) (**51**) no obtenemos evidencia suficiente debido a que no había pruebas de que 118,5 mg/día de antocianinas y 259,2 mg/día de ácidos fenólicos durante 4 semanas produjeran cambios estadísticamente significativos en el peso corporal, la composición corporal, el apetito, la ingesta alimentaria, el colesterol de lipoproteínas de baja densidad o el colesterol total, la presión arterial y la proteína C reactiva en estos pacientes obesos en las concentraciones y la duración de la intervención utilizadas en este estudio. Con la dosis administrada (118,5 mg/día de antocianinas y 259,2 mg/día de ácidos fenólicos) y la duración del estudio (4 semanas). Sin embargo, en el estudio de Riso P (2013) en pacientes con sobrepeso sí que se obtuvieron resultados mediante la ingesta de bebidas de arándanos silvestres, que redujo los niveles de bases de ADN oxidadas endógenamente (de $12,5 \pm 5,6 \%$ a $9,6 \pm 3,5 \%$) y los niveles de daño del ADN inducido por el H₂O₂ (de $45,8 \pm 7,9 \%$ a $37,2 \pm 9,1 \%$). Entre estos estudios, la gran diferencia que podemos encontrar es la cantidad de dosis utilizada para la realización del estudio. Por lo que podríamos discutir que la cantidad de dosis en estos casos sea crucial, dado a que en el resto de estudios en los que vamos evidencia los realizan en una concentración superior.

En el resto se reflejan efectos que se basan en parámetros que aumentan la sensibilidad a la insulina resumidos en la **figura 7**. Es en el estudio de Liu Y y cols. (2014) (**50**) donde se asocia un mecanismo directo de las antocianinas, concretamente Cianidina-3-Glucosido con los mecanismos antidiabéticos, ya que induce a la protección de las anti-adiponectinas inmunológicas por lo que permite que aumente su concentración. La mayor parte de la regulación fisiológica de los niveles de adiponectina es atribuible a los cambios transcripcionales mediados por **PPAR γ** . Y como ya vimos en la figura 7 esta produce una mejor translocación de **GLUT4** (transportador de glucosa 4) al aumentar la actividad de PPAR- γ (receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma) por lo que se produce el efecto antidiabético.

5. Conclusiones

Las personas pueden ingerir cantidades significativas de antocianinas al consumir alimentos vegetales y frutas de color oscuro. Un creciente conjunto de pruebas científicas indica que el mayor consumo de antocianinas, tanto en animales como en humanos, se asocia con un menor riesgo de DM2.

Los resultados de la mayoría de los estudios de intervención en animales y humanos apoyan la hipótesis de que las antocianinas pueden afectar positivamente a los marcadores de obesidad y DM2. Más investigaciones sobre las antocianinas pueden dar lugar a recomendaciones más específicas sobre el consumo de suplementos de antocianina o alimentos ricos en este compuesto, y por lo tanto ayudar a controlar la obesidad y el DM2. A pesar de los prometedores resultados publicados hasta ahora, sigue siendo incierto si las antocianinas son capaces de revertir los complejos procesos patológicos que acompañan a la obesidad y la DM2. Aunque los estudios respaldan esta posibilidad, son demasiado pocos y no son lo suficientemente rigurosos desde el punto de vista metodológico. Hasta la fecha, no tenemos conocimiento de ningún estudio de intervención a largo plazo en seres humanos que relacione la ingesta de antocianinas con la incidencia de DM2, y hay pocos estudios clínicos en seres humanos que hayan examinado el efecto de las intervenciones con dietas ricas en antocianinas sobre los factores de riesgo intermedios de DM2, como la homeostasis de la glucosa y la resistencia a la insulina. Además, los resultados de estos estudios publicados pueden no ser generalizables a otras poblaciones étnicas.

