



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FES ZARAGOZA, UNAM

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE RESVERATROL SOBRE MARCADORES DE
ESTRÉS OXIDANTE Y SIRTUÍNA 1 EN ADULTOS MAYORES CON DIABETES TIPO 2**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

BEATRIZ ISABEL GARCÍA MARTÍNEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
FES ZARAGOZA, UNAM

COMITÉ TUTOR

DR. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO
FES ZARAGOZA, UNAM

DR. JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

MÉXICO, CD. MX. MARZO, 2024



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FES ZARAGOZA, UNAM

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE RESVERATROL SOBRE MARCADORES DE
ESTRÉS OXIDANTE Y SIRTUÍNA 1 EN ADULTOS MAYORES CON DIABETES TIPO 2**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

BEATRIZ ISABEL GARCÍA MARTÍNEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
FES ZARAGOZA, UNAM

COMITÉ TUTOR

DR. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO
FES ZARAGOZA, UNAM

DR. JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

MÉXICO, CD. MX. MARZO, 2024

COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ENTIDAD FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
OFICIO: CGEP/CPCB/ FESZ /0159/2024
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **27 de noviembre del 2023**, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la estudiante **GARCÍA MARTÍNEZ BEATRIZ ISABEL** con número de cuenta **408039527** con la tesis titulada **"EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE RESVERATROL SOBRE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDANTE Y SIRTUÍNA 1 EN ADULTOS MAYORES CON DIABETES TIPO 2"**, realizada bajo la dirección del **DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. ISABEL ARRIETA CRUZ
Vocal: DRA. ALDA ROCÍO ORTIZ MUÑIZ
Vocal: DRA. MIRNA RUIZ RAMOS
Vocal: DRA. RAQUEL RETANA UGALDE
Secretario: DR. JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 06 de febrero de 2024

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA

c. c. p. Expediente del alumno

AGNS/CEC/EARR/cec



Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) a través del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT IN308120).

*Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT)
por el apoyo otorgado mediante el Programa de Becas para Estudios de Posgrado,
con número de CVU 706595.*

A mi tutor principal, el Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez por dirigirme durante la realización de esta investigación, por el tiempo, dedicación, paciencia, así como por la confianza brindada.

A los miembros de mi comité tutor:

Dr. José Pedraza Chaverri y Dr. Edelmiro Santiago Osorio por su tiempo y sus conocimientos.

A la Dra. Mirna Ruiz Ramos por el apoyo y la compañía durante todo el proyecto.

A todos los integrantes del proyecto RV por la ayuda brindada.

Dedicatorias

*A todos los voluntarios que confiaron en nosotros
y participaron con entusiasmo y constancia.*

*A mi madre y hermanos que me apoyan siempre
y me ayudan a encontrar la motivación para continuar.*

*A mis personas favoritas en el mundo: Jessy, Joaquín y Jesús.
Ustedes son mi motor. Los amo.*

Y finalmente a Dios.

Índice

I.	RESUMEN	1
	ABSTRACT	3
II.	INTRODUCCIÓN	4
III.	MARCO TEÓRICO	6
	III.1. Geroscienza y hallmarks del envejecimiento	7
	III.2. Diabetes mellitus tipo 2 y estrés oxidante	12
	<i>III.2.1. Epidemiología de la DM2</i>	14
	<i>III.2.2. Fisiopatología de la DM2</i>	16
	<i>III.2.3. Estrés oxidante (EOx)</i>	18
	<i>III.2.4. El papel del EOx en la DM2</i>	24
	III.3 Alternativas terapéuticas para controlar el EOx en la DM2	29
	<i>III.3.1. Vitaminas C y E</i>	29
	<i>III.3.2. Berberina</i>	29
	<i>III.3.3. Curcuminoïdes</i>	30
	<i>III.3.4. Polifenoles</i>	30
	III.4 Resveratrol	31
	<i>III.4.1. Características y propiedades antioxidantes e hipoglucemiantes del RV</i>	31
	<i>III.4.2. Mecanismos antioxidantes e hipoglucemiantes del RV</i>	33
	<i>III.4.3. RV como modulador de SIRT1</i>	34
	<i>III.4.4. Evidencia de las aplicaciones terapéuticas del RV en la DM2</i>	36
	<i>III.4.5. Toxicidad del RV</i>	37

IV.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	40
V.	HIPÓTESIS	42
VI.	OBJETIVOS	43
	VI.1 Objetivo general	
	VI.2 Objetivos específicos	
VII.	MATERIAL Y MÉTODOS	44
	VII.1 Universo y tipo de estudio	44
	VII.2 Variables	44
	VII.3 Técnicas	46
	<i>VII.3.1 Presión arterial e índice de masa corporal</i>	46
	<i>VII.3.2 Mediciones bioquímicas</i>	47
	<i>VII.3.3 Medición de marcadores de estrés oxidante</i>	50
	<i>VII.3.4 Medición de la concentración de SIRT1</i>	58
	VII.4. Análisis estadístico	59
	VII.5. Aspectos éticos y legales	59
VIII.	RESULTADOS	60
IX.	DISCUSIÓN	67
X.	CONCLUSIONES	74
XI.	PERSPECTIVAS	75
XII.	REFERENCIAS	76
	ANEXOS	
	Anexo 1. Consentimiento informado	
	Anexo 2. Comité de Bioética y Bioseguridad de la FES Zaragoza	
	Anexo 3. Artículo requisito	
	Anexo 4. Publicaciones derivadas de la investigación	

ÍNDICE DE FIGURAS	Página
Figura 1. Alteraciones celulares y moleculares involucradas en el envejecimiento y en el desarrollo de enfermedades asociadas a la edad.	10
Figura 2. Fisiopatología de la DM2.	18
Figura 3. Clasificación de los antioxidantes.	22
Figura 4. Activación de vías alternativas como consecuencia de la hiperglucemia.	25
Figura 5. Estructura química del RV	31
Figura 6. Propuesta de mecanismos a través de los cuales el RV ejerce sus efectos benéficos	35
Figura 7. Diagrama general del estudio.	45
Figura 8. Concentración de SIRT1 en los grupos de estudio pre y post-tratamiento.	66

ÍNDICE DE CUADROS

Página

Cuadro 1. Efecto del RV como coadyuvante en el tratamiento de la DM2	38
Cuadro 2. Operacionalización de las variables del estudio.	46
Cuadro 3. Presión arterial e IMC en los grupos de estudio pre y post-tratamiento	62
Cuadro 4. Parámetros bioquímicos de los grupos de estudio, pre y post-tratamiento	63
Cuadro 5. Marcadores de EOx en los grupos de estudio, pre y post-tratamiento	64
Cuadro 6. Índice de EOx en los grupos de estudio pre y post-tratamiento	65

ABREVIATURAS

8-Iso	8-isoprostanos
4-HNE	4-hidroxinonenal
ABTS	2,2'-azido-di etilbenzotiazolinsulfonato
ABTS⁺	Ión 2,2'-azido-di etilbenzotiazolinsulfonato
AChE	Acetilcolinesterasa
ADP	Adenosín difosfato
AGEs	Productos finales de glicación avanzada (del inglés Advanced Glycation End products)
Akt	Cinasas serina/treonina
AMPK	Proteína cinasa activada por adenosín monofosfato
ANOVA	Análisis de la varianza
ARE	Elemento de respuesta antioxidante
ATP	Adenosín trifosfato
BHT	Butiril-hidroxitolueno
Blk	Blanco
Bo	Unión máxima (bond)
CAT	Catalasa
COX	Ciclooxigenasas
CYP1A1	Citocromo p450 A1
DAG	Diacilglicerol
DE	Desviación estándar
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
ECNT	Enfermedades crónicas no transmisibles
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EIA	Afinidad eicosanoide
EOM	Estrés oxidante modera
EOS	Estrés oxidante severo
EOx	Estrés oxidante
ERNs	Especies reactivas de nitrógeno
EROs	Especies reactivas de oxígeno
EtOH	Etanol
F6P	Fructosa-6-fosfato
FOXO	Proteínas FOX (forkhead box) clase O
G6P	Glucosa-6-fosfato
GAP	Brecha antioxidante
GE	Grupo experimental
GFAT	Glucosamina-fructosa-amidotransferasa

GP	Grupo placebo
GLP-1	Péptido 1 similar al glucagón
GLUT	Transportador de glucosa
G3P	Gliceraldehído-3-fosfato
DH3P	Dihidroxiacetona-3-fosfato
GPx	Glutación peroxidasa
GR	Glutación reductasa
GSH	Glutación reducido
GSSG	Glutación oxidado
HbA1c	Hemoglobina glicada
HDL-c	Lipoproteínas de alta densidad
H₂O	Agua
H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
IC	Inflamación crónica
ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular 1
IEOx	Índice de estrés oxidante
IFN-γ	Interferón γ
IκB	Molécula inhibidora del factor nuclear κB
IL	Interleucina
IMC	Índice de masa corporal
I.N.T.	2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolio
IRS	Sustrato del receptor de insulina
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LOO[·]	Radical peroxilo
LOOH	Peróxido lipídico
LPO	Lipoperóxidos
MDA	Malonaldehído
mTOR	Diana de rapamicina en células de mamífero
NAD⁺	Nicotin adenín dinucleótido
NADH	Nicotin adenín dinucleótido reducido
NADP⁺	Nicotin adenín dinucleótido fosfato
NADPH	Nicotin adenín dinucleótido fosfato reducido
NaOH	Hidróxido de sodio
NFκB	Factor nuclear κB
NLRP3	Proteína 3 del receptor tipo NOD
NO	Óxido nítrico
NSB	Unión no específica (<i>Non-specific bond</i>)
Nrf2	Factor nuclear eritroide similar al factor 2
O₂	Oxígeno molecular
O₂^{·-}	Radical superóxido

O₂²⁻	Radical peróxido
OH[·]	Radical hidroxilo
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONOO-	Ión peroxinitrito
p38 MAPK	Cinasa activada por mitógeno p38
PAD	Presión arterial distólica
PAS	Presión arterial sistólica
PARP1	Poli (ADP-ribosa) polimerasa-1
PCK	Proteína cinasa C
PCR	Proteína C reactiva
PGs	Prostaglandinas
PGC1-α	Coactivador del receptor activado por proliferador de peroxisomas 1α
PI3K	Fosfatidilinositol-3-cinasa
PPAR	Receptor activado por proliferadores peroxisómicos
RAGE	Receptor de los AGEs
RI	Resistencia a la insulina
RL	Radicales libres
RV	Resveratrol
SASP	Fenotipo secretor asociado a senescencia
SDH	Sorbitol deshidrogenasa
SIRT1	Sirtuína 1
SOD	Superóxido dismutasa
STAT3	Transductor de señal y activador de la transcripción 3
TA	Actividad total (<i>total activity</i>)
TAS	Estado antioxidante total (<i>total antioxidant status</i>)
TBARs	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico
TGFα	Factor de crecimiento transformante α
TGFβ	Factor de crecimiento transformante β
TMP	1,1,3,3-tetrametoxipropeno
TNFα	Factor de necrosis tumoral α
UCP-2	Proteína desacopladora-2
UDP-GlcNAc	Uridina difosfato-N-acetilglucosamina
VCAM-1	Molécula de adhesión vascular celular 1
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
XOD	Xantin oxidasa

I. RESUMEN

Antecedentes. La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad crónica no transmisible (ECNT) de tipo metabólico que afecta a gran parte de la población adulta en el mundo, con una incidencia significativamente elevada en los adultos mayores. Asimismo, la DM2 es causante de varias complicaciones diabéticas vinculadas con alteraciones micro y macrovasculares, tales como nefropatía, retinopatía y neuropatía, en cuya fisiopatología están involucrados el estrés oxidante (EOx) e inflamación crónica (IC). Por tal motivo se ha recomendado el consumo de compuestos de origen natural con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias e hipoglucemiantes como adyuvantes para el tratamiento de la DM2. En este sentido, uno de los más utilizados es el resveratrol (RV), cuyo compuesto (polifenol) ha sido ampliamente ensayado en estudios realizados en cultivos celulares y modelos animales, en los que han demostrado sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias e hipoglucemiantes, en las cuales la sirtuina 1 (SIRT1) tiene un papel clave; no obstante, los resultados reportados en estudios clínicos en humanos son controvertidos.

Objetivo. Evaluar el efecto de la administración oral de resveratrol a dosis de 500 mg/día en comparación con 1000 mg/día sobre marcadores de estrés oxidante y sirtuina 1 en adultos mayores con diabetes tipo 2.

Métodos. Previo consentimiento informado, se realizó un ensayo clínico aleatorizado doble ciego en 97 adultos mayores con DM2 para evaluar el efecto del RV sobre los marcadores de EOx y concentraciones sanguíneas de SIRT1. Para ello se formaron aleatoriamente 3 grupos de estudio: i) Grupo experimental (GE) 1000 (n=37) quienes recibieron 1000 mg/día de RV en cápsulas; ii) GE500 (n=32), que recibieron 500 mg/día de RV en cápsulas; iii) Grupo placebo (GP) (n=28) quienes recibieron cápsulas físicamente idénticas a las de RV con placebo como contenido. Se midieron al inicio y seis meses después del tratamiento los marcadores bioquímicos (biometría hemática, química sanguínea y hemoglobina glicosilada (HbA1c)), marcadores de EOx (LPO, lipoperóxidos; 8-Iso, 8-isoprostanos; SOD, superóxido dismutasa; GPx, glutatión peroxidasa; CAT, catalasa; TAS, estado antioxidante total (*total antioxidant status*); GAP, brecha antioxidante), y se cuantificaron los niveles de SIRT1 en suero. También se estimó el índice de estrés oxidante (IEOx).

Resultados. Se encontró un aumento significativo ($p < 0,05$) en TAS, GAP, actividad de SOD y los niveles de SIRT1 en el GE1000 después de seis meses de tratamiento en comparación con el GP. También se observó una disminución en el IEOx. En contraste no se observaron diferencias significativas en los marcadores de EOx y concentración de SIRT1 entre el GE500 y GP ($p > 0,05$).

Conclusiones. Nuestros hallazgos sugieren que el consumo de 1000 mg/día de RV ejerce un efecto antioxidante más eficiente aunado a un incremento de la concentración sérica de SIRT1 que 500 mg/día en adultos mayores con DM2.

ABSTRACT

Background. Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a chronic non-communicable disease (NCD) that affects a lot of the adult population in the world, with a significantly higher incidence in older adults. Likewise, T2DM causes several diabetic complications linked to micro- and macrovascular alterations, such as nephropathy, retinopathy and neuropathy, in whose pathophysiology oxidant stress (OS) and chronic inflammation (CI) are involved. For this reason, the consumption of natural compounds with antioxidant, anti-inflammatory and hypoglycemic properties has been recommended as adjuvants for the treatment of T2DM. In this sense, one of the most used is resveratrol (RV), whose compound (polyphenol) has been widely tested in studies carried out in cell cultures and animal models, in which its antioxidant, anti-inflammatory and hypoglycemic properties have been demonstrated, in which sirtuin 1 (SIRT1) has a key role. However, the results reported in human clinical studies are controversial.

Aim. To evaluate the effect of oral administration of resveratrol at doses of 500 mg/day compared to 1000 mg/day on markers of oxidative stress and sirtuin 1 in older adults with type 2 diabetes.

Method. We carried out a double-blind randomized clinical trial in 97 older adults with T2DM. They were randomly assigned to one of three groups: i) Experimental group (EG) 1000 (n= 37) who received 1000 mg/day of RV in capsules; ii) EG500 (n= 32), who received 500 mg/day of RV in capsules; iii) Placebo group (PG) (n=28) who received capsules with placebo as content. Biochemical markers (hematic biometry, blood chemistry and glycosylated hemoglobin (HbA1c), OS markers (LPO, lipoperoxides; 8-Iso, 8-isoprostanes; SOD, superoxide dismutase; GPx, glutathione peroxidase; CAT, catalase; TAS, total antioxidant status; GAP, antioxidant gap) and serum levels of SIRT1 were measured at baseline and after six months of follow-up. The oxidant stress index (OSI) was also estimated.

Results. A significant increase ($p < 0.05$) was found in TAS, GAP, SOD activity and SIRT1 levels in the EG1000 after six months of treatment compared to PG. A decrease in OSI was also observed. In contrast, no significant differences were observed in OS markers and SIRT1 concentration between EG500 and PG ($p > 0.05$).

Conclusion. Our findings suggest that consumption of 1000 mg/day of RV exerts a more efficient antioxidant effect coupled with an increase in serum SIRT1 concentration than 500 mg/day in older adults with T2DM.

II. INTRODUCCIÓN

La DM2 es una ECNT de tipo metabólico que se origina como consecuencia de la ineficacia por parte del organismo para producir y/o utilizar la insulina, cuya hormona está estrechamente involucrada en el metabolismo de la glucosa, lo cual desencadena hiperglucemia. La DM2 es un problema de salud pública a nivel mundial; de hecho, se ha estimado una prevalencia del 10,5% proyectándose un incremento al 12,2 % para el 2045 en población de 20 a 79 años, siendo significativamente más alta en adultos mayores. Esto resulta preocupante, ya que a largo plazo la hiperglucemia provoca complicaciones micro y macrovasculares que afectan la estructura y función de órganos como los ojos, riñones, corazón y cerebro, por lo que constituye un riesgo elevado de discapacidad, fragilidad y mortalidad temprana, además de representar una enorme carga para el sistema de salud.

Se ha demostrado que la hiperglucemia es responsable de la generación excesiva de radicales libres (RL) y/o especies reactivas de oxígeno (EROs) que provocan daño oxidativo a las biomoléculas, debido a que la glucosa sérica excedente se auto-oxida o puede activar vías poco comunes con lo cual contribuye con la producción de EROs que, de no ser controladas por los sistemas antioxidantes, alteran el funcionamiento de las células, cuyo trastorno bioquímico es definido como EOx. El exceso de EROs afecta la conducción nerviosa desencadenando la aparición de neuropatía y deterioro cognitivo, incluso es un factor de riesgo para la enfermedad de Alzheimer. Asimismo, altera la estructura y función de las células renales, provocando nefropatía; e incluso está asociado con la retinopatía diabética.

Por otro lado, el proceso de envejecimiento *per se* (por sí mismo) incrementa la formación de EROs, razón por la cual el grado de EOx es significativamente elevado en los adultos mayores enfermos de DM2.

En este marco, además de los fármacos hipoglucemiantes, se han propuesto opciones terapéuticas alternativas que permitan atenuar el daño oxidativo y con ello retrasar la aparición de las complicaciones de la DM2. Al respecto, una de las opciones ampliamente ensayadas es el RV, un compuesto polifenólico perteneciente a la familia de los estilbenos que posee la capacidad de ceder electrones a los RL y EROs, convirtiéndolo en un potente antioxidante. En este sentido, algunos estudios han demostrado la utilidad del RV como coadyuvante en el tratamiento de las ECNT, cuya fisiopatología involucra EOx e IC, entre las que destaca la DM2.

Los mecanismos terapéuticos del RV se atribuyen en gran medida a su capacidad de activar a la SIRT1, una enzima desacetilasa que participa en ciertas vías de señalización inmersas en la biogénesis y función mitocondrial, la respuesta de las células a la insulina, el control del daño oxidativo y la homeostasis metabólica.

Los estudios realizados en cultivos celulares y en modelos animales con DM2 sugieren que el RV ejerce efectos antioxidantes, antiinflamatorios e incluso hipoglucemiantes; no obstante, las evidencias científicas en humanos son controversiales. Tales discrepancias se han atribuido a las diferencias en edad y condiciones de salud de los participantes, a la duración de las intervenciones y a las dosis empleadas, mismas que van desde los 10 mg/día hasta los 3000 mg/día. En este sentido, en una revisión sistemática y meta-análisis realizada por nuestro grupo de investigación encontramos que las dosis mayores a 100 mg/día ejercen un efecto hipoglucemiante, aunque dicho efecto es superior con dosis de 500-1000 mg/día. Esto sugiere que las propiedades terapéuticas del RV se presentan de manera dosis-dependiente, por tal motivo, el propósito del presente estudio fue evaluar el efecto de la administración oral de RV a dosis de 500 mg/día en comparación con 1000 mg/día sobre marcadores de EOx y SIRT1 en adultos mayores con DM2.

