



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO
EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
INVESTIGACIÓN CLÍNICA EXPERIMENTAL EN SALUD
BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIHIPERGLUCEMIANTE Y
ANTIOXIDANTE DEL NOPAL EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2.**

T E S I S

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS**

P R E S E N T A

PATRICIA LÓPEZ ROMERO

**TUTOR: DRA. NIMBE TORRES Y TORRES
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

MEXICO, D.F.

MARZO/2015.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIHIPERGLUCEMIANTE Y ANTIOXIDANTE DEL NOPAL EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2.

Agradecimiento

El presente trabajo se realizó en el departamento de Fisiología de la Nutrición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, bajo la tutoría de la Dra. Nimbe Torres y Torres.

Agradezco a los integrantes del jurado, por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo.

| | | |
|------------|------------------------------------|--|
| Presidente | Dra. Marta Alicia Menjivar Iraheta | Fac. Química, UNAM. |
| Vocal | Dra. Nimbe Tores y Torres | INCMNSZ. |
| Vocal | Dr. José Pedraza Chaverri | Fac. Química, UNAM. |
| Vocal | Dra. Lilia Castillo Martínez | INCMNSZ. |
| Secretario | Dr. Oscar Armando Pérez Méndez | Instituto Nacional de Cardiología, Ignacio Chávez. |

Dedicatoria

A *mí mamá*, mi gran ejemplo de dedicación, lucha y trabajo durante toda mi vida. Gracias por todo tu amor, por tu apoyo y sobre todo por tener siempre una sonrisa para mí.

A *mís hermanas*, que siempre me ayudan y apoyan en todo momento. Gracias por su tiempo, consejos y cariño.

A *mís sobrinos*, por ser parte importante de mi vida. Gracias por los lindos momentos compartidos.

.

Agradecimientos Especiales

Al *Dr. Armando Tovar Palacio*, por ser un jefe ejemplar y por su constante apoyo para mi desarrollo profesional. Gracias por brindarme la oportunidad de formar parte de su grupo de trabajo.

A la *Dra. Nímbe Torres y Torres*, por la orientación y ayuda que me brindó para la realización de esta tesis, por su apoyo y amistad durante mi maestría. Gracias por impulsarme en cada momento.

A *Memo*, por embarcarme en la aventura de la maestría. Gracias por ser mi compadre y por tener siempre esa disposición de ayudar al prójimo sin esperar nada a cambio.

A *Edgar*, mi gran compañero de la maestría, siempre te estaré agradecida por toda la ayuda que me brindaste durante los dos años de estudio. Pero sobre todo, en el día a día de nuestro trabajo en el Instituto.

A *Yanelí*, mi hija durante la maestría, gracias por compartir cada día durante la maestría. Por compartir todas las aventuras y momentos de angustia y estrés que pasamos durante las clases.

A *María*, una gran química, muchas gracias por compartir tus conocimientos conmigo y por permitirme hacer equipo contigo en algunas clases. Gracias por tus porras y por convertirte en una gran amiga.

A *Ivan*, agradezco de corazón que hayas compartido conmigo todos tus valiosos conocimientos. Admiro tu inteligencia.

A mis colegas de laboratorio, *Lilí, Omar, Víctor, Andrea, Gaby, Martha, Adriana*, gracias por compartir sus conocimientos conmigo durante los dos años de la maestría y por ser mis grandes amigos que me apoyan en todo momentos.

A *todos los tesistas del laboratorio*, gracias por sus palabras de aliento y su ayuda a mis dudas científicas.

A *Lorena, Héctor y Claudía*. Mis amigos de siempre, gracias por impulsarme a seguir adelante y por estar ahí a pesar de mi días de estrés.

A *Diego y Carlos*. Agradezco toda la ayuda que me brindaron en la determinación de las incretinas y por todas sus enseñanzas.

| Indice | Página |
|---|---------------|
| 1. Abreviaciones. | 1 |
| 2. Resumen. | 3 |
| 3. Introducción. | 4 |
| 3.1 Diabetes tipo 2. | 4 |
| 3.1.1 Estrés oxidante en la diabetes. | 5 |
| 3.2 Antioxidantes. | 8 |
| 3.3 Nopal (<i>Opuntia ficus indica</i>). | 8 |
| 3.3.1 Composición del nopal. | 8 |
| 3.4 Hormonas gastrointestinales (incretinas). | 11 |
| 3.4.1 GLP-1 | 12 |
| 3.4.2 GIP | 13 |
| 4. Antecedentes | 17 |
| 4.1 Efecto antihiper glucémico del nopal. | 17 |
| 4.2 Índice glucémico e insulinémico del nopal. | 18 |
| 4.3 Efecto del nopal en la secreción de incretinas. | 23 |
| 4.4 Actividad antioxidante del nopal. | 24 |
| 5. Justificación. | 26 |
| 6. Hipótesis. | 26 |
| 7. Objetivos. | 27 |
| 7.1 Objetivo general. | 27 |
| 7.2 Objetivos específicos. | 27 |
| 8. Metodología. | 29 |
| 8.1 Sujetos. | 29 |
| 8.1.1 Criterios de inclusión de los pacientes con DT2. | 30 |
| 8.1.2 Criterios de exclusión. | 30 |
| 8.2 Tratamientos. | 31 |

| | |
|--|-----------|
| 8.3 Descripción de la maniobra de intervención. | 33 |
| 8.4 Métodos. | 36 |
| 8.4.1 Glucosa en sangre total. | 36 |
| 8.4.2 Insulina en suero. | 36 |
| 8.4.3 GIP y GLP-1 en plasma. | 37 |
| 8.4.4 Actividad antioxidante en plasma. | 37 |
| 8.5 Análisis estadístico. | 38 |
| 8.6 Consideraciones éticas | 38 |
| 9. Resultados. | 39 |
| 9.1 Características de los participantes. | 39 |
| 9.2 Efecto del nopal al vapor en pacientes con diabetes tipo 2. | 40 |
| 9.2.1 Efecto del nopal después del consumo de un desayuno alto en hidratos de carbono en pacientes con DT2. | 40 |
| 9.2.2 Efecto del nopal después del consumo de un desayuno alto en proteína se soya en pacientes con DT2. | 44 |
| 9.2.3 Efecto del nopal en la actividad antioxidante después del consumo de un desayuno alto en hidratos de carbono y de un desayuno alto en proteína de soya en pacientes con DT2. | 48 |
| 9.3 Efecto del nopal al vapor en voluntarios sanos. | 49 |
| 9.3.1 Efecto del nopal después del consumo de un desayuno alto en hidratos de carbono en voluntarios sanos. | 49 |
| 9.3.2 Efecto del nopal después del consumo de un desayuno alto en proteína se soya en voluntarios sanos. | 52 |
| 9.3.3 Efecto del nopal en la actividad antioxidante después del consumo de un desayuno alto en hidratos de carbono y de un desayuno alto en proteína de soya en voluntarios sanos. | 55 |

| | |
|--------------------------|----|
| 10. Discusión. | 56 |
| 11. Conclusiones. | 59 |
| 12. Bibliografía. | 61 |

| Índice de tablas | Página |
|---|---------------|
| Tabla 1. Composición del nopal <i>Opuntia ficus indica</i> . | 9 |
| Tabla 2. Principales acciones del GLP-1 y GIP para el control de la glucosa y el tratamiento de la diabetes tipo 2. | 15 |
| Tabla 3 Respuesta de glucosa en sangre después de la ingestión de 50 g de hidratos de carbono disponibles. | 19 |
| Tabla 4 Variables que se evaluaron durante el estudio. | 28 |
| Tabla 5 Composición de los desayunos utilizados en el estudio. | 31 |
| Tabla 6. Características clínicas y bioquímicas de los pacientes con diabetes tipo 2. | 39 |
| Tabla 7. Características generales de los voluntarios sanos. | 40 |
| | |
| Índice de anexos | 68 |
| Anexo 1. Historia clínica. | |
| Anexo 2. Carta de aprobación del Comité de Ética en humanos del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. | |
| Anexo 3. Carta de consentimiento informado. | |
| Anexo 4. Artículo. | |

1. Abreviaciones.

| | |
|-----------------------------------|---|
| % | Porcentaje |
| cm | Centímetros |
| DAHC | Desayuno alto en hidratos de carbono |
| DAHC+N | Desayuno alto en hidratos de carbono + nopal |
| DAPS | Desayuno alto en proteína de soya |
| DAPS+N | Desayuno alto en proteína de soya + nopal |
| DPP4 | Enzima dipeptidil-peptidasa 4 |
| DPPH | 2,2-difenil-1-picrilhidracilo |
| DT2 | Diabetes tipo 2 |
| ENSANUT | Encuesta Nacional de Salud y Nutrición |
| EE | Error estándar |
| EO | Estrés oxidante |
| ERO | Especies reactivas de oxígeno |
| g | Gramos |
| GIP | Polipéptido insulínico dependiente de glucosa |
| GLP-1 | Péptido-1 similar al glucagon |
| h | Hora |
| HDL | Lipoproteínas de alta densidad |
| H₂O₂ | Peróxido de hidrógeno |
| HbA_{1c} | Hemoglobina glucosilada |
| IABC | Incremento del área bajo la curva |
| IC₅₀ | Cantidad necesaria para tener el 50 % de la actividad antioxidante |
| IG | Índice glucémico |
| IIn | Índice insulínico |
| IMC | Índice de masa corporal |
| INCMNSZ | Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán |

| | |
|-------------------------|---|
| Kcal | Kilocalorías |
| Kg | Kilogramo |
| Kg/m² | Kilogramos/metros cuadrado |
| LDL | Lipoproteínas de baja densidad |
| mg | Miligramo |
| mg/dL | Miligramos/ decilitro |
| min | Minutos |
| mL | Mililitros |
| mm | Milímetros |
| mmol.min/L | Milimoles por minuto/Litro |
| nm | Nanómetros |
| nmol/L | nanomoles por litro |
| n= | Tamaño de muestra |
| °C | Grados centígrados |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |
| ORAC | Capacidad de absorbanca del radical oxígeno |
| PM | Pico molar |
| pmol/L | Picomoles/Litro |
| RGIP | Receptor del péptido semejante al glucagón |
| rpm | Revoluciones por minuto |
| TA | Tensión arterial |
| TAD | Tensión arterial diastólica |
| TAS | Tensión arterial sistólica |
| TGC | Triglicéridos |
| xG | Gravedades |
| µL | Micro litro |
| µmol | Micromoles |

2. Resumen.

INTRODUCCIÓN. El nopal (*Opuntia* sp) es utilizado por la población mexicana para el tratamiento de la diabetes mellitus. Sin embargo, no hay suficiente evidencia científica para demostrar cómo el nopal puede controlar los niveles de glucosa posprandial. **OBJETIVO.** Evaluar el efecto del nopal en pacientes con diabetes tipo 2 y voluntarios sanos después del consumo de un desayuno alto en hidratos de carbono simples o desayuno alto en proteína de soya sobre la respuesta posprandial de glucosa, insulina, péptido insulínico dependiente de glucosa, péptido semejante al glucagón y actividad antioxidante. **METODOLOGÍA.** 14 pacientes con diabetes tipo 2, consumieron un desayuno alto en hidratos de carbono o un desayuno alto en proteína de soya con y sin 300 g de nopal al vapor. A los pacientes se les tomaron muestras de sangre durante 2 horas, después de que iniciaron el consumo de los desayunos prueba. **RESULTADOS.** Los pacientes que consumieron el desayuno alto en hidratos de carbono más nopal mostraron una disminución significativa de las concentraciones de glucosa en sangre por debajo de 160 mg /dL, una disminución en el incremento del área bajo la curva de glucosa (5170 ± 553) en comparación con el desayuno alto en hidratos de carbono (7965 ± 892) y un menor incremento del área bajo la curva para insulina (35715 ± 5003 contra 43878 ± 6544). El desayuno alto en proteína de soya con y sin nopal evitó los picos posprandiales de glucosa en sangre por debajo de 135 mg/dL. El Desayuno alto en proteína de soya más nopal redujo significativamente los picos posprandiales de GIP a los 30 y 45 minutos e incrementó la actividad antioxidante en plasma de los pacientes con diabetes tipo 2. **CONCLUSIÓN.** Los hallazgos en este estudio sugieren que el nopal puede reducir los picos posprandiales de glucosa en sangre, insulina en suero y de GIP en plasma, y que su consumo es capaz de aumentar la actividad antioxidante en el plasma de sujetos sanos y en pacientes con diabetes tipo 2.

Palabras clave: nopal, actividad antioxidante, diabetes, GIP, GLP-1, control de la glucosa, insulina y glucosa posprandiales.

3. INTRODUCCIÓN.

3.1 Diabetes tipo 2.

La diabetes tipo 2 (DT2) es una enfermedad sistémica, crónico-degenerativa, de carácter heterogéneo, con grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales. Se caracteriza por hiperglucemia crónica debido a la deficiencia en la producción o acción de la insulina, lo que afecta el metabolismo intermedio de los hidratos de carbono, proteínas y grasas (NOM-015-SSA-2010).

La epidemia de la DT2 es reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una amenaza mundial. Se calcula que en el mundo existen más de 180 millones de personas con diabetes y es probable que esta cifra aumente a más del doble para el año 2030 (NOM-015-SSA-2010).

Durante las últimas décadas el número de personas que padecen diabetes en México se ha incrementado. En la última encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) se reportó que existen aproximadamente 6.4 millones de adultos con diabetes (ENSANUT, 2012), sin embargo se estima que existen aproximadamente 12 millones según datos de la Secretaria de Salud. En México, la DT2 ocupa el primer lugar en número de defunciones por año, tanto en hombres como en mujeres las tasas de mortalidad muestran una tendencia ascendente en ambos sexos con más de 70 mil muertes y 400,000 casos nuevos anuales (NOM-015-SSA2-2010).

La DT2 es un padecimiento complejo que lleva implícita una serie de situaciones que comprometen la salud en los pacientes, lo cual favorece el desarrollo de complicaciones, con los consecuentes trastornos en la calidad de vida (NOM-015-SSA2-2010).

Existe fuerte evidencia de estudios controlados aleatorizados que han incluido intervenciones en el estilo de vida incorporando actividad física y dieta para prevenir la diabetes en individuos con alto riesgo (Tracy Kelly et al., 2010).

La mayoría de los estudios de intervenciones en el estilo de vida para prevenir la DT2 que usan una combinación de dieta y actividad física no distinguen la

contribución individual de cada componente (Pan et al., 1997) y en otras ocasiones también se menciona que no existe diferencia significativa entre los estudios que incorporan dieta, actividad física o ambos (Gillies et al., 2007).

Por otro lado, la evidencia epidemiológica ha mostrado que hay componentes de la dieta que pueden ayudar a controlar la DT2. En cuanto a los hidratos de carbono se ha reportado que las dietas con alimentos con índice glucémico (IG) bajo pueden ayudar en el control de la DT2 (Barclay et al., 2008), además los granos enteros tienen un efecto protector (Fung et al., 2002). En cuanto a la grasa se refiere se ha demostrado que reemplazando la grasa saturada por grasa insaturada se tiene un efecto benéfico en la sensibilidad a la insulina (Riserus et al., 2009). En lo que a proteína se refiere se ha determinado que la disminución en el consumo de carnes rojas o procesadas ayuda en el control de la DT2 (Fung et al., 2004; van Dam et al., 2006). Por otra parte, en cuanto al tratamiento médico, el uso de hipoglucemiantes orales e incretinas es hoy en día uno de los tratamientos más recurrentes para el control de la DT2 (Majumdar et al., 2013). Aunque en la medicina tradicional de México se ha utilizado el consumo de nopal para “curar la diabetes” no existía evidencia científica sobre el control de la glucosa por el consumo de nopal. Originalmente se había propuesto que el nopal tiene propiedades hipoglucemiantes (Frati-Munari et al., 1991), sin embargo, recientes estudios en nuestro laboratorio demuestran que el nopal tiene actividad antihiper glucemiante.

3.1.1 Estrés oxidante en la diabetes.

El estrés oxidante (EO) es el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas y radicales libres, los cuales dañan a las macromoléculas y cuando hay un exceso de éstos no pueden ser contrarrestados por los sistemas antioxidantes endógenos. Esto induce la presencia de diversas enfermedades, como la diabetes (Astaneie et al., 2005).

Los radicales libres son moléculas que contienen un electrón no apareado, ésta característica los hace sumamente reactivos y capaces de dañar a otras

moléculas, lo que a su vez las convierte en moléculas muy reactivas, capaces de provocar una reacción en cadena que causa daño oxidativo, desde células hasta tejidos.

Las especies reactivas incluyen las de oxígeno, nitrógeno, hierro, cobre. Estas especies reactivas se forman como producto del metabolismo de los radicales libres y son moléculas oxidantes muy dañinas para las células (Sánchez-Rodríguez et al., 2004).

Existe evidencia importante acerca de que la hiperglucemia da como resultado la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) lo que genera un incremento en el EO en una variedad de tejidos. En ausencia de una respuesta compensatoria adecuada de los antioxidantes endógenos, el sistema se ve afectado (desequilibrio redox) lo que conduce a la activación de la vía de señalización intracelular sensible al estrés (Figura 1) (Evans et al., 2002). Una consecuencia importante es la producción de moléculas que causan daño celular y que son en última instancia responsables de las complicaciones tardías de la diabetes.

La DT2 se caracteriza por hiperglucemia, disminución de la secreción de insulina y resistencia a la insulina (Porte Jr, 2001). La resistencia a la insulina también es causada por factores adquiridos tales como la obesidad, estilo de vida sedentario, entre otras. Durante su etapa temprana la resistencia a la insulina es compensada por una hiperinsulinemia, para preservar la tolerancia normal a la glucosa (DeFronzo, 1997). El deterioro en la tolerancia a la glucosa ocurre cuando la resistencia a la insulina incrementa o disminuye la respuesta en la secreción de la misma o ambos. La glucosa elevada causa estrés oxidante debido al aumento en la producción de ERO en la mitocondria, glucosilación de proteínas y autooxidación de glucosa (Wolff et al., 1991). Por otra parte, la elevación de los ácidos grasos libres puede causar EO debido a un incremento en el desacoplamiento mitocondrial (Carlsson et al., 1999) y β -oxidación (Yamagishi et al., 2001) permitiendo un incremento en la producción de ERO. El aumento de glucosa, ácidos grasos y el EO provocan un proceso de inflamación que resulta en un deterioro de la función endotelial, vasoconstricción y presión sistólica lo que

conlleva a daños micro y macrovasculares que finalmente conducen a la aparición de las complicaciones asociadas a la DT2. Estas complicaciones consisten en un grupo heterogéneo de disfunciones clínicas que afectan el sistema nervioso, vascular, riñón, retina, nervio periférico y la piel (O’Keefe et al., 2008).

Se sabe que el EO genera un estado proinflamatorio en el que se eleva la cantidad de compuestos proinflamatorios como el factor nuclear NF- κ B, p38 MAPK, JNK/SAP, estas moléculas generan cambios en el metabolismo general del organismo como disfunción de la célula beta y resistencia a la insulina. Además la hiperglucemia aumenta el proceso de glucosilación en el que se generan productos de glucosilación avanzada (AGE) los cuales son capaces de unirse mediante enlaces covalentes a otras moléculas provocando cambios conformacionales y deterioro de sus funciones (Figura 1). Todo este ambiente inflamatorio conlleva a las complicaciones de la DT2.

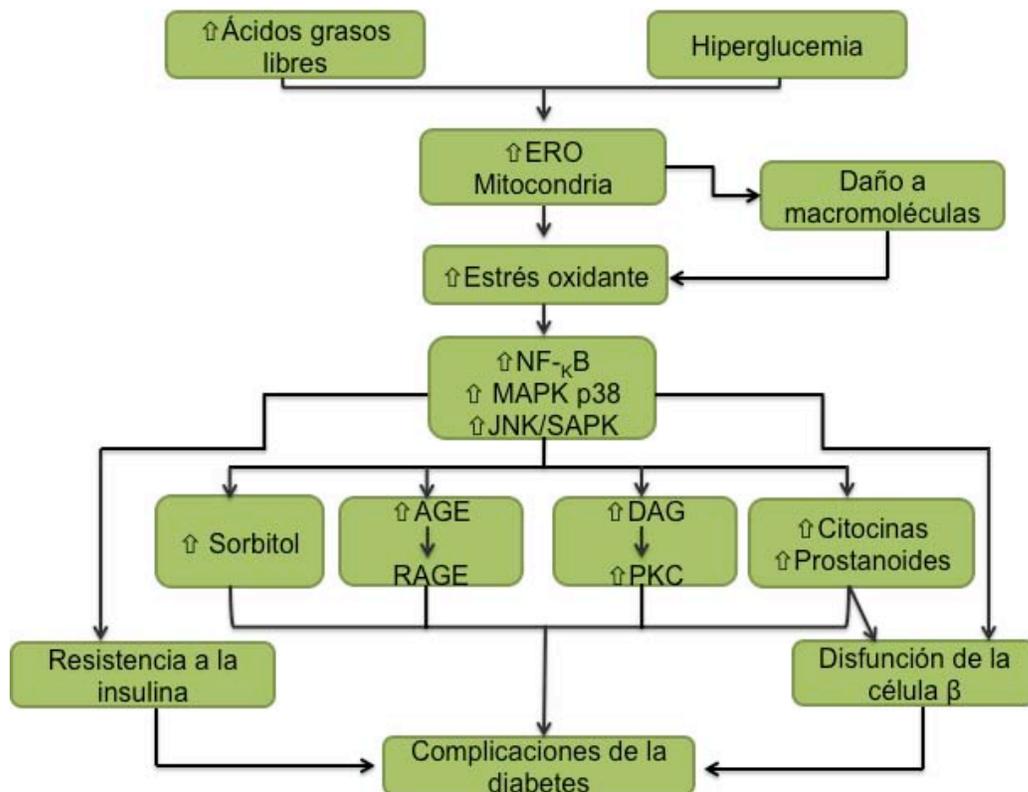


Figura 1. Estrés oxidante en la diabetes (Adaptado de Evans et al., 2002).

3.2 Antioxidantes.

Para equilibrar la respuesta oxidante, el organismo dispone de una serie de sistemas antioxidantes que contrarrestan la generación de radicales libres. Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, el cual incluye a los lípidos, proteínas, hidratos de carbono y al ácido desoxirribonucleico, actuando como donador de electrones. Los antioxidantes pueden ser endógenos o exógenos (Carocho et al., 2013).

Los patrones de dieta caracterizados por un alto consumo frutas, verduras y granos enteros están asociados con la presencia de antioxidantes exógenos y por lo tanto con la reducción en el riesgo de DT2 (Rech et al., 2013). Se ha descrito que los compuestos que confieren actividad antioxidante a los alimentos son los polifenoles, los carotenoides, las vitaminas y los flavonoides (Ávila-Nava et al., 2014). Estos compuestos son capaces de disminuir y/o prevenir el daño oxidante que causan las especies reactivas.

En México uno de los alimentos en los que se ha descrito la presencia de polifenoles es el nopal (Ávila-Nava et al., 2014). Alimento tradicional en la dieta del mexicano.

3.3 El nopal (*Opuntia ficus indica*).

El nopal es un alimento tradicional en México que pertenece al género *Opuntia*, subfamilia *Opuntioideae*, familia Cactácea, es originario principalmente del centro de México (Stintzing et al., 2005) y crece en zonas áridas y semiáridas debido a que es extremadamente eficiente para almacenar el agua en sus tejidos. Aunque existen diferentes variedades de *Opuntia*, la fuente primaria para consumo humano es *Opuntia ficus indica* (Griffith, 2004).

3.3.1 Composición del nopal.

La composición del nopal varía dependiendo de la composición y naturaleza del suelo en el sitio del cultivo, la estación y la edad de la planta. Por lo tanto, el

contenido de nutrimentos varía de entre las diferentes especies y variedades y no deben ser tomados como valores absolutos (Batista et al., 2003).

En la Tabla 1 se presenta la composición nutrimental promedio del nopal sin espinas proveniente de Milpa Alta.