En conclusión, las antocianinas alimentarias parecen tener como objetivo la sensibilidad a la insulina a través de diversos mecanismos y tienen el potencial de modular estados de enfermedad como la diabetes mediante su efecto modulador en diversas vías específicas de transducción de la señal de insulina de las enzimas/receptores y también por mecanismos generales antioxidantes y antiinflamatorios.

Por consiguiente, se necesitan ensayos clínicos adicionales a gran escala y a largo plazo para llegar a una conclusión firme sobre la contribución de las antocianinas al tratamiento y la prevención de la obesidad y la diabetes.

6. Bibliografía

1. World Health Organization. Diabetes. Available online: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/diabetes> .
2. Tarun Belwal , Seyed Fazel Nabavi , Seyed Mohammad Nabavi and Solomon Habtemariam (2017). Dietary Anthocyanins and Insulin Resistance: When Food Becomes a Medicine. *Nutrients* 2017, Vol: 9, No: 1111, (Págs.: 1-22)
3. Monica L. Castro-Acosta, Georgia N. Lenihan-Geels, Christopher P. Corpe and Wendy L. Hall. (2016). Berries and anthocyanins: promising functional food ingredients with postprandial glycaemia-lowering effects. *Proceedings of the Nutrition Society*, Vol: 75, (Págs.: 342–355)
4. (Figura 1). Carlos Eduardo Pinzón, MD, Martha Lucía Serrano, PhD, María Carolina Sanabria, MSc (2009). Role of phosphatidylinositol 3-kinase pathway (PI3K/Akt) in humans. *Rev. Cienc. Salud*, Vol.7, No. 2, (Pag. 53).
5. Dominic Santoleri¹ and Paul M. Titchenell (2019). Resolving the Paradox of Hepatic Insulin Resistance. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology* Vol. 7, No. 2, (Págs.: 447-456).
6. Takanori Tsuda (2012). Anthocyanins as Functional Food Factors. *Food Sci. Technol. Res.*, Vol: 18, No: 3, (Págs.: 315 – 324).
7. Stefan Silbernagl and Agamemnon Despopoulos (2009). Atlas de fisiopatología Despopoulos/silbernagl.

8. Kalt, W ; Cassidy, A ; Howard, L ; Krikorian, R; Stull, AJ; Tremblay, F ; Zamora-Ros, R (2020). Recent Research on the Health Benefits of Blueberries and Their Anthocyanins. *ADVANCES IN NUTRITION*, Vol.: 11 No.: 2, (Págs.: 224-236).
9. Baum J.I., Howard L.R., Prior R.L., Lee S.O. (2016). Effect of *Aronia melanocarpa* (Black Chokeberry) supplementation on the development of obesity in mice fed a high-fat diet. *Journal of Berry Research*, Vol.: 6, No.: 2, (Págs. 203-212).
10. R.L. Prior (2010). Anthocyanins and weight loss. *CAB Reviews Perspectives in Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resources*, Vol 5, No: 029, (Págs. 1-9).
11. Qin B., Anderson R. A. (2012). An extract of chokeberry attenuates weight gain and modulates insulin, adipogenic and inflammatory signalling pathways in epididymal adipose tissue of rats fed a fructose-rich diet. *Br J Nutr*, Vol.: 108, No: 4, (Págs.: 581-587)
12. Wang, H., and Peng, D.Q (2011). New insights into the mechanism of low HDL in obesity. *Lipids Health Dis*, Vol: 10, No: 176.
13. Kwon JY, Lee KW, Kim JE, Jung SK, Kang NJ, Hwang MK, Heo YS, Bode AM, Dong Z, Lee HJ. (2009). Delphinidin suppresses ultraviolet B-induced cyclooxygenases-2 expression through inhibition of MAPKK4 and PI-3 kinase. *Carcinogenesis*, Vol.: 30, No: 11, (Págs. 1932–1940).
14. Canter PH, Ernst E. (2004). Herbal supplement use by persons aged over 50 years in Britain: frequently used herbs, concomitant use of herbs, nutritional supplements and prescription drugs, rate of informing doctors and potential for negative interactions. *Drugs Aging*. Vol.: 2, No: 9, (Págs. 597-605).
15. Matsunaga N, Tsuruma K, Shimazawa M, Yokota S, Hara H. (2010). Inhibitory actions of bilberry anthocyanidins on angiogenesis. *Phytother Res*, Suppl 1:S42-7