III. MARCO TEÓRICO

Desde el inicio de los tiempos, el ser humano ha tratado de averiguar la razón por la cual envejece; no obstante, el envejecimiento humano es un tema tan complejo que hasta el momento no existe un consenso sobre su definición y, por ende, tampoco se conocen las causas. Los expertos en el campo consideran las siguientes características para tratar de definirlo: i) Daño estructural, ii) Deterioro funcional, iii) Agotamiento de la reserva requerida como mecanismo de compensación, iv) Cambios fenotípicos e v) Incremento de la probabilidad de muerte.¹ Acorde con ello podemos intentar definir al envejecimiento como un proceso caracterizado por una disminución relativa de la reserva y respuesta biológica ante las exigencias para mantener o recuperar la homeostasis, el cual cursa con disminución progresiva del rendimiento de órganos, aparatos y sistemas, que surgen como resultado de las modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas, psicológicas y sociales propiciadas por la carga genética y el desgaste acumulado ante los retos que enfrenta la persona a lo largo de su historia en un ambiente determinado.²

Con respecto a las posibles causas del envejecimiento, recientemente se ha propuesto que las constantes interacciones químicas que ocurren entre los metabolitos de rápido recambio y los metabolitos de recambio lento que forman parte de las macromoléculas, son responsables de las características del envejecimiento biológico.³ Esto debido a que los subproductos metabólicos interactúan entre sí formando aductos estables, mismos que pueden eliminarse si están conformados por moléculas de rápido recambio; sin embargo, cuando los aductos formados derivan de moléculas de recambio lento tienden a acumularse, alterando de manera progresiva la funcionalidad de las macromoléculas de larga vida e incrementando la probabilidad de que la célula se dirija al estado de senescencia.³ Dicho estado se ha implicado estrechamente con el envejecimiento ya que las células senescentes presentan cambios que pueden afectar su funcionalidad y comprometer al tejido del que forman parte, provocando daño estructural, deterioro funcional y cambios fenotípicos, mismos que caracterizan al envejecimiento; no obstante, la senescencia no es el único mecanismo involucrado.

Actualmente el estudio del proceso de envejecimiento está inmerso en el campo de la Gerociencia, cuyo objetivo es analizar, comprender e intervenir en los mecanismos biológicos comunes de dicho proceso con las ECNT, precisando los denominados “*Hallmarks*” del envejecimiento.^{1,4,5} Al respecto, se establece que con el paso del tiempo (mayor edad) se incrementa el riesgo de presentar ECNT, por lo que se asume que el envejecimiento *per se* es un factor de riesgo de ECNT, incluso se ha sugerido que el envejecimiento debería ser catalogado como una enfermedad,^{1,4,6} por lo que identificar los mecanismos involucrados en dicho proceso ayudaría a diseñar estrategias terapéuticas y preventivas que permitan extender el tiempo de vida de la salud humana.^{6,7}

III.1 Gerociencia y *Hallmarks* del envejecimiento

Como ha sido mencionado, la complejidad del proceso biológico de envejecimiento es un tema de actualidad, sin embargo, los expertos en el campo aún no saben con exactitud las causas por las cuales envejecemos, aunque se han identificado algunos mecanismos (*hallmarks*) involucrados.^{4,5} Entre estos, destacan la inestabilidad del genoma que surge como consecuencia de la acumulación de mutaciones y lesiones que sufre el ácido desoxirribonucleico (DNA), las alteraciones epigenéticas, el acortamiento de telómeros que induce senescencia celular, las alteraciones postraduccionales de las proteínas, las alteraciones en la actividad autofágica de los lisosomas, la inflamación y el EOX.^{8,9} Las interacciones entre tales eventos, son responsables de las alteraciones morfológicas y fisiológicas que se presentan durante el proceso de envejecimiento, además de estar implicadas en el desarrollo de ECNT, por lo que dilucidarlas y comprenderlas resultan de vital importancia para incrementar la esperanza de vida y retrasar el desarrollo de ECNT, tal como lo proponen los expertos en el campo de la gerociencia.¹⁰

Los avances científicos han permitido establecer que el envejecimiento es producto de modificaciones a nivel celular y molecular pues el DNA, las proteínas, los lípidos, los carbohidratos e incluso los organelos celulares pueden sufrir y acumular daños a causa de la constante exposición de la célula a factores estresantes, entre los que se encuentran las EROs y las especies reactivas de nitrógeno (ERNs), la limitación de nutrientes, la luz ultravioleta y las toxinas, principalmente.¹¹ Dichos factores

desencadenan mecanismos que se presentan durante el envejecimiento y también en las ECNT.⁵ Tales mecanismos son: senescencia celular, epigenética, disfunción mitocondrial, alteraciones en la proteostasis, modificaciones en la actividad autofágica, inflamación, neurodegeneración, disfunción endotelial y EOX (Figura 1). A continuación, se describen brevemente los mecanismos mencionados.

- *Senescencia celular.* Es un estado de supresión de la proliferación, en el cual se mantienen las funciones metabólicas y la viabilidad celular.¹² La senescencia puede ser: a) Replicativa, que surge cuando los telómeros se desgastan y acortan su longitud hasta alcanzar un punto crítico; b) No replicativa que surge como respuesta ante el daño provocado por factores estresantes como el daño oxidativo.^{13,14} En ambos casos, puede presentarse daño al DNA y se activa un mecanismo que dirige a la célula a un estado de senescencia para limitar la propagación aberrante del daño causado.¹³ Las células senescentes secretan un conjunto de moléculas que reciben el nombre de fenotipo secretor asociado a la senescencia (SASP, senescence associated secretor phenotype), capaz de alterar los tejidos de los que forman parte y desencadenar la aparición de ECNT.^{14,15}
- *Epigenética.* La información epigenética se modifica como resultado de la exposición a factores exógenos y endógenos, provocando que se incorporen diferentes variantes de histonas y se alteren los patrones de metilación del DNA, lo que modifica la cromatina y desencadena inestabilidad genómica.¹⁶ Durante el proceso de envejecimiento se pierde la conformación del epigenoma y se alteran patrones de expresión génica; además, las histonas sufren modificaciones postraduccionales que también afectan la expresión génica.¹⁷ Una de las modificaciones que surge por la exposición a factores ambientales, es la adición de un grupo metilo a la citosina del DNA, produciendo represión transcripcional. Esta represión es útil para inhibir la expresión de genes innecesarios en ciertos tejidos por lo que una modificación en el patrón de metilación podría incrementar el riesgo de desarrollar cáncer, neurodegeneración y autoinmunidad, entre otras patologías.¹⁸

-
- *Disfunción mitocondrial.* La mitocondria produce la energía necesaria para las células eucariotas e interviene en las vías que regulan la muerte celular programada o apoptosis.¹⁹ Durante el envejecimiento se incrementa la producción de EROs con el subsecuente daño oxidativo a los componentes mitocondriales, con lo que se reduce su capacidad para suministrar energía, y como consecuencia se alteran las funciones celulares.²⁰ Por otro lado, las mitocondrias realizan ciclos de fusión y fisión, y las alteraciones en dichos procesos se han asociado al desarrollo de enfermedades neurodegenerativas, desórdenes metabólicos y al envejecimiento.²¹ Asimismo, para mantener una población mitocondrial saludable, las mitocondrias defectuosas son eliminadas por mitofagia; sin embargo, algunas patologías relacionadas con la edad, incluidas la neurodegeneración y las enfermedades inflamatorias, se caracterizan por la acumulación de mitocondrias disfuncionales, dada la desregulación de la mitofagia durante el proceso de envejecimiento.²²
 - *Alteraciones en la proteostasis.* Las proteínas son las biomoléculas responsables de modular muchas de las vías metabólicas necesarias para la vida. En este sentido, se ha observado que la acumulación de proteínas dañadas u oxidadas debido a alteraciones en el plegamiento y agregación de proteínas, así como el deterioro del proteasoma ocurren durante el proceso de envejecimiento y están involucradas en la fisiopatología de diversas enfermedades.²³ A raíz de ello ha surgido el concepto proteostasis u homeostasis proteica, que implica la correcta participación de varios sistemas que mantienen el equilibrio de las proteínas que se sintetizan, se pliegan, y son estructural y bioquímicamente funcionales, además de llevar a cabo la degradación y desecho de las proteínas dañadas.²⁴ La proteostasis resulta ser particularmente importante en células que no se dividen, como las neuronas, cuyas maquinarias proteostáticas se tornan menos eficientes con el envejecimiento, provocando la acumulación de proteínas mal plegadas, que son la principal causa de enfermedades neurodegenerativas.²⁵

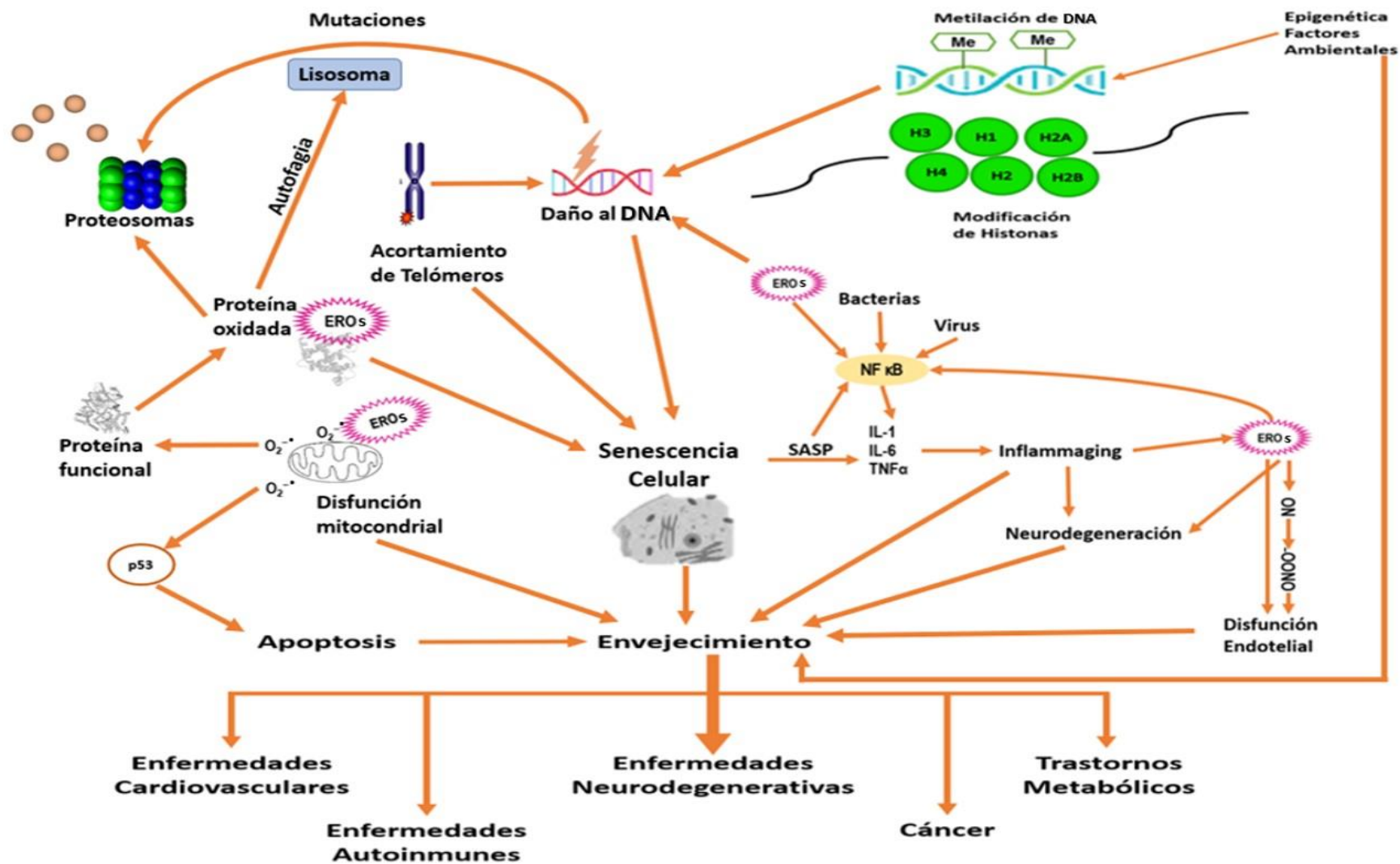


Figura 1. Alteraciones celulares y moleculares involucradas en el envejecimiento y en el desarrollo de enfermedades asociadas a la edad. Abreviaturas: EROs, especies reactivas de oxígeno; IL-6, interleucina 6; IL-1, interleucina 1; NFκB, factor nuclear κB; NO, óxido nítrico; ONOO-: ión peroxinitrito; O₂⁻, radical superóxido; SASP, fenotipo secretor asociado a senescencia; TNFα, factor de necrosis tumoral α.

-
- *Alteraciones de la autofagia.* La autofagia es un proceso por medio del cual los componentes intracelulares y el material extracelular incorporado a la célula se envían a los lisosomas para su degradación, posteriormente se reciclan y reutilizan.²⁶ Este proceso participa en el control de calidad celular, por lo que su desregulación se ha relacionado con la fisiopatología de las enfermedades neurodegenerativas, los trastornos metabólicos, el cáncer y el envejecimiento. Durante este último, se ha observado que la eficiencia de la autofagia disminuye y su regulación se altera, provocando que se acumulen macromoléculas y organelos dañados, que a su vez alteran otras vías metabólicas y eventualmente conllevan al desarrollo de enfermedades.²⁷
 - *Inflamación.* Durante el envejecimiento se desarrolla una IC y de bajo grado, llamada *inflammaging*, que contribuye a la patogenia de las ECNT. Este *inflammaging* ocurre en ausencia de infección y es principalmente impulsado por señales endógenas que activan al sistema inmunológico innato, favoreciendo el daño a nivel molecular, orgánico y sistémico, además de reducir la capacidad de respuesta ante nuevos antígenos.²⁸ Aunado a ello, el sistema inmunológico se ve afectado durante el proceso de envejecimiento, pues este último interfiere con el funcionamiento de las células inmunitarias innatas y adaptativas. Tal proceso es conocido como inmunosenescencia y contribuye a una mayor susceptibilidad a infecciones, cánceres, enfermedades autoinmunes.²⁹ El *inflammaging* o estado inflamatorio crónico relacionado con la edad se encuentra íntimamente ligado a la mayoría de los padecimientos crónicos,²⁸ por lo que identificar las vías que lo controlan permitiría comprender mejor la relación entre el envejecimiento y las ECNT.
 - *Neurodegeneración.* Además de la disminución de las funciones físicas, el envejecimiento humano cursa con un deterioro gradual de las funciones cognitivas, lo que implica mayor riesgo de desarrollar enfermedades neurodegenerativas, por lo que se considera al envejecimiento como el factor de

riesgo más importante para el desarrollo de dichas enfermedades.³⁰ Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por la pérdida crónica y progresiva de neuronas y sus conexiones sinápticas, que ocurre como resultado de la inestabilidad genómica, el desgaste de los telómeros, la pérdida de proteostasis, la disfunción mitocondrial y la senescencia celular excesiva; siendo todas estas características del envejecimiento.³¹ Aunado a ello, se considera que la inflamación podría ser el factor causal más importante en las enfermedades neurodegenerativas relacionadas con la edad, ya que la "neuroinflamación" se asocia con un número significativamente menor de neuronas.³²

- *Disfunción endotelial.* Con el envejecimiento se presentan cambios vasculares relacionados con el acortamiento de telómeros, la apoptosis, la disfunción de células endoteliales, el incremento de la vasoconstricción dependiente del endotelio, la disminución en la biodisponibilidad del óxido nítrico (NO) y el aumento de la rigidez vascular.³³ Además, se ha observado que el envejecimiento y las enfermedades crónicas incrementan la actividad de la endotelina 1, encargada de estimular la actividad vasoconstrictora, la proliferación celular, la coagulación, la inflamación y la generación de EROs; favoreciendo el desarrollo y la progresión de ECNT.³⁴ Asimismo, las células endoteliales presentan telómeros más cortos, lo que provoca disfunción endotelial y paulatinamente desencadena enfermedades cardiovasculares.³⁵

Los mecanismos mencionados se encuentran implicados en el proceso de envejecimiento y también están íntimamente ligados al desarrollo de ECNT, tales como la DM2.

III.2 Diabetes tipo 2 y estrés oxidante

La DM2 es una ECNT de tipo metabólica caracterizada por hiperglucemia, que se desencadena como resultado de alteraciones en la producción y/o función de la insulina. El metabolismo de los carbohidratos es el principal afectado por la DM2; sin embargo, también se ve alterado el metabolismo de los lípidos y en menor medida el de las proteínas.³⁶ Aun cuando no se conoce con precisión la causa de la DM2, se sabe que es una enfermedad multifactorial estrechamente ligada a factores ambientales y genéticos. La DM2 se genera como consecuencia de un defecto progresivo en la secreción y/o acción de la insulina, hormona necesaria para la captación de glucosa y su posterior aprovechamiento por parte de las células, ocasionando resistencia periférica a ella y dirigiendo a un incremento en los niveles plasmáticos de glucosa.³⁷

Existen otros tipos de diabetes; como la diabetes mellitus tipo 1 que es de etiología autoinmune y se caracteriza por la destrucción masiva y casi en su totalidad de las células β pancreáticas que se encargan de la síntesis y secreción de insulina, este tipo de diabetes representa entre 5 y 10% de los casos de diabetes. También existe la diabetes gestacional en la cual la hiperglucemia aparece en cualquier etapa del embarazo, se presenta entre el 3 y 9% de las mujeres embarazadas y comúnmente se resuelve tras el parto. Existe un cuarto tipo de diabetes en la que se incluye la secundaria u otros tipos específicos de diabetes, en esta categoría se engloba a aquellas provocadas por defectos monogénicos de la función de las células beta, por defectos genéticos de la acción de la insulina, por enfermedad pancreática exocrina y por endocrinopatías, entre otros. Pese a la existencia de los diferentes tipos de diabetes, la DM2 es la más frecuente, pues representa de 90 a 95% de todos los casos de diabetes.^{36,37} También se ha propuesto el concepto de diabetes mellitus tipo 3, con el propósito de resaltar los mecanismos fisiopatológicos comunes entre la DM2 y la enfermedad de Alzheimer.³⁸

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Asociación Americana de Diabetes (ADA) el diagnóstico de DM2 se confirma si se cumple con uno de los siguientes criterios:³⁹

- Glucosa plasmática ≥ 126 mg/dL (7,0 mmol/L) en condiciones de ayuno
- Glucosa plasmática ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L) después de una carga oral de 75 g de glucosa o como resultado de una prueba aleatoria
- Hemoglobina glicada (HbA1c) $\geq 6,5\%$

Dentro de los criterios diagnósticos también se consideran los de prediabetes que es una condición de hiperglucemia intermedia ya que los niveles de glucosa y HbA1c están más elevados de lo normal pero no alcanzan los que se presentan en la DM2; no obstante, esto representa un riesgo demasiado alto para desarrollar DM2. Los criterios de diagnóstico de prediabetes son: glucosa plasmática de 100-125 mg/dL (5.6-6.9 mmol/L) en ayuno; glucosa plasmática de 140 a 199 mg/dL (7.8-11.1 mmol/L) después de una carga oral de 75 g de glucosa; HbA1c de 5.7 a 6.4%.³⁹

III.2.1 Epidemiología de la DM2

La DM2 es una de las ECNT de mayor prevalencia, situación realmente preocupante dada la cantidad de complicaciones derivadas de dicha enfermedad, las cuales son causantes de discapacidad, dependencia e incluso muerte.⁴⁰ Esto impacta de manera negativa sobre la calidad de vida de quienes padecen DM2 y sus familias, además de afectar severamente su economía. Asimismo, los costos de salud se incrementan debido a la mayor necesidad de atención médica y la disminución de la productividad de los individuos con DM2.^{40,41}

La prevalencia mundial de DM2 ha alcanzado cifras alarmantes, se estima que en 2021 fue del 10.5% (536.6 millones) en personas de 20 a 79 años; siendo mayor en hombres que en mujeres (10.8% vs 10.2%). Además, esta proporción incrementa con la mayor edad, alcanzando hasta un 24% en adultos mayores de 75 años. Aunado a ello, se ha estimado que en 2045 habrá 783 millones de personas con DM2 (12.2% de la población

mundial).⁴¹ Esto resulta preocupante considerando los elevados costos de la enfermedad, ya que el 77% de los individuos con DM2 (414 millones) se concentran en países de ingresos medios, entre los cuales se encuentra México. Al respecto, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (Ensanut 2022) estimó que 12.6% de los mexicanos mayores de 20 años viven con DM2; es decir que poco más de 16 millones de los 129 millones de habitantes mexicanos estimados por el INEGI en 2022 padecen DM2.⁴² Esta cifra implica que nuestro sistema de salud invierte gran parte de sus recursos económicos en el tratamiento de la DM2 puesto que la enfermedad cursa con complicaciones micro y macrovasculares que requieren de atención médica.