Tabla 1. Composición del nopal *Opuntia ficus indica*.

| Componente | Base seca (g/100) | Base húmeda (g/100g) |
|---------------------|--------------------------|-----------------------------|
| Agua | 4.5 | 88-95 |
| Cenizas | 18.29 | 3-7 |
| Fibra | 7.4 | 1-2 |
| Hidratos de carbono | 54.87 | 1-2 |
| Lípidos | < 1.90 | 0.5-1 |
| Proteína | 15.39 | 0.2 |

El alto contenido de agua en el nopal hace que este sea un alimento bajo en calorías, con sólo 27 kilocalorías/ 100 gramos (kcal/100 g). El contenido de fibra es una de las características importantes del nopal. Se sabe que la importancia de la fibra tiene una acción fisiológica sobre el metabolismo de la glucosa. Por lo que puede ayudar a controlar la concentración de glucosa en pacientes con DT2.

En cuanto a los minerales, el nopal contiene 166 mg de potasio /100 g base húmeda y 93 mg/100 g de calcio (Stintzing et al., 2005) por lo que ha sido considerado como una fuente de calcio, sin embargo, se ha determinado que el nopal contiene un valor total de oxalato de 35.1 mg/g de peso seco. El oxalato se une al calcio dando como resultado cristales de oxalato de calcio, la cual es una forma nutricionalmente no disponible lo que hace que la biodisponibilidad de calcio sea baja, aproximadamente de un 11 % y por lo tanto el nopal no puede ser considerado como una fuente adecuada de calcio (McConn et al., 2004).

Dentro de los compuestos importantes del nopal figuran los polifenoles. Los compuestos fenólicos son considerados metabolitos secundarios de las plantas y sus principales funciones en las células son las de actuar como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción y como agentes protectores frente a la acción de los patógenos, siendo secretados como mecanismos de defensa (Bravo, 1998; Butler, 1992). Los compuestos fenólicos funcionan como antioxidantes naturales de los alimentos ya que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas (Velioglu et al., 1998.). Por lo anterior se les han atribuido propiedades relacionadas con la prevención y mejora del estado de salud.

La cantidad reportada de polifenoles en el nopal es de 929 ± 1.0 mg de ácido gálico/ml del extracto (Avila-Nava et al., 2014). Los principales polifenoles presentes en el nopal son; kaempferol, quercetina e isoramnetina (Bravo, 1988). Estos compuestos son capaces de neutralizar los radicales libres y tienen en común la presencia en su estructura de uno o más anillos aromáticos con al menos un sustituyente hidroxilo $-OH$ (Figura 2). Su estructura química es propicia para reaccionar con los radicales libres, debido a la facilidad con la que puede donar el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo aromático (Pannala et al., 2001). La presencia de estos compuestos puede ser importante para coadyuvar en el estado de estrés oxidante que se presentan los pacientes con DT2.

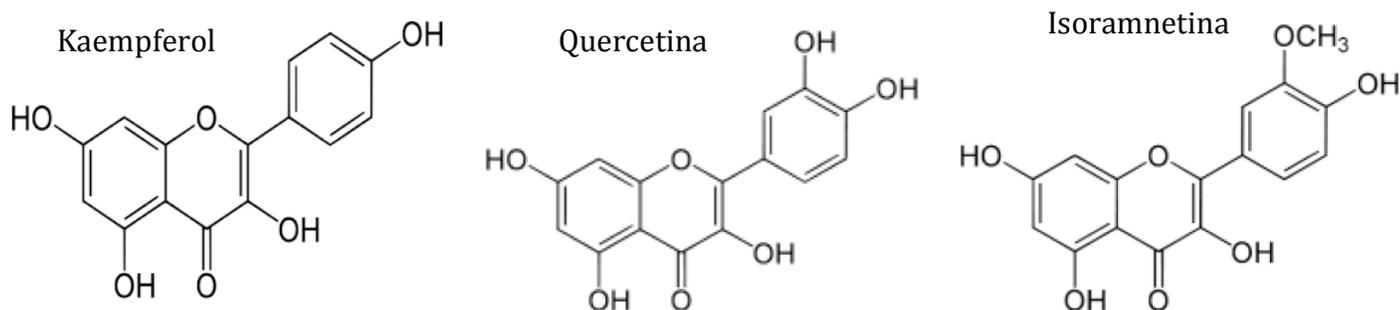


Figura 2. Estructura química de los polifenoles presentes en el nopal.

3.4 Hormonas gastrointestinales (incretinas).

Por otro lado, se sabe que la homeostasis de la glucosa posprandial no sólo es controlada por estimulación directa de la insulina liberada después de la absorción de los nutrientes, sino también a través de la secreción de las incretinas. Las incretinas son hormonas entéricas consideradas insulínótropas debido a su capacidad de estimular la secreción de insulina posprandial. El concepto incretina está basado en la observación de una mayor respuesta de la insulina a la glucosa oral en comparación con la glucosa intravenosa. Las sustancias derivadas del intestino y liberadas como consecuencia de la ingestión de nutrientes (incretinas) son considerados secretagogos de insulina (Campos et al., 2014). Estos descubrimientos apoyan la hipótesis de que el proceso regulatorio de la glucosa resulta de la interacción de las hormonas pancreáticas (insulina y glucagón) y las hormonas intestinales; además estos hallazgos refuerzan el concepto que la DT2 puede surgir de diferentes sistemas hormonales (Campos et al., 2014).

Las incretinas más importantes son el GLP-1 de sus siglas en inglés glucagon like peptide y el GIP de sus siglas en inglés glucose-dependent insulínotropic polypeptide (Baggio et al., 2007). Estas incretinas actúan directamente en las células β del páncreas, las cuales expresan receptores acoplados a proteína G para ambas GLP-1 y GIP. La estimulación de estos receptores incrementa las concentraciones de monofosfato de adenosina cíclico, que a su vez aumenta la secreción de insulina en condiciones permisibles, tales como la presencia de altas concentraciones de glucosa en plasma (Reimann F. 2010). Las incretinas son liberadas de las células endocrinas y son responsables de alrededor del 50 % de la insulina total secretada después de la ingestión de alimentos (Dupre et al., 1973; Elliot et. al., 1993). En humanos las concentraciones de GLP-1 y GIP se incrementan en los primeros 15 minutos, alcanzan su pico máximo entre los 30 y 45 minutos después de una comida y vuelven a las concentraciones basales después de 2 a 3 horas. Ambas incretinas tienen una vida media corta debido a la acción enzimática de la enzima dipeptidil peptidasa 4 (DPP4), la cual rápidamente convierte las formas activas de GLP-1 y GIP en sus metabolitos inactivos

(Ranganath LR. 2008). En contraste, el efecto incretina esta disminuido en pacientes con DT2, por lo que probablemente contribuyan en el desarrollo de su hiperglucemia posprandial (Vollmer et al., 2009).

3.4.1 GLP-1.

El GLP-1 fue descubierto después de la clonación y secuenciación de genes del proglucagon de mamíferos y DNAs complementario. Además del glucagon, el gen proglucagon también codifica 2 péptidos que son 50 % homólogos para el glucagon: GLP-1 y GLP-2. Basados en su homología con el glucagon, ambos péptidos fueron probados para su actividad insulínica, pero sólo el GLP-1 fue capaz de estimular la secreción de insulina (Mojsov et al., 1987; Kreyman et al., 1987). El gen proglucagon es localizado en el brazo largo del cromosoma 2 humano y comprende 6 exones y 5 intrones, con toda la secuencia que codifica para GLP-1 contenida en el exón 4. El gen proglucagon se expresa en las células α del páncreas, células L del intestino y las neuronas (Mojsov et al., 1986; Drucker et al., 1988).

El GLP-1 es un péptido que se secreta principalmente en las células L de intestino, a nivel del íleon y colon (Kim, 2008). La células L es un tipo de célula endocrina intestinal de tipo abierto que tiene contacto directo con los nutrientes a través de su superficie apical y tejido neural y vascular. En consecuencia el GLP-1 puede ser estimulado por una variedad de nutrientes y factores neurales y endocrinos. El estímulo primario para la secreción de GLP-1 son las grasas e hidratos de carbono (Brubaker, 2006). La liberación de GLP-1 puede ser estimulada por una comida mixta o nutrientes individuales incluyendo glucosa, ácidos grasos, aminoácidos esenciales y fibra dietaria. En roedores y en humanos el GLP-1 es liberado rápidamente dentro de la circulación después de una ingestión oral de nutrientes, y su secreción ocurre en un patrón bifásico, empezando con una fase temprana 10-15 minutos (min) seguida por una segunda fase más larga (30-60 min).

Existen dos formas de GLP-1, GLP-1₇₋₃₇ y GLP-1₇₋₃₆, pero la forma que más circula en los humanos es GLP-1₇₋₃₆ (Orskov et al., 1994). Los valores basales de GLP-1 se encuentran entre 5-10 picomoles (pmol) y aumentan aproximadamente a 50 pmol después de la ingestión de alimentos (Vilsboll et al., 2001) con un pico absoluto que depende del tamaño y composición de la comida (Orskov et al., 1994). La vida media de circulación del GLP-1 es de menos de 2 min (Hansen, et al., 1999), y la mayor ruta de eliminación es a través del riñón y es degradado por la enzima DPP4. Numerosos estudios tanto en animales como en humanos han demostrado que la inhibición de la actividad de la enzima DPP4 prolonga la vida media del GLP-1 biológicamente activo. Las principales acciones del GLP-1 para el control de la glucosa y el tratamiento de la DT2 se presentan en la Tabla 2 y se ilustran en la Figura 3 (Drucker, 2007). Una de las funciones biológicas más importantes del GLP-1 es la estimulación de la secreción de insulina dependiente de glucosa (Mojsov et al., 1987).

3.4.2 GIP.

El gen del GIP comprende de 6 exones y se localiza en el brazo largo del cromosoma 17. El GIP es derivado de la prohormona ProGIP. El GIP es un péptido de 42 aminoácidos que potencia la secreción de insulina estimulada por glucosa (Dupre et al., 1973). La secuencia de GIP es altamente conservada entre diferentes especies y el humano en un 90 %. (Baggio et al., 2007). Este péptido se expresa predominantemente en el estómago y en las células K del intestino, las cuales están localizadas en el duodeno y yeyuno proximal (Baggio et al., 2007).

La secreción de GIP es estimulada por la ingestión y absorción de nutrimentos, especialmente glucosa o grasa y en específico, es la tasa de absorción de nutrimentos más que la presencia de nutrimentos en el intestino la que estimula la liberación de GIP. En humanos los niveles basales de GIP están en un rango de 0.06-0.1 nanomoles/Litro (nmol/L) e incrementan de 0.2-0.5 nmol/L después de una comida (Vilsboll et al., 2001). Las concentraciones de GIP están ligeramente incrementadas en los pacientes con DT2. La vida media de actividad biológica del GIP es de 7 y 5 min en sujetos sanos y en pacientes con DT2, respectivamente

(Deacon et al., 2000). El GIP también se inactiva por la enzima DPP4 (Mentlein, 1993) y es eliminado a través del riñón.

Dentro de las principales acciones del GIP, la acción dominante es la estimulación de la secreción de insulina dependiente de glucosa, además de otras acciones en tejidos extra pancreáticos (Tabla 2 y Figura 3). Los mecanismos moleculares por los que el GIP potencia la secreción de insulina dependiente de glucosa semejan a los del GLP-1 e incluyen; incremento de cAMP, inhibición de los canales de K_{ATP} , incremento en el Ca^{2+} intracelular y estimulación de la exocitosis (Ding et al., 1997).

Por otro lado, se ha establecido un papel adicional del GIP en el control de la biología del adipocito, derivado de los hallazgos de que el receptor de GIP (RGIP) es expresado en el adipocito (Usdin et al., 1993). Se ha reportado que los ratones que carecen del RGIP tienen depósitos reducidos de grasa, usan la grasa principalmente como sustrato de energía, son resistentes a la obesidad inducida por dieta y tienen una mejoría en la sensibilidad a la insulina (Drucker, 2007). El consumo de grasa es un estímulo para la secreción de GIP en humanos y los niveles de GIP en plasma se encuentran elevados en individuos con obesidad (Creutzfeldt et al., 1978). La demostración de la existencia del RGIP en los adipocitos es de gran interés ya que su continua estimulación podría estar asociada a un aumento en la lipogénesis y desarrollo de obesidad. Los efectos anabólicos del GIP en la grasa incluyen la estimulación de la síntesis y reesterificación de ácidos grasos, mejoramiento de la incorporación de ácidos grasos en triglicéridos estimulada por insulina, síntesis de lipoprotein lipasa y reducción de la lipólisis estimulada por glucagon (Baggio et al., 2007).

Tabla 2. Principales acciones de GLP-1 y GIP para el control de la glucosa y el tratamiento de la diabetes tipo 2 (Adaptado de Drucker, 2007).

| Acciones | GLP-1 | GIP |
|---|--------------|------------|
| Páncreas | | |
| Estimulación de la secreción de insulina dependiente de glucosa | + | + |
| Incrementa la transcripción del gen de la insulina | + | + |
| Inhibe la secreción de glucagon | + | - |
| Estimula la secreción de somatostatina | + | - |
| Mejora la respuesta de las células β a la glucosa | + | + |
| Inhibe la apoptosis de la célula β | + | + |
| Tracto gastrointestinal | | |
| Inhibe el vaciamiento gástrico | + | - |
| Inhibe la secreción de ácido gástrico. | + | + |
| Tejido adiposo | | |
| Acciones lipogénicas semejantes a las de la insulina | - | + |
| Almacenamiento de lípidos | - | + |

“+” Indica que la acción se presenta; “-” la acción no se presenta.

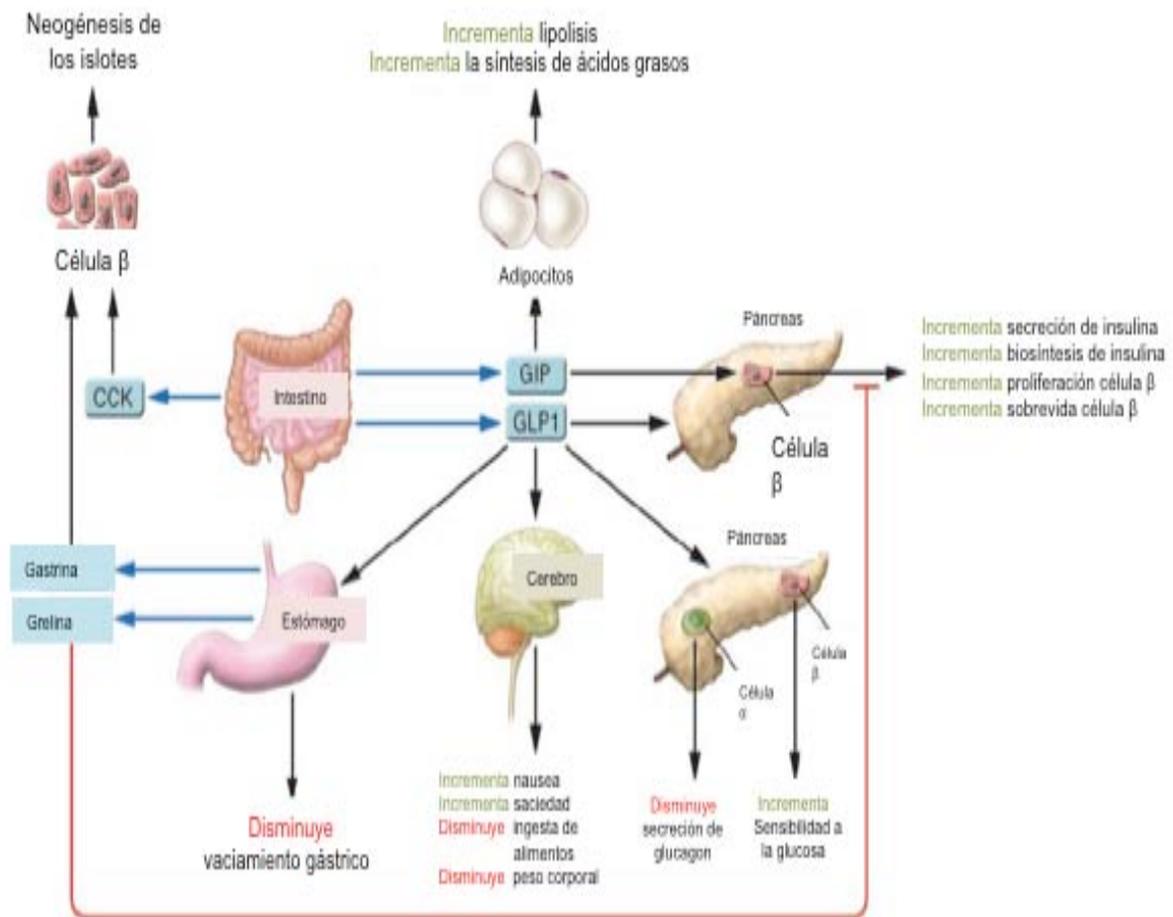


Figura 3. Principales acciones de GLP-1 y GIP (Adaptado de Drucker, 2007).

4. ANTECEDENTES.

El nopal ha sido utilizado en la medicina tradicional para tratar enfermedades como la diabetes (Fрати-Munari et al.,1983), gastritis (Vázquez-Rámirez et al., 2006), hiperglucemia (Fрати-Munari et al., 1989) y hiperlipidemia (Palumbo et al., 2003), entre otras. Previamente se había demostrado el efecto hipoglucemiante del nopal en los años 80's con una disminución de 17 a 31 % en la glucemia de sujetos con diabetes mellitus, lo que permitió concluir que el consumo de nopal tiene un efecto hipoglucemiante. Sin embargo las cantidades para tener ese efecto eran muy grandes y difíciles de incluir en la dieta habitual (Fрати-Munari et al., 1989). Por otra parte, el mecanismo de acción aún no había sido elucidado.

4.1 Efecto antihiper glucémico del nopal.

Recientemente en nuestro laboratorio demostramos en 10 pacientes con DT2 que el nopal no tiene un efecto hipoglucemiante sino antihiper glucemiante como se muestra en la Figura 4 (datos no publicados). Cuando los pacientes con DT2 consumen 300 g de nopal al vapor sólo, sus niveles de glucosa se mantienen constantes a través del tiempo sin que estos disminuyan por debajo de su valor basal, por lo que podría ser utilizado para todo el público en general.

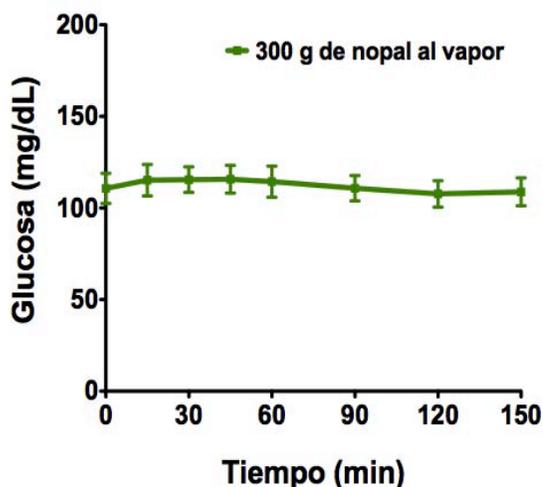


Figura 4. Efecto antihiper glucémico del nopal en pacientes con DT2.

4.2 Índice glucémico e insulinémico del nopal

Índice Glucémico

El IG es una propiedad de los hidratos de carbono en diferentes alimentos, específicamente la habilidad de los hidratos de carbono digeribles para elevar las concentraciones de glucosa en sangre (ISO 26642). El IG fue concebido en el año 1981 por Jenkins (Jenkins et al., 1981) como una herramienta para el manejo dietético de la diabetes tipo 1. El IG se considera como una clasificación confiable del efecto fisiológico de los alimentos en la glucemia posprandial. Un IG bajo indica que la glucosa se absorbe lentamente en el torrente sanguíneo y esto se ve reflejado en la ausencia de incrementos bruscos de glucosa después del consumo de un alimento. Valores ≤ 55 se consideran bajos, si el valor se encuentra entre 56 y 69 el IG es considerado moderado. Un Valor ≥ 70 se considera alto e indica que la glucosa se absorbe rápidamente. Por lo anterior, se recomienda el consumo de alimentos con IG bajo especialmente como una estrategia dietaria en los pacientes con DT2 (Wolever et al., 1993).

La prueba del IG se realiza sólo para alimentos que contribuyan con una cantidad de 10 o más gramos de hidratos de carbono disponibles (hidratos de carbono totales menos la fibra) por ración. La prueba se debe realizar en un mínimo de 10 participantes sanos. Los sujetos participantes se evalúan primero con un alimento estándar (glucosa) del cual deberán consumir 50 g. La glucosa se les proporciona disuelta en 250 ml de agua. El día de la prueba, el participante debe asistir con un ayuno de 12 horas. Posteriormente se le toman muestras de sangre capilar al tiempo 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos después de iniciado el consumo del alimento estándar. Las determinaciones de glucosa se llevan a cabo inmediatamente utilizando glucómetro. Como la glucosa sanguínea varía día a día en cada persona, la prueba con el estándar se lleva a cabo 3 veces y se usa el promedio de los resultados. Posteriormente se lleva a cabo la evaluación con el alimento prueba siguiendo los pasos que se describieron para la evaluación con el alimento estándar. Para esta prueba se le proporciona al sujeto 50 g de hidratos

de carbono disponibles provenientes del alimento. La cantidad de alimento que se tienen que comer varia dependiendo de su contenido de hidratos de carbono.

Cálculos del índice glucémico.

1) Con los valores de la glucosa en sangre obtenidos a los diferentes tiempos se procede a calcular el incremento del área bajo la curva (IABC).

Para ilustrar los detalles del cálculo del IABC, en la Tabla 3 se presenta un ejemplo de la respuesta en la glucosa en sangre después del consumo del alimento estándar y del alimento de prueba. Para los cálculos se utilizarán los datos del estándar 2.

Tabla 3. Respuesta de glucosa en sangre después de la ingestión de 50 g de hidratos de carbono disponibles.

| Minutos | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 90 | 120 | IABC |
|--------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------------|
| Estándar 1 | 4.3 | 6.3 | 7.9 | 5.3 | 4.1 | 4.6 | 4.9 | 114 |
| Estándar 2 | 4.0 | 6.0 | 6.7 | 5.5 | 5.3 | 5.0 | 4.2 | 155 |
| Estándar 3 | 4.1 | 5.8 | 8.0 | 6.5 | 5.9 | 4.8 | 3.9 | 179 |
| Alimento de prueba | 4.0 | 5.0 | 5.8 | 5.4 | 4.8 | 4.2 | 4.4 | 93 |

2) El incremento de la glucosa a un tiempo determinado se obtiene de la resta del valor de glucosa a los diferentes tiempos menos el valor de la glucosa basal (tiempo 0) (Figura 5).

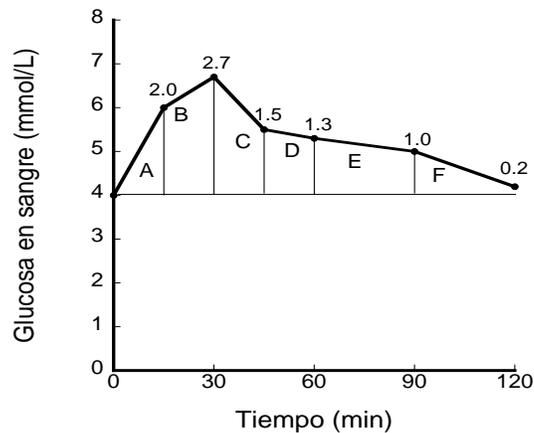


Figura 5. IABC después del consumo de 50 g de hidratos de carbono disponibles en sujetos sanos.