16. Iida, H., Nakamura, Y., Matsumoto, H., Takeuchi, Y., Harano, S., Ishihara, M., et al. (2010). Effect of black-currant extract on negative lens-induced ocular growth in chicks. *Ophthalmic research*. *Ophthalmic Res*, Vol.: 44, No: 4, (Págs. 242-250).

17. Krikorian R1, Shidler MD, Nash TA, Kalt W, Vinqvist-Tymchuk MR, Shukitt-Hale B, Joseph JA. (2010). Blueberry supplementation improves memory in older adults. *J Agric Food Chem*. Vol: 58, No.7, (Págs. 3996-4000).

18. Williams CM, El Mohsen MA, Vauzour D, Rendeiro C, Butler LT, Ellis JA, Whiteman M, Spencer JP (2008). Blueberry induced changes in spatial working memory correlate with changes in hippocampal CREB phosphorylation and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels. *Free Radic Biol Med*, Vol: 45, No: 3, (Págs.: 295-305).

19. Spencer JP (2010). The impact of fruit flavonoids on memory and cognition. *Br J Nutr*, No: 104 Suppl 3:S40-7

20. Cheplik, S.; Kwon, Y.; Bhowmik, P.; Shetty, K. (2010). Phenolic-linked variation in strawberry cultivars for potential dietary management of hyperglycemia and related complications of hypertension. *Biores. Technol*, Vol.: 101, (Págs. 404–413).

21. Ho, G.T.T.; Kase, E.T.; Wangensteen, H.; Barsett, H. (2017). Phenolic elderberry extracts, anthocyanins, procyanidins and metabolites influence glucose and fatty acid uptake in human skeletal muscle cells. *J. Agric. Food Chem.*, No: 65, (Págs.:2677–2685).

22. Wojdyło, A.; Nowicka, P.; Carbonell-Barrachina, Á. (2016). Phenolic compounds, antioxidant and antidiabetic activity of different cultivars of *Ficus carica* L. fruits. *J. Funct. Food*, Vol.: 25, (Págs.: 421–432).

23. Akkarachiyasit, S.; Charoenlertkul, P.; Yibchok-anun, S.; Adisakwattana, S. (2010) Inhibitory activities of cyanidin and its glycosides and synergistic effect with acarbose against intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylase. *Int. J. Mol. Sci*, Vol.: 11, (Págs. 3387–3396).

24. You, Q.; Chen, F.; Wang, X.; Luo, P.G.; Jiang, Y. (2011). Inhibitory effects of muscadine anthocyanins on α -glucosidase and pancreatic lipase activities. *J. Agric. Food Chem*, Vol.: 59, (Págs. 9506–9511).

25. Esatbeyoglu, T.; Rodríguez-Werner, M.; Schlösser, A. (2017). Fractionation, enzyme inhibitory and cellular antioxidant activity of bioactives from purple sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Food Chem.*, Vol.: 221, (Págs. 447–456).

26. Gonçalves, A.; Bento, C.; Silva, B.; Silva, L. (2017). Sweet cherries from Fundão possess antidiabetic potential and protect human erythrocytes against oxidative damage. *Food Res. Int*, Vol.: 95, (Págs. 91–100).

27. Krishnasamy, G.; Muthusamy, K. (2015). In vitro evaluation of antioxidant and antidiabetic activities of *Syzygium densiflorum* fruits. *Asian Pac. J. Trop. Dis*, Vol. 5, (Págs.: 912–917).