Las complicaciones microvasculares son afectaciones a nivel de los vasos sanguíneos de menor diámetro (capilares), principalmente de retina, riñones y nervios periféricos; tales afectaciones son causantes de retinopatía, nefropatía y neuropatía, respectivamente.⁴³ La retinopatía que puede provocar pérdida de la visión, se presenta en aproximadamente 12% de los diabéticos que residen en países desarrollados;⁴⁴ no obstante, esta cifra es mayor en países en vías de desarrollo como México, donde alcanza hasta un 31%.⁴⁵ En cuanto a la nefropatía, causante de enfermedad renal crónica, se estima que se presenta en alrededor del 30% de los sujetos con DM2.^{43,45} La neuropatía es la más frecuente de las complicaciones microvasculares, ya que se presenta hasta en un 50% de las personas que padecen DM2, causando dolor, pérdida de movilidad e incluso amputaciones debido al desarrollo de pie diabético.⁴³ Estas complicaciones se presentan entre 5 y 10 años después del diagnóstico de la enfermedad, afectando la calidad de vida de quienes padecen DM2, ya que en ocasiones presentan más de una complicación, lo cual limita sus capacidades.⁴⁵

Las complicaciones macrovasculares afectan a las arterias en general y son causantes de enfermedad cardíaca coronaria, enfermedad cerebrovascular, arritmias y enfermedad vascular periférica, las cuales aumentan de manera considerable la morbi-mortalidad cardiovascular entre las personas con DM2, constituyendo la principal causa de muerte en dichas personas.^{46,47} Tanto las complicaciones micro como las macrovasculares están

estrechamente ligadas con la hiperglucemia y la resistencia a la insulina (RI), que representan la parte medular de la fisiopatología de la DM2.

III.2.2 Fisiopatología de la DM2

La etiología de la DM2 es de carácter multifactorial, fuertemente influenciada por la interacción entre factores genéticos y ambientales.⁴⁸ La fisiopatología de la DM2 puede dividirse en RI de tejidos periféricos y disfunción de las células β pancreáticas, siendo ambas responsables de la hiperglucemia que caracteriza a la enfermedad.⁴⁹

La RI se desencadena debido a la reducción en la capacidad de la insulina para llevar a cabo sus acciones biológicas en músculo esquelético, hígado y tejido adiposo, principalmente, afectando el transporte, captación y aprovechamiento de la glucosa por parte de las células que conforman dichos tejidos.⁵⁰ La insulina es una hormona de naturaleza glucoproteica que ejerce sus funciones biológicas gracias a la interacción con su receptor en la membrana celular, mismo que al activarse da lugar a diversas vías de señalización.^{50,51} Una de estas vías es la del fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K) que tiene lugar en células del músculo esquelético y adipocitos, donde promueve la activación de cinasas serina/treonina (Akt) que estimulan la translocación de los transportadores de glucosa (GLUT) hacia la membrana celular, los cuales son responsables de introducir la glucosa a las células para que puedan utilizarla en su metabolismo.^{50,52} De esta manera la insulina contribuye a la regulación del metabolismo energético, por lo que cualquier modificación en su producción o acción impacta directamente sobre el metabolismo, tal como ocurre con la RI.

La RI es una condición fisiopatológica que se presenta debido a la disminución de la actividad de la insulina en las células; los tejidos exhiben resistencia a la acción de la hormona y como consecuencia la glucosa circulante no ingresa a las células y se acumula en sangre provocando hiperglucemia.⁵³ Al inicio de la RI las células β pancreáticas incrementan la producción de insulina como mecanismo compensatorio ante la falta de glucosa en las células y la acumulación de la misma en la circulación sanguínea, no obstante, paulatinamente se afecta la capacidad secretora de las células β y se

desencadena la hiperglucemia, que a su vez, altera la supresión de la lipólisis provocando elevación de los ácidos grasos libres que promueven la producción de glucosa hepática a través de la gluconeogénesis.^{50,54} Los mecanismos responsables de la RI pueden ser múltiples, aunque se ha propuesto que la deficiente señalización de insulina originada por mutaciones o modificaciones post-traduccionales del receptor y los defectos en la interacción de la insulina con su receptor son los principales causantes de RI y gradualmente, del desarrollo de DM2.⁵⁵

En lo que respecta a las células β pancreáticas, éstas se encuentran inmersas en un equilibrio resultante de la regeneración y la apoptosis de las mismas, sin embargo, dicho equilibrio puede verse alterado por causas como la senescencia celular, la susceptibilidad genética y la glucotoxicidad que surge como consecuencia de la hiperglucemia, resultando en disfunción de las células β pancreáticas.^{56,57} Aunado a la disfunción de las células β , hay una reducción de su volumen en los islotes pancreáticos y un incremento de células α (secretoras de glucagón), lo que se traduce en disminución de la secreción de insulina y aumento de la secreción de glucagón, y por ende, en hiperglucemia.⁴⁸

Por otro lado, la glucotoxicidad además de afectar la supervivencia de las células β , puede inhibir la expresión del gen que codifica para la síntesis de insulina afectando la producción de la hormona. También altera la síntesis del transportador GLUT4 y afecta el transporte de la glucosa al interior de las células.⁵⁵ Estas alteraciones, en conjunto con la RI y la disfunción de las células β , gradualmente favorecen el desarrollo de DM2 (Figura 2) además de promover vías poco usuales que generan daño oxidativo e inducen la aparición de complicaciones a nivel micro y macrovascular.⁵⁸

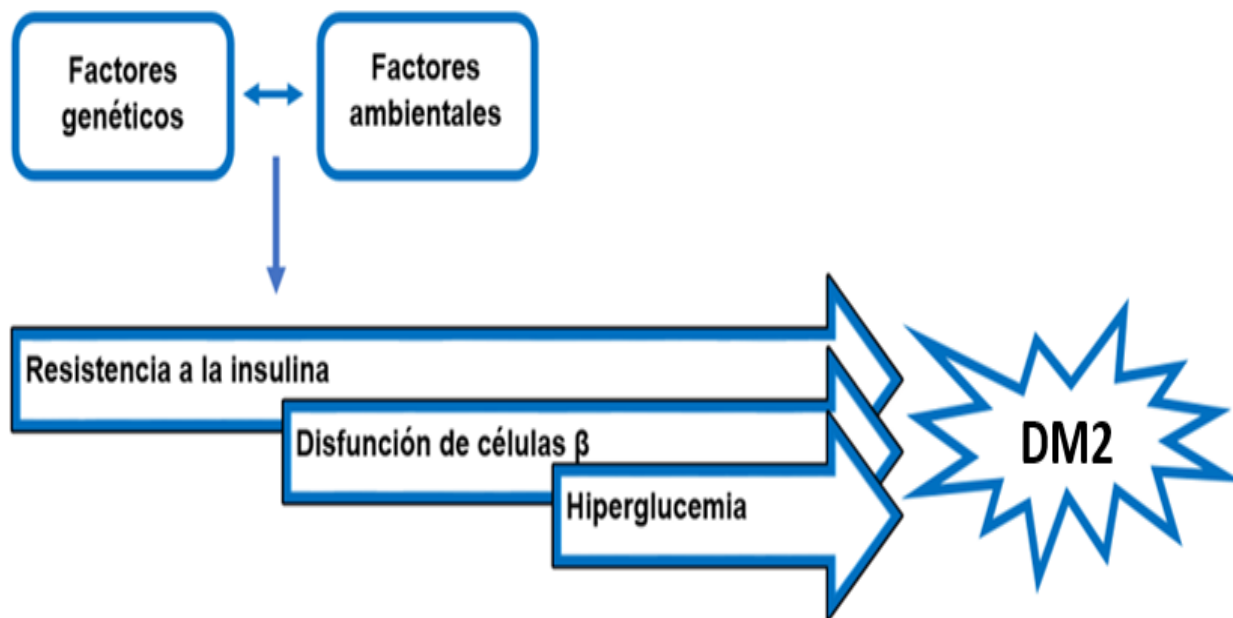


Figura 2. Fisiopatología de la DM2. El esquema muestra los mecanismos involucrados en la fisiopatología de la DM2.

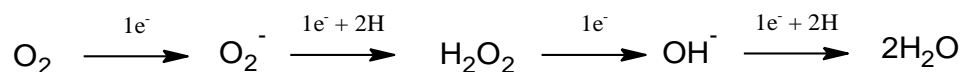
III.2.3 Estrés oxidante (EOx)

La hiperglucemia que caracteriza a la DM2 promueve EOx ya que la glucosa al ser un α -hidroxialdehído posee la habilidad de auto-oxidarse y formar un enediol, que en presencia de metales de transición como el Fe^{3+} produce cetoaldehídos oxidados, RL y EROs, cuya acumulación provoca EOx.⁵⁹

El EOx es un desbalance bioquímico que surge por la elevada producción de RL y/o EROs y la ineficiencia de los sistemas antioxidantes para contrarrestarlos.⁶⁰ Los RL son especies químicas que presentan un electrón no apareado en su última capa energética, por lo cual son muy inestables y altamente reactivos, pueden reaccionar de manera no específica con otras moléculas alterando su estructura química y funcionalidad.^{60,61} Los RL se originan, en su mayoría, como producto del metabolismo celular, siendo la mitocondria la principal generadora a través de la fosforilación oxidativa. Los peroxisomas

y los leucocitos polimorfonucleares constituyen otra fuente de RL dado su elevado contenido de enzimas oxidasas. No obstante, los RL pueden derivar de fuentes exógenas como las radiaciones ionizantes, algunos fármacos, así como agentes contaminantes.⁶¹

En el proceso de la fosforilación oxidativa casi todo el oxígeno es reducido a agua mediante una reacción que involucra 4 electrones. Inicialmente un solo electrón reduce la molécula de oxígeno (O₂) y se forma el anión superóxido (O₂^{-•}). Después el anión O₂^{-•} se reduce de manera univalente formando al ión peróxido (O₂²⁻), el cual toma protones H⁺ del medio y produce peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Dado que la unión O-O del H₂O₂ es muy débil e inestable puede romperse y aceptar otro electrón, dando lugar al radical hidroxilo (OH[•]) que es capaz de aceptar un nuevo electrón, así como de tomar protones H⁺ del medio para formar agua (H₂O), logrando así reducir completamente la molécula de O₂, tal como se aprecia en la siguiente reacción:⁶⁰⁻⁶²



Pese a lo anterior, una pequeña proporción de O₂ (aproximadamente 5%) no completa la reacción y se reduce de manera univalente, dando lugar a la formación de EROs, entre las que se encuentran el anión O₂^{-•} y el H₂O₂. Estas últimas pueden producir la EROs más dañina de todas, el radical OH[•], mediante las reacciones de Haber-Weiss y Fenton.⁶² Además de las EROs, existen las ERNs que son químicamente inestables y altamente reactivas. Los principales objetivos moleculares de los RL y EROs son los lípidos que constituyen las membranas, los ácidos nucleicos (DNA), proteínas e incluso carbohidratos, cuya estructura y funcionalidad se ven alteradas debido a la interacción con los RL.^{61,63}

Los RL y EROs pueden causar daño oxidativo a las membranas celulares debido a que éstas poseen un elevado contenido de ácidos grasos poliinsaturados. Entre ellos, destaca el ácido araquidónico, que mediante peroxidación enzimática da lugar a la formación de endoperóxidos lipídicos entre los que se encuentran las prostaglandinas (PGs), tromboxanos, leucotrienos y algunos derivados de las ciclooxigenasas (COX) y

lipoxigenasas. También puede formar hidroperóxidos lipídicos como malondialdehído (MDA), 4-hidroxinonenal (4-HNE) y 8-isoprostanos (8-Iso) mediante peroxidación no enzimática.^{64,65} Esta reacción ocurre en 3 fases, una de iniciación en la cual una de las EROs catalizada por hierro lábil extrae un hidrógeno bis-alélico de un ácido graso poliinsaturado y forma un radical peroxilo (LOO^\cdot); en la segunda etapa (propagación) el radical LOO^\cdot extrae un hidrógeno del metileno de otros ácidos grasos poliinsaturados circundantes y forma un nuevo radical LOO^\cdot , que a su vez es capaz de extraer un hidrógeno de otro ácido graso y generar un peróxido lipídico (LOOH) mediante una reacción en cadena; en la fase de terminación, la cantidad de radicales LOO^\cdot es tan elevada que se llevan a cabo reacciones entre ellos ($\text{LOO}^\cdot - \text{LOO}^\cdot$). Estos peróxidos lipídicos pueden difundirse en toda la membrana celular, sin embargo, se pueden degradar en hidroxiácidos y aldehídos reactivos, que resultan sumamente útiles para cuantificar la peroxidación lipídica en muestras biológicas.^{61,64,66}

Los hidroxiácidos resultan de la reducción directa del peróxido lipídico, la cual ocurre gracias a la actividad de las enzimas glutatión peroxidasas; en cambio, los aldehídos reactivos se pueden formar mediante diversos mecanismos que aún no están del todo claros, pero implican interacciones entre los peróxidos lipídicos y rearrreglos intramoleculares. Los aldehídos mejor descritos son el MDA y el 4-HNE.⁶⁴ Anteriormente, se consideraba al MDA como un marcador confiable de peroxidación lipídica ya que reacciona con el ácido tiobarbitúrico y produce un compuesto colorido cuya absorbancia es proporcional a los peróxidos lipídicos degradados; no obstante, en la actualidad los 8-Iso constituyen un biomarcador más confiable ya que resultan de la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados catalizada por RL, y una vez formados son muy estables, además de poder cuantificarse en sangre y orina, así como en células y tejidos.⁶⁷

Con respecto a los ácidos nucleicos, el DNA es susceptible de daño oxidativo por parte de los RL debido a su contenido de desoxirribosa, la cual se oxida y rompe su unión con el grupo fosfato del nucleótido consecutivo, rompiendo la cadena sencilla y provocando daño permanente al material genético. Las proteínas también son susceptibles de daño oxidativo dado que las EROs inducen carbonilación, nitración, ruptura de los enlaces

peptídicos y formación de enlaces proteína-proteína, lo cual causa alteraciones estructurales y pérdida de funcionalidad. Como consecuencia se afecta la actividad de canales iónicos, transportadores, receptores y proteínas reguladoras, induciendo un daño irreversible a las células que puede incluso ser mortal.^{61,68} En cuanto al daño oxidativo de los carbohidratos, se manifiesta primordialmente en el ácido hialurónico, la condroitina y el dermatán sulfato, así como en la glucosa y el manitol que interactúan con el radical $\text{OH}\cdot$.⁶³

Las EROs y los RL no son del todo perjudiciales, de hecho, en cantidades bajas proporcionan protección frente a infecciones e incluso participan en procesos de diferenciación, migración y proliferación celular, además de estimular la producción de citocinas involucradas en la respuesta inmune.⁶⁹ Sin embargo, cuando se generan más RL y EROs de las que las células pueden contrarrestar se desencadenan los daños ya mencionados. Para evitar daño permanente, las células están provistas de un sistema antioxidante con la capacidad de interactuar con ellos y evitar el daño oxidativo. Los antioxidantes son sustancias químicas que retardan o previenen la oxidación de las biomoléculas, se clasifican en primarios, secundarios y terciarios (Figura 3).⁶¹

Los antioxidantes primarios conforman el primer nivel de protección, éstos previenen la formación de EROs, mediante la descomposición enzimática de los peróxidos e hidroperóxidos, la quelación de iones metálicos o la depuración directa de las EROs. A este grupo pertenecen las enzimas GPx y CAT que trabajan de manera conjunta para remover el H_2O_2 que se forma debido a la actividad de la SOD. La CAT se localiza en los peroxisomas, donde cataliza la reducción del H_2O_2 en H_2O y O_2 . Por su parte, la GPx se encuentra principalmente en el citoplasma y las mitocondrias, donde cataliza la reacción entre el glutatión reducido (GSH) y el H_2O_2 para transformarlo en H_2O , siendo necesaria la actividad de la enzima glutatión reductasa (GR) para regresar al glutatión oxidado (GSSG) a su forma reducida.^{61,63}

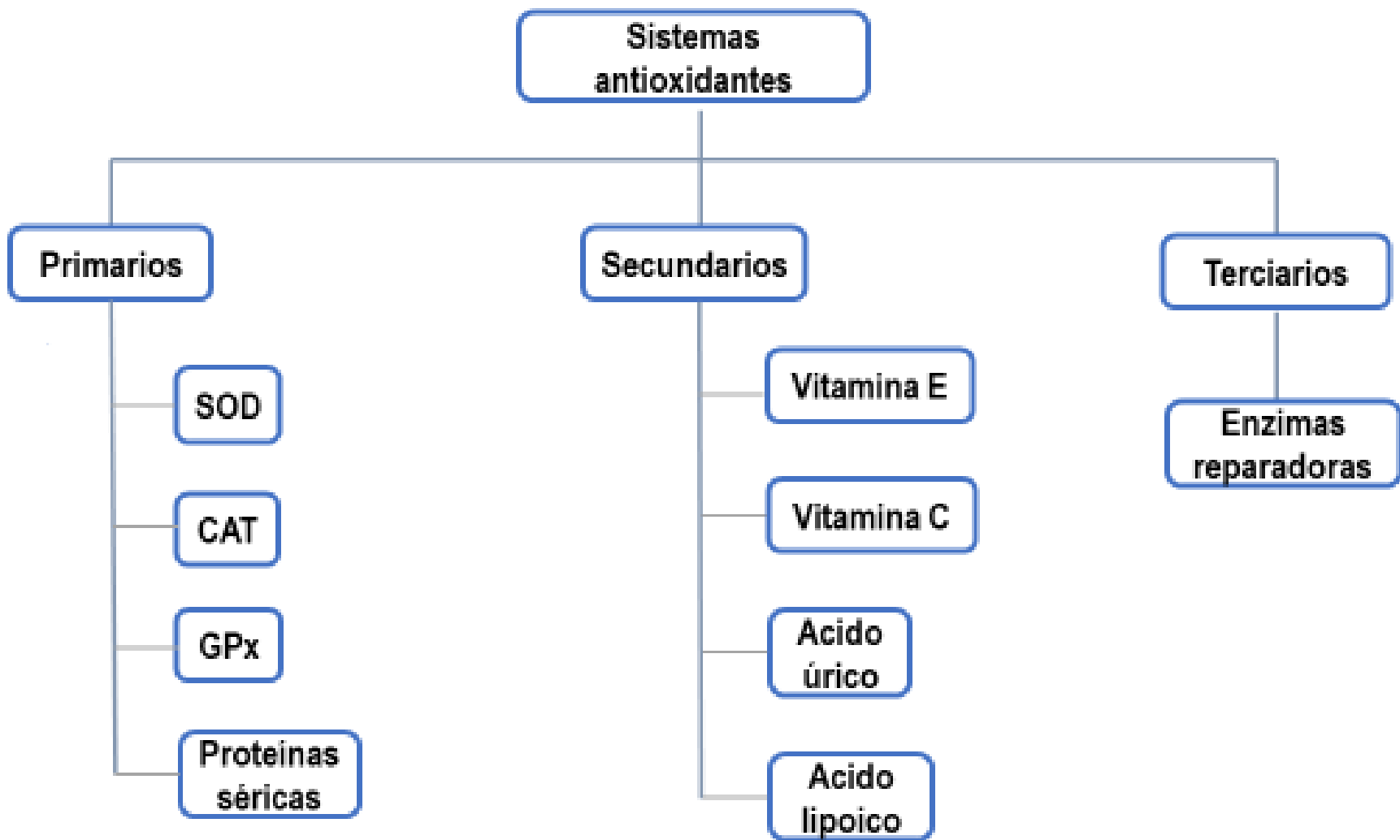


Figura 3. Clasificación de los antioxidantes. El esquema muestra los antioxidantes primarios, secundarios y terciarios. Abreviaturas: CAT, Catalasa; GPx, Glutación peroxidasa; SOD, Superóxido dismutasa.

Los antioxidantes con la capacidad de quelar iones metálicos oxidantes incluyen principalmente proteínas como transferrina, ceruloplasmina, ferritina, albúmina e inmunoglobulinas.⁶⁵ En tanto, la enzima SOD lleva a cabo su función antioxidante depurando las EROs. La SOD puede clasificarse en: a) CuSOD que es la isoforma más abundante, es dependiente de cobre y zinc y se ubica en el citosol, b) MnSOD que se ubica en la matriz mitocondrial y es dependiente de manganeso, c) SOD extracelular. Las tres isoformas catalizan la conversión del anión $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 , que posteriormente es reducido hasta H_2O gracias a la actividad de la GPx y la CAT.⁶¹

Los antioxidantes secundarios constituyen el segundo nivel de protección, actúan toda vez que la capacidad de los antioxidantes primarios se ve rebasada. Tienen la habilidad de interactuar directamente con los RL y evitar la propagación del daño oxidativo. A este grupo pertenecen las vitaminas C y E, la coenzima Q-10 y el ácido alfa lipoico, por mencionar algunos.^{62,63} La vitamina C puede donar electrones directamente a los RL derivados de oxígeno y nitrógeno en medio acuoso, asimismo, actúa de manera sinérgica con la vitamina E, cuya función es brindar protección frente a la peroxidación lipídica.⁶⁵ La coenzima Q-10 en su forma reducida (ubiquinol) tiene la habilidad de ceder electrones a los RL y neutralizar su potencial daño oxidativo; por su parte el ácido alfa lipoico en su forma reducida (ácido dihidrolipoico) puede donar electrones a los RL y detener su acción oxidante, además de ser capaz de quelar iones metálicos con potencial oxidante.^{69,70}

Finalmente, los antioxidantes terciarios se activan si los primarios y secundarios fallan en evitar la oxidación de las biomoléculas. La función de este grupo de antioxidantes es restaurar las biomoléculas a su conformación nativa, así como degradar y reciclar moléculas no funcionales.⁶⁵

Como ya se ha mencionado, los antioxidantes se encargan de mantener bajos niveles de RL y EROs, aunque en ocasiones resultan insuficientes en cantidad y/o actividad, propiciándose la aparición de EOx. En este sentido, existe una asociación entre el EOx y diversas patologías como las enfermedades neurodegenerativas, la enfermedad cardiovascular, el cáncer y la DM2, entre otras.