Una vez que se tienen los incrementos a los diferentes tiempos se procede a calcular el área de los triángulos y rectángulos de la siguiente forma:

$$\text{Área del triángulo A} = \text{incremento al min } 15 \times \text{tiempo } (15')/2 = 2 \times 15/2 = 15$$

$$\text{Área del trapecoide B} = (2 + 2.7) \times 15/2 = 35.25$$

$$\text{Área del trapecoide C} = (2.7 + 1.5) \times 15/2 = 31.5$$

$$\text{Área del trapecoide D} = (1.5 + 1.3) \times 15/2 = 21$$

$$\text{Área del trapecoide E} = (1.3 + 1.0) \times 30/2 = 34.5$$

$$\text{Área del trapecoide F} = (1.0 + 0.2) \times 30/2 = 18$$

Posteriormente, se suman las áreas de los triángulos y trapecoides para obtener el IABC. Considerando los datos del ejemplo anterior se tiene que:

$$\text{IABC} = 15 + 35.25 + 31.5 + 21 + 34.5 + 18 = 155 \text{ milimoles por minuto/Litro. (mmol.min/L).}$$

3) Para finalizar se obtiene un promedio del IABC de glucosa de las 3 pruebas realizadas con el estándar: 114, 155, 179. El promedio que se obtiene es de 149.

Al sustituir la fórmula del IG= $\frac{\text{IABC del alimento prueba} \times 100}{\text{IABC del alimento de referencia}}$

Tenemos lo siguiente: IG= $\frac{93 \times 100}{149} = 62$

Definición de índice insulinémico.

El índice insulinémico (IIn) es una medida para determinar si la liberación de insulina en respuesta al consumo de un alimento es baja, moderada o alta. El IIn se calcula de la misma forma que el IG, utilizando el IABC.

Los efectos insulinémicos de los alimentos son importantes para el tratamiento y prevención de la DT2 y complicaciones asociadas. Se ha demostrado que las dietas altas en hidratos de carbono, que dan como resultado respuestas posprandiales de glucosa e insulina altas son asociadas con un perfil de lípidos alto, mayor grasa corporal y con el desarrollo de resistencia a la insulina en ratas y en humanos. La insulinemia posprandial elevada o prolongada puede contribuir al desarrollo de resistencia a la insulina y enfermedades asociadas. Por lo que la determinación del IIn de los alimentos podría tener una importancia significativa en las estrategias para la prevención y el tratamiento de la DT2 (Holt et al., 1997).

Índice glucémico e insulinémico del nopal. Estudios previos en el laboratorio han demostrado que la ingestión de 50 g de hidratos de carbono provenientes del nopal presenta un IG del nopal de 32 ± 4.05 y un IIn de 36 ± 6.14 los cuales se consideran bajos (Figura 6 y 7, respectivamente) (López et al., 2008).

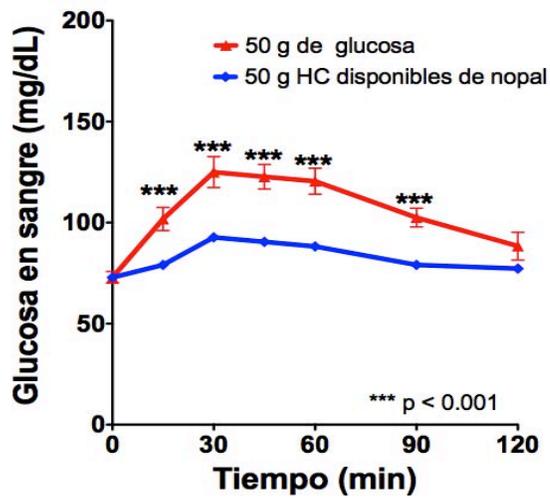


Figura 6. Glucosa en el ayuno y 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos después del consumo de 50 g de glucosa oral o 50 g de hidratos de carbono disponibles del nopal en sujetos sanos. Valores promedio \pm error estándar (EE), n=7 (López et al., 2008).

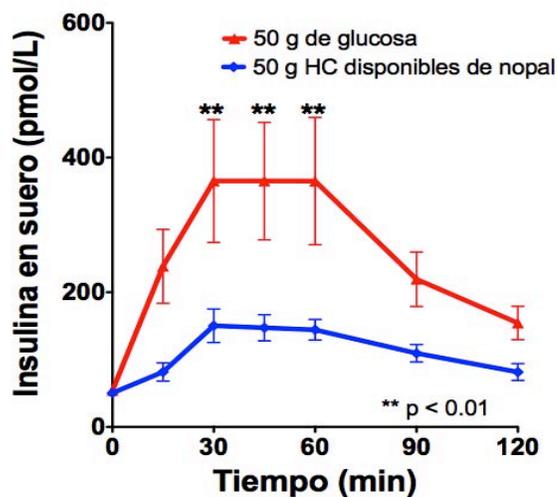


Figura 7. Insulina en el ayuno y 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos después del consumo de 50 g de glucosa oral o 50 g de hidratos de carbono disponibles del nopal en sujetos sanos. Valores promedio \pm EE, n=7 (López et al., 2008).

4.3 Efecto del nopal en la secreción de incretinas.

El consumo de nopal tiene un efecto importante en la disminución de GIP y GLP-1 (Figura 8 y 9, respectivamente). Por lo que su consumo podría ayudar a la regulación de la secreción de insulina y a que se estimulen en menor cantidad los RGIP en el tejido adiposo y de esta manera ayudar con el control del desarrollo de la obesidad y la DT2 (López et al., 2008).

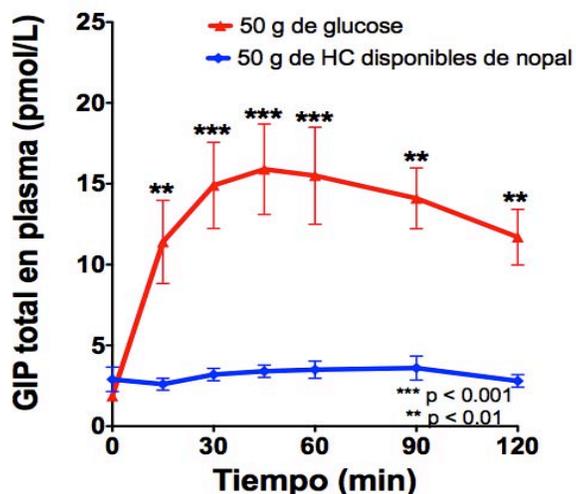


Figura 8. GIP en el ayuno y 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos después del consumo de 50 g de glucosa oral o 50 g de hidratos de carbono disponibles del nopal en sujetos sanos. Valores promedio \pm EE, n=7 (López et al., 2008).

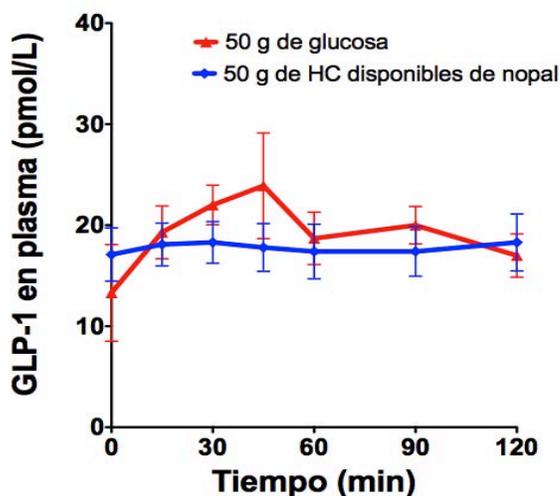


Figura 9. GLP-1 en el ayuno y 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos después del consumo de 50 g de glucosa oral o 50 g de hidratos de carbono disponibles del nopal en sujetos sanos. Valores promedio \pm EE, n=7 (López et al., 2008).

4.4 Actividad antioxidante del nopal.

Los efectos benéficos del nopal en la salud han sido atribuidos a la fibra, a los polifenoles y la vitamina C. Los polifenoles muestran actividad antioxidante debido a que sus estructuras le permiten atrapar ERO. Cuando la producción ERO es excesiva ocurre un daño oxidativo en las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Estas alteraciones pueden estar incluidas en varias patologías como la obesidad y la diabetes (Basaga, 1990). Recientemente, se determinó en un extracto de nopal *in vitro* que éste tiene actividad antioxidante, ya que fue capaz de capturar especies como el radical hidroxilo, peróxido de hidrógeno, anión peroxinitrito, anión superóxido y ácido hipocloroso. Además, se identificó la presencia de quercetina, isoramnetina y kaempferol. Dentro de una comparación con diferentes alimentos se determinó que el nopal se puede catalogar en tercer lugar dentro de los alimentos con actividad antioxidante (Figura 10), (Ávila-Nava et al., 2014).

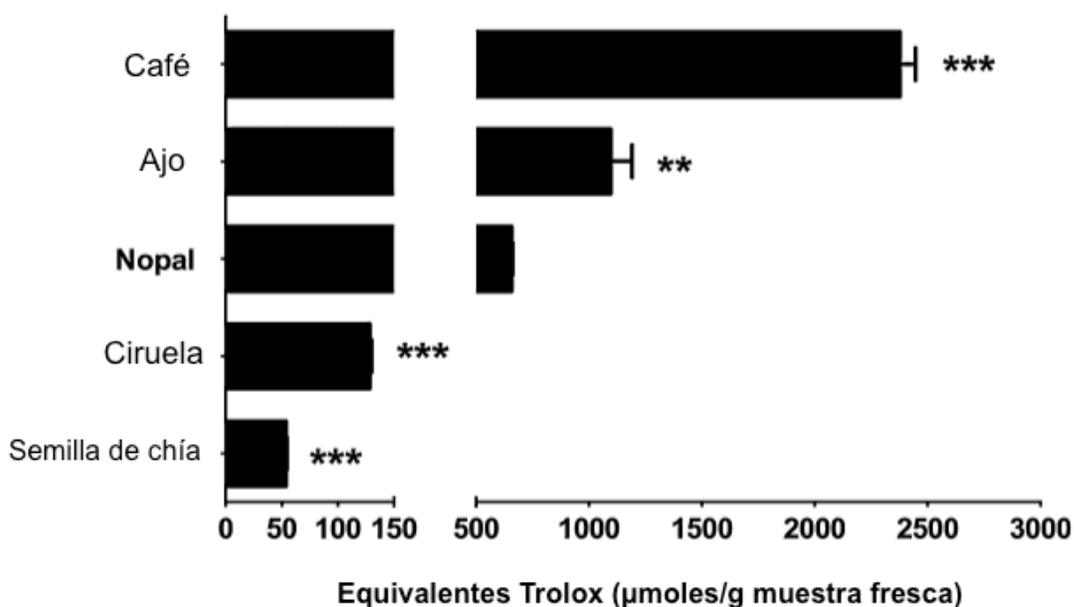


Figura 10. Actividad antioxidante de diferentes alimentos determinada por el método ORAC. Los resultados son están expresados como equivalentes trolox (μmol trolox/g de muestra fresca). Los datos corresponden al promedio \pm EE, $n=3$. ** $p<0.001$, *** $p<0.0001$ contra nopal (Adaptado de Ávila-Nava et al., 2014).

Finalmente *in vivo* se ha determinado mediante el método 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) que el nopal incrementa la actividad antioxidante en plasma y sangre en sujetos sanos después del consumo de una dieta baja en antioxidantes (Figura 11) (Ávila-Nava et al., 2014).

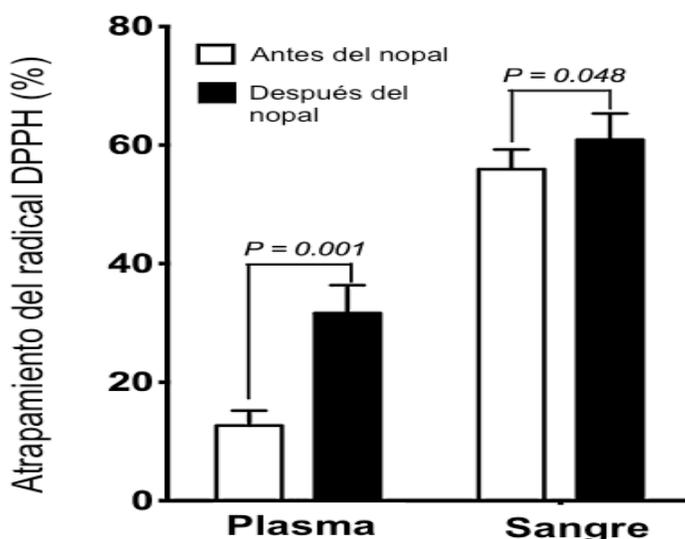


Figura 11. Actividad antioxidante en plasma y sangre de sujetos que consumieron 300 g de nopal por 3 días. Los datos corresponden al promedio \pm EE, n=10 (Adaptado de Ávila-Nava et al., 2014).

Los antecedentes previos sugieren que el nopal podría ser considerado un alimento con acción antihiper glucemiante, con IG e IIn bajos y con actividad antioxidante importante. Por esta razón, el consumo de nopal podría ser utilizado como una estrategia para disminuir las complicaciones presentes en patologías como la obesidad y la DT2.

5. JUSTIFICACIÓN

La DT2 hoy en día es uno de los principales problemas de salud en México; esta enfermedad está directamente relacionada con la prevalencia de obesidad y sobrepeso las cuales afectan a casi el 70% de la población mexicana entre los 30 y 60 años de edad. Actualmente se han reportado 6.4 millones de adultos con diabetes, lo que equivale a 9.2 % de adultos en México que han recibido ya un diagnóstico de diabetes (ENSANUT, 2012). Es a partir del incremento en la prevalencia de obesidad y de la DT2 donde surge la necesidad de establecer recomendaciones alimentarias para la población mexicana, que lleven a la prevención de esta enfermedad así como al mejoramiento del control metabólico del paciente diabético. Durante la diabetes se presentan picos exagerados de glucosa y lípidos en sangre, este estado induce estrés oxidativo, lo que aumenta en proporción directa con el aumento de la glucosa y los triglicéridos después de una comida. El aumento transitorio de los radicales libres provoca cambios aterogénicos, incluyendo inflamación y disfunción endotelial, que pueden ser un predictor de eventos cardiovasculares futuros, incluso en individuos no diabéticos. Recientemente el grupo de trabajo en Nutrición y Diabetes del Reino Unido (Diabetes UK, 2011) recomendó el uso de alimentos no refinados, alimentos de origen vegetal, ricos en fibra como verduras y frutas que puedan ayudar en el control posprandial de la glucosa, la concentración de triglicéridos y la inflamación asociados a la presencia de polifenoles debido a su efecto antioxidante. Debido a que existen pocos estudios con nopal o los que existen tienen ciertas limitaciones es importante estudiar si el nopal, que es un alimento de gran valor y tradición para los mexicanos pudiera ayudar en el control de la glucosa y para aumentar la actividad antioxidante en pacientes con DT2.

6. HIPÓTESIS

El nopal al vapor disminuye las concentraciones de glucosa, insulina, GIP y aumenta la capacidad antioxidante en plasma de pacientes con DT2, después del consumo de un desayuno alto en hidratos de carbono simples o alto en proteína de soya.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del consumo de 300 g de nopal al vapor sobre las concentraciones de glucosa, insulina, incretinas (GLP-1 y GIP) y actividad antioxidante en pacientes con diabetes tipo 2, después consumir un desayuno alto en hidratos de carbono simples o alto en proteína de soya.

7.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar el efecto del consumo de un desayuno alto en hidratos de carbono (DAHC) sobre las concentraciones de glucosa, insulina, incretinas (GLP-1 y GIP) y actividad antioxidante en pacientes con DT2 y voluntarios sanos.
2. Evaluar el efecto del consumo de 300 g de nopal al vapor con un desayuno alto en hidratos de carbono (DAHC+N) sobre las concentraciones de glucosa, insulina, incretinas (GLP-1 y GIP) y actividad antioxidante en pacientes con DT2 y voluntarios sanos.
3. Evaluar el efecto del consumo de un desayuno alto en proteína de soya (DAPS) sobre las concentraciones de glucosa, insulina, incretinas (GLP-1 y GIP) y actividad antioxidante en pacientes con DT2 y voluntarios sanos.
4. Evaluar el efecto del consumo de 300 g de nopal al vapor con un desayuno alto en proteína de soya (DAPS+N) sobre las concentraciones de glucosa, insulina, incretinas (GLP-1 y GIP) y actividad antioxidante en pacientes con DT2 y voluntarios sanos.
5. Determinar la actividad antioxidante del nopal después del consumo de los 4 desayunos mediante el método DPPH en pacientes con DT2 y voluntarios sanos.

IDENTIFICACIÓN Y OPERACIÓN DE VARIABLES

Las variables que se evaluaron durante el estudio se presentan en la tabla 4.

Tabla 4. Las variables que se evaluaron durante el estudio.

| Variable | Definición | Tipo de variable | Escala de medición |
|-------------------------------|--|-----------------------|--------------------|
| Glucosa | Medición de la concentración de glucosa en sangre total por método glucosa oxidasa | Cuantitativa continua | mg/dL |
| Insulina | Medición de insulina en suero por radioinmunoensayo | Cuantitativa continua | pmol/L |
| GIP | Medición de péptido insulínico dependiente de glucosa con kit de inmunoensayo | Cuantitativa continua | pmol/L |
| GLP-1 | Medición de péptido semejante al glucagón con kit de inmunoensayo | Cuantitativa continua | pmol/L |
| Actividad antioxidante | Medición de la reducción de DPPH | Cuantitativa continua | % |

8. METODOLOGÍA

En la Figura 12 se presenta el diagrama general que se siguió durante el protocolo de estudio.

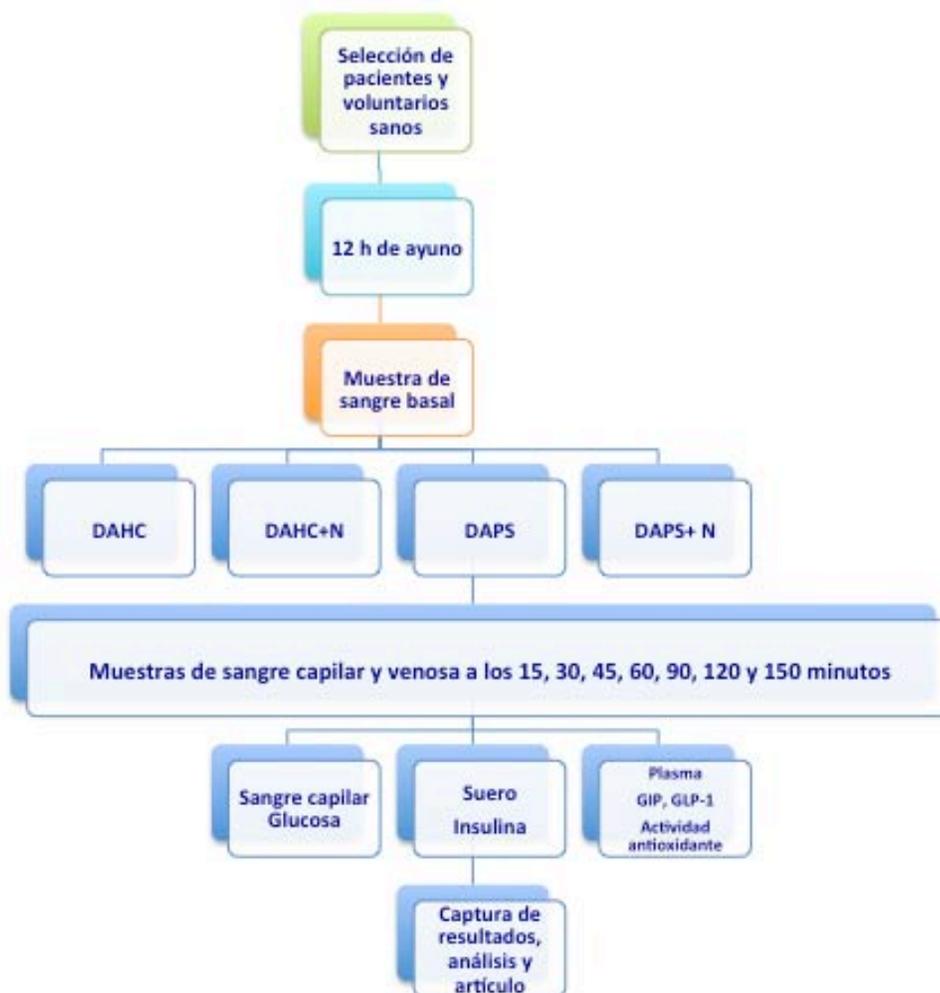


Figura 12. Diagrama general del protocolo de estudio.

8.1 SUJETOS

Se estudio a un total de 14 pacientes (hombres y mujeres) con DT2 que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión que se mencionan en el siguiente apartado. Además, se incluyó un grupo control de 7 voluntarios sanos sin DT2. Los voluntarios sanos fueron seleccionados mediante anuncios, que tuvieran un índice de masa corporal (IMC) \leq de 25 kg/m², con una edad entre 22 y 54 años,

que no tuvieran ningún problema médico y que no fumaran.

8.1.1 Criterios de inclusión de los pacientes con DT2

- ✓ Diabetes no insulino dependiente de más de 1 año de evolución.
- ✓ Estar bajo tratamiento con hipoglucemiantes orales (metformina).
- ✓ Edad entre 40- 60 años.
- ✓ IMC <30 kg/m².
- ✓ Dislipidemias e hipertensión controladas.
- ✓ Sin episodios hipoglucémicos graves en el último año.
- ✓ Concentraciones de HbA_{1C} <8%.
- ✓ Concentraciones de glucosa sérica en ayunas de 100- <200 mg/dL.

8.1.2 Criterios de exclusión.

Se excluyó a los pacientes con DT2 que:

- ✓ Realizaron ejercicio aeróbico o de resistencia el día anterior al estudio.
- ✓ Tuvieron pérdida de peso > 3 kg en los últimos 3 meses.
- ✓ Con enfermedades catabólicas como cáncer.
- ✓ Estado de gravidez.
- ✓ Tabaquismo positivo.
- ✓ Uso de medicamentos esteroides, quimioterapia, inmunosupresores o radioterapia.
- ✓ Presencia de enfermedades gastrointestinales.
- ✓ Tratamiento con medicamentos: a) anorexígenos, b) esteroides.

8.2 TRATAMIENTOS

Los pacientes con DT2 y los voluntarios sanos fueron evaluados después del consumo de 4 desayunos.

- 1) Desayuno alto en hidratos de carbono simples.
- 2) 300 g de nopal al vapor con un desayuno alto en hidratos de carbono simples.
- 3) Desayuno alto en proteína de soya (35 g de proteína de soya).
- 4) 300 g de nopal al vapor con un desayuno alto en proteína de soya.

Los desayunos fueron preparados en el departamento de Fisiología de la Nutrición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ). En la Tabla 5 se puede apreciar la composición de los dos desayunos utilizados en el estudio.

Tabla 5. Composición de los desayunos utilizados en el estudio

| | Desayuno alto en hidratos de carbono | Desayuno alto en proteína de soya |
|--------------------------------|---|--|
| Kcal | 300 | 344 |
| Hidratos de carbono (%) | 89 | 42.40 |
| Proteína (%) | 6 | 40.66 |
| Grasa (%) | 5 | 16.94 |
| Alimentos | Jugo de manzana (240 ml) Pan blanco (55.56 g) Mermelada de fresa (21 g) | Texturizado de soya (61.5 g) Bebida de soya tipo leche (230 mL) |

El DAPS fue diseñado basado en estudios previos que han demostrado que la proteína de soya reduce los picos posprandiales de insulina e incrementa la sensibilidad a la insulina (Ascencio et al., 2004; Noriega-López et al., 2007)

El DAHC+N y el DAPS+N incluyeron los alimentos descritos en la Tabla 5 más la adición de 300 g de nopal que proporcionaron; 81 Kcal, 270 g de agua, 10.5 g de fibra, 16.8 g de hidratos de carbono, 0.9 g de lípidos y 5.1 g de proteína. Los nopales fueron cortados en piezas de aproximadamente 2.0-2.5 centímetros (cm). El nopal fue cocido en una vaporera durante 11 minutos a calor medio, para evitar la pérdida de sus propiedades. El peso final después de la cocción fue de 250 g. El nopal se sirvió 10 minutos antes de cada uno de los desayunos. El nopal fue proporcionado por un solo productor de nopal de la Delegación de Milpa Alta, esto con la finalidad de evitar variabilidad química.