28. Cheng, D.; Pogrebnyak, N.; Kuhn, P.; Poulev, A. Polyphenol-rich (2014). Rutgers Scarlet Lettuce improves glucose metabolism and liver lipid accumulation in diet-induced obese C57BL/6 mice. *Nutrition* 2014, Vol.: 30, S52–S58

29. Yan, F.; Zheng, X. (2017). Anthocyanin-rich mulberry fruit improves insulin resistance and protects hepatocytes against oxidative stress during hyperglycemia by regulating AMPK/ACC/mTOR pathway. *J. Funct. Foods*, Vol.: 30, (Págs.: 270–281).

30. Scazzocchio, B.; Vari, R.; Filesi, C.; D'Archivio, M.; Santangelo, C.; Giovannini, C.; Iacovelli, A.; Silecchia, G.; Li Volti, G.; Galvano, F.; et al. (2011). Cyanidin-3-O- α -glucoside and protocatechuic acid exert insulin-like effects by upregulating PPAR- γ activity in human omental adipocytes. *Diabetes* 2011, Vol.: 60, (Págs.: 2234–2244).

31. Tabla propia.

32. Czank, C.; Cassidy, A.; Zhang, Q.; Morrison, D.J.; Preston, T.; Kroon, P.A.; Botting, N.P.; Kay, C.D. (2013). Human metabolism and elimination of the anthocyanin, cyanidin-3-glucoside: A (13) c-tracer study. *Am. J. Clin. Nutr*, Vol.: 97, (Págs. 995–1003).

33. Rein, M.J.; Renouf, M.; Cruz-Hernandez, C.; Actis-Goretta, L.; Thakkar, S.K.; da Silva Pinto, M. (2013). Bioavailability of bioactive food compounds: A challenging journey to bioefficacy. *Br. J. Clin. Pharmacol*, Vol.: 75, (Págs. 588–602).

34. Roopchand, D.E.; Kuhn, P.; Rojo, L.E.; Lila, M.A.; Raskin, I. (2013). Blueberry polyphenol-enriched soybean flour reduces hyperglycemia, body weight gain and serum cholesterol in mice. *Pharmacol. Res.*, Vol.: 68, (Págs.: 59–67)

35. Takikawa, M.; Inoue, S.; Horio, F.; Tsuda, T. (2010). Dietary anthocyanin-rich bilberry extract ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity via activation of AMP-activated protein kinase in diabetic mice. *J. Nutr*, 140, 527–533.

36. (Figura 7). Honghui Guo & Wenhua Ling (2015). The update of anthocyanins on obesity and type 2 diabetes: Experimental evidence and clinical perspectives. *Rev Endocr Metab Disord*.

37. DeFuria J, Bennett G, Strissel KJ, Perfield JW II, Milbury PE, Greenberg AS, Obin MS. (2009). Dietary blueberry attenuates whole-body insulin resistance in high fat-fed mice by reducing adipocyte death and its inflammatory sequelae. *J Nutr*, Vol: 139, (Pags:1510–1516)

38. Prior RL, Wu X, Gu L, Hager T, Hager A, Wilkes S, Howard L. (2009). Purified berry anthocyanins but not whole berries normalize lipid parameters in mice fed an obesogenic high fat diet. *Mol Nutr Food Res*, Vol: 53, (Pags: 1406–1418)