III.2.4. El papel del EOx en la DM2

La glucosa tiene la habilidad de auto-oxidarse y producir EROs; sin embargo, esa no es la única vía con la que la hiperglucemia contribuye a la generación de EOx ya que la glucosilación de proteínas y la activación de la vía de los polioles también propician EO.⁷⁰ Además, debido al exceso de glucosa las células incrementan la glucólisis, con el consecuente aumento de la fosforilación oxidativa y producción de EROs (Figura 4).⁷¹

La glucólisis es una vía inicialmente catalizada por diez enzimas, posteriormente da lugar al ciclo de Krebs y la cadena de transporte de electrones para producir energía en forma de adenosín trifosfato (ATP). En condiciones fisiológicas normales, la oxidación de la glucosa (glucólisis) es responsable de la producción mitocondrial del radical $O_2^{\bullet-}$, que puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes.^{71,72} Sin embargo, en condiciones de hiperglucemia el radical $O_2^{\bullet-}$ se produce en exceso y provoca EOx. Una de las moléculas afectadas por el EOx es el DNA, cuyo daño activa una enzima reparadora, la poli-ADP-ribosa polimerasa-1 (PARP-1), misma que induce acumulación de glucosa e intermediarios glucolíticos como glucosa-6-fosfato (G6P) y fructosa-6-fosfato (F6P), que estimulan vías prooxidantes.^{72,73}

La glucosa al oxidarse produce glioxal, que es un precursor de los productos finales de glicación avanzada (AGEs) en cuya formación se producen EROs.^{73,74} Los AGEs se producen tanto en los compartimentos intracelulares como en la matriz extracelular. Se forman principalmente por la interacción entre las proteínas, que son moléculas de recambio lento, y la glucosa.⁷⁴ Una vez formados, los AGEs pueden unirse a diferentes receptores (RAGE) presentes en la membrana de diversas células o interactuar de manera anormal con componentes de la matriz extracelular para promover la generación de EROs, favoreciendo a la aparición o incremento del EOx.⁷⁵

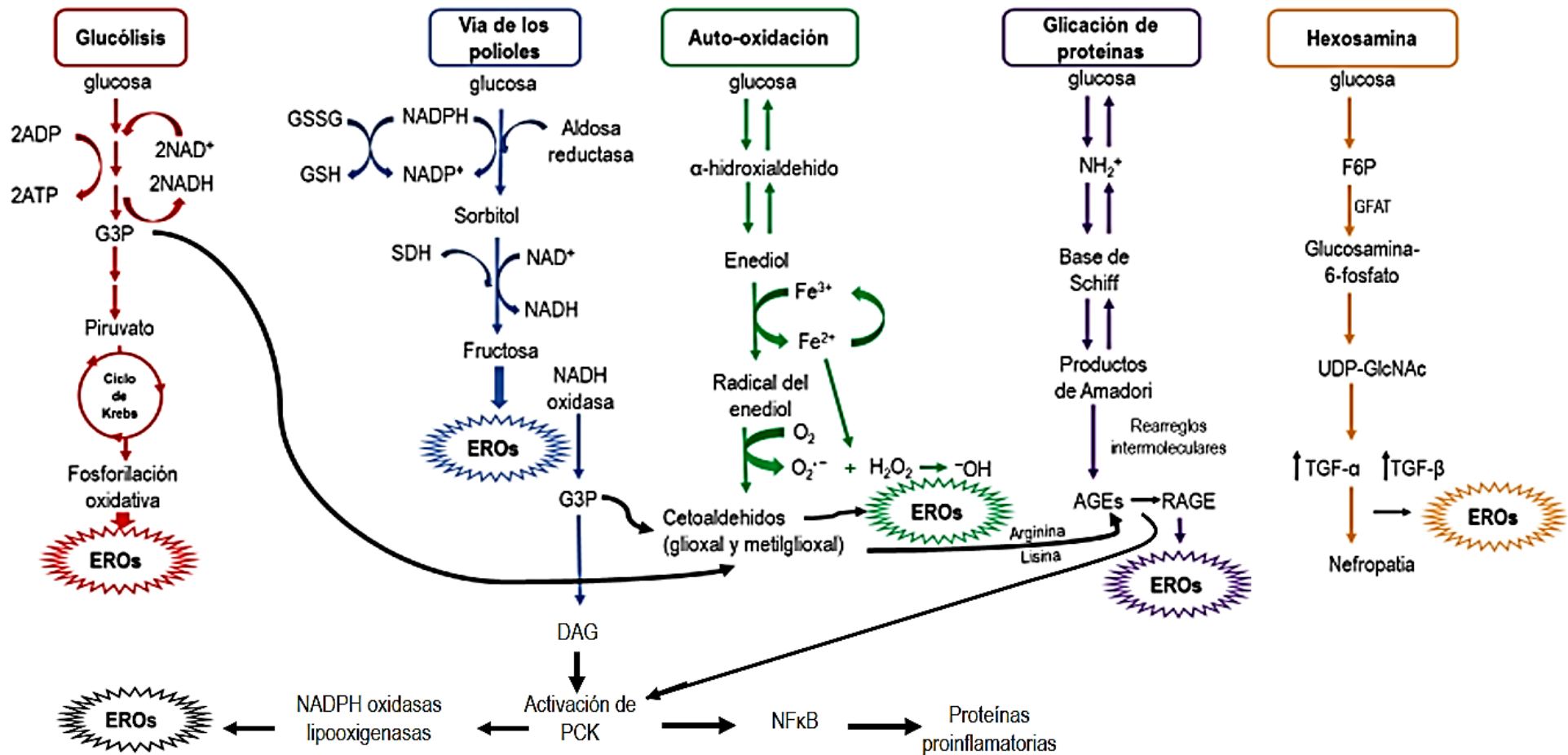


Figura 4. Activación de vías alternativas como consecuencia de la hiperglucemia. En la imagen se presentan diferentes vías que se activan en condiciones de hiperglucemia, mismas que generan EROs. Abreviaturas: ADP, adenosín difosfato; AGEs, productos finales de glicación avanzada; ATP, adenosín trifosfato; DAG, diacilglicerol; EROs, especies reactivas de oxígeno; Fe³⁺, hierro III; F6P, fructosa-6-fosfato; GFAT, glucosamina-fructosa amidotransferasa; G3P, gliceraldehído-3-fosfato; GSH, glutatión reducido; GSSG, glutatión oxidado; H₂O₂, peróxido de hidrógeno; NAD⁺, nicotin adenín dinucleótido; NADH, nicotin adenín dinucleótido reducido; NADPH, nicotin adenín dinucleótido fosfato reducido; NH₂⁺, amino; NFκB, factor nuclear κB; O₂, oxígeno; O₂⁻, radical superóxido; PCK, proteína cinasa C; RAGE, receptor de los AGEs; SDH, sorbitol deshidrogenasa; TGF-α, factor de crecimiento transformante α; TGF-β, factor de crecimiento transformante β; UDP-GlcNAc, uridina difosfato-N-acetilglucosamina. Modificado de Ighodaro, 2018.⁷²

Además de la auto-oxidación de la glucosa, la desfosforilación no enzimática de las triosas fosfato, gliceraldehído-3-fosfato (G3P) y dihidroxiacetona-3-fosfato (DH3P) da como resultado la formación de metilglioxal, que al igual que el glioxal, es un precursor de AGEs. Un tercer precursor de AGEs es la 3-desoxiglucosona que se forma a partir de la descomposición del aducto de lisina 1-amino-1-desoxifruktosa derivado de glucosa, comúnmente conocido como producto Amadori.⁷⁶ La unión de los AGEs a su receptor facilita el EOx y estimula otras vías prooxidantes, como la vía de la proteína cinasa C (PKC).

La PKC pertenece a una familia de proteínas que modulan las actividades de otras proteínas mediante el proceso de fosforilación en una cascada de reacciones. Es una enzima clave en las vías de señalización celular que involucran diacilglicerol (DAG), fosfatidilserina y calcio. La acumulación de G3P debido a la inhibición de la G3P deshidrogenasa en condiciones hiperglucémicas conduce a un nivel elevado de DH3P que se reduce a G3P, y este último se combina con ácidos grasos para impulsar la síntesis de novo de DAG, cuyo incremento induce la hidrólisis de fosfatidilcolina y fosfatidilserina, que regulan la vía de PKC.⁷⁷ Al respecto, se ha demostrado que un aumento en las actividades de la vía PKC estimulan enzimas generadoras de EROs, como las nicotin adenin dinucleótido fosfato reducido (NADPH)-oxidasas y las lipooxigenasas, que en conjunto exacerban el ambiente oxidativo celular.

Otra vía poco común que se activa por la hiperglucemia es la de la hexosamina. Esta vía participa en el metabolismo de la F6P e implica la actividad de la glucosamina-fructosa amidotransferasa (GFAT), que metaboliza la F6P en glucosamina-6-fosfato, un intermediario que posteriormente se convierte en uridina difosfato-N-acetilglucosamina (UDP-GlcNAc). Este último es un compuesto metabólico esencial para la formación de cadenas de glicosilo de proteínas y lípidos. También se utiliza para la modificación postraduccional de proteínas, un proceso controlado por la enzima O-glucosamina-N-acetiltransferasa.⁷⁸ En condiciones normales de glicemia una cantidad muy pequeña de F6P se dirige a vía de la hexosamina; sin embargo, en condiciones de hiperglucemia, se canalizan cantidades excesivas de F6P a dicha vía por lo que la actividad de GFAT se

eleva y se producen cifras elevadas de UDP-GlcNAc. Esto se ha asociado con alteraciones en la expresión génica y aumento de la expresión de factores de transcripción como el factor de crecimiento transformante α (TGF- α) y el factor de crecimiento transformante β (TGF- β) que inhiben la mitogénesis de las células mesangiales, activan la proliferación de la matriz de colágeno y el engrosamiento de la membrana basal, lo cual contribuye al desarrollo de complicaciones asociadas a la DM2, principalmente la nefropatía.^{78,79}

La vía del poliol constituye otra vía alternativa para el metabolismo de la glucosa ya que la aldosa reductasa, que es la primera enzima de la vía, tiene una afinidad extremadamente baja por la glucosa. La enzima cataliza la reducción de glucosa a sorbitol utilizando NADPH. En condiciones de normoglucemia, la aldosa reductasa no reduce la glucosa; sin embargo, en la hiperglucemia se activa la vía del poliol, lo que resulta en una mayor formación de sorbitol y un consumo excesivo de NADPH.⁸⁰ El NADPH participa activamente en el mantenimiento redox celular, ya que modula las actividades de la GPx y su sustrato, el GSH, por lo que el consumo excesivo de NADPH debido al aumento de la actividad de la aldosa reductasa en la vía del poliol disminuye considerablemente el nivel de GSH y la actividad de GPx; en consecuencia, incrementa el EOx.⁸¹ Una segunda enzima de la vía del poliol es la sorbitol deshidrogenasa (SDH), que cataliza la conversión de sorbitol en fructosa utilizando nicotín adenin dinucleótido (NAD⁺) como cofactor. En condiciones de hiperglucemia aumenta la actividad de la SDH y se forma una cantidad considerable de fructosa que se fosforila e hidroliza en G3P y DH3P, cuya acumulación promueve la formación de metilglioxal y la activación de la vía PKC, favoreciendo el EOx.^{80,82}

El EOx inducido por la hiperglucemia activa la proteína desacopladora-2 (UCP-2) y disminuye la relación ATP/adenosín difosfato (ADP), inhibiendo así la secreción, liberación y acción de la insulina. Además, el daño oxidativo de las células β pancreáticas a causa de las EROs también compromete la cantidad y calidad de la insulina secretada por estas células. Asimismo, el exceso de metabolismo mitocondrial mediado por hiperglucemia y la producción de EROs en la célula β pueden alterar la función

mitocondrial y desacoplar los canales de K⁺ dependientes de ATP, afectando la secreción de insulina estimulada por la glucosa.⁸³ Aunado a ello, el EOx altera la translocación de GLUT4 y la actividad de la proteína quinasa B en los adipocitos, afectando así el transporte de glucosa y su aprovechamiento para la síntesis de proteínas, lípidos y glucógeno.⁸⁴ El EOx también interfiere con las vías de PI3K y de la proteína cinasa activada por mitógeno p38 (p38 MAPK) que traducen la señal generada por la unión de la insulina a su receptor, por lo que al alterarlas se inhibe la acción de la insulina y la captación de glucosa por parte de las células.⁸⁵

Por otro lado, las EROs activan vías como la de las proteínas forkhead box clase O (FOXO) y el factor nuclear eritroide similar al factor 2 (Nrf2). Las proteínas FOXO son factores de transcripción que funcionan como sensores de EOx ya que su actividad está regulada por H₂O₂. Normalmente, las células activan a los factores de transcripción FOXO para reducir el nivel de EOx, ya que estimulan la síntesis y actividad de las enzimas SOD y CAT.⁸⁶ En tanto, el factor nuclear derivado de eritroides 2 o Nrf2 conocido como "regulador maestro" de la respuesta antioxidante modula la expresión de cientos de genes, incluidos los que controlan la producción de antioxidantes intracelulares y de las enzimas antioxidante, por lo que en respuesta al EOx se estabiliza Nrf2 y se transloca hacia el núcleo, donde regula la expresión de varios genes implicados en la respuesta antioxidante.⁸⁷

Aun cuando FOXO y Nrf2 se activan para proteger a las células de daño oxidativo, en condiciones de EOx severo, como sucede durante la hiperglucemia que caracteriza la DM2, su regulación se ve alterada y superada por lo que pueden contribuir al desarrollo de complicaciones propias de la DM2.⁸⁸ En este aspecto, el EOx activa vías de señalización sensibles al estrés, como la del factor nuclear κB (NFκB), un factor de transcripción que induce la activación de la molécula de adhesión intracelular-1 (ICAM-1), así como la producción de moléculas de inflamación. Tanto el EOx como la inflamación se vinculan fuertemente al desarrollo de complicaciones micro y macrovasculares, que se presentan con elevada frecuencia en sujetos con DM2.⁸⁶

Dado lo anterior, se ha intensificado la búsqueda de alternativas terapéuticas que atenúen el daño oxidativo y la inflamación puesto que ambos procesos están estrechamente involucrados con el envejecimiento y con enfermedades como la DM2.

III.3 Alternativas terapéuticas para controlar el EOx en la DM2

La DM2 cursa con inflamación y EOx, siendo ambos procesos parcialmente responsables de la aparición y desarrollo de las complicaciones micro y macrovasculares que acompañan a la DM2. Aunado a ello, a nivel mundial la prevalencia e incidencia de DM2 es alta y la aparición de complicaciones como neuropatía, retinopatía o nefropatía, además de empeorar su estado de salud, puede generar cierto grado de discapacidad y limitar sus actividades cotidianas. Por ello surge la necesidad de buscar alternativas terapéuticas que ayuden a controlar la inflamación y el EOx y de esa manera retrasar o limitar la aparición de las complicaciones de la DM2, ya que hasta ahora, el tratamiento farmacológico convencional no lo ha logrado.

III.3.1. Vitaminas C y E

Entre las primeras alternativas que se han considerado para controlar el EOx se ubican las vitaminas antioxidantes C y E. La vitamina C (ácido ascórbico) actúa en forma de ascorbato, posee la habilidad de donar electrones a las EROs y ERNs, y de esa manera protege a las macromoléculas. También posee un efecto sinérgico con la vitamina E (α -tocoferol). Esta última, es un potente antioxidante lipofílico, capaz de neutralizar RL y proteger a las membranas celulares y lipoproteínas de daño oxidativo, además es el antioxidante más abundante. Pese a que una gran cantidad de investigaciones han demostrado la capacidad antioxidante de las vitaminas C y E, existe un número considerable de ensayos clínicos realizados en sujetos con DM2 cuyos resultados son inconsistentes.⁸⁹

III.3.2. Berberina

La berberina es un alcaloide que posee algunas propiedades terapéuticas entre las que se encuentran: antioxidante, antiinflamatoria, hipoglucemiante e hipolipemiante, razón por la que ha convertido en un prometedor agente terapéutico para la DM2. Se ha sugerido que la berberina suprime la degradación de la molécula inhibidora del NFkB (IkB) y con esto evita su traslocación al núcleo, lo que resulta en la reducción de citocinas

como la interleucina 1 (IL1), interleucina 6 (IL6) y el factor de necrosis tumoral α (TNF α). En cuanto a su capacidad antioxidante, se ha propuesto que el alcaloide suprime la actividad de la enzima aldosa reductasa que participa en la vía del polirol, evitando con ello las alteraciones en las proporciones NADPH/nicotin adenin dinucleótido difosfato (NADP⁺) y GSH/GSSG. Pese a la evidencia obtenida a partir de modelos animales, aún no hay estudios suficientes que prueben su eficacia en humanos.^{89,90}

III.3.3. Curcuminoides

Algunos ensayos clínicos han demostrado que la curcumina ejerce efectos benéficos sobre la DM2 al mejorar el metabolismo de la glucosa y los lípidos, y disminuir los niveles de EOx e IC. Uno de los mecanismos a través del cual la curcumina ejerce sus efectos benéficos es por la activación de receptor activado por proliferadores peroxisómicos (PPAR), el cual además de estimular la absorción, esterificación y oxidación de los ácidos grasos, inhibe la activación del NFkB y previene la síntesis de moléculas proinflamatorias. También activa la vía de señalización de Nrf2, con lo cual participa en la modulación del EOx.^{90,91}

III.3.4. Polifenoles

Los polifenoles constituyen una familia de compuestos que se caracterizan por poseer grupos fenólicos en su estructura química. Estos grupos les confieren la habilidad de ceder electrones a los RL, mecanismo a través del cual ejercen su efecto antioxidante. Los polifenoles se encuentran de manera abundante en las bayas (moras azules, arándanos, frambuesas, grosellas y fresas) y en las uvas. Su consumo ha sido ampliamente recomendado debido a sus efectos benéficos que se han observado en el tratamiento de enfermedades como cáncer, anemia, enfermedades hepáticas, afecciones cardiovasculares y DM2.⁹²

Se ha demostrado que el elevado consumo de bayas reduce significativamente la glucemia y los niveles de citocinas como IL6 y TNF α . La literatura sugiere que los polifenoles disminuyen la expresión y activación del NFkB con lo cual evitan su traslocación al núcleo y la posterior síntesis de citocinas. Mientras que su efecto hipoglucemiante se le atribuye a la habilidad que tienen para inducir la traslocación del GLUT4 hacia la membrana y permitir el paso de glucosa al interior de la célula. Los

polifenoles son capaces de promover la expresión del péptido 1 similar al glucagón (GLP-1), cuya activación aumenta la secreción de insulina dependiente de glucosa y estimula la proliferación de células β pancreáticas. Los resultados obtenidos de investigaciones para probar la eficacia de los polifenoles en el tratamiento de retinopatía y nefropatía diabética son prometedores, aunque hacen falta más ensayos clínicos para demostrar sus propiedades terapéuticas.⁹²⁻⁹⁵

Uno de los polifenoles más estudiados es el RV, el cual se abordará a continuación.