En la Figura 13 se presenta el DAHC y en la Figura 14 el DAHC+N en la forma en que fueron servidos a los pacientes con DT2 y a los voluntarios sanos.



Figura 13. Desayuno alto en hidratos de carbono.



Figura 14. Desayuno alto en hidratos de carbono + 300 g de nopal al vapor

En la Figura 15 se presenta el DAPS y en la Figura 16 el DAPS+N en la forma en que fueron servidos a los pacientes con DT2 y a los voluntarios sanos.



Figura 15. Desayuno alto en proteína de soya.



Figura 16. Desayuno alto en proteína de soya + 300 g de nopal al vapor.

8.3 DESCRIPCION DE LA MANIOBRA DE INTERVENCION

Visita de selección.

Pacientes con DT2: En la primera visita a los pacientes que llegaron se les midió el peso y la talla corporal, la tensión arterial (TA) , se calculó el IMC y se les tomó una muestra de sangre en ayuno de 5 ml para determinación de parámetros bioquímicos (glucosa, TGC, colesterol, HDL, LDL) y 3 ml para la determinación de HbA_{1c}. Además, se les realizó una historia clínica para recabar datos generales y de su enfermedad (ANEXO 1).

Voluntarios sanos: En esta visita a los voluntarios sanos se les determinó su peso y talla corporal, se calculó su IMC y se tomaron sus datos generales.

Medidas Antropométricas. La medición del peso corporal y la talla se determinó de acuerdo a las técnicas sugeridas por (Lohman, et al., 1988) con equipo que cumplió con normas de calidad y confiabilidad de la medición.

Peso. La medición del peso en los participantes se hizo en ayuno, con ropa ligera, y sin zapatos. El peso se midió en una báscula de precisión previamente calibrada

con el paciente de pie al centro de la báscula, en posición firme con los brazos sueltos a los lados del cuerpo y de frente al evaluador. La medición se realizó con una precisión de ± 100 g.

Talla. Para medir la talla los participantes se colocaron de pie en una superficie plana, descalzos, de espaldas al estadímetro y de frente al observador. En posición erguida con los brazos sueltos a los lados del cuerpo y las puntas apuntando hacia los muslos; los talones juntos y las puntas de los pies ligeramente separadas. Se cuidó que los talones, glúteos, escápulas y cráneo posterior estuvieran en contacto con la superficie posterior sobre la cual descansa el estadímetro. La cabeza se colocó en posición con el plano de Frankfort. Una vez conseguida la posición correcta, se deslizó el cursor del estadímetro hasta hacer contacto con el vértice de la cabeza y se registró la medida más cercana a 1 mm.

IMC. De las variables peso y la talla se obtuvo el IMC. El peso en kg se dividió entre el cuadrado de la talla en metros (kg/m^2) y de esta manera se obtuvo el IMC.

TA. La tensión arterial se midió utilizando un baumanómetro digital marca Omron, HEM-781INT. La persona se mantuvo sentada y la medición se realizó en el brazo derecho. La primera lectura se eliminó y posteriormente se tomaron 2 lecturas más para determinar la TA sistólica (TAS) y diastólica (TAD).

Parámetros bioquímicos.

Durante la visita de selección la glucosa, el colesterol, los TGC, el HDL, LDL y HbA_{1C} fueron analizadas utilizando un analizador bioquímico automatizado, COBAS FARA.

Visitas de estudio 1-4

Una vez que cumplieron los criterios de inclusión, los pacientes con DT2 y los voluntarios sanos fueron aceptados para participar en el estudio.

Cada participante fue citado en el Departamento de Fisiología de la Nutrición después de un ayuno de 12 h. Se les colocó un catéter intravenoso de calibre 0.9 x 25 mm y se obtuvo una muestra basal de 7 mL de sangre venosa; 5 ml en tubo vacutainer con gel separador para la determinación de insulina en suero y 2 mL en tubo vacutainer con 7.2 mg de ácido etilen diamino tetracético dipotásico para la determinación de GIP y GLP-1 y actividad antioxidante en plasma. Además se le tomó una muestra 0.5 mL de sangre capilar utilizando una lanceta metálica, integrada a un cuerpo de plástico, calibre 30G y punta de 3.25 mm para la determinación de glucosa en sangre total.

Inmediatamente después de obtener las muestras de sangre en ayuno (basal) , se le proporcionó a los sujetos el tratamiento correspondiente (DAHC, DAHC+N, DAPS o DAPS+N. Posteriormente, se tomaron muestras de sangre capilar y sangre venosa simultáneamente a los tiempos 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos, en el caso de los pacientes con DT2 se tomó una muestra más a los 150 minutos después de iniciado en consumo de cada desayuno.

El tubo amarillo se centrifugó a 3000 revoluciones por minuto (rpm), a 4°C por 10 minutos y el suero se almacenó a -70°C . El tubo con anticoagulante se centrifugó durante 10 minutos a 1000 xG (2450 rpm) a 4°C y el plasma se guardó a -20°C h. Las muestras de sangre capilar se fueron analizando conforme se fueron colectando para la determinación de glucosa.

8.4 Métodos

8.4.1 Glucosa en sangre total.

La glucosa capilar se determinó por el método enzimático de glucosa oxidasa en un Analizador Bioquímico YSI 2700 (Yellow Springs, Ohio, USA). Para la determinación se utilizan 10 µl de sangre total. El sustrato pasa a través de una cámara de muestra y es agitada y diluida. El sustrato se difunde a través de una membrana de policarbonato, para finalmente hacer contacto con la enzima glucosa oxidasa y es rápidamente oxidada produciendo peróxido de hidrógeno (H₂O₂). El peróxido es oxidado en la cámara de platino produciendo electrones. El flujo de electrones es proporcional al estado estacionario de la concentración peróxido, y por lo tanto a la concentración del sustrato. Las reacciones que ocurren son las siguientes:



8.4.2 Insulina en suero.

La insulina sérica se determinó a través de un estuche de radioinmunoensayo (Human RIA kit, LINCO Research Inc., ST Charles, MO). Los complejos inmunes se contabilizaron en un contador Cobra II Gamma (Packard Instruments). El método consiste en mezclar una cantidad constante de antígeno marcado radioactivamente y una cantidad constante de un anticuerpo para ese antígeno. Se lleva a cabo la reacción antígeno-anticuerpo. Posteriormente, se separa la fracción de antígeno que se ha unido de la que permanece libre. Se cuantifica la radiactividad. Si la muestra contiene antígeno no marcado, éste competirá con el marcado para unirse al anticuerpo por lo que habrá un descenso en la radiactividad. El descenso es proporcional a la concentración de antígeno no marcado de la muestra.

8.4.3 GIP y GLP-1 en plasma.

Para la determinación de GLP-1 activo y GIP las muestras de plasma fueron analizadas con un kit de inmunoensayo (Human Gut Hormone, Panel LinCoplex Kit) utilizando el equipo Luminex (LINCO plex 200).

8.4.4 Actividad antioxidante en plasma.

La determinación de la actividad antioxidante se determinó por el método DPPH.

Atrapamiento de radicales libres por el método DPPH.

El método de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo se utiliza para evaluar la actividad antioxidante de un compuesto o de una mezcla. Se basa en la reducción del DPPH, un radical libre que por su electrón desapareado presenta absorbancia a 517 nm (púrpura) y en presencia de un antioxidante (donador de hidrógeno o electrones) la absorbancia disminuye.

A partir del ensayo con DPPH se obtiene la concentración efectiva (IC_{50}) que se define como la concentración a la cual se disminuye en un 50% la concentración inicial de DPPH.

Ensayo

Se colocaron en tubo Eppendorf, 50 μ L de solución salina, 25 μ L de plasma más 50 μ L de DPPH (1mM). La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 2 minutos. Posteriormente se agregaron 800 μ L de etanol absoluto, se mezcló e incubó durante 2 minutos a temperatura ambiente (Koren et al., 2010). Por último se centrifugó a 1,500 xG durante 2 minutos. Se leyó la absorbancia del sobrenadante en un espectrofotómetro DU 640 Beckman Coulter a 517 nm. De manera paralela se realizó una prueba utilizando como atrapador el ácido ascórbico (vitamina C) bajo las mismas condiciones en que se realizó la mezcla de la muestra.

8.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calculó IABC de glucosa, insulina, GLP-1 y GIP de cada sujeto estudiado. El IABC se calculó excluyendo el valor basal y se utilizó la suma de las de las áreas de los triángulos y rectángulos (Torres et al., 2006). El IABC se expresó como el promedio \pm EE, las diferencias entre cada desayuno se evaluaron con la prueba de t student y el valor significativo de p se estableció en < 0.05 de una cola.

Para determinar el efecto de la dieta a través del tiempo, sobre las concentraciones de glucosa, insulina, GLP-1 y GIP se realizó un análisis de medidas repetidas. Para las pruebas estadísticas se estableció un valor significativo de $p < 0.05$. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el paquete estadístico Prism 6.0b para Mac OS Xb (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA).

8.6 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este proyecto fue aprobado por el comité de ética en humanos del INCMNSZ (ANEXO 2). Ninguno de los participantes recibió alguna compensación por su participación. Todos los participantes firmaron la carta de consentimiento informado (ANEXO 3).

9. RESULTADOS.

9.1 Características de los participantes.

Se entrevistó a un total de 50 pacientes que acudieron al departamento de Fisiología de la Nutrición en el INCMNSZ. Se les aplicó la historia clínica y se les determinó su peso y talla para calcular su IMC. En el día de la entrevista un total de 28 pacientes fueron excluidos por no cumplir con los criterios de inclusión mientras que 22 pacientes fueron aceptados y citados para tomarles una muestra de sangre venosa. Después de realizar los análisis de sangre 8 pacientes tuvieron valores de HbA_{1C} > de 8 % por lo cual no fueron aceptados para ser incluidos en el protocolo. Finalmente, 14 pacientes cumplieron con todos los criterios de inclusión y todos fueron citados para su evaluación con los diferentes desayunos. Se evaluó también a un total de 7 voluntarios sanos. Las características generales de los pacientes con DT2 y de los voluntarios sanos se presentan en la Tabla 6 y Tabla 7 respectivamente.

Tabla 6. Características clínicas y bioquímicas de los pacientes con diabetes tipo 2.

| Variable | Resultado* |
|--------------------------|------------|
| n= | 14 |
| Edad (años) | 48 ± 2 |
| TAS | 116 ± 3 |
| TAD | 74 ± 2 |
| Peso (kg) | 75 ± 3 |
| Talla (cm) | 160 ± 2.5 |
| IMC (kg/m ²) | 28 ± 1 |
| Glucosa (mg/dL) | 120 ± 6 |
| Colesterol (mg/dL) | 190 ± 8 |
| TGC (mg/dL) | 236 ± 34 |
| HDL (mg/dL) | 35 ± 2 |
| LDL (mg/dL) | 107 ± 9 |
| HbA _{1C} (%) | 6 ± 0.24 |

* Promedio ± EE

Tabla 7. Características generales de los voluntarios sanos.

| Variable | Resultado* |
|-----------------|-------------------|
| n= | 7 |
| Edad (años) | 24 ± 1.2 |
| Peso (kg) | 60.74 ± 2.8 |
| Talla (cm) | 165 ± 0.02 |
| IMC | 22.20 ± 0.58 |

* Promedio ± EE

9.2 Efecto del nopal al vapor en pacientes con diabetes tipo 2.

9.2.1 Efecto del nopal al vapor después del consumo de un desayuno alto en hidratos de carbono en pacientes con DT2.

Glucosa.

Los pacientes con DT2 tuvieron concentraciones de glucosa basal de 103 mg/dL como se puede observar en la Figura 17. El consumo del DAHC incrementó gradualmente las concentraciones de glucosa en sangre, alcanzando un máximo valor de 183 ± 10 mg/dL al minuto 60. Mientras que el consumo del DAHC+N disminuyó significativamente los picos posprandiales de glucosa en 34 y 36 mg/dL al minuto 45 y 60 ($p < 0.01$) respectivamente, como se muestra en la Figura 17. El IABC con el DAHC+N fue significativamente menor (5170 ± 553) con respecto al DAHC (7965 ± 892), el porcentaje de reducción corresponde a 35 %, $p < 0.001$ (Figura 18).

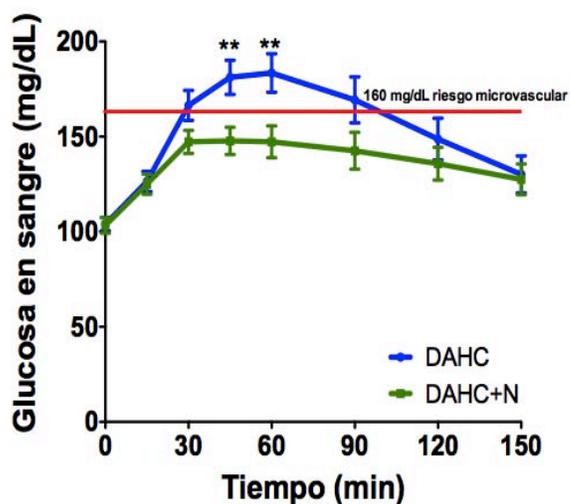


Figura 17. Glucosa en sangre total después del consumo de un DAHC y después del consumo de un DAHC+N en pacientes con DT2. Promedio \pm EE, n=14.

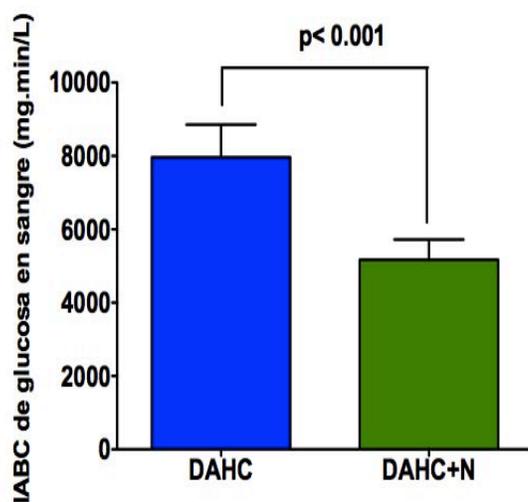


Figura 18. IABC de glucosa en sangre total después del consumo de un DAHC y después del consumo de un DAHC+N en pacientes con DT2. Promedio \pm EE, n=14.

Insulina.

Con respecto a las concentraciones basales de insulina, los pacientes con DT2 tuvieron una mayor concentración de insulina en suero (139 ± 16 pmol/L) como podemos ver en la Figura 19 en comparación con los participante sanos (55 ± 7

pmol/L). No hubo diferencia significativa en la concentración de insulina a través del tiempo, sin embargo el IABC de insulina fue menor (18 %) después del consumo del DAHC+N (35715 ± 5003) en comparación con el DAHC (43878 ± 6544) $p < 0.05$ (Figura 20).

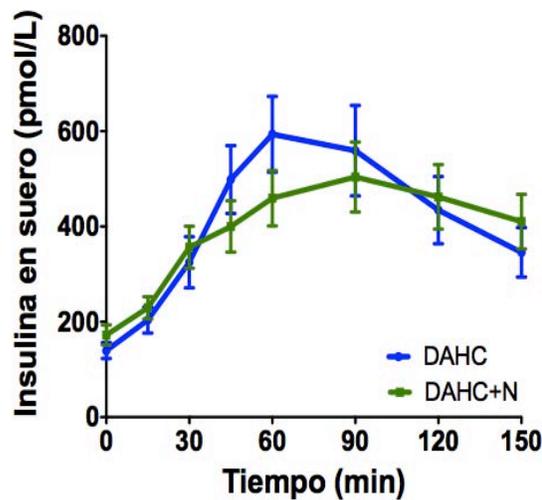


Figura 19. Insulina en suero después del consumo de un DAHC y después del consumo de un DAHC+N en pacientes con DT2. Promedio \pm EE, n=14.

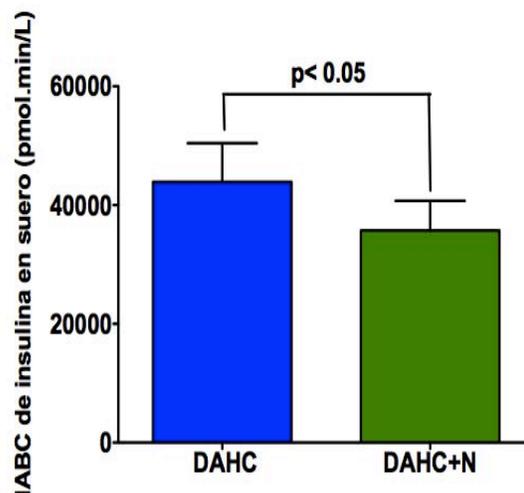


Figura 20. IABC de insulina en suero después del consumo de un DAHC y después del consumo de un DAHC+N en pacientes con DT2. Promedio \pm EE, n=14.

GIP total.

Los pacientes con DT2 tuvieron mayores concentraciones de GIP (14.5 ± 3.0 pmol/L) en el ayuno (Figura 21) en comparación con los participantes sanos (4.6 ± 1 pmol/L). A los quince minutos de haber ingerido el DAHC, los pacientes con DT2 tuvieron un incremento rápido en las concentraciones de GIP, alcanzando su valor máximo a los 60 minutos (35.5 ± 4.6 pmol/L). La ingestión del DAHC+N redujo los picos posprandiales de GIP entre el minuto 30 y 60 (14.9 y 19.5 pmol/L respectivamente) (Figura 21).

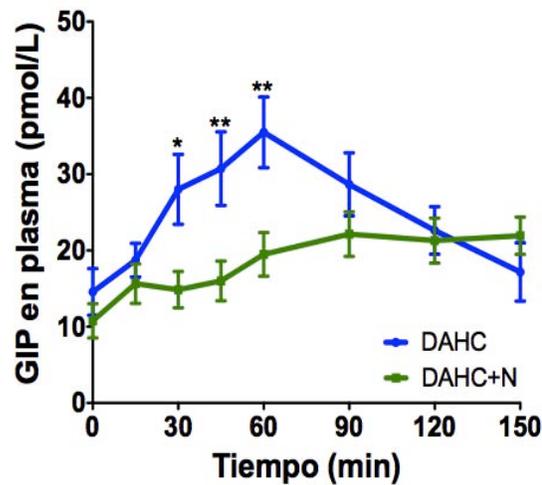


Figura 21. GIP en plasma después del consumo de un DAHC y después del consumo de un DAHC+N en pacientes con DT2. Promedio \pm EE, n=14.

GLP-1 activo.

Después de un ayuno de 12 h las concentraciones de GLP-1 en los pacientes con DT2 fueron de 14.7 pmol/L. No hubo un efecto significativo en los pacientes con DT2 después del consumo del DAHC+N a través del tiempo (Figura 22), ni en el IABC (11.6% de reducción).

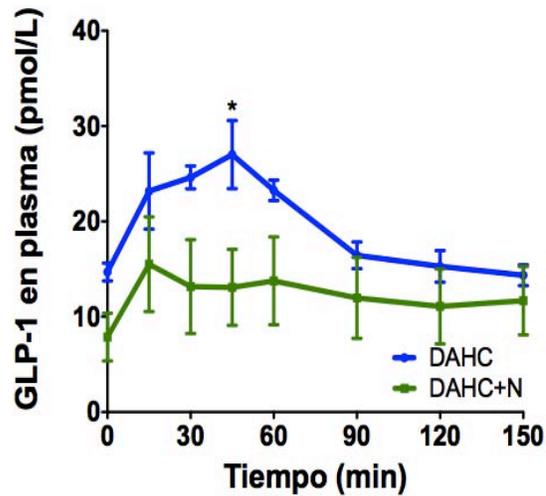


Figura 22. GLP-1 en plasma después del consumo de un DAHC y después del consumo de un DAHC+N en pacientes con DT2. Promedio \pm EE, n=14.

9.2.2 Efecto del nopal después del consumo de un desayuno alto en proteína de soya en pacientes con DT2.

Glucosa.

Con respecto al DAPS, los pacientes con DT2 tuvieron una mayor concentración de glucosa en ayuno (99.5 ± 4.6 mg/dL) (Figura 23) con respecto a los participantes sanos (73.9 ± 2 mg/dL). Interesantemente, el DAPS con y sin nopal produjo un pico de glucosa posprandial menor de (127.0 ± 5.4 mg/L) con respecto al DAHC a los 30,45, 60 y 90 ($p < 0.001$) y 120 min ($p < 0.01$), y fue más efectivo para reducir los picos posprandiales de glucosa. No se encontró diferencia significativa entre el DAPS y el DAPS+N a través del tiempo. El IABC en pacientes con DT2 fue similar con el DAPS (2229 ± 378) y con el DAPS+N (1655 ± 383).

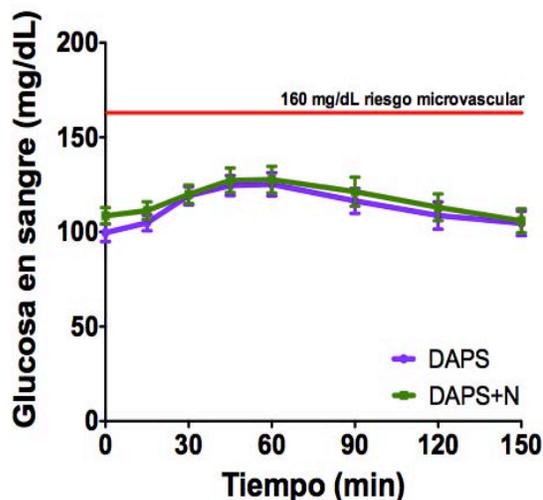


Figura 23. Glucosa en sangre total después del consumo de un DAPS y después del consumo de un DAPS+N en pacientes con DT2. Promedio \pm EE, n=14.

Insulina.

Como era de esperarse, los pacientes con DT2 tuvieron mayores concentraciones de insulina en ayuno (134 ± 12 pmol/L) (Figura 24) que la de los voluntarios sanos (79 ± 11 pmol/L). Después del consumo del DAPS, las concentraciones de insulina en los pacientes con DT2 se incrementaron, alcanzando el valor máximo a los 90 minutos. No hubo diferencia significativa en la concentración de insulina través del tiempo (Figura 24) ni en el IABC entre el DAPS y el DAPS+N en el grupo de pacientes con DT2. Mientras que en los participantes sanos la ingestión del DAPS+N redujo significativamente el IABC de insulina en un 35%.

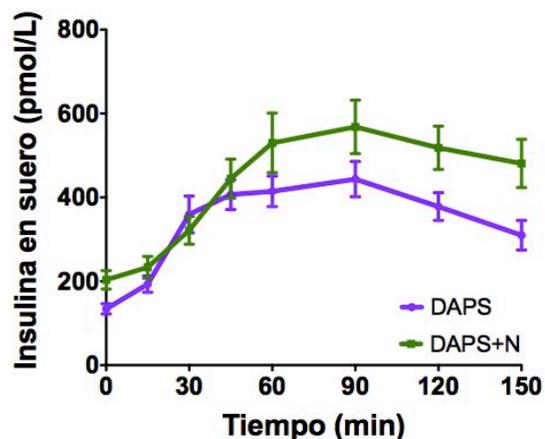


Figura 24. Insulina en suero después del consumo de un DAPS y después del consumo de un DAPS+N en pacientes con DT2. Promedio \pm EE, n=14.

GIP total.

Las concentraciones de GIP en ayuno de los pacientes con DT2 y los voluntarios sanos fueron similares (7.4 ± 1.1 y 5.43 ± 1.1 pmol/L respectivamente). Quince minutos después de que los pacientes con DT2 ingirieron el DAPS tuvieron un incremento rápido en las concentraciones de GIP las cuales alcanzaron un valor máximo de 28.6 ± 2.5 pmol/L a los 30 minutos (Figura 25). En los pacientes con DT2 la ingestión del DAPS + N redujo significativamente las concentraciones de GIP al minuto 30 ($p < 0.001$) y 45 ($p < 0.05$) con respecto al DAPS. También hubo una disminución significativa ($p < 0.01$) en el IABC después de la ingestión del DAPS+N comparado con el DAPS (1744 ± 258 vs 2448 ± 229), la reducción fue de 28% (Figura 26).