39. Lutz, T.A.; Woods, S.C. (2012). Overview of animal models of obesity. *Curr. Protoc. Pharmacol.*
40. Yoon-Mi Lee, Young Yoon, Haelim Yoon, Hyun-Min Park, Sooji Song and Kyung-Jin Yeum. (2017). Dietary Anthocyanins against Obesity and Inflammation. *Nutrients* 2017, Vol: 9, No.:1089, (Págs.: 3-4)
41. Huang, H.; Jiang, X.; Xiao, Z.; Yu, L.; Pham, Q.; Sun, J.; Chen, P.; Yokoyama, W.; Yu, L.L.; Luo, Y.S.; et al. (2016). Redcabbage microgreens lower circulating low-density lipoprotein (ldl), liver cholesterol, and inflammatory cytokines in mice fed a high-fat diet. *J. Agric. Food Chem*, Vol.: 64, (Pags.9161–9171).
42. Farrell NJ, Norris GH, Ryan J, Porter CM, Jiang C, Blesso CN. (2015). Black elderberry extract attenuates inflammation and metabolic dysfunction in diet-induced obese mice. *Br J Nutr*, Vol.: 114, No.:8, (Págs.: 1123-1131).
43. Wu, T.; Tang, Q.; Gao, Z.; Yu, Z.; Song, H.; Zheng, X.; Chen, W. (2013). Blueberry and mulberry juice prevent obesity development in c57bl/6 mice. *PLoS ONE*, Vol.: 8, No.:10, e77585.
44. Wu T, Yin J, Zhang G, Long H, Zheng X. (2016). Mulberry and cherry anthocyanin consumption prevents oxidative stress and inflammation in diet-induced obese mice. *Mol Nutr Food Res*, Vol.: 60, No.: 3, (Pags.687-694).
45. Younmi Jeon, Myoungsook Lee and Yong-Pil Cheon. (2015). A testa extract of Black Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) suppresses adipogenic activity of adipose-derived steem cells. *Dev Reprod*, Vol.: 19, No.: 4, (Pags.: 235–242).
46. Tabla propia.

47. Tabla propia.

48. Zhu Y, XiaM, Yang Y, Liu F, Li Z, Hao Y, et al. (2011). Purified anthocyanin supplementation improves endothelial function via NO-cGMP activation in hypercholesterolemic individuals. *Clin Chem*, Vol: 57, No: 11, (Págs: 1524–1533).

49. Zhu Y, Huang X, Zhang Y, Wang Y, Liu Y, Sun R, et al. (2014). Anthocyanin supplementation improves HDL-associated paraoxonase 1 activity and enhances cholesterol efflux capacity in subjects with hypercholesterolemia. *J Clin Endocrinol Metab.*, Vol: 99, No: 2, (Pags: 561–569).

50. Liu Y, Li D, Zhang Y, Sun R, Xia M. (2014). Anthocyanin increases adiponectin secretion and protects against diabetes-related endothelial dysfunction. *AJP: Endocrinol Metab.*, Vol: 306, No: 8, (Pags: 975–988).

51. Basu A, Du M, Leyva MJ, Sanchez K, Betts NM, Wu M, et al. (2010). Blueberries decrease cardiovascular risk factors in obese men and women with metabolic syndrome. *J Nutr.*, Vol.: 140, No: 9, (Págs.: 1582–1587)

52. Wright OR, Netzel GA, Sakzewski AR. (2013). A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of the effect of dried purple carrot on body mass, lipids, blood pressure, body composition, and inflammatory markers in overweight and obese adults. The QUENCH trial. *Can J Physiol Pharmacol.*, Vol: 91, No: 6, (Págs.: 480–488)

53. Riso P, Klimis-Zacas D, Del Bo C, Martini D, Campolo J, Vendrame S, et al. (2013). Effect of a wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) drink intervention on markers of oxidative stress, inflammation and endothelial function in humans with cardiovascular risk factors. *Eur J Nutr.*, Vol: 52, No:3, (Págs.: 949-961)

54. Guo H, Zhong R, Liu Y, Jiang X, Tang X, Li Z, et al. (2014). Effects of bayberry juice on inflammatory and apoptotic markers in Young adults with features of non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrition*, Vol: 30, No: 2, (Pags.:198–203).

55. Kianbakht S, Abasi B, Hashem DF. (2014). Improved lipid profile in hyperlipidemic patients taking *Vaccinium arctostaphylos* fruit hydroalcoholic extract: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Phytother Res.*, Vol.: 28, No: 3, (Pags: 432-436)

56. Tabla propia.