III.4 Resveratrol

El RV o 3,4,5-trihidroxi-trans estilbeno, es un polifenol de origen natural que posee propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, mismas que pueden aprovecharse en estrategias terapéuticas contra enfermedades crónicas como la DM2.⁹⁶

III.4.1. Características y propiedades del RV

Las principales fuentes de RV son: la uva (*Vitis vinifera*), una variedad de bayas, cacahuates, plantas medicinales como la hierba nudosa japonesa y vino tinto.⁹⁷ El RV existe en dos formas isoméricas: *cis*-resveratrol y *trans*-resveratrol (Figura 5); no obstante, es la forma *trans* la que posee los efectos biológicos más importantes.⁹⁸

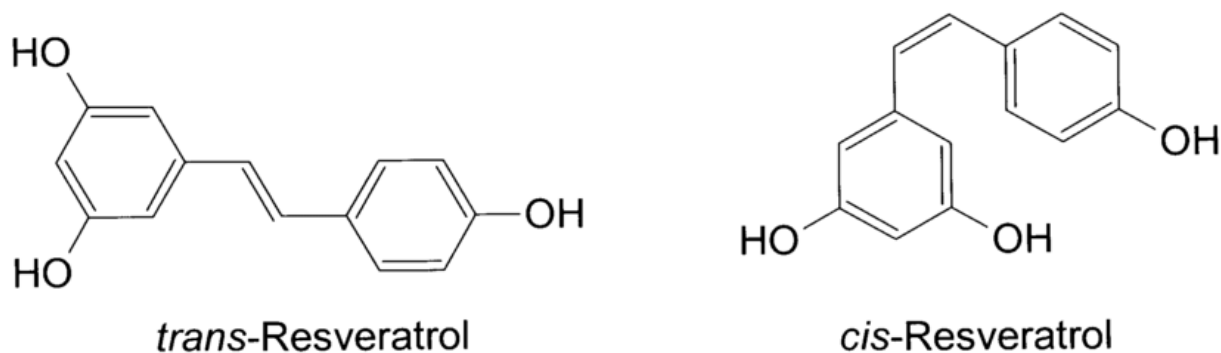


Figura 5. Estructura química del RV. Se aprecian las formas isoméricas *cis* y *trans*.

En algunos estudios preclínicos se han demostrado los efectos benéficos del RV sobre el incremento en la longevidad de algunos organismos pequeños, lo cual se da a través de la intervención con restricción calórica, propiciando una modulación de mecanismos específicos relacionados con el envejecimiento, tales como metabolismo anormal de la glucosa y los lípidos, así como la disfunción endotelial.⁹⁹ El RV también se asocia con una desaceleración o prevención del deterioro cognitivo.¹⁰⁰

En lo que respecta a la DM2, el RV, en dosis de hasta 5000 mg/día, mejora la sensibilidad a la insulina y reduce la glucosa en sangre en individuos diabéticos.¹⁰¹ El mismo efecto se ha encontrado en sujetos adultos con RI; aunque, en ancianos este efecto aún no se ha demostrado del todo, por lo que es necesario continuar con esta línea de investigación.¹⁰² En algunos estudios se ha reportado que el RV podría aumentar la viabilidad de los islotes de Langerhans, además de proteger sus células del daño oxidativo.¹⁰³ Asimismo, se ha propuesto que el RV restaura la función secretora de las células β pancreáticas y normaliza la secreción de insulina.¹⁰⁴ También se ha documentado que el RV ayuda a atenuar la nefropatía diabética gracias a que disminuye los niveles de EOX, IC y glucosa, propiciando regeneración de las células epiteliales renales.¹⁰⁵ Otro de los efectos benéficos del RV se atribuye a su capacidad para reducir la neuroinflamación relacionada con la neuropatía diabética, lo que contribuye a mejorar las alteraciones sensitivomotoras; aunque esto no ha sido corroborado en ensayos clínicos.¹⁰⁶ El RV regula varias proteínas y factores de transcripción involucrados en la patogenia de la retinopatía diabética, disminuye las lesiones inflamatorias y el daño oxidativo, suprime la proliferación celular inducida por glucosa e inhibe la migración de células endoteliales retinianas.¹⁰⁷

Las complicaciones vasculares que surgen en la DM2 incluyen a la IC y al EOX como mecanismos involucrados en su patogenia, y ambos procesos están íntimamente ligados a la hiperglucemia. Esta última es responsable de la formación de AGEs, los cuales interactúan con su receptor RAGE ubicado en las membranas celulares y tras la interacción AGE-RAGE se activa al NFkB con la consiguiente IC y EOX que acompañan a la DM2.¹⁰⁸ El RV posee la habilidad de mitigar la IC, el EOX y disminuir la hiperglucemia

mediante diferentes mecanismos, de esta manera contribuye a prevenir las complicaciones que derivan en enfermedades cardiovasculares.¹⁰⁹ El RV también reduce el nivel de ácidos grasos libres circulantes, mejora la aterosclerosis y la función endotelial.¹¹⁰

III.4.2. Mecanismos antioxidantes e hipoglucemiantes del RV

Los posibles mecanismos de acción responsables de los efectos terapéuticos del RV son numerosos. El RV desencadena la expresión de enzimas antioxidantes (SOD, GPx, CAT) y mejora la actividad del GSH, además, de ceder electrones directamente a los RL con lo que contribuye a una disminución general del EOX.¹¹¹ Adicionalmente, se ha sugerido que el RV promueve la fosforilación del Nrf2, molécula que regula la respuesta antioxidante.¹¹² Su efecto antiinflamatorio se debe, en gran medida, a las acciones moduladoras que ejerce sobre el NFkB, lo que resulta en disminución de la secreción de IL6 y supresión del transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3) en los macrófagos, disminución de la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1 y VCAM-1) e inhibición de la proteína 3 del receptor tipo NOD (NLRP3) o inflamasoma, responsable de la maduración de pro IL1 y pro IL18.^{113,114} El RV también actúa como antiinflamatorio mediante su unión con el sitio activo de las enzimas COX, con lo cual evita la interacción con el ácido araquidónico y la posterior síntesis de PGs, que están estrechamente ligadas al proceso inflamatorio. El RV induce la apoptosis de células T activadas y suprime la síntesis de TNF α , interferón- γ (IFN- γ), IL2, IL9, IL12 e IL17, todas ellas moléculas proinflamatorias.¹¹⁵

También contribuyen los efectos que el RV ejerce sobre el citocromo p450 A1 (CYP1A1) que forma parte del complejo multienzimático de citocromos P450, la apoptosis mediada por ligando Fas, la vía p53, la vía de la diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR, por sus siglas en inglés) y diversas fosfodiesterasas. Estas acciones moduladoras, en conjunto, desencadenan autofagia, inducen un incremento en la β -oxidación de ácidos grasos y favorecen la biogénesis mitocondrial, con lo cual también mejora el aprovechamiento de glucosa por parte de las células.¹¹⁶

Adicionalmente, el RV interactúa con un gran número de receptores, quinasas y otras enzimas, lo que puede influir en sus efectos biológicos.¹¹⁷

III.4.3. RV como modulador de SIRT1

Los principales objetivos moleculares del RV lo constituyen la SIRT1 y la proteína quinasa activada por monofosfato de adenosina (AMPK), ambas moléculas son consideradas sensores energéticos. La activación de estas moléculas da como resultado la disminución de la acumulación de lípidos, disminución de inflamación, atenuación de daño oxidativo y mejora de la resistencia a la insulina y de la disfunción de las células β pancreáticas (Figura 6).¹¹⁸ Algunos de los efectos benéficos del RV tales como modulación del envejecimiento biológico y mejoría de la sensibilidad a la insulina, se deben a la sobreexpresión de SIRT1 estimulada por RV.¹¹⁹ AMPK participa en la regulación de la actividad antioxidante ejercida por RV ya que además de regular negativamente a la NADPH oxidasa, induce un incremento en la expresión de SOD.¹²⁰

SIRT1 regula negativamente la señalización de NF κ B al interactuar con la subunidad RelA/p65 del NF κ B, lo que se traduce en supresión de la señalización de dicho factor y en la posterior atenuación de la IC. Por tal razón, se ha propuesto que la vía SIRT1- NF κ B desencadena un efecto antiinflamatorio y “antienvjecimiento”.¹²¹ SIRT1 también desacetila a p53, proteína cuya activación se ha involucrado con procesos de apoptosis, detención del ciclo celular y envejecimiento. Como resultado de la interacción SIRT1-p53 se inhibe el daño al DNA y se presenta un efecto antisenesescencia.¹²²

Otro sustrato de SIRT1 es el coactivador del receptor activado por proliferador de peroxisomas 1 α (PGC1- α), un coactivador transcripcional que participa en la regulación de la función mitocondrial y el mantenimiento de la homeostasis metabólica. Al desacetilar a PGC-1 α aumenta la biogénesis mitocondrial y el consumo de oxígeno, lo que podría ser benéfico para sujetos con DM2, puesto que incrementaría el número de mitocondrias en las células musculares, así como la captación de glucosa.¹²³

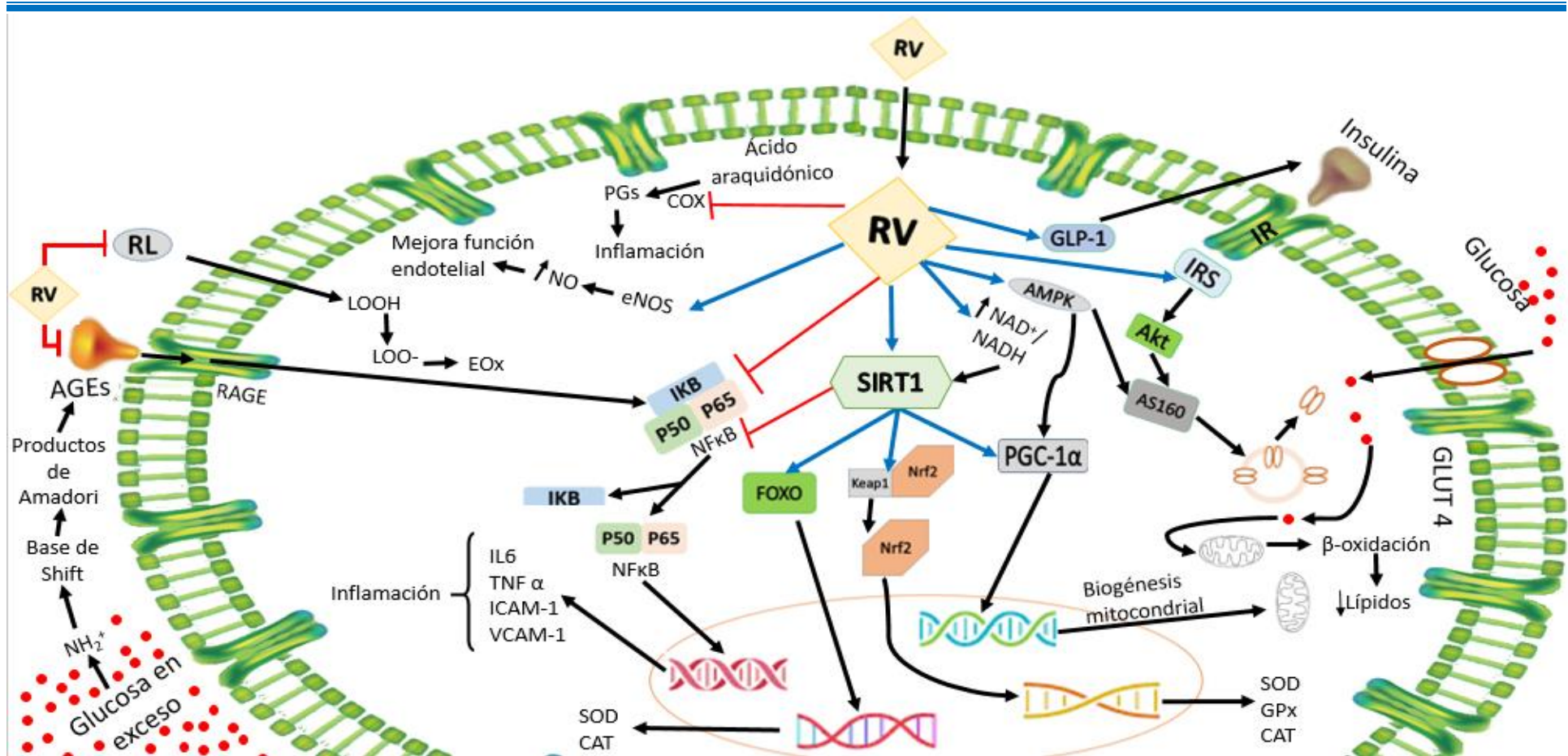


Figura 6. Propuesta de mecanismos a través de los cuales el RV ejerce sus efectos benéficos. El esquema muestra que el RV activa a SIRT1 y ésta es capaz de inducir la biogénesis mitocondrial al estimular a PGC-1 α , con lo que incrementa la β -oxidación y se reducen los niveles de lípidos. SIRT también activa a Nrf2 y FOXO que regulan la expresión de las enzimas antioxidantes SOD, GPx y CAT; además de inhibir la activación del NF κ B y prevenir la síntesis de proteínas proinflamatorias (IL6, TNF α , ICAM-1, VCAM-1). El RV puede interactuar directamente con los RL y evitar el daño oxidativo en las membranas, así como inhibir la interacción AGEs-RAGE. Asimismo, estimula la unión de la insulina a su receptor y mejora la captación de glucosa; y puede mejorar la función endotelial al incrementar la síntesis de NO.

Abreviaturas: AGEs, productos finales de glicación avanzada; AMPK, proteína cinasa dependiente de adenosín monofosfato; Akt, cinasa serina-treonina; AS160 sustrato de Akt 160; CAT, catalasa; COX, ciclooxigenasa; EOX, estrés oxidante; FOXO, proteínas forkhear box clase O; GPx, glutatión peroxidasa; GLUT4, transportador de glucosa tipo 4; GLP-1, péptido similar a glucagón tipo 1; IR, receptor de insulina; IRS, sustrato del receptor de insulina; IKB, molécula inhibidora del NF κ B; ICAM-1, molécula de adhesión intracelular 1; IL6, interleucina 6; Keap, proteína asociada a ECH tipo kelch 1; LOOH, peróxido lipídico, LOO \cdot , radical peroxilo; NAD $^{+}$, nicotin adenin dinucleótido; NADH, nicotin adenin dinucleótido reducido; NO, óxido nítrico, eNOS, óxido nítrico sintasa; NF κ B, factor nuclear κ B; NH $_2^{+}$, amina; Nrf2, factor nuclear eritroide similar al factor 2; PGs, prostaglandinas; PGC-1 α , coactivador del receptor activado por proliferador de peroxisoma 1 α ; RAGE, receptor de los AGEs; SOD, superóxido dismutasa; TNF α , factor de necrosis tumoral α ; VCAM-1, molécula de adhesión celular vascular tipo 1.

Con respecto a FOXO, la interacción con SIRT1 resulta en la detención del ciclo celular y la resistencia al EOX.¹²⁴ Todas las interacciones anteriormente descritas otorgan a SIRT1 un papel crucial en la protección contra enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares, metabólicas y tumorigénesis,¹²⁵ de ahí la importancia de considerar a SIRT1 como una posible diana terapéutica que permita controlar el EOX y la IC, ya que ambos procesos se encuentran inmersos en el envejecimiento y en las complicaciones de la DM2.

Otro mecanismo a través del cual actúa el RV es el aumento de la fosforilación del receptor de insulina, la expresión de su correspondiente sustrato (IRS) y la fosforilación de Akt, que incrementan la expresión y traslocación de GLUT4 hacia la membrana celular y permiten la internalización y posterior aprovechamiento de la glucosa por parte de las células musculares.¹²⁶ El RV estimula al PGC-1 α que estimula la biogénesis mitocondrial y, como consecuencia, incrementa el gasto energético.¹²⁷ Además, se ha informado que el RV podría ser un potente inhibidor de la actividad de la quinona reductasa 2, que está asociada con trastornos neurológicos, aunque se requiere más investigación para confirmar esta hipótesis.¹²⁸

La determinación de todos los efectos biológicos del RV en humanos sigue siendo un gran desafío, por lo cual es necesario realizar más ensayos clínicos para probar su eficacia.

III.4.4. Evidencia de las aplicaciones terapéuticas del RV en la DM2

Hemos señalado que el RV ejerce potenciales efectos benéficos sobre la DM2 y sus complicaciones. Las evidencias científicas sobre los efectos terapéuticos del RV se presentan en el Cuadro 1.

III.4.5. Toxicidad del RV

Con respecto a los posibles efectos tóxicos del RV, en múltiples ensayos clínicos se ha demostrado que su administración es segura y bien tolerada a dosis que van de 5 a 2000 mg/día. En algunas publicaciones se ha reportado la aparición de síntomas gastrointestinales como náuseas, malestar estomacal y diarrea tras la ingestión oral de RV en dosis mayores a 2500 mg; no obstante, existen estudios en los que se han administrado hasta 5000 mg sin que surjan reacciones adversas graves.¹²⁹ En este marco, las inconsistencias de las evidencias científicas acerca del efecto del RV y la modulación de SIRT1 sobre EOX e IC en personas adultas mayores con DM2, justifican continuar con esta línea de investigación.

Cuadro 1. Efecto del RV como coadyuvante en el tratamiento de la DM2

Autor/año	Intervención	Población	Parámetros glucémicos	Hallazgos
Abdollahi et al. (2019)¹³⁰	1 g/día 8 semanas	71 sujetos con DM2 y sobrepeso 50 ± 7 años	Glucosa e insulina séricas, HbA1c, HOMA-IR	Disminución significativa de los niveles de glucosa (p=0.03) e insulina (p=0.02), mejora de HOMA-IR (p=0.01). Sin cambios en HbA1c
Bashmakov et al. (2014)¹³¹	100 mg/día 8 semanas	24 pacientes con síndrome de pie diabético 56 ± 9 años	Glucosa e insulina séricas, HOMA-IR	Disminución no significativa de los niveles de glucosa en ambos grupos de estudio. Los niveles de insulina sérica y HOMA-IR no se modificaron tras la intervención.
Bhatt et al. (2012)¹³²	250 mg/día 3 meses	57 individuos con DM2 57 ± 9 años	Glucosa en ayuno y HbA1c	Disminución significativa de HbA1c (p<0.05) en el grupo tratado con RV
Bhatt et al. (2013)¹³³	250 mg/día 6 meses	57 sujetos con DM2 57 ± 9 años	HbA1c, glucosa sérica	Disminución no significativa de los niveles de HbA1c y glucosa
Bo et al. (2016)¹³⁴	40, 500 mg/día 6 meses	179 sujetos con DM2 65 ± 8 años	Glucosa e insulina séricas, HOMA-IR, HbA1c	Sin diferencias significativas entre los grupos de estudio
Brasnyó et al. (2011)¹³⁵	10 mg/día 4 semanas	19 varones con DM2 55 ± 9 años	Insulina sérica, HOMA-IR,	Sin cambios en los niveles de insulina sérica, tendencia a disminuir de la HOMA-IR en el grupo que recibió RV
Goh et al. (2014)¹³⁶	3 g/día 3 meses	10 sujetos con DM2 56 ± 6 años	Glucosa e insulina séricas, HbA1c, HOMA-IR	Tendencia no significativa a disminuir de la HbA1c; no hubo cambios significativos en HOMA-IR tras la intervención
Hoseini et al. (2019)¹³⁷	500 mg/día 4 semanas	56 sujetos con DM2 y EC 62 ± 9 años	Glucosa e insulina séricas, HOMA-IR	Disminución significativa de los niveles de glucosa e insulina (p=0.01), y HOMA-IR (p=0.001)
Imamura et al. (2017)¹³⁸	100 mg/día 3 meses	50 individuos con DM2 57 ± 10 años	Glucosa sérica y HbA1c	No se observaron cambios significativos en los parámetros evaluados tras la intervención
Khodabandenhoo et al. (2018)¹³⁹	800 mg/día 8 semanas	45 sujetos con DM2 57 ± 9 años	Glucosa e insulina séricas, HbA1c, HOMA-IR	Disminución significativa de los niveles de glucosa (p<0.05) en el grupo que recibió RV. Sin cambios significativos en la HbA1c, los niveles de insulina y HOMA-IR

Autor/año	Intervención	Población	Parámetros glucémicos	Hallazgos
Movahed et al. (2013)¹⁴⁰	1 g/día 45 días	64 sujetos con DM2 52 ± 7 años	Glucosa e insulina séricas, HOMA-IR	Disminución significativa de los parámetros evaluados en el grupo tratado con RV (p<0.05)
Sattarinezhad et al. (2019)¹⁴¹	500 mg/día 3 meses	60 individuos con DM2 y albuminuria 57 ± 9 años	Glucosa e insulina séricas, HbA1c, HOMA-IR	Disminución significativa de los parámetros evaluados en el grupo que recibió RV (p<0.05)
Seyyedebrahimi et al. (2018)¹⁴²	800 mg/día 8 semanas	46 personas con DM2 58 ± 6 años	Glucosa e insulina séricas, HbA1c, HOMA-IR	No se observaron cambios significativos tras la intervención con RV
Thazhath et al. (2016)¹⁴³	1 g/día 5 semanas	14 sujetos con DM2 68 ± 2 años	Glucosa y HbA1c	Sin cambios significativos en los niveles de glucosa y HbA1c
Timmers et al. (2016)¹⁴⁴	150 mg/día 4 semanas	16 sujetos con DM2 64 ± 4 años	Glucosa e insulina séricas, sensibilidad a la insulina, HbA1c	No se observaron efectos del RV sobre los parámetros glicémicos evaluados

Abreviaturas: EC, enfermedad coronaria; DM2, diabetes mellitus tipo 2; HbA1c, hemoglobina glicada; HOMA-IR, resistencia a la insulina por el modelo homeostático; RV, resveratrol.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La prevalencia e incidencia de la DM2 constituye uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial y en México, ya que genera altos costos en materia de salud, repercutiendo a nivel familiar, social y estatal. En este sentido, las enfermedades cardiovasculares y enfermedad renal, son las principales causas de muerte en los individuos con DM2. Desafortunadamente las estrategias de prevención y control de la enfermedad no han tenido los efectos esperados pues la incidencia y letalidad de la DM2 continúan en aumento, afectando principalmente a los adultos mayores (≥ 60 años). Los mecanismos (*hallmarks*) implicados en el proceso de envejecimiento influyen en la fisiopatología de enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y metabólicas, como la DM2; de ahí que el envejecimiento sea considerado como un factor de riesgo para ECNT.