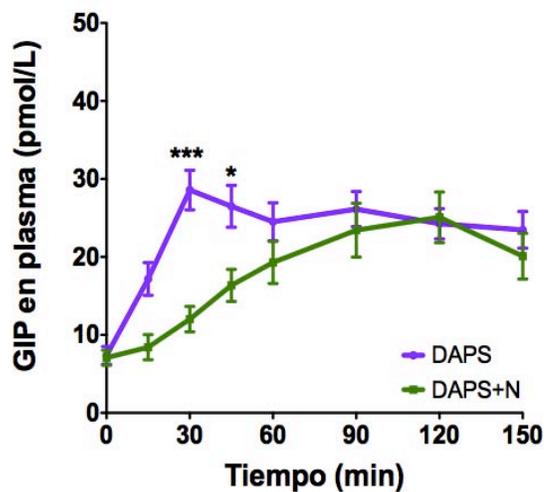


Figura 25. GIP en plasma después del consumo de un DAPS y después del consumo de un DAPS+N en pacientes con DT2. Promedio \pm EE, n=14.

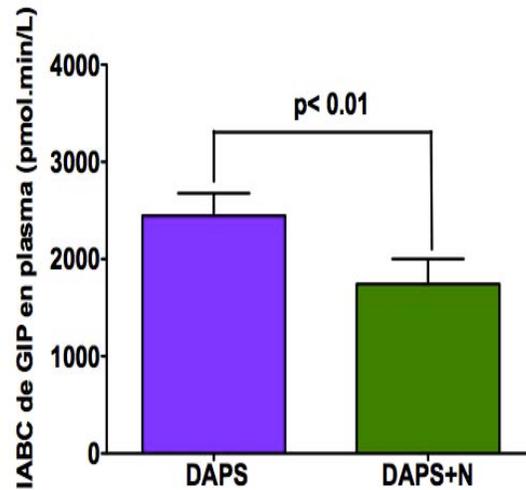


Figura 26. IABC DE GIP después del consumo de un DAPS y después del consumo de un DAPS+N en pacientes con DT2. Promedio \pm EE, n=14.

GLP-1 activo.

No hubo un efecto significativo en los pacientes con DT2 a través del tiempo (Figura 27), ni en el IABC después del consumo del DAHC+N y del DAPS+N (21% de reducción).

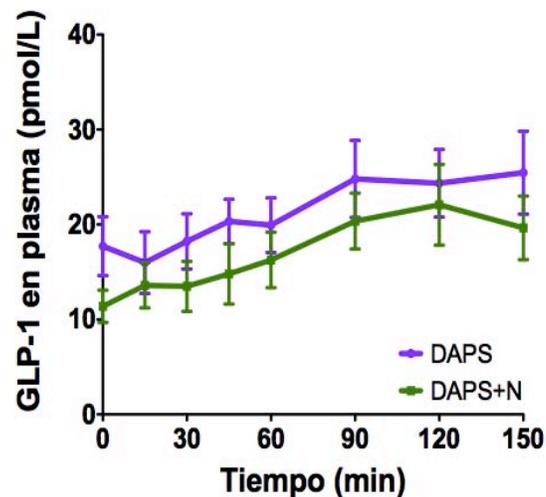


Figura 27. GLP-1 en plasma después del consumo de un DAPS y después del consumo de un DAPS+N en pacientes con DT2. Promedio \pm EE, n=14.

9.2.3 Efecto del nopal en la actividad antioxidante después del consumo de un desayuno alto en hidratos de carbono y de un desayuno alto en proteína de soya en pacientes con DT2.

Como podemos apreciar en la Figura 28, la actividad antioxidante en los pacientes con DT2 después del consumo del DAHC+N se incremento significativamente a los 120 minutos ($14.5 \pm 1\%$) con respecto al DAHC ($7.1 \pm 1.4\%$) $p < 0.0016$. En lo que respecta al DAPS+N los pacientes con DT2 también mostraron una mayor actividad antioxidante al minuto 120 ($17.1 \pm 1.9\%$) comparado con el DAPS ($7.7 \pm 0.5\%$) $p < 0.0006$ (Figura 29).

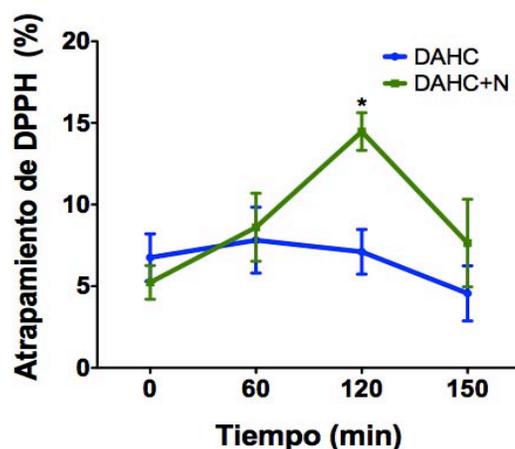


Figura 28. Atrapamiento de DPPH en plasma después del consumo de un DAHC y después del consumo de un DAHC+N en pacientes con DT2. Promedio \pm EE, n=14.

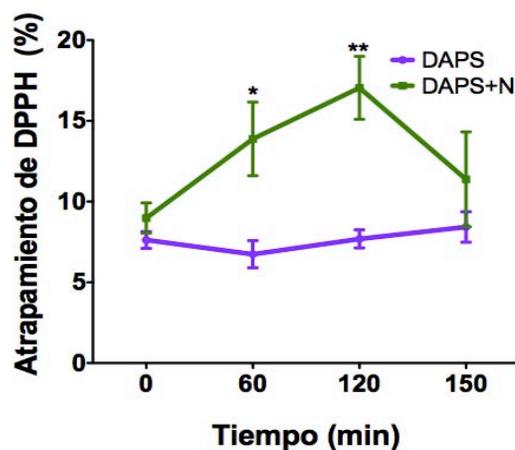


Figura 29. Atrapamiento de DPPH en plasma después del consumo de un DAPS y después del consumo de un DAPS+N en pacientes DT2. Promedio \pm EE, n=14.

9.3. Efecto del nopal al vapor en voluntarios sanos.

9.3.1 Efecto del nopal al vapor después del consumo de un desayuno alto en hidratos de carbono en voluntarios sanos.

Glucosa

En cuanto al grupo de voluntarios sanos el consumo del DAHC incremento gradualmente las concentraciones de glucosa a través del tiempo alcanzando un pico máximo de $120 \pm 0.1.8$ mg/dL a los 30 minutos, mientras que con el consumo del DAHC+N alcanzaron un valor máximo de 107 ± 4.6 . Así la inclusión de nopal disminuyó significativamente los picos posprandiales a los 45 y 60 minutos ($p < 0.05$) (Figura 30). Sin embargo no hubo diferencia significativa en la reducción del IABC de glucosa después del consumo del DAHC+N (15% de reducción).

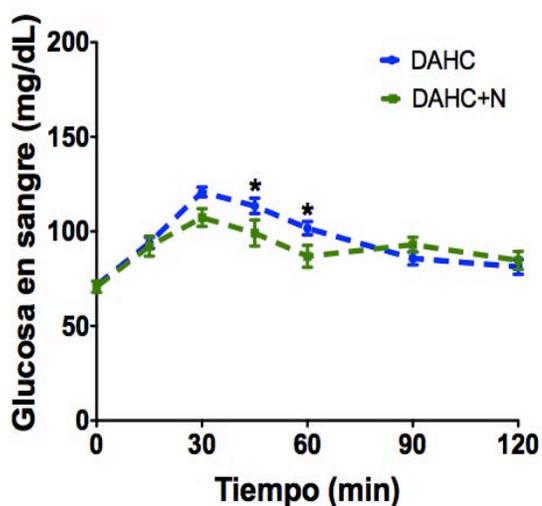


Figura 30. Glucosa en sangre total después del consumo de un DAHC y después del consumo de un DAHC+N en voluntarios sanos. Promedio \pm EE, $n=7$.

Insulina.

En los voluntarios sanos no se encontró diferencia significativa en la concentración de insulina durante las 2 horas de la prueba con el DAHC o con el DAHC+N (Figura 31). En el IABC tampoco se encontró diferencia significativa a pesar de que hubo un 24% de reducción.

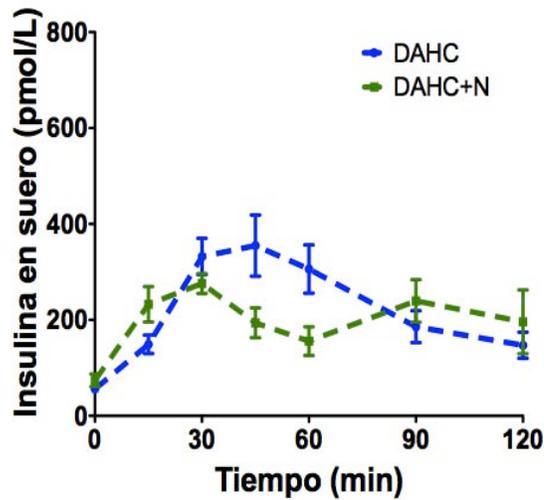


Figura 31. Insulina en suero después del consumo de un DAHC y después del consumo de un DAHC+N en voluntarios sanos. Promedio \pm EE, n=7.

GIP total.

En los voluntarios sanos, el consumo del DAHC+N redujo significativamente el pico de GIP a los 60 minutos en comparación con el DAHC ($p < 0.05$) como se muestra en la Figura 32. Al analizar el IABC se pudo observar que existe una disminución importante del 65%, ($p < 0.01$) con el DAHC+N comparada con el DAHC (592 ± 167 vs 1719 ± 244 pmol/L) (Figura 33).

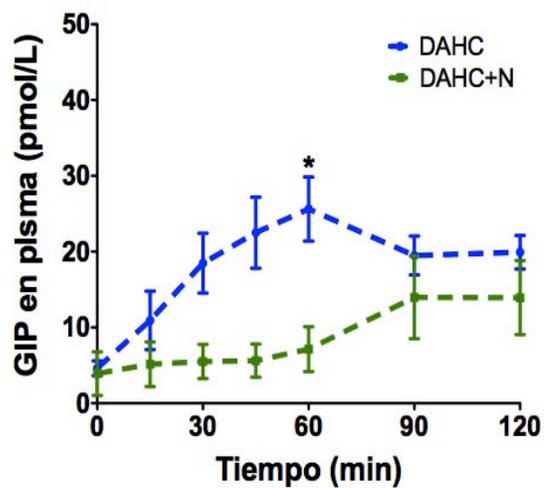


Figura 32. GIP en plasma después del consumo de un DAHC y después del consumo de un DAHC+N en voluntarios sanos. Promedio \pm EE.

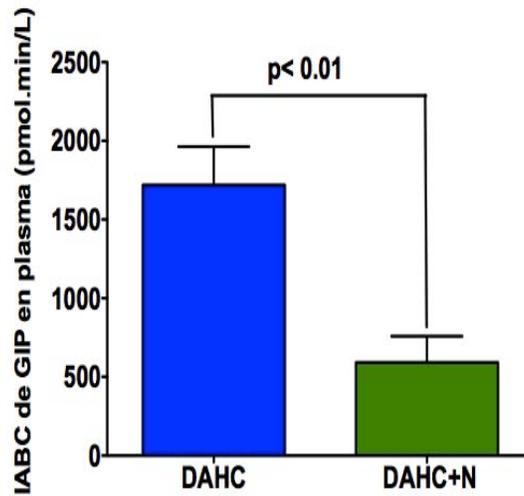


Figura 33. IABC de GIP después del consumo de un DAHC y después del consumo de un DAHC+N en voluntarios sanos. Promedio \pm EE.

GLP-1 activo

En los voluntarios sanos la concentración basal de GLP-1 fue de 9.4 ± 1.8 pmol/L. No hubo un efecto significativo después del consumo del DAHC+N en las 2 horas (Figura 34) ni en el IABC.

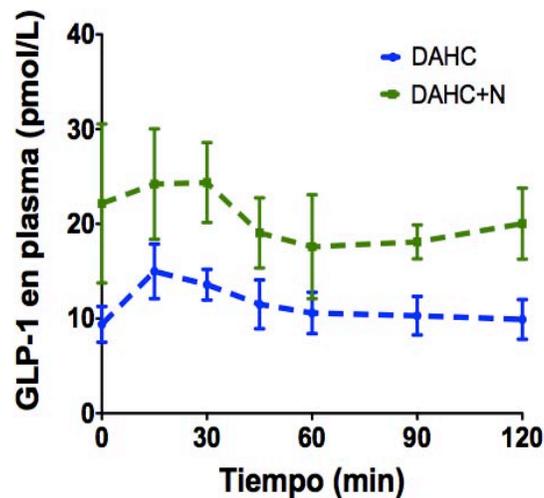


Figura 34. GLP-1 en plasma después del consumo de un DAHC y después del consumo de un DAHC+N en voluntarios sanos. Promedio \pm EE.

9.3.2 Efecto del nopal después del consumo de un desayuno alto en proteína de soya en voluntarios sanos.

Glucosa.

Los voluntarios sanos tuvieron valores de glucosa basal de 73.8 ± 2.01 mg/dL, y al igual que en los pacientes con DT2 el consumo del DAPS con y sin nopal resultó en picos posprandiales menores, que en este caso fueron de 85 mg/dL con respecto al DAHC (Figura 35). Por lo tanto, el DAPS fue más efectivo para el control de la glucosa. No se encontró diferencia significativa en el IABC.

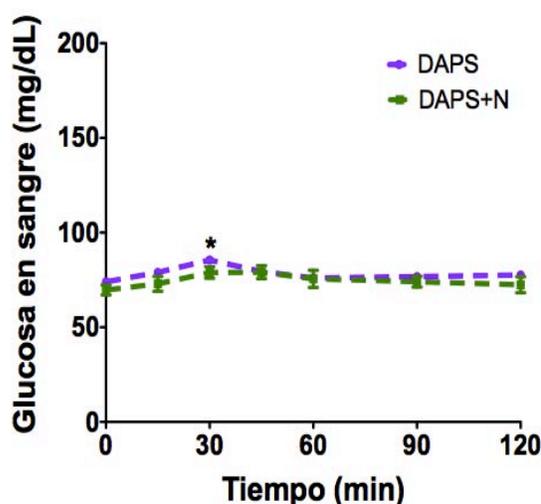


Figura 35. Glucosa en sangre total después del consumo de un DAPS y después del consumo de un DAPS+N en voluntarios sanos. Promedio \pm EE.

Insulina.

Los voluntarios sanos presentaron concentraciones de insulina basal de (79 ± 11) pmol/L). Después del consumo del DAPS, las concentraciones de insulina se incrementaron, alcanzando el valor máximo de 323 ± 45 pmol/L y con el DAPS+N el valor mayor alcanzado fue de 227 ± 86 pmol/L (Figura 36). Aunque no hubo diferencia significativa en la concentración de insulina a través del tiempo, se puede apreciar que hubo una diferencia significativa en el IABC entre el DAPS y el DAPS+N (35 % de reducción), $p < 0.05$ (Figura 37).

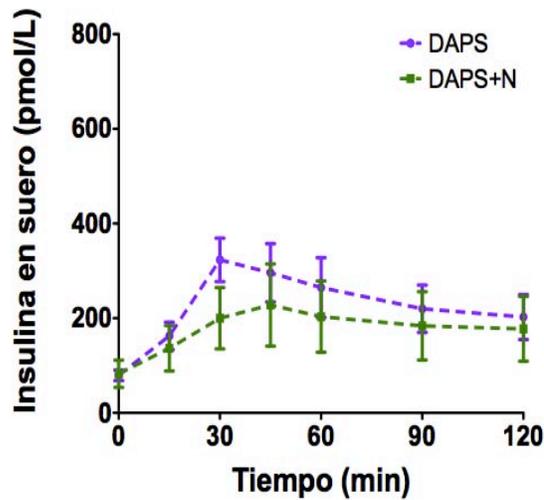


Figura 36. Insulina en suero después del consumo de un DAPS y después del consumo de un DAPS+N en voluntarios sanos. Promedio \pm EE.

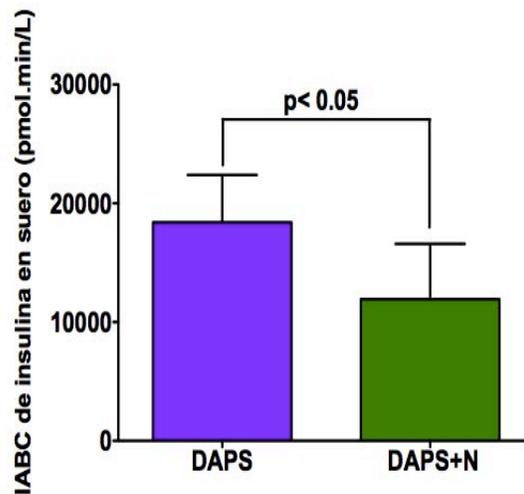


Figura 37. IABC de Insulina en suero después del consumo de un DAPS y después del consumo de un DAPS+N en voluntarios sanos. Promedio \pm EE.

GIP total

En los voluntarios sanos hubo un incremento en las concentraciones de GIP, empezando 15 minutos después de la ingestión del DAPS, alcanzando un pico máximo de aproximadamente 30 ± 3.4 pmol/L de los 30 a los 90 minutos como se

puede apreciar en la Figura 38. Aunque hubo una reducción de 48%, no hubo diferencia significativa en el IABC entre el DAPS y el DAPS+N.

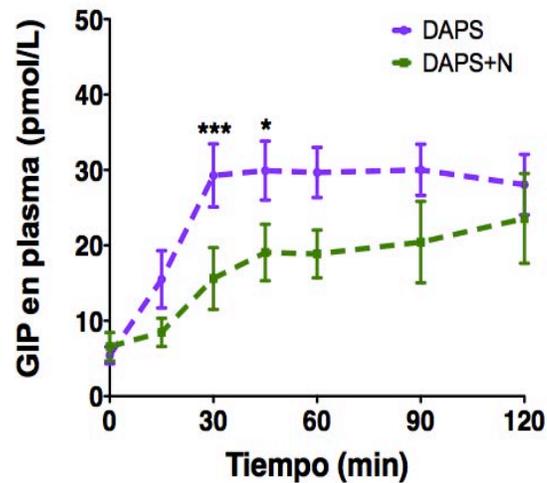


Figura 38. GIP en plasma después del consumo de un DAPS y después del consumo de un DAPS+N en voluntarios sanos. Promedio \pm EE.

GLP-1 activo.

La concentración de GLP-1 basal fue de 9.4 ± 1.2 pmol/L. No hubo un efecto significativo después del consumo del DAPS+N (Figura 39).

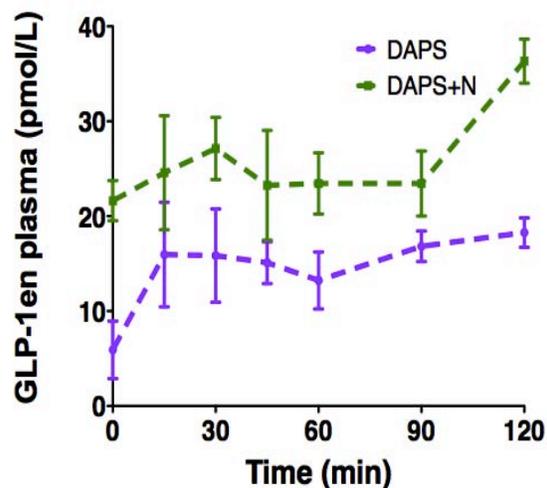


Figura 39. GLP-1 en plasma después del consumo de un DAPS y después del consumo de un DAPS+N en voluntarios sanos. Promedio \pm EE.

9.3.3 Efecto del nopal en la actividad antioxidante después del consumo de un desayuno alto en hidratos de carbono y de un desayuno alto en proteína de soya en voluntarios sanos.

En los voluntarios sanos la actividad antioxidante se incremento significativamente a los 120 minutos ($12.6 \pm 1.8\%$) después del consumo del DAHC+N comparado con el DAHC ($9 \pm 1.8\%$) $p=0.05$ (Figura 40). Cuando los voluntarios sanos consumieron el DAPS+N el incremento en la actividad antioxidante fue evidente desde los 60 minutos ($21.3 \pm 0.9\%$ contra $9.7 \pm 2.5\%$ para el DAPS), $p=0.005$ y a los 120 minutos ($23.4 \pm 2.8\%$ vs $10.7 \pm 3.5\%$), $p=0.003$ (Figura 41).

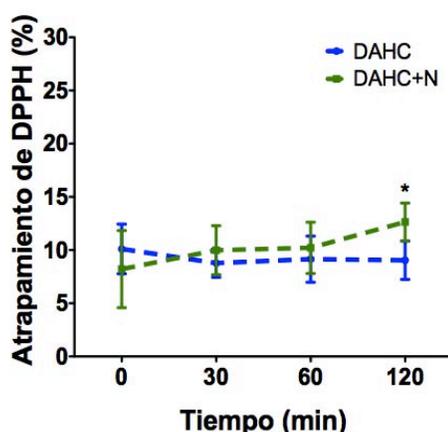


Figura 40. Atrapamiento de DPPH en plasma después del consumo de un DAHC y después del consumo de un DAHC+N en voluntarios sanos. Promedio \pm EE.

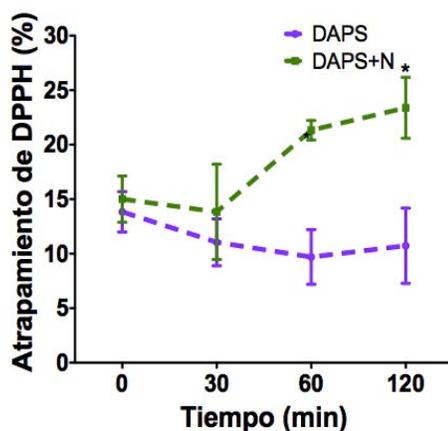


Figura 41. Atrapamiento de DPPH en plasma después del consumo de un DAPS y después del consumo de un DAPS+N en Voluntarios sanos. Promedio \pm EE.

10. Discusión

La diabetes asociada al consumo de dietas altas en calorías, ricas en alimentos procesados y a una vida sedentaria entre otros factores, es una de las principales causas de mortalidad en los adultos mexicanos. Por esta razón, en la actualidad se han sugerido cambios en el estilo de vida como una estrategia para controlar las anomalías asociadas con la DT2 (Hodge et.al., 2004). Los picos posprandiales de glucosa en los pacientes con DT2 están implicados como un factor de riesgo de las complicaciones micro y macrovasculares (Bonora, 2002) que generan un exceso de ERO que pueden desencadenar una cascada bioquímica que resulta en inflamación y disfunción endotelial (Celermajer, 1997). Por lo tanto, se desarrolló una estrategia dietaria incluyendo el uso de nopal, para minimizar los picos posprandiales de glucosa y reducir y retrasar la progresión a largo plazo de las complicaciones microvasculares de pacientes con DT2. En un estudio en sujetos con diabetes tipo 2 se demostró que los picos posprandiales de glucosa después del desayuno fueron predictores de infarto al miocardio y mortalidad en pacientes recién diagnosticados con la enfermedad (Cavalot et al., 2006). Por lo tanto, las estrategias para minimizar los picos posprandiales de glucosa son vitales para reducir las complicaciones del paciente con DT2. Algunos estudios clínicos y epidemiológicos han sugerido los beneficios de consumir polisacáridos complejos de leguminosas y alimentos ricos en pectinas (Hodge et al., 2004) como el nopal (Stintzing, 2005). Estudios previos en el laboratorio han demostrado que el nopal tiene un efecto antihipeglucemiante y no un efecto hipoglucemiante como se había previamente reportado ya que los pacientes con DT2 después del consumo 300 g de nopal no disminuyeron sus concentraciones de glucosa posprandial en sangre.