Por otro lado, el abordaje terapéutico de la DM2 se enfoca en disminuir la hiperglucemia, dejando de lado otros procesos implicados en el desarrollo de complicaciones micro y macrovasculares. Entre dichos procesos destacan el EOx y la IC, cuya interacción propicia la aparición de varias complicaciones como la neuropatía, nefropatía y retinopatía. Debido a ello se ha propuesto complementar la terapia hipoglucemiante con compuestos nutracéuticos con propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. En este sentido, se ha indagado el efecto de suplementos que exhiben dichas propiedades, entre los que se encuentran los polifenoles, siendo el RV uno de los más estudiados.

El RV se ha considerado una excelente opción para complementar el tratamiento de las enfermedades metabólicas ya que posee la capacidad de activar a la SIRT1, una enzima desacetilasa de gran relevancia para la homeostasis energética. Al respecto, mediante la activación de SIRT1, el RV puede mejorar la biogénesis y función mitocondrial e indirectamente estimular la captación de glucosa por parte de las células, disminuyendo con ello la hiperglucemia, lo que, sumado a sus propiedades antioxidante y antiinflamatoria, lo convierten en un agente terapéutico complementario ideal para el control de la DM2.

La mayoría de investigaciones sobre el efecto del RV han sido realizadas en modelos animales, las cuales han evidenciado los efectos antioxidantes, antiinflamatorios e hipoglucemiantes vinculados con el incremento en los niveles de SIRT1; sin embargo, los hallazgos de los estudios en humanos no son consistentes, sobre todo en la población de adultos mayores, en quienes no se ha logrado indicar una dosis efectiva para controlar el EOX, lo que justifica llevar a cabo la presente investigación.

Por lo anterior, nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

- ❖ ¿Cuál es el efecto de la administración oral de resveratrol a dosis de 500 mg/día en comparación con 1000 mg/día sobre los marcadores de estrés oxidante y sirtuína-1 en adultos mayores con diabetes mellitus tipo 2?

V. HIPÓTESIS

Considerando los hallazgos de los estudios que han reportado efectos antioxidantes y antiinflamatorios, así como la activación de SIRT1 de tipo dosis respuesta, suponemos que el grupo de adultos mayores con diabetes tipo 2 que consuman 1000 mg/día de RV, mostrará una disminución significativa de los marcadores de estrés oxidante y un aumento en la concentración de SIRT1, en comparación con el grupo que consuma 500 mg/día.

VI. OBJETIVOS

VI.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la administración oral de resveratrol a dosis de 1000 mg/día en comparación con 500 mg/día sobre marcadores de estrés oxidante y sirtuína-1 en adultos mayores con diabetes tipo 2.

VI.2 Objetivos específicos

- ❖ Evaluar el efecto antioxidante del consumo de resveratrol a dosis de 1000 mg/día vs. 500 mg/día en adultos mayores con DM2.
- ❖ Evaluar el efecto del consumo de resveratrol a dosis de 1000 mg/día vs. 500 mg/día sobre la concentración de SIRT1 en adultos mayores con DM2.
- ❖ Evaluar el efecto sobre el índice de masa corporal (IMC) y la presión arterial del consumo de resveratrol a dosis de 1000 mg/día vs. 500 mg/día en adultos mayores con DM2.
- ❖ Evaluar el efecto hipoglucemiante del consumo de resveratrol a dosis de 1000 mg/día vs. 500 mg/día en adultos mayores con DM2.
- ❖ Evaluar el efecto hipolipemiante del consumo de resveratrol a dosis de 1000 mg/día vs. 500 mg/día en adultos mayores con DM2.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

VII.1 Población y diseño de estudio

Previo consentimiento informado (Anexo 1) aprobado por el Comité de Bioética y Bioseguridad de la FES Zaragoza, (Anexo 2), se llevó a cabo un ensayo clínico, aleatorizado, doble ciego, con una muestra de 124 personas mayores de 60 años residentes de la Ciudad de México y zonas conurbadas, con diagnóstico clínico de DM2. Además, todos los participantes se encontraban bajo esquemas de tratamiento antidiabético similares (metformina y/o glibenclamida).

VII.2 Criterios de inclusión

- De 60 a 74 años de edad
- Sexo indistinto
- Sin daño renal
- No recibieran tratamiento insulínico, pero si tratamiento oral hipoglucemiante
- Que estuvieran de acuerdo en participar y firmar el consentimiento informado

Criterios de exclusión

- Hipersensibles al RV
- Con deterioro cognitivo severo
- Que padecieran hipotiroidismo
- Que presentaran problemas de absorción de tubo digestivo o que hayan sido sometidos a cirugía gástrica
- Con insuficiencia hepática aguda
- Que se encontraran ingiriendo vitaminas antioxidantes (A, C y/o E)

Criterios de eliminación

- Que presentaran reacciones adversas severas atribuibles al tratamiento
- Que renunciaran voluntariamente al proyecto
- Que interrumpieran la ingesta del compuesto durante el seguimiento
- Que presentaran alguna enfermedad que ameritara hospitalización

La muestra se dividió aleatoriamente en tres grupos: (i) Grupo experimental 1000 (GE1000) (n=40), que recibió dos cápsulas con 500 mg/día de RV; (ii) Grupo experimental 500 (GE500) (n=43), que recibió 2 cápsulas con 250 mg/día de RV; y (iii) Grupo placebo (GP) (n=41), quienes recibieron diariamente dos cápsulas de idéntica apariencia a las de los otros grupos, pero el contenido fue un placebo. El seguimiento se realizó durante 6 meses, tal como se presenta en la figura 7.

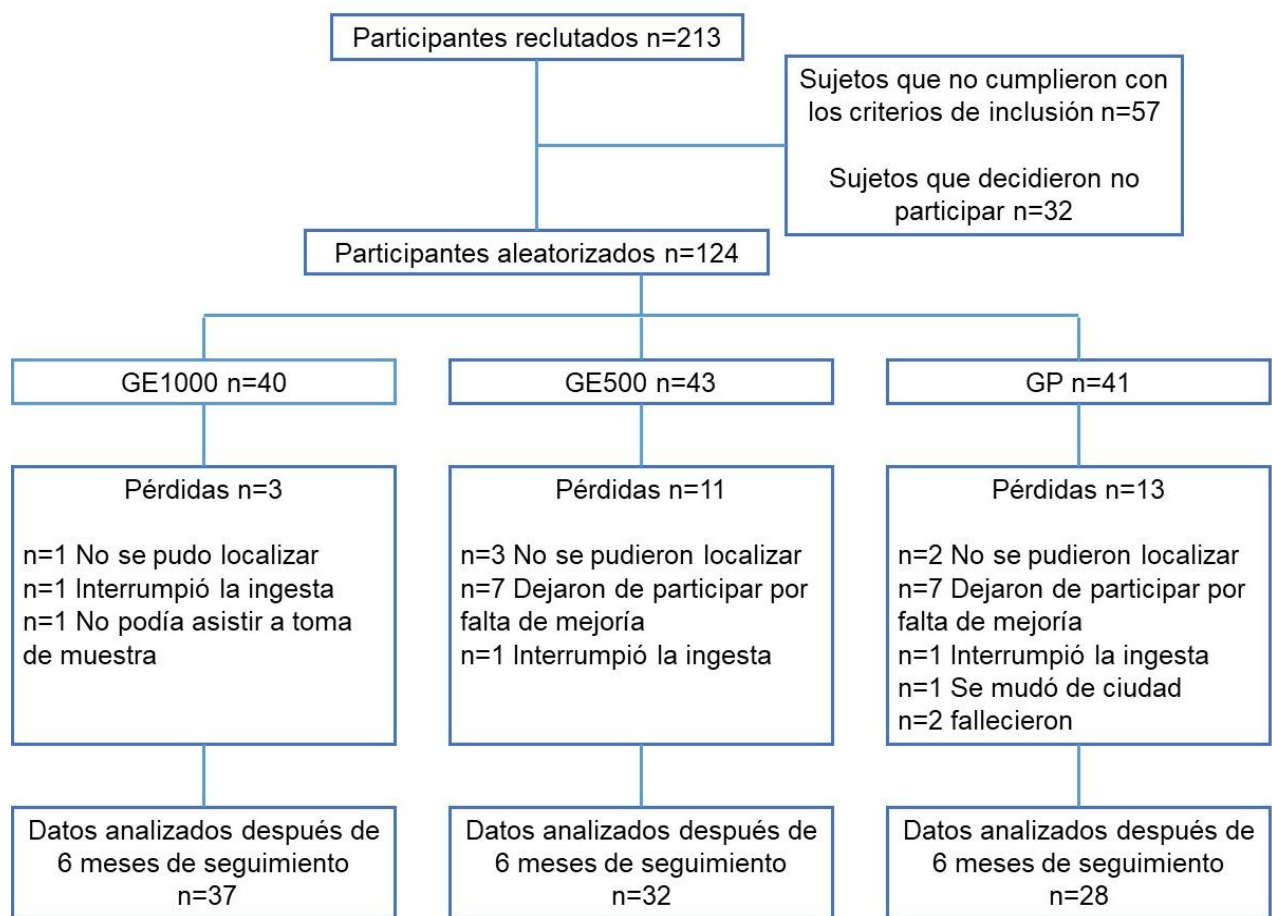


Figura 7. Diagrama general del estudio. Abreviaturas: GE1000, grupo suplementado con 1000 mg/día de RV; GE500, grupo suplementado con 500 mg/día de RV; GP, grupo que recibió placebo

VII.3 Variables

Independiente:

- ❖ Tratamiento (1000 mg/día de RV, 500 mg/día de RV, placebo)

Dependientes:

- ❖ Marcadores de estrés oxidante
- ❖ Sirtuína-1

Cuadro 2. Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN	NIVEL DE MEDICIÓN	CATEGORÍAS
Tratamiento	Administración complementaria de resveratrol en dosis de 500 mg/día o 1000 mg/día	Cualitativa nominal	Tratamiento A (500 mg/día de resveratrol) Tratamiento B (1000 mg/día de resveratrol) Placebo
Estrés oxidante	Desequilibrio bioquímico entre los oxidantes y los antioxidantes, medido a través de la concentración plasmática de LPO, 8-Iso, la actividad de las enzimas antioxidantes SOD, GPx y CAT, el estado antioxidante total (TAS, <i>total antioxidant status</i>) e IEOx.	Cuantitativa continua	Concentración de LPO expresada en $\mu\text{mol/L}$ Concentración de 8-Iso expresada en pg/mL Actividad enzimática de SOD expresada en U/L Actividad enzimática de GPx expresada en U/L Actividad enzimática de CAT expresada en U/L TAS expresado en mmol/L Puntaje del IEOx
SIRT 1	Enzima desacetilasa dependiente de nicotín adenin dinucleótido (NAD ⁺), estrechamente ligada con la homeostasis energética.	Cuantitativa continua	Concentración sérica de SIRT1 expresada en ng/mL

VII.4 Técnicas

Previo al inicio del estudio y transcurridos seis meses, se realizaron las mediciones siguientes:

VII.4.1. Presión arterial e índice de masa corporal

- Peso: se midió el peso de los participantes en ropa interior empleando una báscula Torino calibrada en cada medición.

- Estatura: los participantes estando en posición de pie manteniendo los talones juntos, con los glúteos, hombros y cabeza en contacto con el estadímetro de aluminio graduado en milímetros, con la vista al frente y el plano de Frankfurt paralelo al suelo.

- IMC: se calculó dividiendo el peso entre la estatura al cuadrado (kg/m^2).

- Presión arterial: se determinó de acuerdo con lo establecido en la NOM-030-SSA-2-2009. Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial. Para ello se solicitó a cada participante sentarse en una silla con buen respaldo, con un brazo descubierto y flexionado sobre un soporte. Se empleó un estetoscopio y un esfigmomanómetro acoplado a una columna de mercurio para tomar la medida de la tensión arterial sistólica y diastólica.¹⁴⁵

VII.4.2. Mediciones bioquímicas

Previo ayuno de al menos 8 horas, entre las 7:00 y 9:00 horas, se obtuvieron muestras sanguíneas con equipo Vacutainer, en tubos (Beckton-Dickinson) con (ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) para realizar la biometría hemática, la cuantificación del porcentaje de HbA1c y medir la concentración de 8-Iso. Asimismo, se tomaron muestras sin anticoagulante para las pruebas bioquímicas (concentraciones de glucosa, ácido úrico, urea, colesterol total, lipoproteínas de alta densidad (HDL-c), triglicéridos, creatinina, albúmina y proteína C reactiva (PCR)). Además, se obtuvieron muestras de sangre en tubos con heparina para la medición de los marcadores de EOX: SOD, GPx, CAT, TAS y LPO. Para las pruebas realizadas empleando suero o plasma, se centrifugaron las

muestras a 3500 rpm durante 10 minutos y posteriormente se separó el paquete eritrocitario del suero o plasma, siendo estos últimos almacenados en ultracongelador a -70 °C hasta su uso en las pruebas correspondientes.

Las técnicas empleadas se describen a continuación:

- HbA1c (Randox Laboratories Ltd, HA 3830): en un primer paso se da un pretratamiento a la muestra de sangre total, consiste en lisar los glóbulos rojos y provocar la hidrólisis de la hemoglobina a cargo de una proteasa. En un segundo paso se determina, bajo principio turbidimétrico, la cantidad de HbA1c contenida en la muestra mediante aglutinación en látex. La glucohemoglobina compite con anticuerpos monoclonales HbA1c.

- Albúmina (Randox Laboratories Ltd, UK AB 362): la medición se basa en la unión cuantitativa de la albúmina con el indicador verde de bromocresol, el complejo formado (albúmina-verde de bromocresol) presenta absorción máxima a 578 nm, siendo la absorbancia directamente proporcional a la concentración de albúmina en la muestra.

- Colesterol (Randox Laboratories Ltd, UK CH 200): es determinado tras una hidrólisis enzimática y una oxidación. Se forma un indicador quinoneimina a partir de peróxido de hidrógeno y 4-aminoantipirina en presencia de fenol y peroxidasa. Se mide la absorbancia a 546 nm, siendo directamente proporcional al colesterol contenido en la muestra.

- Creatinina (Randox Laboratories Ltd UK CR 510): la creatinina en solución alcalina reacciona con ácido pícrico para formar un complejo coloreado cuya absorción a 492 nm es proporcional a la concentración de creatinina contenida en la muestra.

- Glucosa (Randox Laboratories Ltd, UK GL 364): se determina tras una oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. El peróxido de hidrógeno formado reacciona, catalizado por la peroxidasa, con fenol y 4-aminofenazona para formar un

indicador de quinoneimina rojo-violeta. La absorbancia es medida a 500 nm y la intensidad es directamente proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.

- Triglicéridos (Randox Laboratories Ltd, UK TG 210): se determinan tras hidrólisis enzimática con lipasas. El indicador es una quinoneimina formada a partir de peróxido de hidrógeno, 4-aminofenazona y clorofenol bajo la influencia catalítica de la peroxidasa. Se mide la absorbancia a 500 nm, siendo la intensidad proporcional a los triglicéridos contenidos en la muestra.

- Ácido úrico (Randox Laboratories Ltd, UK UA 230): se convierte en alantoína mediante una reacción catalizada por uricasa, formando además peróxido de hidrógeno, mismo que bajo la catálisis de la peroxidasa, oxida al ácido 3,5-dicloro-hidroxibencenosulfónico y 4-aminofenazona para formar un compuesto colorido de quinoneimina rojo-violeta cuya máxima absorción a 520 nm es proporcional a la cantidad de ácido úrico presente en la muestra.

- HDL-c (Randox Laboratories Ltd, UK CH 204): la determinación se fundamenta en la precipitación cuantitativa de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), muy baja densidad (VLDL) y quilomicrones, bajo la acción de ácido fosfotúngstico y Mg^{2+} , el sobrenadante que contiene al HDL-c, forma un compuesto quinoneimina por acción de esterasas de colesterol, dicho compuesto colorido presenta absorción máxima a 578 nm y su intensidad es proporcional a la concentración del analito en la muestra.

- Urea (Randox Laboratories Ltd, UK UR 220): la urea se hidroliza en presencia de agua y ureasa para producir amoniaco y dióxido de carbono. El amoniaco producido se combina con α -oxoglutarato y NADH en presencia de glutamato deshidrogenasa para producir glutamato y NAD^+ . La absorción máxima de los productos de la reacción es medida a 340 nm, siendo proporcional a la cantidad de urea contenida en la muestra.

Todas las mediciones incluyeron sueros control con valores normal y alto de la casa comercial Randox Laboratories Ltd. Las pruebas fueron realizadas en el equipo automatizado Selectra Junior.

- La biometría hemática fue realizada en un equipo automatizado Micros 60, se emplearon controles bajo, normal y alto, como control de calidad de cada medición.

VII.4.3 Medición de marcadores de estrés oxidante

Sistema antioxidante

Se emplearon muestras de plasma y sangre total con heparina para medir el TAS y las actividades de SOD, GPx y CAT por métodos cinéticos colorimétricos, empleando estuches comerciales de Randox Laboratories, Ltd.

- Actividad de la SOD. Para la medir la actividad de esta enzima se empleó un estuche comercial (Ransod, Randox Laboratories Ltd, UK), cuyo método se basa en el trabajo realizado por Mc Cord y Fridovich,¹⁴⁶ el cual hace uso de xantina y xantinoxidasa (XOD) para formar radicales superóxido:



Posteriormente, los radicales superóxido formados reaccionan con cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolio (I.N.T.) para formar un colorante formazán rojo:



Se mide la actividad de la SOD por el grado de inhibición de la siguiente reacción:



Para el ensayo se tomaron 500 μL de sangre total heparinizada y se lavaron los eritrocitos con solución salina isotónica, posteriormente al botón de eritrocitos lavados se adicionaron 2 mL de agua bidestilada fría para provocar lisis celular, enseguida se diluyeron con 1.9 mL de tampón fosfato 0.01 mmol/L pH 7.0 (Sigma Chemical Co.). De la dilución se pipetearon 6 μL y fueron colocados en baño María a 37°C, se adicionaron 200 μL de sustrato mixto (xantina 0.05 mmol/L, I.N.T. 0.025 mmol/L) y 30 μL de XOD (0.94 mmol/L), ambos previamente colocados en el baño a 37°C, se mezcló y se activó el cronómetro para registrar la absorbancia A1 tras 30 segundos de la reacción, y se registró la absorbancia final A2 transcurridos 3 minutos más, a 505 nm; se calculó la diferencia de las absorbancias, así como el delta por minuto. Se empleó un blanco de reacción, para lo cual se pipetearon 6 μL de agua destilada y se siguió el mismo procedimiento que con los 6 μL pipeteados a partir de la dilución con tampón fosfato. Para calcular el porcentaje de inhibición de la enzima se empleó el siguiente cálculo:

$$100 - \left[\frac{\text{delta /min muestra} * 100}{\text{delta/min blanco}} \right] = \% \text{ de inhibición.}$$

Para obtener la actividad de la SOD en UI/L se extrapolaron los porcentajes de inhibición en la siguiente ecuación de la recta de calibración:

$$\text{Actividad de la SOD} = [1.21 + (0.01 * \% \text{ de inhibición})] * 100$$

- *Actividad de la GPx.* Se empleó el método basado en el trabajo de Plagia y Valentine así como reactivos de un estuche comercial (Ransel, Randox Laboratories Ltd).¹⁴⁷

La GPx cataliza la oxidación del GSH por el hidroperóxido de cumeno.



El GSSG en presencia de GR y NADPH es inmediatamente convertido en su forma reducida con una oxidación concomitante de NADPH en NADP⁺. Se mide la disminución de la absorbancia a 340 nm.



Para la prueba se diluyeron 50 µL de sangre total heparinizada en 1 mL de solución diluyente (Randox Laboratories Ltd) y se incubó por 5 minutos, enseguida se adicionó 1 mL de reactivo de Drabkin a doble concentración (Sigma Chemical Co.), posteriormente se pipetearon 5 µL de la dilución y se colocaron en baño María a 37°C, se agregaron 200 µL del reactivo de trabajo (glutión 4 mmol/L, glutión reductasa ≥ 0.5 U/L y NADPH 0.34 mmol/L), previamente colocado en el baño a 37°C, luego se adicionaron 40 µL del reactivo de cumeno (hidroperóxido de cumeno 0.18 mmol/L) bien agitado, se mezcló y simultáneamente se inició el cronómetro. Se registró la absorbancia A1 trascurrido 1 minuto, la A2 tras 2 minutos y la A3 después de 3 minutos del inicio de la reacción, a una longitud de onda de 340 nm. Para el blanco de reacción se pipetearon 5 µL de agua destilada y se siguió el mismo procedimiento que con los 5 µL de la dilución con muestras de pacientes. Se calcularon los deltas de absorbancia ($\Delta = A1 - A3$) y se procedió a calcular la actividad de la enzima mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Actividad GPx UI/L} = (\Delta_{\text{muestra}} - \Delta_{\text{blanco}}) * 8412 \text{ U/L} * 41$$

- *Razón SOD/GPx*: Se calculó como cociente entre la actividad de la SOD y la actividad de la GPx, en UI/L.

- *Actividad de la CAT*. La actividad de esta enzima se determinó mediante el método de Aebi,¹⁴⁸ el cual se basa en seguir la disminución de la absorbancia producida por un decremento en la concentración de H₂O₂, el cual es provocado por la CAT para producir H₂O y O₂, de acuerdo con la siguiente reacción:



Para la prueba se tomaron 500 μL de sangre total heparinizada y se realizaron lavados con solución salina isotónica, enseguida se adicionaron 2 mL de agua bidestilada fría a los eritrocitos para provocar lisis celular, posteriormente se adicionaron 1.9 mL de solución amortiguadora de fosfatos 0.01 mmol/L pH 7.0 (Sigma Chemical Co.) para diluir la muestra. De la dilución se pipetearon 10 μL y se agregaron a 190 μL de una mezcla de H_2O_2 al 30% con solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0, a una concentración de 80 mM. La reacción se siguió realizando lecturas de la absorbancia a 240 nm cada 20 segundos durante 2 minutos a temperatura ambiente. El cálculo de la actividad de CAT se realizó usando la siguiente ecuación:

$$\text{CAT} = ((\Delta\text{Abs}/20\text{s}) * \text{Volumen total} * \text{dilución}) * 120\text{s} / (\text{Hb mg/mL} * \text{coeficiente de extinción})$$

Finalmente se realizó la corrección para calcular la actividad de la enzima en UI/ gHb.

- *TAS*. Para esta prueba se hizo uso de un estuche comercial (Total antioxidant status, Randox Laboratories Ltd). Se trata de una prueba donde se combinan peroxidasa (metamioglobina) con peróxido de hidrógeno y ABTS (2,2'-azido-di etilbenzotiazolinsulfonato), que resultan en la formación de radical catión ABTS^+ . Dicho radical presenta una coloración verde azulada, la presencia de antioxidantes en la muestra produce la supresión de esta coloración, siendo ésta proporcional a la concentración de antioxidantes.

Para la determinación se pipetearon 4 μL de plasma, 4 μL de agua destilada para ser usada como blanco y 4 μL de estándar (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroma - ácido carboxílico, concentración indicada en el estuche), en 3 pocillos diferentes y se colocaron a 37°C , se adicionaron 40 μL de cromógeno (metamioglobina 6.1 mmol/L, ABTS 610 mmol/L), se mezcló y se registró la absorbancia A1 a 600 nm; posteriormente se adicionaron 200 μL de sustrato (peróxido de hidrógeno 250 mmol/L), se activó el cronómetro y se mezcló para luego leer la absorbancia A2 transcurridos exactamente 3 minutos.

Se calcularon los deltas de las absorbancias (A2-A1) y también se hizo el cálculo del factor empleando la siguiente ecuación:

$$\text{Factor} = (\text{concentración del estándar}) / ((\Delta \text{del blanco} - \Delta \text{del estándar}))$$

Por último, se calculó la concentración de antioxidantes en mmol/L con la siguiente ecuación:

$$\text{Aox mmol/L} = \text{Factor} + (\Delta \text{blanco} - \Delta \text{muestra})$$

La cinética de todas las reacciones se midió en un espectrofotómetro para microplacas Thermoscientific™ Multiskan Go.

- *Brecha antioxidante o GAP*. Esta se define como los antioxidantes diferentes de albúmina y ácido úrico, no medidos en las técnicas para la determinación de antioxidantes totales. Se calcula a partir del TAS en $\mu\text{mol/L}$ y las concentraciones de albúmina y ácido úrico en las mismas unidades. Para ello se empleó la siguiente ecuación:⁶¹

$$\text{GAP} = [\text{TAS} - [\text{albúmina } (\mu\text{mol/L}) + \text{ácido úrico } (\mu\text{mol/L})]$$

- *LPO*. El método empleado para esta medición se basó en el análisis de Jentzsch y col.¹⁴⁹ que mide las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs), en el cual una molécula de MDA reacciona con dos moléculas de ácido tiobarbitúrico con la producción de un compuesto color rosa que absorbe a 535 nm. La amplificación de la peroxidación durante el ensayo fue prevenida con la adición de 10 μL del antioxidante butiril-hidroxitolueno (BHT 2mM).

En el ensayo, 400 μL de plasma o del estándar de MDA (0.2-4.0 mmol/L) preparado por la hidrólisis de 1,1,3,3-tetrametoxipropano (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) se mezclaron con 400 μL de ácido ortofosfórico 0.2 M (Sigma Chemical Co.) y 50 μL de BHT 12.6 mM (Sigma Chemical Co.) en tubos de 12 x 75 mm. Posteriormente se agregaron 50 μL de reactivo de ácido tiobarbitúrico (0.11 mol/L en 0.1 mol/L NaOH; Fluka, Buchs,

Suiza) y se mezcló; enseguida, la reacción se incubó a 90°C durante 45 minutos en baño María. Al cabo del tiempo, los tubos se colocaron en un baño de hielo para detener la reacción. Las sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico se extrajeron con 1,200 µL de n-butanol (Sigma Chemical Co.). La fase superior fue leída a 535 y 572 nm para corregir la absorción basal, en un espectrofotómetro para microplacas Thermoscientific™ Multiskan Go. Los equivalentes de MDA (sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico) se calcularon utilizando la diferencia de absorción entre las dos longitudes de onda y la cuantificación se realizó interpolando las absorbancias en la curva de calibración. Para la curva de calibración se prepararon las siguientes soluciones a partir de la sustancia patrón que es el 1,1,3,3-tetrametoxipropeno (TMP).

- a) TMP 1mM: se diluyeron 17µL de TMP en 100ml de agua destilada (solución madre preparada en función del peso molecular del TMP)
- b) TMP 0.2 mM: se tomó 1ml de TMP 1mM y se añadieron a 4ml de agua bidestilada (se prepara cada vez que se usa).

Se prepararon ocho tubos de concentraciones crecientes como se muestra a continuación:

Tubo	TMP (µL)	H ₂ O (µL)	MDA (µmol/L)
1	0	400	0
2	10	390	0.2
3	20	380	0.4
4	40	360	0.8
5	60	340	1.2
6	100	300	2.0
7	140	260	2.8
8	200	200	4.0

A cada tubo se adicionaron 50 µL de BHT 12.6 mM y 400 µL de ácido ortofosfórico 0.2 mol/L consecutivamente, se mezclaron y se agitaron. Posteriormente se les agregaron 50 µL de reactivo de ácido tiobarbitúrico (0.11 mol/L en 0.1 mol/L NaOH; Fluka, Buchs, Suiza) y se mezcló; enseguida, la reacción se incubó a 90°C durante 45 minutos en baño María y se siguió el mismo procedimiento de extracción y lectura que con las muestras de plasma.

- *8-Iso*. Se emplearon muestras de plasma con EDTA para la cuantificación de los *8-Iso* mediante ensayo inmunoenzimático, empleando un estuche comercial (*8-isoprostane* EIA kit 515351, Cayman Chemical Company). La prueba se basa en la competencia entre el *8-Iso* y la *8-Iso*-acetilcolinesterasa (AChE) conjugada (*8-Iso*-trazador) ante un limitado número de sitios de unión de antisuero de conejo específico para *8-Iso*, éste último se une a un anticuerpo monoclonal que ha sido previamente unido al pozo. Se realiza un lavado con solución tampón para remover todo reactivo no unido y posteriormente se agrega el reactivo de Ellman que contiene al sustrato de la AChE. El producto de esta reacción enzimática es un compuesto de color amarillo, cuya máxima absorción se da a 412 nm. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de *8-Iso* trazador unido a el pozo, el cual es inversamente proporcional a la cantidad de *8-Iso* libre presente en la muestra analizada. El ensayo se realizó en varias etapas: purificación de la muestra, preparación de la curva estándar, adición de reactivos a la placa, incubación, desarrollo y lectura de la placa. A continuación, se describe la metodología utilizada.

Purificación de la muestra.

Se transfirió el absorbente a un tubo limpio y seco, se centrifugó a 1500 x g durante 3 minutos, posteriormente, se removió el sobrenadante, se adicionó solución amortiguadora de columna al absorbente en una relación 1:4 y se mezcló cuidadosamente, luego se centrifugó nuevamente y se descartó el sobrenadante, esta operación se repitió hasta completar un total de 4 repeticiones. Se resuspendió el absorbente con un volumen equivalente de solución amortiguadora de columna. Se tomó una alícuota de 1 mL de muestra en un tubo eppendorf y se agregaron 80 µL del absorbente previamente lavado y agitado, se mezcló suavemente por 45 minutos y pasado este tiempo se centrifugaron las muestras a 1500 x g por 5 minutos, con ayuda de una pipeta se removió cuidadosamente el sobrenadante, conservando el absorbente ya que a éste se ha unido el *8-Iso*. Se lavó el absorbente con 1 mL de solución amortiguadora de columna, se centrifugó nuevamente y se descartó el sobrenadante, posteriormente se lavó el absorbente con 1 mL de agua ultrapura, se centrifugó y se descartó el sobrenadante. Para extraer el *8-Iso* del absorbente, se resuspendió el botón en 0.5 mL de solución de elución (Etanol/ agua; EtOH/H₂O 95:5), se agitó brevemente y

se centrifugó. Después se transfirió cuidadosamente el sobrenadante a un tubo limpio y seco. Esta acción se repitió una segunda vez combinando ambas eluciones en un mismo tubo de muestra. Se almacenaron las muestras a -80°C (bajo estas condiciones las muestras son estables por 1 año), hasta la realización del ensayo. Previo a la realización del ensayo, las muestras se secaron bajo corriente de nitrógeno y posteriormente, se resuspendieron en $150\ \mu\text{L}$ de solución amortiguadora de afinidad eicosanoide (EIA).

Preparación de la curva estándar.

Se equilibró la punta de una pipeta llenando y expulsando EtOH en repetidas ocasiones. Con la punta equilibrada se transfirieron $100\ \mu\text{L}$ del estándar de 8-Iso a un tubo limpio, luego se diluyó con $900\ \mu\text{L}$ de agua ultrapura, obteniendo una solución a concentración de $5\ \text{ng/mL}$. En 8 tubos numerados (#1 al #8) se dispensó solución amortiguadora EIA: $900\ \mu\text{L}$ en el tubo #1 y $750\ \mu\text{L}$ en los tubos #2 a #8. Se transfirieron $100\ \mu\text{L}$ estándar ($5\ \text{ng/mL}$) al tubo #1 y se mezcló cuidadosamente, obteniendo una concentración $500\ \text{pg/mL}$ en el primer punto de la curva. Posteriormente se hicieron diluciones de manera seriada, tomando $500\ \mu\text{L}$ del tubo #1 y transfiriéndolos al tubo #2, después se tomaron $500\ \mu\text{L}$ del tubo #2 y se transfirieron al tubo #3, se repitió este proceso hasta llegar al tubo #8, mezclando completamente tras cada adición. Se obtuvieron las siguientes concentraciones: $500\ \text{pg/mL}$, $200\ \text{pg/mL}$, $80\ \text{pg/mL}$, $32\ \text{pg/mL}$, $12.8\ \text{pg/mL}$, $5.1\ \text{pg/mL}$, $2.0\ \text{pg/mL}$ y $0.8\ \text{pg/mL}$.

Adición de reactivos

Se adicionaron los reactivos de acuerdo con la plantilla de Cayman Chemical. Se colocaron $100\ \mu\text{L}$ de solución amortiguadora EIA al pozo de unión no específica (NSB) y $50\ \mu\text{L}$ de solución amortiguadora EIA al pozo de unión máxima (Bo). Se dispensaron $50\ \mu\text{L}$ de cada tubo de la curva estándar a los pozos correspondientes, empezando por el tubo de menor concentración (tubo #8) al tubo de mayor concentración (tubo #1) de manera descendente, la curva se realizó por duplicado. Posteriormente se agregaron $50\ \mu\text{L}$ de muestra por pozo (cada muestra fue analizada por duplicado), se adicionaron $50\ \mu\text{L}$ del trazador de 8-Iso en todos los pozos excepto en el de actividad total (TA) y el blanco (Blk), después se pipetearon $50\ \mu\text{L}$ del antisuero de 8-Iso en todos los pozos

excepto en TA, NSB y Blk). Se cubrió la placa con una cubierta plástica y se incubó por 18 horas a 4°C.

Transcurrido el tiempo de incubación se vaciaron completamente los pozos y se lavaron 5 veces con solución amortiguadora de lavado, enseguida se adicionaron 200 µL del reactivo de Ellman en todos los pozos, se agregaron 5 µL de trazador al pozo de actividad total y se cubrió con una cubierta plástica, la placa se desarrolló a temperatura ambiente, protegida de la luz y con agitación muy suave durante 90 minutos. Tras el desarrollo de la placa, se limpió la base de la misma y se retiró cuidadosamente la cubierta plástica, se procedió a leer la placa a una absorbancia entre 405 y 420 nm en un espectrofotómetro para microplacas Thermoscientific™ Multiskan Go, la absorbancia fue leída cuando los pozos Bo estaban en un rango de 0.3-1.0 A.U (considerando sustracción de blanco). Si la absorbancia de Bo se encontraba por encima de 2.0 se procedía a re-desarrollar la placa, según las instrucciones de Cayman Chemical. Para obtener las concentraciones se construyó la curva estándar de la razón B/Bo (eje Y) vs la concentración de los estándares (eje X), y se interpoló dando el mismo tratamiento al promedio de las absorbancias crudas de las muestras.

VII.5 Medición de SIRT1

La cuantificación de SIRT1 se hizo mediante la técnica de ELISA de doble sándwich. Se emplea un anticuerpo monoclonal SIRT1 humano y un anticuerpo de detección marcado con biotina. Las muestras y el anticuerpo marcado con biotina se añaden a los pocillos de la placa ELISA y después se lavan con solución tampón. Luego, se agregan los conjugados de avidina-peroxidasa a los pocillos y se adiciona el sustrato. La mezcla de reacción se vuelve azul y posteriormente se torna amarilla por adición de ácido. Se lee la absorbancia del compuesto colorido a 450 nm.

Todas las mediciones se realizaron antes de iniciar la intervención y se repitieron 6 meses después.

VII.6 Análisis estadístico

Se efectuó el cálculo de medidas descriptivas, frecuencias y porcentajes en las variables cualitativas; así como cálculo de la media y desviación estándar (DE) para las variables cuantitativas. La comparación se realizó mediante las pruebas estadísticas de análisis de la varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés) de medidas repetidas y chi cuadrada, empleando un intervalo de confianza del 95%, considerando una prueba significativa aquella con valor de $p < 0.05$. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS versión 21.

VII.7 Aspectos éticos y legales

A todos los participantes se les entregó un consentimiento informado (Anexo 1) de acuerdo con lo que establece la declaración de Helsinki (Tokio 2004). Una vez que hubieron leído y comprendido en que consiste el proyecto, cuáles eran los procedimientos a los que serían sometidos, así como los beneficios y posibles riesgos, firmaron dicho documento en presencia de dos testigos, aceptando así su participación en la investigación.

VIII. RESULTADOS

VIII.1 Presión arterial e IMC

En el Cuadro 3 se presentan los datos de presión arterial e índice de masa corporal de los 3 grupos de estudio. No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) después de 6 meses de seguimiento.

VIII.2 Parámetros bioquímicos

Respecto a los parámetros bioquímicos, se observó una disminución significativa ($p < 0.05$) de los niveles de triglicéridos en el GE1000 después del tratamiento (basal, 170 ± 69 vs. post, 147 ± 46 mg/dL) en comparación con el GP (basal, 197 ± 85 vs. post, 205 ± 62). Asimismo, se encontró un incremento significativo ($p < 0.05$) en los valores de la PCR en el GP transcurridos los 6 meses de seguimiento (basal, 0.37 ± 0.4 vs. post, 0.48 ± 0.5 mg/dL). En los demás parámetros bioquímicos evaluados (hemoglobina, hematocrito, glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, colesterol total, colesterol-HDL, albumina y HbA1c) no se observaron cambios significativos ($p > 0.05$) (Cuadro 4).

VIII.3 Marcadores de EO

Se encontró un incremento significativo ($p < 0.05$) en la concentración de LPO en el GP después de seis meses (LPO: basal, 0.219 ± 0.07 vs. post, 0.282 ± 0.07 $\mu\text{mol/L}$). Asimismo, se observó una disminución significativa ($p < 0.05$) en la concentración sanguínea de 8-Iso en el GE1000 (basal, 60 ± 25 vs. post, 45 ± 27 pg/mL) en comparación con el GP. También observamos un incremento significativo ($p < 0.05$) en TAS y GAP en el GE1000 después del tratamiento con RV (TAS: basal, 1003 ± 247 vs. post, 1225 ± 249 $\mu\text{mol/L}$; GAP: basal 283 ± 242 vs. post, 434 ± 234) en comparación con el GP. Asimismo, la actividad de la SOD aumentó de manera significativa ($p < 0.05$) en el GE1000 (basal, 167 ± 15 vs. post, 173 ± 12) en comparación con el GP. De igual manera, se encontró una disminución significativa en el puntaje del IEOx en GE1000 (basal, 2.5 ± 1 vs. post, 1.3 ± 1) después de los 6 meses de tratamiento en comparación con el GP (1.9 ± 1 vs. post, 2.8 ± 1) ($p < 0.05$). El resto de los marcadores evaluados no mostró cambios significativos después de 6 meses (Cuadro 5).

Se encontró un aumento en el porcentaje de individuos sin EOx en el GE1000 (basal, 13 vs. post, 35%; $p < 0.05$) después de 6 meses de tratamiento con RV. Asimismo, los porcentajes de EOx moderado (EOM) y EOx severo (EOS) presentaron una disminución significativa en el GE1000 (EOM: basal, 27 vs. post, 13%; EOS: basal, 22 vs. post, 3%; $p < 0.05$) después de 6 meses de tratamiento. En GP observamos una disminución significativa en el porcentaje de sujetos sin EOx (basal, 21 vs. post, 7%; $p < 0.05$) y en la de sujetos con EOx leve (basal, 43 vs. post, 29%; $p < 0.05$); mientras que el porcentaje de individuos con EOM incrementó (basal, 29 vs. post, 54%; $p < 0.05$) (Cuadro 6).

VIII.4 Concentración de SIRT1

Con respecto a la concentración de SIRT1 observamos un aumento significativo en el GE1000 (basal, 1.5 ± 1 vs. post, 3.1 ± 2 ng/mL; $p < 0.05$) después de 6 meses de seguimiento de tratamiento en comparación con el GP, sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la comparación del GE 500 vs. GP ($p < 0.05$) (Figura 8).

Cuadro 3. Presión arterial e IMC en los grupos de estudio pre y post-tratamiento

Parámetro	GE1000 (n=37)		GE500 (n=32)		Placebo (n=28)	
	Basal	6 meses	Basal	6 meses	Basal	6 meses
Edad (años)	66 ± 6		63 ± 7		64 ± 5	
IMC (kg/m²)	27.6 ± 4.4	27.7 ± 4.2	27.8 ± 3.6	27.9 ± 4.0	28.3 ± 3.4	27.9 ± 3.0
PAS (mmHg)	127 ± 16	124 ± 12	128 ± 17	127 ± 14	127 ± 10	123 ± 10
PAD (mmHg)	84 ± 6	82 ± 9	84 ± 13	86 ± 8	82 ± 7	82 ± 9

Abreviaturas: GE1000, grupo experimental suplementado con 1000 mg/día de RV; GE500, grupo experimental suplementado con 500 mg/día de RV; GP, grupo placebo; IMC: índice de masa corporal; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica. Los datos se presentan como media ± DE. ANOVA de medidas repetidas.