Los antecedentes previos en el laboratorio mostraron que el nopal tiene un IG e IIn bajo por lo que puede ser recomendado para pacientes con DT2. Interesantemente, el IG e IIn bajos fueron asociados con una reducción en el IABC de las concentraciones de GIP en plasma en sujetos sanos. Estos resultados sugieren que el nopal podría regular las concentraciones de glucosa e insulina a

través de la modulación de los niveles de GIP (López, et al., 2008). Los nutrimentos tales como la glucosa, grasas y aminoácidos afectan la liberación de insulina a través de diferentes mecanismos, como puede ser a través de la liberación de incretinas (Dupre et al., 1973; Pederson et al., 1975; Elliot et al., 1993). Por esta razón, surgió el interés de estudiar el efecto del nopal sobre las concentraciones de glucosa en sangre, insulina en suero, GIP y GLP-1 en plasma después del consumo de un DAHC o DAPS. De manera importante, la inclusión del nopal al vapor en el DAHC redujo significativamente los picos de glucosa posprandial. Por otro lado, el DAPS y el DAPS+N evitaron los picos posprandiales de glucosa. Estos resultados son importantes debido a que la recomendación de la American Diabetes Association es orientar a los pacientes con DT2 para mantener los niveles de glucosa en sangre en el rango normal o lo más cercano posible a lo normal (Standars of medical care, 2013). El European Diabetes Policy Group ha establecido que el pico posprandial máximo de glucosa no exceda de 135 mg/dL para reducir el riesgo arterial y de 160 mg/dL para reducir el riesgo microvascular (Pearce et.al., 2008). La inclusión de nopal en el DAHC en los pacientes con DT2 podría reducir el riesgo microvascular ya que redujo las concentraciones de glucosa en 36 mg/dL, manteniendo el valor cerca del recomendado por el European Diabetes Policy Group. Mientras que la presencia de nopal en el DAPS podría reducir el riesgo arterial y microvascular ya que evito significativamente los picos posprandiales de glucosa alcanzando un valor máximo de 127 mg/dL al minuto 60, el cual se mantiene por debajo de los valores recomendados por el European Diabetes Policy Group. El consumo del nopal redujo significativamente el IABC de insulina en suero de los pacientes con DT2 después del consumo del DAHC.

La homeostasis de la glucosa posprandial es controlada no sólo por la estimulación directa de la insulina por parte de los nutrimentos absorbidos, si no también a través de la secreción de las incretinas, GLP-1 y GIP. En sujetos sanos, se estima que la contribución del efecto incretina sobre la secreción total de insulina es de 50-70 % dependiendo del tamaño y composición de la comidas (Wollmer et al., 2008). En el presente estudio, los niveles de GIP se incrementan

en los pacientes con DT2 durante el posprandio en comparación con los voluntarios sanos, y el efecto insulínico del GIP fue mantenido y asociado con las concentraciones de insulina en los pacientes con DT2 debido a que los niveles de insulina se incrementaron como los niveles de GIP aumentaron. Sin embargo, las concentraciones de glucosa permanecieron altas, lo cual podría indicar resistencia a la insulina. Interesantemente, la inclusión de nopal en el DAHC o en el DAPS redujo significativamente los picos posprandiales de GIP en los pacientes con DT2 y en los participantes sanos. Se ha demostrado que en las personas con obesidad las concentraciones de GIP en plasma son elevadas (Falko et al., 1975). Los receptores funcionales de GIP son localizados no sólo en el páncreas y estómago sino también en los adipocitos (Yip et al., 1998). Por lo tanto, puede ser posible que GIP juegue un papel importante en el metabolismo de los lípidos, promoviendo la captación de glucosa y ácidos grasos y el almacenamiento de ácidos grasos en triglicéridos (Yip et al., 1998). Estudios a largo plazo en ratas han demostrado que la adición de nopal en una dieta alta en grasa saturada y azúcar en el agua disminuye significativamente la ganancia de peso.

Actualmente hay evidencia científica importante de estudios *in vitro* y *in vivo* que señalan que la hiperglucemia y posiblemente los niveles elevados de ácidos grasos libres (solos o en combinación) pueden conducir a la generación de ERO y consecuentemente un incremento en la en el estrés oxidativo. En la ausencia de una respuesta compensatoria adecuada por el sistema antioxidante endógeno, el sistema se ve afectado, resultando en un desequilibrio redox, lo que agrava aún más la situación (Evans et al., 2003). Debido a la presencia de polifenoles tales como la quercetina, isoramnetina y kaempferol, vitamina C y β carotenos en el nopal nosotros estuvimos interesados en medir la actividad antioxidante en plasma de pacientes con DT2 y en voluntarios sanos después del consumo del nopal. Se demostró que el consumo de nopal provee actividad antioxidante en el plasma de los pacientes con DT2 y de los voluntarios sanos después de 2 horas de su consumo. El consumo del nopal podría tener un efecto compensatorio en la disminución de los antioxidantes endógenos durante la DT2, y por lo tanto la probabilidad de reducción en la activación de las vías sensibles al estrés oxidativo

que causan daño y son las responsables de las complicaciones a largo plazo de la diabetes, tales como nefropatía, retinopatía, neuropatía y daño micro y macro vascular. (Evans et al., 2003).

Finalmente, los resultados de este estudio pueden ayudar a promover el uso de alimentos tradicionales en la cultura mexicana. Estudios epidemiológicos han mostrado cambios importantes en los patrones de consumo de alimentos tradicionales en los hogares en México (Flores et al., 2010). Como efecto de la globalización y aculturación en dichos estudios se ha demostrado una disminución en el uso de alimentos tradicionales y un incremento en el consumo de grasas, azúcares refinados y una disminución en el consumo de vegetales y frutas. Así, el presente estudio sería de gran utilidad para la población ya que en varios estudios se ha demostrado una correlación entre obesidad, diabetes y aculturación.

11. Conclusiones

Nuestros resultados muestran que el nopal tiene bajo índice glucémico e insulinémico por lo que puede ser recomendado para pacientes con DT2. La inclusión del nopal en el DAHC tuvo un efecto antihiper glucémico y antihiperinsulinémico y en el DAPS evito los picos posprandiales de glucosa, El consumo de nopal en el DAHC y DAPS disminuyó los picos posprandiales de GIP e incremento la actividad antioxidante en voluntarios sanos y en pacientes con DT2. Así, este trabajo podría demostrar un mecanismo novedoso por el cual el nopal tiene un efecto significativo sobre los niveles de glucosa en sangre posiblemente a través de la regulación de las concentraciones de GIP en plasma.

Agradecimiento

Este estudio fue financiado por el Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal. Fundación Produce 2010 y Nutriva de México S.A. de C.V. Aguascalientes, Ags. México.

12. Bibliografía.

Ascencio C, Torres N, Isoard-Acosta F, Gómez-Pérez FJ, Hernández-Pando R, Tovar AR. Soy protein affects serum insulin and hepatic SREBP-1 mRNA and reduces fatty liver rats. *J Nutr.* 2004;134:522-529.

Astaneie F, Afshari M, Mojtahedi A, Mostafalou S, Zamani MJ, Larijani B, Abdollahi M. Total antioxidant capacity and levels of epidermal growth factor and nitric oxide in blood and saliva of insulin-dependent diabetic patients. *Arch Med Res.* 2005;36:376-381

Ávila-Nava A, Cálderón-Oliver M, Medina-Campos ON, Zou T, Gu L, Torres N, Tovar AR, Pedraza-Chaverri J. Extract of cactus (*Opuntia ficus indica*) cladodes scavenges reactive oxygen species in vitro and enhances plasma antioxidant capacity in humans. *J Funct foods.* 2014;10:13-24.

Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroentology.* 2007;132:2131-2157.

Barclay AW, Petocz P, McMillan-Price J, Flood VM, Prvan T, Mitchell P, Brand-Miller JC. *Am J Clin Nutr.* 2008;87:627-637.

Basaga H. Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol.* 1990;68:989-998.

Batista AM, Mustafa AF, McAllister T, Wang Y, Soita H, McKinnon JJ. Effects of variety on chemical composition, in situ nutrient disappearance and *in vitro* gas production of spineless cacti. *J Sci Food Agric.* 2003;83:440-445.

Bonora E. Postprandial peaks as a risk factor for cardiovascular disease: epidemiological perspectives. *Int J Clin Pract.* 2002;5-11.

Bravo L. Polyphenol: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Revista de Nutrición.* 1998;56(11):317-333.

Brubaker PL. The glucagon-like peptides: pleiotropic regulators of nutrient homeostasis. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1070:10-26.

Butler LG. Protein polyphenols interactions:nutritional aspects. In: Proceedings of the 16th International Conference o Grape polyphenol.1992;16(11):11-18.

Campos SP, Torrinhas RS, Giannella-Neto D, Waitzberg DL. Relationship between gut hormones and glucose homeostasis after bariatric surgery. *Diabetol Metab Syndr.* 2014;6-87.

Carlsson C, Borg LA, Welsh N. Sodium palmitate induces partial mitochondrial uncoupling and reactive oxygen species in rat pancreatic islets *in vitro*. *Endocrinology.* 1999;140:3422-3428.

Carocho M, Ferreira ICFR. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol.* 2013;51:15-25.

Cavalot F, Petrelli A, Traversa M, Bonomo K, Fiora E, Conti M, Anfossi G, Costa G, Trovati M. Postprandial blood glucose is a stronger predictor of cardiovascular events than fasting blood glucose in type 2 diabetes mellitus, particularly in women: lessons from the San Luigi Gonzaga Diabetes Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91:813-819.

Celermajer DS. Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible?. *J Am Coll Cardiol.* 1997;30:325-333.

Creutzfeldt W, Ebert R, Williams B, Frerichs H, Brown JC. Gastric inhibitory polypeptide (GIP) an insulin in obesity: increased response to stimulation and defective feedback control of serum levels. *Diabetología.* 1978;14:15-24.

Deacon CF, Nauck MA, Meier J, Hucking K, Holst JJ. Degradation of endogenous and exogenous gastric inhibitory polypeptide in healthy and in type 2 diabetic subjects as revealed using a new assay for the intact peptide. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:3575-3581.

DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Rev.* 1997;5:171-269.

Diabetes UK. Evidence-based nutrition guidelines for the prevention and management of diabetes. Editores Tracy Kelly, Pam Dison. Páginas 1-53, 2011.

Ding WG, Gromada J. Protein kinase A-dependent stimulation of exocytosis in mouse pancreatic beta-cells by glucose-dependent insulinotropic polypeptide. *Diabetes.* 1997;46:615-621.

Drucker DJ, Asa S. Glucagon gene expression in vertebrate brain. *J Biol Chem.* 1988;263:13475-13478.

Drucker DJ. The role of gut hormones in glucose homeostasis. *J Clin Invest.* 2007;117(1):24-32.

Dupre J, Ross SA, Watson D, Brown JC. Stimulation of insulin secretion by gastric inhibitory polypeptide in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1973;37:826-828.

Elliot RM, Morgan LM, Tedger JA, Deacon S, Wright J, Marks V. Glucagon like peptide-1(7-36) amide and glucose-dependent insulinotropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in a men: Acute post-prandial and 24-hr secretion patterns. *J Endocrinol.* 1993;138:159-166.

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. ENSANUT 2012. Evidencia para la política pública en salud. Instituto Nacional de Salud Pública.

Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: A unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev.* 2002;23(5):599-622.

Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction?. *Diabetes.* 2003;52:1-8.

Falko JM, Crockett SE, Cataland S, Mazzaferri EL. Gastric inhibitory polypeptide (GIP) stimulated by fat ingestion in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1975;41:260-265.

Flores M, Nayeli M, Rivera M, et al. Dietary patterns in Mexican adults are associated with risk of being overweight or obese. *J Nutr.* 2010;140(11):1869-1873.

Frati-Munari AC, Fernández-Harp JA, Banales-Ham M, Ariza-Andraca CR. Decreased blood glucose and insulin by nopal (*Opuntia sp.*). *Arch Invest Med (Mex).* 1983;14:269-74.

Frati-Munari AC, Gordillo EB, Altamirano BP, et al. Influence of nopal intake upon fasting glycemia in type II diabetic and healthy subjects. *Arch Invest Med (Mex).* 1991;22:51-56.

Frati-Munari AC, Valle Martínez LM, Ariza Andraca CR, Isla AS, Chávez NA. Acción hipoglucemiante de diferentes dosis de nopal (*Opuntia streptacantha* Lemiere) en pacientes con diabetes mellitus tipo II. *Arch Invest Med (Mex).* 1989;20:197-201.

Fung TT, Hu FB, et al. Whole-grain intake and the risk of type 2 diabetes: a prospective study in men. *Am J Clin Nutr.* 2002;76(3):535-540.

Fung TT, Schulze M, et al. Dietary patterns, meat intake, and the risk of type 2 diabetes in women. *Arch Intern Med.* 2004;164(20):2235-2240.

Gillies CL, Abrams KR, et al. Pharmacological and lifestyle interventions to prevent or delay type 2 diabetes in people with impaired glucose tolerance: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2007;334(7588):299.

Griffith MP. The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (cactácea): new molecular evidence. *Am J Bot.* 2004;91:1915-1921.

Hansen L, Deacon CF, Orskov C, Holst JJ. Glucagon-like peptide-1-(7-36) amine is transformed to glucagón-like-peptide-1-(9-36) amide by dipeptidyl peptidase IV in the capillaries supplying the L cells of the porcine intestine. *Endocrinology.* 1999;140:5356-5363.

Hodge AM, English DR, O'Dea K, Giles GG. Glycemic index and dietary fiber and risk of type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2004;27:2701-2706.

Holt SHA, Brand Miller JC, Petocz P. An Insulin index of foods: the insulin demand generated by 1000-kJ portions of common foods. *Am J Clin Nutr.* 1997;66:1264-1276.

ISO 26642, International Standard. Food products-determination of the glycaemic index (GI) and recommendation for food classification. ISO 2010.

Jenkins DJ, Wolever TM, Taylor H, Barker H, Bielden H, Baldwin JM, Bowling AC, Newman HC, Jenkins AL, Goff DV. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am J Clin Nutr.* 1981;34:362-366.

Kim W, Egan JM. The role of incretins in glucose homeostasis and diabetes treatment. *Pharmacol Rew.* 2008;60:470-512.

Koren E, Kohen R, Ginsburg I. Polyphenols enhance total oxidant-scavenging capacities of human blood by binding to red blood cells. *Exp Biol Med.* 2010;235(6):689-699.

Kreymann B, Williams G, Ghatei MA, MA, Bloom SR. Glucagon -like peptide-1 7-36: a physiological incretin in man. *Lancet.* 1987;2:1300-1304.

Lohgman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual, human kinetics books, Champaign Illinois, 1988.

López P, Ordaz G, Tovar AR, Torres N. Secretion of intestinal hormones is regulated by the consumption of nopal. *Experimental Biology.* 2008. 2008;22:701.6.

Majumdar SK, Inzucchi SE. Investigational anti-hyperglycemic agents: the future of type 2 diabetes therapy?. *Endocrine.* 2013;44:47-58.

McConn M, Nakata P. Oxalate reduces calcium availability in the pads of the prickly pear cactus through formation of calcium oxalate crystals. *J Agric Food Chem.* 2004;52:1371-1374.

Mentlein R, Gallwitz B, Schmidt WE. Dipeptidyl-peptidase IV hydrolyses gastric inhibitory polypeptide, glucagon-like peptide-1(7-36) amine, peptide histidine methionine and is responsible for their degradation in human serum. *Eur J Biochem.* 1993;214:829-835.

Mojsov S, Heinrich G, Wilson IB, Ravazzola M, Orci L, Habener JF. Preproglucagon gene expression in páncreas and intestine diversifies at the level of post-translational processing. *J Biol Chem.* 1986;261:11880-11889.

Mojsov S, Weir GC, Habener JF. Insulintropin: glucagon like-peptide 1 (7-37) co-encoded in the glucagon gene is a potent stimulator of insulin release in the perfused rat páncreas. *J Clin Invest.* 1987;79:616-619.

Noriega-López L, Tovar AR, González-Granillo M, Hernández-Pando R, Escalante B, Santillan-Doherty P, Torres N. Pancreatic insulin secretion in rats fed a soy protein high fat diet depends on the interaction between the amino acids pattern and isoflavones. *J Biol Chem*. 2007;282:20657-20666.

Norma Oficial Mexicana NOM-O15-SSA2-2010 para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. SEGOB, Diario Oficial de la Federación.

O'Keefe J, Gheewala N, O'Keefe J. Dietary strategies for improving post-prandial glucose, lipids, inflammation, and cardiovascular health. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51(3):249-255.

Orskov C, Rabenhoj L, Wettergren A, Kodof H, Holts JJ. Tissue and plasma concentrations of amidated and glycine-extended glucagón-like peptide 1 in humans. *Diabetes*. 1994;43:535-539.

Palumbo B, Efthimiou Y, Stamatopoulos J, Oguogho A, Budinsky A, Palumbo R, Sinziger H. Prickly pear induces upregulation of liver LDLbinding in familial heterozygous hypercholesterolemia. *Nucl Med Rev*. 2003;6:35-39.

Pan XR, Li GW, et al. Effects of diet and exercise in preventing NIDDM in people with impaired glucose tolerance. The Da Qing IGT and diabetes study. *Diabetes Care*. 1997;20(4):537-544.

Pannala A, Chan T, O'Brien P, Rice C. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast-reaction kinetics. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;282(5):1161-1168.

Pearce KL, Noakes M, Keogh J, Clifton PM. Effect of carbohydrate distribution on postprandial glucose peaks with the use of continuous glucose monitoring in type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr*. 2008;87:638-644.

Pederson RA, Schubert HE, Brown JC. Gastric inhibitory polypeptide. Its physiologic release and insulinotropic action in the dog. *Diabetes*. 1975;24:1050-1056.

Porte Jr D. Clinical importance of insulin secretion and its interaction with insulin resistance in the treatment of type 2 diabetes mellitus and its resistance complications. *Diabetes Metab Res Rev*. 2001;17:181-188.

Ranganath LR. Incretins: pathophysiological and therapeutic implications of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and glucagon-like peptide-1. *J Clin Pathol*. 2008;61:401-409.

Rech SI, Louzada L, Santos MC, Fishborn A, Hermes L, Molz P, Schreiner C, Assmann FM, Horta JA, Weidner S, Prá D. Vitamin C intake reduces the cytotoxicity associated with hyperglycemia in prediabetes and type 2 diabetes. *Biomed Res Int*. 2013;<http://doi.org/10.1155/2013.896536>.

Reimann F. Molecular mechanisms underlying nutrient detection by incretin-secreting cells. *Int Dairy J.* 2010;20(4):236-242.

Riserus U, Willet WC, et al. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. *Prog Lipid Res.* 2009;48(1):44-51.

Sánchez-Rodríguez M, Santiago-Osorio E, Vargas LA, Mendoza-Nuñez VM. Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquímica.* 2004;29:81-90.

Standards of Medical Care in Diabetes 2013. *Diabetes Care.* 2013;36 Suppl1:S11-66.

Stintzing FC, Carle R. Cactus stems (*Opuntia spp*): A review in their chemistry, technology, and uses. *Mol Nutr Food Res.* 2005;49:175-194.

Torres N, Palacios-González B, Noriega-López L, Tovar AR. Índice glicémico, índice insulínico y carga glicémica de bebidas de soya con un contenido bajo de y alto de en hidratos de carbono. *Rev Invest Clin.* 2006;58:487-497.

Tracy Kelly, Pam Dyson. Evidence-based nutrition guidelines for the prevention and management of diabetes. *Diabetes UK.* 2010.

Usdin TB, Mezey E, Button DC, Brownstein MJ, Bonner TI. Gastric inhibitory polypeptide receptor, a member of the secretin-vasoactive intestinal peptide receptor family, is widely distributed in peripheral organs and the brain. *Endocrinology.* 1993;133:2861-2870.

van Dam RM, Willet WC, et al. Coffee, caffeine, and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study in younger and middle-aged U.S. women. *Diabetes Care.* 2006;29(2):398-403.

Vázquez-Rámirez R, Olguín-Martínez M, et al. Reversing gastric mucosal alterations during ethanol-induced chronic gastritis in rats by oral administration of *Opuntia ficus-indica* mucilage. *World J Gastroenterol.* 2006;12(27):4318-4324.

Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J Agric Food Chem.* 1998;46(10):4113-4117.

Vilsboll T, Krarup T, Deacon CF, Madsbad S, Holst JJ. Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. *Diabetes.* 2001;50:609-613.

Vollmer K, Gardiwal H, Menge BA, Gotze O, Deacon CF, Schmidt WE, Holst JJ, Meier JJ. Hyperglycemia acutely lowers the postprandial excursions of glucagon-like peptide-1 and gastric inhibitory polypeptide in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:1379-1385.

Vollmer K, Holst JJ, Baller B, Ellrichmann M, Nauck M, Schmidt W, Meier J. Predictors of incretin concentrations in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Diabetes* 2008;57:678-687.

West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med.* 2000;17:171-180.

Wolever TM, Vuksan V, et al. Glycaemic index of fruits and fruit products in patients with diabetes. *Int J food Sci Nutr.* 1993;43:205-212.

Wolever TMS, Jenkins DJA, Jenkins AL, Josse RG. The glycemic index: methodology and clinical implications. *Am J Clin Nutr.* 1991;54:846-854.

Wolff SP, Jiang ZY, Hunt JV. Protein glycation and oxidative stress in diabetic mellitus ageing. *Free Radic Biol Med.* 1991;10:339-352.

Yamagishi SI, Edelstein D, Du XL, Kaneda Y, Guzman M, Brown-lee M. Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic endothelial cells by increasing fatty acid oxidation via protein kinase A. *J Biol Chem.* 2001; 276:25096-25100.

Yip RG, Boyland MO, Kieffer TJ, Wolfe MM. Functional GIP receptors are present on adipocytes. *Endocrinology.* 1998;139:4004-4007.

ANEXOS.

HISTORIA CLÍNICA

Participante aceptado

| | | |
|-----|-----|-----|
| Día | Mes | Año |
| | | |

| |
|--|
| Núm. de ID para toma de muestra Diabetes |
| |

| |
|-------------------------|
| Número del participante |
| |

| | |
|------------|---------------------------------------|
| Expediente | <input type="checkbox"/> Sin registro |
| | |

Nombre _____

Datos demográficos del participante

| | | |
|---|--|--|
| 1. Fecha de nacimiento Día Mes Año / / | 2. Genero Hombre Mujer <input type="radio"/> <input type="radio"/> | 3. Observaciones |
| 5. Edad ____ años | 6. Teléfono del participante _____ | 7. Teléfono de algún familiar _____ |
| 8. Teléfono celular _____ Otro _____ | | |
| 9. Dirección Calle _____ No. _____ (Int/Ext) Colonia _____ Delegación o Municipio _____ Lote _____ Manzana _____ CP. _____ | | |

Signos vitales y antropometría

Tensión arterial

| | | |
|----------------------|----------------------|----------------------|
| 1ª medición | 2ª medición | Promedio |
| / | / | / |
| sistólica diastólica | sistólica diastólica | sistólica diastólica |

Peso corporal

| | | |
|-------------|-------------|----------|
| 1ª Medición | 2ª Medición | Promedio |
| . Kg | . Kg | . Kg |

Talla

| | | |
|-------------|-------------|----------|
| 1ª Medición | 2ª Medición | Promedio |
| . cm | . cm | . cm |

IMC

Promedio Peso y Talla

| |
|---|
| . |
|---|

Circunferencia de cintura

| | | |
|-------------|-------------|----------|
| 1ª Medición | 2ª Medición | Promedio |
| . cm | . cm | . cm |

| Antecedentes heredofamiliares | | | | | | | | |
|-------------------------------|------|------|-----|--------------------------|--------------|----------|-----|----------------|
| | Vivo | Edad | DM2 | Cardiopatía isquémica | Dislipidemia | Obesidad | HTA | Otra patología |
| Padre | | | | | | | | |
| Madre | | | | | | | | |
| Abuelo paterno | | | | | | | | |
| Abuela paterna | | | | | | | | |
| Abuelo materno | | | | | | | | |
| Abuela materna | | | | | | | | |
| Hermanos | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| Otros: (especificar) | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |

| Antecedentes personales patológicos | | | | | | |
|-------------------------------------|----|----|----------------------|---------------------------|--------------|--|
| | NO | Si | Fecha de diagnóstico | Tratamiento farmacológico | Dosis diaria | |
| DM2 | | | | | | |
| Cardiopatía isquémica | | | | | | |
| Dislipidemia | | | | | | |
| Obesidad | | | | | | |
| HTA | | | | | | |
| Tabaquismo | | | | | | |
| Otra patología | | | | | | |
| _____ | | | | | | |



INNSZ

**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN**

MÉXICO, D.F., A 23 DE FEBRERO DE 2010

DRA. NIMBE TORRES Y TORRES
INVESTIGADOR PRINCIPAL
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA DE LA NUTRICIÓN
PRESENTE

Por este medio, me permito informarle que el Comité Institucional de Investigación Biomédica en Humanos, del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, **ha revisado y aprobado** el Protocolo de Investigación Clínica, titulado:

"ESTUDIO DEL EFECTO NOPAL AL VAPOR SOBRE LAS CONCENTRACIONES DE INSULINA, GLUCOSA E INCRETINAS GLP-1 Y GIP EN PACIENTES DIABÉTICOS"

Solo le hacemos las siguientes observaciones:

- ✓ El Consentimiento Informado menciona como un grupo a incluir "enfermos sanos"; favor de aclarar si se refieren a sujetos sanos o pacientes sin diabetes (sería cuestionable la inclusión de estos últimos).

Así mismo se solicita que al terminar el estudio se deberá de enviar los resultados con resumen de todos los datos sobresalientes y conclusiones, un informe anual (si la duración del estudio es mayor de un año), donde comunique los avances y resultados parciales de su Investigación.

Su proyecto queda registrado en esta Institución con la **REF. 118**. Este número es necesario para los servicios de apoyo a la investigación.

ATENTAMENTE:

DR. PATRICIO SANTILLÁN DOHERTY
COORDINADOR

COMITÉ INSTITUCIONAL DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN HUMANOS



Investigación

Tradición

Servicio

Asistencia

c.c.p. Dr. Rubén Lisker Y. Dirección de Investigación.

Dr. Martha Arredondo Urzúa. Jefe del Depto. C.F.E.I.

- Vasco de Quiroga 15,
- Delegación Tlalpan
- C. P. 14000 México, D. F.
- Tel. 54-87-09-00



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION
"SALVADOR ZUBIRAN"

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

“ Efecto del nopal al vapor sobre las concentraciones de insulina, glucosa e incretinas GLP1 y GIP en pacientes diabéticos ”

La siguiente información describe el protocolo y su papel como participante. El investigador contestará cualquier pregunta sobre esta forma o el estudio.

PROPOSITO DEL ESTUDIO. Evaluar el efecto del nopal al vapor y diferentes desayunos (elevados en proteínas o hidratos de carbono) sobre las concentraciones de insulina, glucosa, GLP1 y GIP en pacientes con diabetes tipo 2.

PROCEDIMIENTOS A SEGUIR DURANTE EL ESTUDIO:

EL DIA DE CADA VISITA. Debo llegar al Departamento de Fisiología de la Nutrición a las 8:00 am en ayuno de 12 horas. Seré pesado y medirán mi estatura. Debo suspender la primera dosis de metformina el día del estudio, hasta el termino del mismo. Sólo me es permitido consumir agua durante el ayuno. Me colocarán un catéter en el brazo para las tomas de muestra de sangre.

TIEMPO 0. Me tomarán una gota de sangre del dedo y una muestra de 5 ml de sangre del brazo y me entregarán el alimento prueba a) desayuno alto en proteína o b) nopal al vapor más el desayuno alto en proteína o c) desayuno alto en hidratos de carbono o d) Desayuno alto en hidratos de carbono más nopal, los cuales debo consumir en el menor tiempo posible. **DEBO PERMANECER SENTADO LAS TRES HORAS DEL ESTUDIO**

TIEMPO 15 minutos. Me tomarán una muestra de sangre del brazo de 5 ml y 2 gotas de sangre del dedo.

TIEMPO 30 minutos. Me tomarán una muestra de sangre del brazo de 5 ml y 2 gotas de sangre del dedo.

TIEMPO 45 minutos. Me tomarán una muestra de sangre del brazo de 5 ml y 2 gotas de sangre del dedo.

TIEMPO 60 minutos. Me tomarán una muestra de sangre del brazo de 5 ml y 2 gotas de sangre del dedo.

TIEMPO 90 minutos. Me tomarán una muestra de sangre del brazo de 5 ml y 2 gotas de sangre del dedo.

TIEMPO 120 minutos. Me tomarán una muestra de sangre del brazo de 5 ml y 2 gotas de sangre del dedo.

TIEMPO 150 minutos. Me tomarán una muestra de sangre del brazo de 5 ml y 2 gotas de sangre del dedo.

Molestias por su participación.

ESTOY ENTERADO QUE: Debo asistir **5 veces** al Departamento de Fisiología de la Nutrición en ayunas, por la mañana y permanecer durante aproximadamente **3 horas**. Se obtendrán 8 muestras de sangre del brazo y 8 muestras de sangre del dedo cada vez que asista para las pruebas de evaluación. La cantidad total de sangre obtenida no implica riesgos para su salud.



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION "SALVADOR ZUBIRAN"

BENEFICIOS PARA LOS PARTICIPANTES.

Entiendo que podré conocer mis resultados de glucosa e insulina en sangre.

Confidencialidad. Los datos obtenidos de mi persona son absolutamente confidenciales, no podrán ser utilizados con otro fin. Seré informado de cualquier hallazgo obtenido en esta investigación.

Participación Voluntaria.

Yo, _____, declaro libre y voluntariamente que acepto participar en este estudio. Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme del presente estudio en el momento que lo desee. También puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación. Debo informar a los investigadores de cualquier cambio importante que ocurra en mi estado de salud.

He comprendido el contenido de esta carta de consentimiento; mis dudas han sido resueltas y voluntariamente acepto participar en este estudio.

El hecho de participar en este protocolo no implica derecho a ser atendido como paciente en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición.

Firma del Investigador

FECHA: _____

Firma del paciente

FECHA: _____

Firma de testigo

FECHA: _____

Firma de testigo

FECHA: _____

* Una copia del consentimiento se entregara al paciente. Teléfono 54870900 ext. 2802

The Effect of Nopal (*Opuntia Ficus Indica*) on Postprandial Blood Glucose, Incretins, and Antioxidant Activity in Mexican Patients with Type 2 Diabetes after Consumption of Two Different Composition Breakfasts



Patricia López-Romero; Edgar Pichardo-Ontiveros; Azalia Avila-Nava, MSc; Natalia Vázquez-Manjarrez; Armando R. Tovar, PhD; José Pedraza-Chaverri, PhD; Nimbe Torres, PhD

ARTICLE INFORMATION

Article history:

Accepted 19 February 2014
Available online 12 August 2014

Keywords:

Nopal
Antioxidant activity
Diabetes
Glucose-dependent insulintropic peptide (GIP)
Glycemic control

2212-2672/Copyright © 2014 by the Academy of Nutrition and Dietetics.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jand.2014.06.352>

ABSTRACT

Nopal is a plant used in traditional Mexican medicine to treat diabetes. However, there is insufficient scientific evidence to demonstrate whether nopal can regulate postprandial glucose. The purpose for conducting this study was to evaluate the glycemic index, insulinemic index, glucose-dependent insulintropic peptide (GIP) index, and the glucagon-like peptide 1 (GLP-1) index, and the effect of nopal on patients with type 2 diabetes after consumption of a high-carbohydrate breakfast (HCB) or high-soy-protein breakfast (HSPB) on the postprandial response of glucose, insulin, GIP, GLP-1, and antioxidant activity. In study 1, the glycemic index, insulinemic index, GIP index, and GLP-1 index were calculated for seven healthy participants who consumed 50 g of available carbohydrates from glucose or dehydrated nopal. In study 2, 14 patients with type 2 diabetes consumed nopal in HCB or HSPB with or without 300 g steamed nopal. The glycemic index of nopal was 32.5 ± 4 , insulinemic index was 36.1 ± 6 , GIP index was 6.5 ± 3.0 , and GLP-1 index was 25.9 ± 18 . For those patients with type 2 diabetes who consumed the HCB+nopal, there was significantly lower area under the curve for glucose (287 ± 30) than for those who consumed the HCB only (443 ± 49), and lower incremental area under the curve for insulin ($5,952 \pm 833$ vs $7,313 \pm 1,090$), and those patients with type 2 diabetes who consumed the HSPB avoided postprandial blood glucose peaks. Consumption of the HSPB+nopal significantly reduced the postprandial peaks of GIP concentration at 30 and 45 minutes and increased the antioxidant activity after 2 hours measured by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. These findings suggest that nopal could reduce postprandial blood glucose, serum insulin, and plasma GIP peaks, as well as increase antioxidant activity in healthy people and patients with type 2 diabetes.

J Acad Nutr Diet. 2014;114:1811-1818.

THE CACTUS *OPUNTIA*, WHICH IS ALSO KNOWN AS nopal, is native to central Mexico¹ and the pads are eaten as a vegetable. Cactus plants have long served as a source of food for people, and they have long been used in traditional Mexican medicine for treating diabetes. Nopal is considered a functional food because it is a proven source of dietary fiber² and bioactive compounds with antioxidant activity, such as flavonoids, flavonols, carotenes, and ascorbic acid,³ in addition to being low in calories (27 kcal/100 g). The current epidemic of obesity and diabetes has led to a search for functional foods that could aid in ameliorating these pathologies. In the case of diabetes, consuming high-calorie meals can lead to exaggerated postprandial peaks in blood glucose and in lipids that

generate reactive oxygen species,^{4,5} which results in inflammation⁵ and endothelial dysfunction.⁶ In addition, postprandial glucose homeostasis is controlled not only by direct stimulation of insulin release by absorbed nutrients, but also through secretion of incretin hormones, that is, glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and glucose-dependent insulintropic peptide (GIP).⁷ These incretins are released from enteroendocrine cells and are responsible for at least 50% of the total insulin⁸ secreted after the ingestion of food.⁹ Therefore, the purpose of conducting this study was first to evaluate the glycemic index, insulinemic index, GIP index, and GLP-1 index, and second, to evaluate the metabolic effect of steamed nopal on postprandial peaks of glucose, insulin, GIP, and antioxidant activity after the

consumption of a high-carbohydrate breakfast (HCB) or high-soy-protein breakfast (HSPB).

MATERIALS AND METHODS

Ethics Statement

All of the procedures were conducted with an adequate understanding by, and the written consent of, the participants. The study was approved by the Ethics Committee of Humans by the Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición and was in compliance with the Declaration of Helsinki. The study was registered in the Institutional Committee for Human Biomedical Research (no. 118).

Participants

Two separate studies were performed using two separate groups of participants. Study 1 was performed to determine the glycemic index of nopal. This study included seven healthy, nonsmoking, nonmedicated, normal-weight volunteers (three men and four women, mean±standard error of mean [SEM]=26.3±1.2 years of age), with a mean±SEM body mass index (calculated as kg/m²) of 23.5±0.8, according to the recommendations of the Joint Food and Agricultural Organization of the United Nations/World Health Organization Expert Consultation.¹⁰

Study 2 was performed to evaluate the effect of nopal on postprandial blood glucose after the consumption of two different types of breakfasts. This study included 14 outpatients (four men and 10 women) who were diagnosed with type 2 diabetes with durations of <8 years. Patients with type 2 diabetes were treated with metformin only and were between 40 and 60 years old (mean±SEM=48±2.1 years of age), with a body mass index <30 (mean±SEM=28.9±1). They did not have dyslipidemia, hypertension, or severe hypoglycemic episodes during the past year. Their glycosylated hemoglobin levels were <8% (mean±SEM=6.5±0.2%), and their fasting serum glucose concentration was 100 to 120 mg/dL (6.7 mmol/L). Patients with type 2 diabetes were studied on four separate occasions. The day of the study, patients with type 2 diabetes were instructed not to take their morning doses of metformin. In this study, we included seven adults without diabetes who were recruited through fliers as a control group, including four men and three women within the age range of 25 to 54 years old (mean±SEM=24.1±1.2 years) with a BMI <25 (mean±SEM=22.2±0.6) for the past 6 months. No participant received any compensation for participation in the study. Exclusion criteria included current cigarette smoker, presence of known medical problem, or currently being on any medication.

Test Meals: Study 1

The test meal was composed of a portion of nopal containing 50 g of available carbohydrates, which is defined as total carbohydrates minus dietary fiber, according to the recommendation of the Joint Food and Agricultural Organization of the United Nations/World Health Organization Expert Consultation.¹⁰ Because raw nopal contains a significant amount of water, dehydrated nopal was utilized to determine the glycemic index. Fresh nopal was obtained from Milpa Alta, México City, and dried for 48 hours at 55°C. The chemical composition in the dry basis was as follows:

carbohydrates, 24.8%; insoluble fiber, 32.2%; soluble fiber, 4.8%; fat, <1.9%; and protein, 15.4%.

Test Meals: Study 2

The HCB contained 300 kcal and comprised 89% carbohydrates, 6% protein, and 5% fat, in the form of apple juice (240 mL), white bread (55.6 g), and strawberry jam (21 g).

The HSPB contained 344 kcal and comprised 42.4% carbohydrates, 40.7% protein, and 16.9% fat, in the form of soy hamburger (61.5 g) and soymilk beverage (230 mL). The HSPB was designed based on previous studies that have demonstrated that soy protein reduces the postprandial peaks of insulin and increases insulin sensitivity.^{11,12}

The HCB+nopal or the HSPB+nopal contained the foods described here, with the addition of 300 g steamed nopal cut into small pieces (2.0- to 2.5-cm cubes), the traditional form consumed in Mexican cuisine. Raw nopal was cooked in a steamer for 11 minutes over a medium heat, and final cooked weight was approximately 250 g. It was then served as side dish. The chemical composition in fresh weight basis was determined according to Association of Analytic Communities methods: carbohydrates, 1.4%; insoluble fiber, 1.7%; soluble fiber, 0.17%; fat, negligible; and protein, 1.1%. Nopal was always obtained from the same location during the same season and harvested at the same time of day to minimize chemical variability.

Protocol

Each participant arrived in the morning after a 12-hour overnight fast and consumed the test meal as described here for either study 1 or study 2. All participants consumed the meal in the same order, and the washout period between test meals was 1 week. All participants completed the study. The test meals were consumed within 10 minutes and only within each selected study. Capillary blood samples for glucose determination in healthy participants were obtained intermittently using a finger-stick before and at 15, 30, 45, 60, 90, and 120 minutes after commencing the test meals. Whole blood glucose was measured using an automatic analyzer (Model 2700, YSI Inc.). An additional sample in patients with type 2 diabetes was collected at 150 minutes. Venous blood samples were also obtained at the same time as capillary blood to measure serum insulin, plasma GIP, GLP-1, and antioxidant activity. The insulin concentration was measured using a human radioimmunoassay kit (Linco Research Inc.). GIP and GLP-1 were determined in blood samples that were collected in tubes containing ethylenediamine tetraacetic acid. Immediately after the blood collection, 30 μ L of the dipeptidyl peptidase 4 inhibitor for the GLP-1 measurement (Linco's DPP IV inhibitor) was added. Plasma was removed after centrifugation and stored at -20°C. The incretins were analyzed using the Human Gut Hormone Panel (LINCoplex Kit, Linco Research, Inc). The antioxidant capacity was determined by the method of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, which has been described previously.¹³

Statistical Analysis

Calculation of the glycemic index and incremental area under the curve (IAUC), excluding the area below fasting, were calculated using the trapezoid rule.¹⁴

Data are expressed as mean±SEM. Analysis of repeated measures was used to determine the diet and timing effects

on the glucose, insulin, GIP, and GLP-1 concentrations. Student's *t* test was used to compare the IAUC among the groups. For all of the statistical tests, a *P* value <0.05 was considered to be significant. Statistical analysis was performed with Prism 6.0b for Mac OSXb (GraphPad Software Inc). Power analysis indicated that with seven individuals, the study had sufficient power to detect medium to small effects (0.80).

RESULTS

Study 1

The ingestion of 50 g of available carbohydrates from nopal resulted in a significant reduction ($P < 0.001$) in the IAUC of blood glucose (71.4 ± 3.5) with respect to the 50 g of glucose (231.7 ± 17.4), as demonstrated in Figure 1A, which resulted in a glycemic index of nopal of 32.5 ± 4.0 , a value that is

considered to be low.¹⁵ With respect to insulin, the IAUC for nopal was 7.8 ± 1.0 and was significantly different ($P < 0.05$) with respect to the glucose (25.5 ± 5.8). The insulinemic index was 36.1 ± 6.1 , which is also considered low, as demonstrated in Figure 1B.

As shown in Figure 1C, low levels of GIP (8.6 ± 1.4 pg/mL [1.8 ± 0.3 pmol/L]) were observed after a 12-hour fast. After 50 g oral glucose, the GIP concentration rapidly increased within 45 minutes and reached a maximum value of 76.3 ± 13.4 pg/mL (15.9 ± 2.8 pmol/L). The consumption of nopal did not increase the GIP concentration in the 2-hour period, which had a value of 12.5 ± 17.3 pg/mL (2.6 to 3.6 pmol/L). There was a significant reduction in the IAUC for plasma GIP after the consumption of 50 g of available carbohydrate from nopal in comparison with 50 g glucose ($1,370 \pm 235$ vs 88.5 ± 19.3 ; $P < 0.01$), as demonstrated in

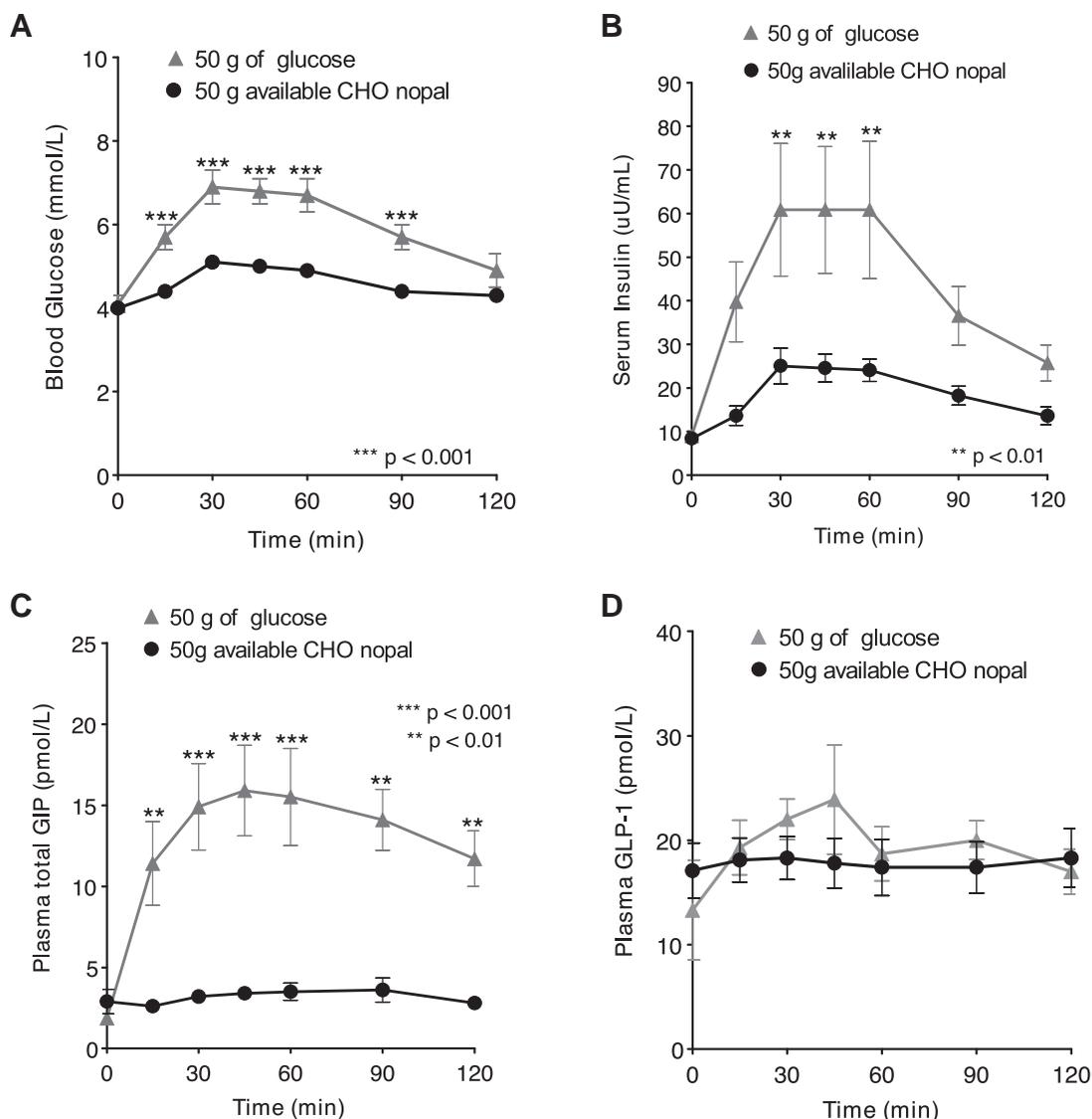


Figure 1. (A) Blood glucose, (B) serum insulin, (C) plasma glucose-dependent insulinotropic peptide (GIP), and (D) glucagon-like protein 1 (GLP-1) concentrations at fasting state and 15, 30, 45, 60, 90, and 120 minutes after the consumption of 50 g oral glucose or 50 g available carbohydrates (CHO) from nopal. Values were obtained in seven healthy adults without diabetes.

Figure 1C. As shown in **Figure 1D**, the GLP-1 concentration was low (43.9 ± 15.8 pg/mL [13.3 ± 4.8 pmol/L]) after 12 hours of fasting. The consumption of 50 g glucose triggered a rapid increase in GLP-1 to 79.1 ± 17.1 pg/mL (24 ± 5.2 pmol/L) within 45 minutes. In contrast, the 50 g of available carbohydrates from nopal did not produce a peak in the GLP-1, instead, the values remained constant (approximately 56 to 59 pg/mL [17 to 18 pmol/L]) during the 2-hour period.

Study 2

Effect of Steamed Nopal on Blood Glucose after Ingesting an HCB or HSPB. Patients with type 2 diabetes had a higher fasting blood glucose concentration (104.5 ± 3.6 mg/dL [5.8 ± 0.2 mmol/L]) compared with healthy participants (72 ± 1.1 mg/dL [4 ± 0.06 mmol/L]), as demonstrated in **Figure 2A**. The consumption of an HCB in patients with type 2 diabetes gradually increased blood glucose concentration, reaching a maximum value of 183.8 ± 9 mg/dL (10.2 ± 0.5 mmol/L) at 60 minutes, and the consumption of an HCB+nopal significantly decreased the postprandial peaks of glucose at 45 and 60 minutes ($P < 0.01$), as demonstrated in **Figure 2A**. The IAUC for glucose in the group with an HCB+nopal was significantly lower (287 ± 30) than the group with an HCB (443 ± 49 ; $P < 0.001$ (inset, **Figure 2A**)).

The consumption of an HCB by healthy participants gradually increased blood glucose concentration, reaching a maximum value of 120.7 ± 1.8 mg/dL (6.7 ± 0.1 mmol/L) at 30 minutes, and the consumption of an HCB+nopal reached a maximum value of 106.3 ± 5.4 mg/dL (5.9 ± 0.3 mmol/L). Therefore, the inclusion of nopal significantly decreased the postprandial peaks of glucose at 30, 45, and 60 minutes ($P < 0.05$), as demonstrated in **Figure 2A**. There was no difference in the IAUC for glucose in healthy participants after the consumption of both breakfasts.

With respect to the HSPB, patients with type 2 diabetes had a higher fasting blood glucose (99.1 ± 5.4 mg/dL [5.5 ± 0.3 mmol/L]) than healthy participants (73.9 ± 1.8 mg/dL [4.1 ± 0.1 mmol/L]), as demonstrated in **Figure 2B**. Interestingly, the HSPB with and without nopal produced a smaller postprandial blood glucose peak (126.1 ± 5.4 mg/dL [7.0 ± 0.3 mmol/L]) than the HCB at 30, 45, 60, 90 ($P < 0.001$), and 120 minutes ($P < 0.01$); therefore, it was more effective in reducing the postprandial glucose peaks. No significant differences were observed between the HSPB and HSPB+nopal. The IAUC for blood glucose in patients with type 2 diabetes was similar in the HSPB (124 ± 21) and HSPB+nopal (91.9 ± 21).

Effect of Steamed Nopal on Serum Insulin after Ingesting an HCB

The fasting serum insulin concentration in patients with type 2 diabetes was higher (23 ± 3 μ U/mL [138 ± 18 pmol/L]) than in healthy participants (9 ± 2 μ U/mL [54 ± 12 pmol/L]), as demonstrated in **Figure 2C**.

There was no difference in insulin concentration in both over time; however, the IAUC for insulin concentration was lower in the HCB+nopal group ($5,953 \pm 834$) compared with the HCB breakfast group ($7,313 \pm 1091$) ($P < 0.05$) (inset, **Figure 2C**).

There was no significant difference in insulin concentration over time in the HCB or HCB+nopal groups in healthy participants.

Effect of Steamed Nopal on Serum Insulin after Ingesting an HSPB

The fasting serum insulin concentration in patients with type 2 diabetes was higher (22.4 ± 2 μ U/mL [134.4 ± 12 pmol/L]) than in healthy participants (13.2 ± 1.8 μ U/mL [79.2 ± 10.8 pmol/L]), as demonstrated in **Figure 2D**. After the consumption of an HSPB, the insulin concentration in patients with type 2 diabetes increased during the postprandial period, reaching a maximum value at 90 minutes. There was no significant difference in insulin concentration over time or in the IAUC between the HSPB and the HSPB+nopal groups in patients with type 2 diabetes (inset **Figure 2D**), and HSPB+nopal significantly reduced the IAUC for insulin in healthy participants (inset, **Figure 2D**).

Effect of Steamed Nopal on Plasma GIP after Ingesting an HCB

Patients with type 2 diabetes had higher fasting plasma GIP concentration (70.1 ± 14.9 pg/mL [14.6 ± 3.1 pmol/L]) compared with healthy participants (22.1 ± 4.8 pg/mL [4.6 ± 1 pmol/L]). Fifteen minutes after consuming an HCB, patients with type 2 diabetes had a rapid increase in GIP concentration, which reached a maximum value (170.4 ± 22.1 pg/mL [35.5 ± 4.6 pmol/L]) at 60 minutes. Consuming the HCB+nopal reduced the postprandial peaks of GIP between 30 and 60 minutes, as demonstrated in **Figure 3A**. The consumption of an HCB+nopal by healthy participants significantly reduced the GIP peak at 60 minutes compared with the HCB group ($P < 0.05$), as demonstrated in **Figure 3A**. There was no significant difference in the IAUC in patients with type 2 diabetes after the consumption of an HCB+nopal, but in healthy participants, there was a significant difference ($P < 0.01$) compared with the HCB group ($2,842 \pm 802$ pg/mL [592 ± 167 pmol/L] vs $8,252 \pm 1,171$ pg/mL [$1,719 \pm 244$ pmol/L]).

Effect of Steamed Nopal on Plasma GIP after Ingesting an HSPB

Fasting plasma GIP concentrations were similar in patients with type 2 diabetes and in healthy participants (35.1 ± 5.3 pg/mL [7.32 ± 1.1 pmol/L] and 26.1 ± 5.3 pg/mL [5.43 ± 1.1 pmol/L], respectively). Fifteen minutes after the consumption of an HSPB, patients with type 2 diabetes had a rapid increase in GIP concentration, which reached a maximum value (137.3 ± 12 pg/mL [28.6 ± 2.5 pmol/L]) after 30 minutes, as demonstrated in **Figure 3B**. In patients with type 2 diabetes, consumption of an HSPB+nopal significantly reduced the GIP concentration at 30 and 40 minutes ($P < 0.00$ at 30 minutes and $P < 0.05$ at 45 minutes). There was a significant reduction ($P < 0.01$) in the IAUC after the consumption of the HSPB+nopal compared with the HSPB ($1,744 \pm 258$ vs $2,448 \pm 229$) in patients with type 2 diabetes. In healthy participants, there was an increase in the GIP plasma concentrations starting after 15 minutes of HSPB ingestion, with a maximum peak (144 ± 16.3 pg/mL [30.0 ± 3.4 pmol/L]) after 90 minutes. There was no significant difference in the IAUC between the HSPB and HSPB+nopal (inset, **Figure 3B**).

Effect of Steamed Nopal on Plasma GLP-1 after Ingesting an HCB or HSPB

The GLP-1 concentration in patients with type 2 diabetes was 15.5 ± 3 pg/mL (4.7 ± 0.9 pmol/L) after 12 hours of fasting,

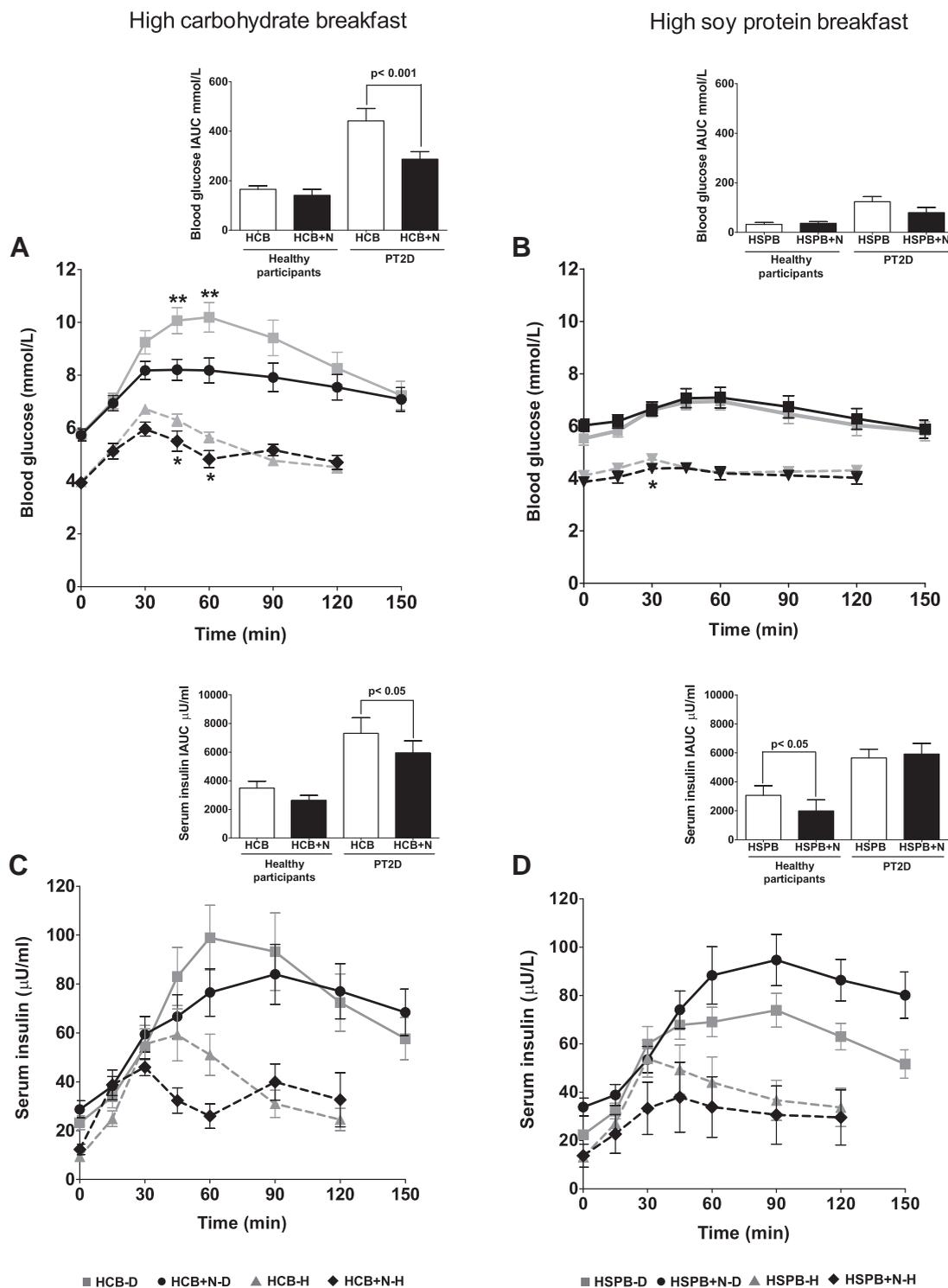


Figure 2. Fasting and postprandial blood glucose and increase in the incremental area under the curve (IAUC) for blood glucose after the consumption of a high-carbohydrate breakfast (HCB) (A) or a high-soy-protein breakfast (HSPB) (B) with or without 300 g of steamed nopal (N); * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. We also show fasting and postprandial serum insulin and IAUC after the consumption of an HCB (C) or HSPB (D) with or without 300 g steamed nopal. Values were obtained in seven healthy adults without diabetes and in 14 patients with type 2 diabetes (PT2D). Values are mean \pm standard error of mean. HCB-D=HCB-patients with type 2 diabetes; HCB-H=HCB-healthy subjects; HCB+N-D=HCB+nopal-patients with type 2 diabetes; HCB+N-H=HCB+nopal-healthy subjects; HSPB-D=HSPB-patients with type 2 diabetes; HSPB-H=HSPB-healthy subjects; HSPB+N-D=HSPB+nopal-patients with type 2 diabetes; HSPB+N-H=HSPB+nopal-healthy subjects.

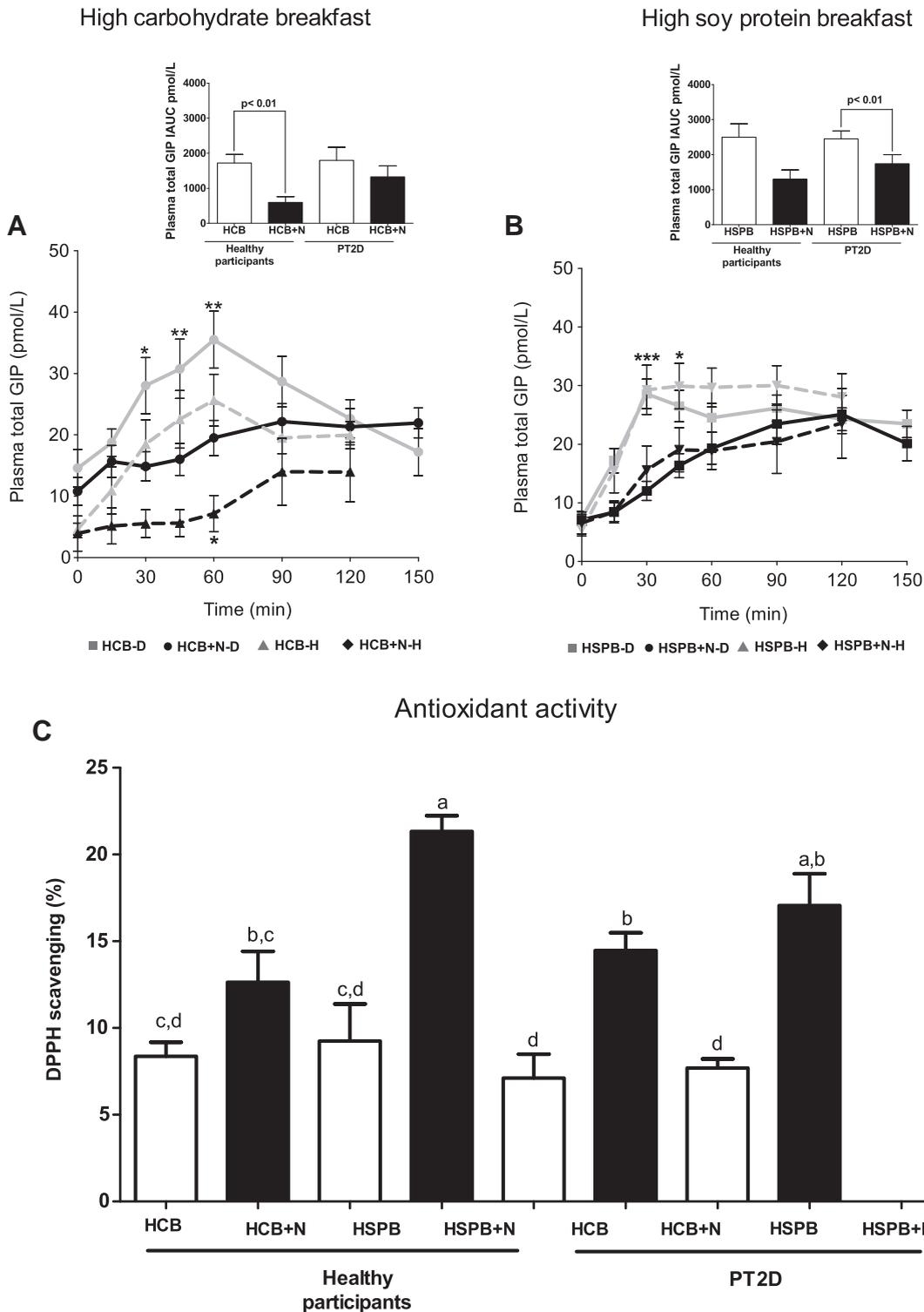


Figure 3. Fasting and postprandial glucose-dependent insulinotropic peptide (GIP) and incremental area under the curve (IAUC) after the consumption of a high-carbohydrate breakfast (HCB) (A) or a high soy-protein breakfast (HSPB) (B) with or without 300 g steamed nopal (N) in 7 healthy adults without diabetes and in 14 patients with type 2 diabetes (PT2D); * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. (C) Plasma antioxidant activity after 2 hours of consuming the HCB or the HSPB in PT2D and healthy adults without diabetes. HCB-D=HCB-patients with type 2 diabetes; HCB-H=HCB-healthy subjects; HCB+N-D=HCB+nopal-patients with type 2 diabetes; HCB+N-H=HCB+nopal-healthy subjects; HSPB-D=HSPB-patients with type 2 diabetes; HSPB-H=HSPB-healthy subjects; HSPB+N-D=HSPB+nopal-patients with type 2 diabetes; HSPB+N-H=HSPB+nopal-healthy subjects. $a > b > c > d$.

and GLP-1 concentration in healthy subjects was 31 ± 0.4 pg/mL (9.4 ± 1.2 pmol/L). After the consumption of the HCB+nopal or HSPB+nopal, there was no effect on GLP-1 in patients with type 2 diabetes or healthy participants (data not shown).

Serum Antioxidant Activity after Ingesting Nopal in an HCB or HSPB

Healthy participants showed similar antioxidant activity ($9.2 \pm 6.4\%$) compared with patients with type 2 diabetes ($7.7 \pm 1.6\%$) at 120 minutes regardless of the breakfast consumed. The inclusion of nopal increased the antioxidant activity in healthy participants and in patients with type 2 diabetes and was more evident after the consumption of the HSPB (Figure 3C).

DISCUSSION

Excessive and prolonged postprandial blood glucose peaks are a serious health problem for individuals with diabetes. As a result, changes in lifestyle have been suggested as the main strategy for controlling the biochemical abnormalities that are associated with type 2 diabetes.¹⁶ We developed a dietary strategy including the use of the inexpensive regional food nopal to minimize postprandial glucose peaks. Our results show that nopal has low glycemic and insulinemic indexes that could be recommended for patients with type 2 diabetes. Interestingly, the low glycemic index and insulinemic index of nopal were associated with a dramatic reduction of the IAUC for the total plasma GIP concentration. These results suggest that nopal could regulate blood glucose and serum insulin concentrations by modulating GIP levels. Interestingly, the inclusion of steamed nopal in the HCB significantly reduced postprandial blood glucose peaks. Remarkably, the HSPB and HSPB+nopal helped prevent postprandial blood glucose peaks. These results are important because recommendations from the American Diabetes Association are for patients with type 2 diabetes to maintain, "blood glucose levels in the normal range or as close to normal as is safely possible."¹⁷ The European Diabetes Policy Group has set the maximum postprandial glucose peak to not exceed 135 mg/dL (7.5 mmol/L) to reduce arterial risk and 160 mg/dL (9.0 mmol/L) to reduce microvascular risk.¹⁸ The inclusion of nopal in the HCB in patients with type 2 diabetes reduced blood glucose by 36 mg/dL (2 mmol/L), reaching a value near that recommended by the European Diabetes Policy Group. The presence of nopal in the HSPB helped significantly to avoid blood glucose peaks reaching a value of 127 mg/dL (7.07 mmol/L) at 60 minutes, a value below that recommended by the European Diabetes Policy Group. Nopal consumption significantly reduced the IAUC for serum insulin in patients with type 2 diabetes after ingesting the HCB and prevented an increase in insulin levels after consuming an HSPB.

In this study, GIP levels seemed to be significantly increased in patients with type 2 diabetes in the postprandial state compared with those in healthy participants, and the insulinotropic effect of GIP was maintained and associated with insulin concentration in patients with type 2 diabetes because the insulin levels increased as the GIP increased. However, the postprandial blood glucose concentration remained high, which indicates insulin resistance.

Interestingly, the inclusion of nopal in the HCB or HSPB significantly reduced the postprandial peaks of the total GIP in patients with type 2 diabetes and in healthy participants. One limitation of the study was the difference in age and sex; patients with type 2 diabetes were older than healthy subjects.

It is recommended to include two or three medium nopales (approximately 250 g after cooking) in a salad, soup, grilled, nopal juice, or as side dish for patients with type 2 diabetes and $1\frac{1}{2}$ to 2 medium nopales for healthy people. Nopal can be found in ethnic grocery stores in the United States, mainly in Southern California and Texas. Another option is to consume dehydrated nopal (13.7 g) dried at low temperature (no higher than 55°C to maintain antioxidant activity), which is equivalent to 300 g raw nopal.

There is considerable evidence from in vitro and in vivo studies that hyperglycemia results in the generation of reactive oxygen species and consequently increased oxidative stress. The presence of polyphenols (such as quercetin, isorhamnetin, and kaempferol; vitamin C) and beta carotenes in nopal contributes to nopal antioxidant activity. We demonstrated that consumption of nopal provides antioxidant activity in the serum of both healthy people and patients with type 2 diabetes 2 hours after consumption. The consumption of nopal could have a compensatory effect on the decreased endogenous antioxidants during type 2 diabetes.

CONCLUSIONS

The current epidemic of diabetes has led to a search for functional foods that could aid in ameliorating this pathology. Nopal has long been used in traditional Mexican medicine to control diabetes, however, there was insufficient scientific evidence regarding the ability of this plant to help control postprandial blood glucose peaks. Our results show that nopal has low glycemic, insulinemic, and GIP indexes and could be recommended for patients with type 2 diabetes. The inclusion of nopal in an HCB had anti-hyperglycemic and antihyperinsulinemic effects, and in the HSPB, it prevented postprandial blood glucose peaks. The consumption of nopal increased the antioxidant activity in both healthy people and patients with type 2 diabetes. Nopal is not a complete replacement for prescription blood glucose drugs, but the findings in this study support the traditional use of nopal for the safe management of glucose without any side effects.

References

1. Griffith P. The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (cactacea): New molecular evidence. *Am J Bot.* 2004;91(11):1915-1921.
2. Stintzing FC, Carle R. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Mol Nutr Food Res.* 2005;49(2):175-194.
3. Santos-Zea L, Gutierrez-Urbe JA, Serna-Saldivar SO. Comparative analyses of total phenols, antioxidant activity, and flavonol glycoside profile of cladode flours from different varieties of *Opuntia* spp. *J Agric Food Chem.* 2011;59(13):7054-7061.
4. Bonora E. Postprandial peaks as a risk factor for cardiovascular disease: Epidemiological perspectives. *Int J Clin Pract Suppl.* 2002. Jul(129):5-11.
5. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: A unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev.* 2002;23(5):599-622.

6. Versari D, Daghini E, Viridis A, Ghiadoni L, Taddei S. Endothelial dysfunction as a target for prevention of cardiovascular disease. *Diabetes Care*. 2009;32(suppl 2):S314-S321.
7. Kim W, Egan JM. The role of incretins in glucose homeostasis and diabetes treatment. *Pharmacol Rev*. 2008;60(4):470-512.
8. Dupre J, Ross SA, Watson D, Brown JC. Stimulation of insulin secretion by gastric inhibitory polypeptide in man. *J Clin Endocrinol Metab*. 1973;37(5):826-828.
9. Elliot RM, Morgan LM, Tedger JA, Deacon S, Wright J, Marks V. Glucagon like peptide-1 (7-36) amide and glucose-dependent insulinotropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in a men: Acute post-prandial and 24-h secretion patterns. *J Endocrinol*. 1993;138(1):159-166.
10. Food and Agricultural Organization of the United Nations/World Health Organization. *Carbohydrates in Human Nutrition*. Rome, Italy: FAO/WHO; 1998:4.
11. Ascencio C, Torres N, Isoard-Acosta F, Gomez-Perez FJ, Hernandez-Pando R, Tovar AR. Soy protein affects serum insulin and hepatic SREBP-1 mRNA and reduces fatty liver in rats. *J Nutr*. 2004;134(3):522-529.
12. Noriega-López L, Tovar AR, Gonzalez-Granillo M, Hernández-Pando R, Escalante B, Santillan-Doherty P, Torres N. Pancreatic insulin secretion in rats fed a soy protein high fat diet depends on the interaction between the amino acids pattern and isoflavones. *J Biol Chem*. 2007;282(28):20657-20666.
13. Koren E, Kohen R, Ginsburg I. Polyphenols enhance total oxidant-scavenging capacities of human blood by binding to red blood cells. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2010;235(6):689-699.
14. Torres N, Palacios-Gonzalez B, Noriega-López N, Tovar AR. Índice glicémico, índice insulínico y carga glicémica de bebidas de soya con un contenido bajo y alto en hidratos de carbono. *Rev Invest Clin*. 2006;58(5):487-497.
15. Foster-Powell K, Holt SH, Brand-Miller JC. International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *Am J Clin Nutr*. 2002;76(1):5-56.
16. Hodge AM, English DR, O'Dea K, Giles GG. Glycemic index and dietary fiber and the risk of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004;27(11):2701-2706.
17. Standards of medical care in diabetes—2013. *Diabetes Care*. 2013;36(suppl 1):S11-S66.
18. Pearce KL, Noakes M, Keogh J, Clifton PM. Effect of carbohydrate distribution on postprandial glucose peaks with the use of continuous glucose monitoring in type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(3):638-644.

AUTHOR INFORMATION

P. López-Romero is an assistant researcher, E. Pichardo-Ontiveros is an assistant researcher, A. Avila-Nava is an assistant researcher, N. Vázquez-Manjarrez is an assistant researcher, A. R. Tovar is a professor, and N. Torres is a professor, Departamento de Fisiología de la Nutrición, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Vasco de Quiroga, México. J. Pedraza-Chaverri is a professor, Departamento de Biología, Facultad de Química, Edificio F, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Ciudad Universitaria, Coyoacán, México.

Address correspondence to: Nimbe Torres, PhD, Departamento de Fisiología de la Nutrición, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Vasco de Quiroga, No. 15, Sección XVI, 14000, México. E-mail: nimbester@gmail.com

STATEMENT OF POTENTIAL CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest was reported by the authors.

FUNDING/SUPPORT

This study was supported by the Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal, Fundación Produce 2010 and Nutriva de México S.A. de C.V. Aguascalientes, Ags. México. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.