Cuadro 4. Parámetros bioquímicos de los grupos de estudio, pre y post-tratamiento

Parámetro	GE1000 (n=37)		GE500 (n=32)		Placebo (n=28)	
	Basal	6 meses	Basal	6 meses	Basal	6 meses
Hemoglobina (g/dL)	14 ± 1	14 ± 2	14 ± 1	15 ± 2	14 ± 2	14 ± 2
Hematocrito (%)	45 ± 4	45 ± 4	45 ± 6	46 ± 5	45 ± 6	46 ± 5
Glucosa (mg/dL)	169 ± 73	186 ± 83	185 ± 65	203 ± 77	189 ± 74	184 ± 67
Urea (mg/dL)	33 ± 8	36 ± 14	33 ± 14	33 ± 15	36 ± 11	38 ± 17
Creatinina (mg/dL)	0.92 ± 0.2	0.92 ± 0.2	0.92 ± 0.2	0.96 ± 0.33	0.95 ± 0.2	1.01 ± 0.3
Ácido úrico (mg/dL)	4.5 ± 1.6	4.0 ± 1.3	4.4 ± 1.8	3.8 ± 0.9	5.1 ± 1.9	4.6 ± 1.4
Colesterol total (mg/dL)	200 ± 44	202 ± 69	196 ± 41	211 ± 70	198 ± 42	210 ± 47
Triglicéridos (md/dL)	170 ± 69	147 ± 46*	219 ± 115	221 ± 122	197 ± 85	205 ± 62
HDL-c (mg/dL)	61 ± 26	56 ± 16	54 ± 16	53 ± 15	54 ± 17	52 ± 11
Albúmina (g/dL)	4.3 ± 0.3	4.8 ± 0.6	4.4 ± 0.4	4.9 ± 0.5	4.3 ± 0.3	4.8 ± 0.5
PCR (mg/dL)	0.23 ± 0.3	0.22 ± 0.4	0.22 ± 0.2	0.33 ± 0.3	0.37 ± 0.4	0.48 ± 0.5*
HbA1c (%)	7.9 ± 2.0	7.8 ± 1.8	8.0 ± 2.0	8.1 ± 1.5	7.7 ± 2.2	8.0 ± 1.7

Abreviaturas: GE1000, grupo experimental suplementado con 1000 mg/día de RV; GE500, grupo experimental suplementado con 500 mg/día de RV; GP, grupo placebo; HbA1c, Hemoglobina glicosilada; HDL-c, lipoproteínas de alta densidad. Los datos se presentan como media ± DE. ANOVA de medidas repetidas. Prueba de Tukey como post-hoc, *p<0.05.

Cuadro 5. Marcadores de EOX en los grupos de estudio, pre y post-tratamiento

Parámetro	GE1000 (n=37)		GE500 (n=32)		Placebo (n=28)	
	Basal	6 meses	Basal	6 meses	Basal	6 meses
LPO (μmol/L)	0.230 ± 0.08	0.212 ± 0.04	0.236 ± 0.09	0.229 ± 0.06	0.219 ± 0.07	0.282 ± 0.07*
8-Iso (pg/mL)	60 ± 25	45 ± 27†	56 ± 29	53 ± 38	61 ± 24	76 ± 35
SOD (UI/L)	167 ± 15	173 ± 12†	172 ± 16	178 ± 10	171 ± 15	167 ± 10
GPx (UI/L)	7181 ± 3794	8362 ± 2910	8219 ± 3616	8926 ± 3010	7635 ± 2988	7329 ± 3049
CAT (1x10 ⁴ UI/gHb)	3.0 ± 1	2.9 ± 1	2.9 ± 1	2.7 ± 1	2.9 ± 1	2.3 ± 1
TAS (μmol/L)	1003 ± 247	1225 ± 249*	1016 ± 216	1014 ± 269	1004 ± 202	993 ± 217
Razón SOD/GPx	0.030 ± 0.01	0.023 ± 0.01	0.027 ± 0.01	0.026 ± 0.01	0.026 ± 0.01	0.023 ± 0.01
GAP	283 ± 242	434 ± 234‡	288 ± 221	202 ± 284	276 ± 175	205 ± 229
IEOx	2.5 ± 1	1.3 ± 1*	2.0 ± 1	1.7 ± 1	1.9 ± 1	2.8 ± 1*

Abreviaturas: EOX, estrés oxidante; GE1000, grupo experimental suplementado con 1000 mg/día de RV; GE500, grupo experimental suplementado con 500 mg/día de RV; GP, grupo placebo; LPO, lipo-peróxidos; 8-Iso, isoprostanos; SOD, superóxido dismutasa, GPx, glutatión peroxidasa; CAT, catalasa; TAS, estado antioxidante total (del inglés total antioxidant status); SOD/GPx, razón SOD/GPx; GAP, brecha antioxidante; IEOx, índice de estrés oxidante. Los datos se presentan como media ± DE. ANOVA de medidas repetidas. Prueba de Tukey como post-hoc, *p<0.05 placebo vs GE1000; † p<0.05 placebo vs (GE1000 y GE500); ‡ p<0.05 GE1000 vs (GE500 y placebo)

Cuadro 6. Índice de EOx en los grupos de estudio pre y post-tratamiento

	GE1000 (n=37)		GE500 (n=32)		Placebo (n=28)	
	Basal	6 meses	Basal	6 meses	Basal	6 meses
Sin EOx	5 (13%)	13 (35%)*	3 (10%)	9 (28%)*	6 (21%)	2 (7%)*
EOx leve	14 (38%)	18 (49%)	19 (59%)	15 (47%)	12 (43%)	8 (29%)*
EOx moderado	10 (27%)	5 (13%)*	9 (28%)	8 (25%)	8 (29%)	15 (54%)*
EOx severo	8 (22%)	1 (3%)*	1 (3%)	0 (0%)	2 (7%)	3 (10%)

Abreviaturas: EOx, estrés oxidante; GE1000, grupo experimental suplementado con 1000 mg/día de RV; GE500, grupo experimental suplementado con 500 mg/día de RV; GP, grupo placebo. Prueba McNemar, IC: 95%; *p<0.05 proporción basal vs 6 meses.

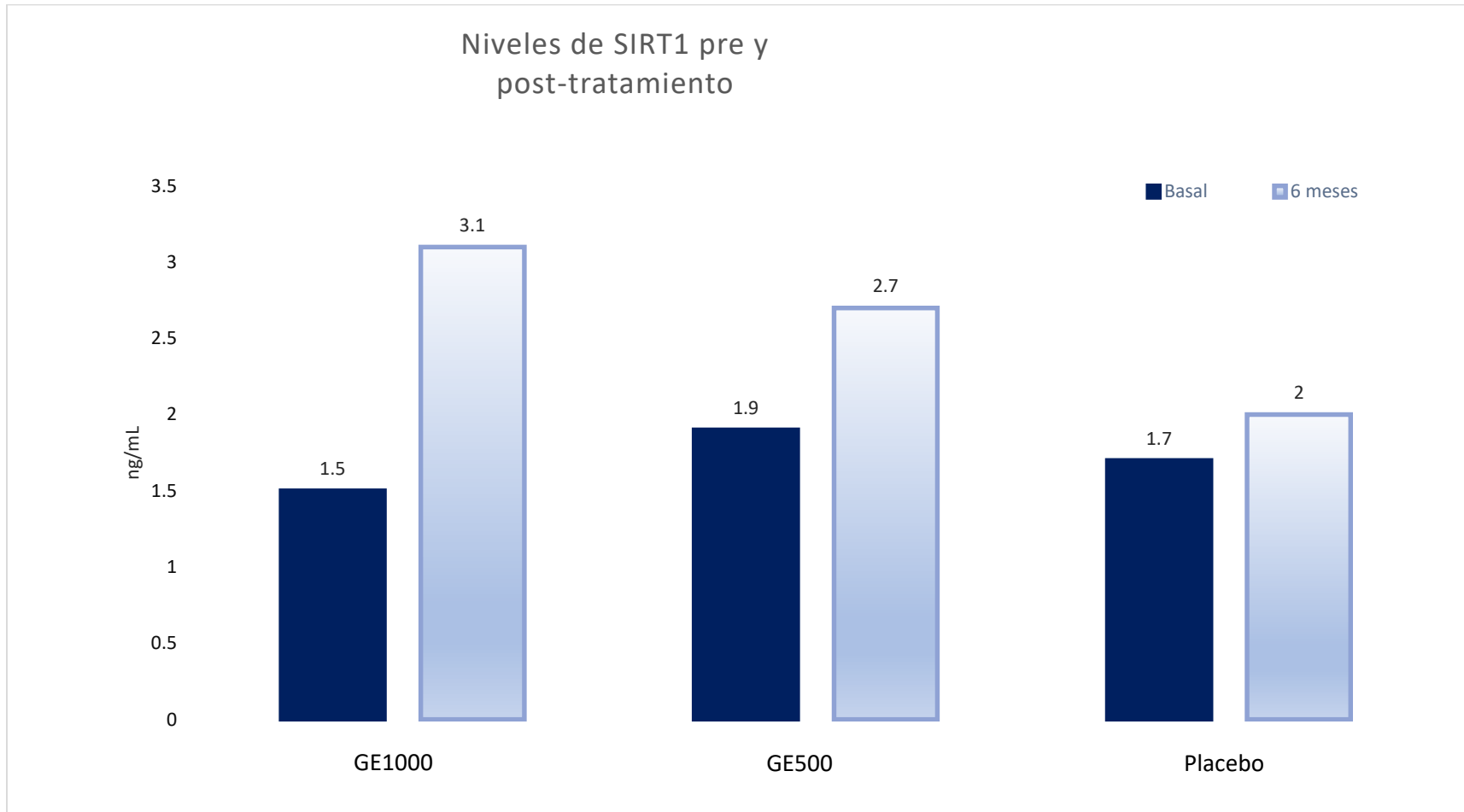


Figura 9. Concentración de SIRT1 en los grupos de estudio pre y post-tratamiento. Se observa un incremento significativo (1.5 vs 3.1 ng/mL; $p < 0.05$) en GE1000 después del seguimiento. No obstante, el GE500 en comparación con el GP no diferencias significativas ($p > 0.05$).

Abreviaturas: GE1000, grupo experimental suplementado con 1000 mg/día de RV; GE500, grupo experimental suplementado con 500 mg/día de RV; GP, grupo placebo; SIRT1, sirtuína 1.

IX. DISCUSIÓN

En las últimas décadas el RV ha sido uno de los nutraceuticos más estudiado por numerosos grupos de investigación. En este sentido, en algunos experimentos realizados *in vitro* y en modelos animales, ha sido demostrado su efecto antioxidante, anti-inflamatorio, hipoglucemiante, neuroprotector, “antienvjecimiento” (mayor longevidad) e incluso antineoplásico, por lo que se le reconoce como un producto de origen natural con un gran potencial como agente terapéutico de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y metabólicas,¹⁰⁰ entre las que destaca la DM2, cuya prevalencia, incidencia y letalidad, tienen implicaciones familiares, sociales y económicas. La DM2 representa una gran carga para los sistemas de salud, debido a su alta frecuencia de complicaciones, lo que incrementa la necesidad de atención hospitalaria y afecta severamente la economía de las personas diabéticas y a sus familias, además de deteriorar su calidad de vida.⁴⁰⁻⁴²

Pese a los esfuerzos de la comunidad médica con los tratamientos convencionales, no se ha logrado disminuir la prevalencia e incidencia de la DM2 ni del desarrollo de las complicaciones micro y macrovasculares de los sujetos diabéticos, por lo que se han propuesto tratamientos antioxidantes y antiinflamatorios complementarios a la terapia hipoglucemiante, tales como el RV.¹⁵⁰ Al respecto, aunque dichos efectos del RV han sido demostrados en modelos animales con diabetes inducida, la evidencia en los ensayos clínicos muestra resultados inconsistentes, por lo que las investigaciones en torno a los efectos benéficos potenciales del RV en humanos es un tópico relevante y de actualidad.^{150,151}

Por otro lado, también se ha propuesto que el RV podría ejercer un efecto hipotensor, debido a su capacidad para inducir la producción de óxido nítrico (NO), un potente vasodilatador que se produce en el endotelio vascular.¹⁵² No obstante, este efecto sólo se ha observado en personas hipertensas. Acorde con lo anterior, en nuestro ensayo clínico no observamos tal efecto, lo cual sugiere que el RV podría tener un efecto

modulador específico que responde a cifras de presión arterial alta. También se ha reportado que el RV estimula a PGC-1 α , un factor de transcripción que regula a los genes moduladores del almacenamiento de grasa corporal, por lo que a través de esa vía podría inducir pérdida de peso y disminución del IMC.¹⁵³ Este efecto ha sido observado en estudios realizados en sujetos con obesidad (IMC>30 kg/m²),^{152,153} no obstante, en nuestro estudio no se observó una disminución en el IMC, debido a que nuestra población no presentaba obesidad, por lo que igualmente, dicho resultado sugiere un efecto modulador específico de la lipólisis, tal como ha sido señalado con la presión arterial.

Respecto al efecto del RV sobre el control de la DM2, se ha demostrado que el RV reduce los niveles de glucosa sanguínea, debido a que aumenta la expresión de GLUT4 en las células del músculo esquelético y promueve la translocación de glucosa en los adipocitos, mejorando la captación, utilización y almacenamiento de la misma.¹⁵⁴ También se ha propuesto, que el RV protege las células de los islotes de Langerhans del daño oxidativo y aumenta su viabilidad, además de restaurar las funciones secretoras de las células β y normalizar la secreción de insulina, lo que paulatinamente restaura la vía de señalización de insulina y contribuye a controlar la glucemia.^{155,156} En este sentido, en algunos ensayos clínicos se ha descrito que con dosis entre 200 y 1000 mg/día de RV se reducen los niveles de glucosa, insulina, HbA1c y la resistencia a la insulina en sujetos con DM2 menores de 50 años.^{130,157,158}

En estudios realizados en individuos mayores de 60 años, usando dosis de 500 y 800 mg/día, respectivamente, se ha demostrado un efecto hipoglucemiante después de 4 y 8 semanas de tratamiento.^{137,139,141} Este efecto en adultos mayores ha sido consistente, tal como se ha informado en los meta-análisis publicados por García-Martínez et al. (2021),¹⁵⁹ Hausenblas et al. (2014)¹⁶⁰ y Liu et al. (2014)¹⁶¹. En contraste, en nuestro estudio no observamos cambios significativos en los niveles de glucosa y HbA1c después de 6 meses de tratamiento, con ninguna de las 2 dosis empleadas; resultados que coinciden con lo publicado en algunos estudios, en los que se administraron dosis, desde 150 mg/día de RV en sujetos con DM2 menores de 50 años,^{144,162} hasta dosis de 500 y 1000 mg/día de RV en sujetos mayores de 60 años,^{134,143} en quienes no se encontraron

cambios significativos en la sensibilidad a la insulina, el control glucémico, los niveles de glucosa y la HbA1c. Asimismo, en el meta-análisis realizado por Jeyaraman et al. (2020), tampoco encontraron un efecto hipoglucemiante, en sujetos de 60 años y más.¹⁶³ Acorde con lo anterior, en una revisión sistemática y meta-análisis realizado por nuestro grupo de investigación, se encontró que los efectos del RV son notablemente menores en personas mayores de 60 años en comparación con personas más jóvenes, ya que paralelamente a la baja biodisponibilidad del RV, los adultos mayores de 60 años presentan problemas de absorción a nivel intestinal y poseen una disminuida capacidad para metabolizar el RV, además del EOx relativo al envejecimiento, por lo cual se ha sugerido emplear dosis elevadas en este grupo etario.¹⁶⁴

Con relación al efecto hipolipemiante, observamos una disminución significativa en la concentración sérica de triglicéridos en GE1000, lo cual puede atribuirse a la capacidad del RV para disminuir la absorción de los ácidos grasos y la lipogénesis *de novo*, además de incrementar la movilización de grasas e inducir la β -oxidación de los ácidos grasos.¹⁶⁵ Este efecto hipolipemiante es consistente con lo observado en el meta-análisis realizado por Cao et al. (2022), quienes encontraron que la administración oral de RV reduce significativamente los niveles séricos de triglicéridos.¹⁶⁶

En el presente estudio, también se observó un incremento significativo de la PCR en el GP después del seguimiento, lo cual puede deberse a la inflamación crónica de bajo grado que surge como consecuencia de la hiperglucemia que caracteriza a la DM2.¹⁶⁷ En este sentido, se ha demostrado que la hiperglucemia promueve la formación excesiva de AGEs y estos activan al NF κ B que desencadena la transcripción de genes promotores de citocinas pro-inflamatorias, y a su vez, estas últimas estimulan la producción de PCR en el hígado, razón por la cual la proteína se encuentra elevada en individuos con DM2,^{167,168} tal como fue observado en el GP. En contraste, en el GE1000, no se observaron cambios significativos después de la administración de RV, ya que es capaz de bloquear la activación del NF κ B y evitar el aumento de la producción de PCR.¹⁶⁹

Con respecto a los marcadores de EOX, se ha demostrado que el RV ejerce efectos antioxidantes a través de dos mecanismos: (i) mediante la interacción directa con los RL y EROs; (ii) por su capacidad para aumentar la actividad de las enzimas antioxidantes.¹⁷⁰ En este sentido, el primer mecanismo se debe a la naturaleza polifenólica del RV, ya que le otorga características redox y le permite movilizar electrones a lo largo de su estructura química, convirtiéndolo en un excelente depurador de hidroxilos, peróxidos y superóxidos;^{170,171} como consecuencia de ello, puede minimizar o prevenir la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados que abundan en las membranas celulares, protegiéndolas del daño oxidativo.¹⁷⁰⁻¹⁷² Acorde con esto, en los resultados de 2 ensayos clínicos se encontró una disminución significativa de los niveles de MDA, un biomarcador directo de la lipoperoxidación de las membranas, con dosis de 200 y 500 mg/día de RV en sujetos con DM2.^{141,157}

En nuestro ensayo clínico observamos una disminución significativa de los niveles de MDA en GE1000 y un incremento del mismo marcador en el GP, lo cual es congruente con el efecto antioxidante del RV reportado en otros estudios. Asimismo, observamos un incremento significativo de la concentración de 8-Iso en GP y una disminución importante en GE1000, demostrando el efecto antioxidante del RV; ya que el 8-Iso se forma como un producto secundario de la peroxidación lipídica, cuya molécula es de estructura similar a las PGs y actualmente se le considera el estándar de oro para la medición del daño oxidativo de las membranas;¹⁷³ lo que concuerda con los resultados observados en GP.

El segundo mecanismo del RV es mediante el incremento en la actividad de las enzimas antioxidantes (SOD, GPx, CAT), encargadas de eliminar el exceso de RL y EROs para prevenir el daño oxidativo.¹⁷⁴ Estas 3 enzimas actúan de manera conjunta para proteger a las células de las EROs. Primero la SOD dismuta al anión superóxido en peróxido de hidrógeno y posteriormente la GPx y la CAT lo degradan a oxígeno y agua.¹⁷⁵ Este efecto lo logra mediante su interacción con el Nrf2, un factor de transcripción que modula la expresión de genes que contienen elementos de respuesta antioxidante (ARE). La activación de la vía Nrf2/ARE promueve la expresión de genes antioxidantes y estimula la producción de las enzimas SOD, GPx y CAT, cuya función es eliminar EROs.¹⁷⁶ En

este sentido, se ha observado que el RV activa a Nrf2 mediante la activación de AMPK, que a su vez estimula la vía Nrf2/ARE y como resultado incrementa la producción de enzimas antioxidantes.¹⁷⁵⁻¹⁷⁷

En nuestro estudio encontramos un aumento no significativo de la actividad de SOD en GE1000 y una disminución significativa en GP, lo cual concuerda con lo señalado anteriormente, así como con los resultados de algunos estudios en los cuales se ha observado un incremento en la actividad de la SOD, con tratamiento de RV en dosis de 500 y 800 mg/día, y una disminución de la actividad de dicha enzima en los grupos tratados con placebo.^{141,142} Los autores de estos estudios también describieron que TAS se elevó después la administración de RV, tal como ocurrió en el GE1000 de nuestro ensayo clínico. Aunado a ello, observamos que después del seguimiento se elevó la GAP en el GE1000. La GAP es un cálculo que proporciona información sobre la actividad antioxidante de componentes del plasma diferentes a ácido úrico y albúmina, tales como α -tocoferol, ácido ascórbico, transferrina y otros antioxidantes obtenidos de la dieta, por ejemplo, el RV;⁶⁰ lo que explica el incremento de GAP en el GE1000 al término de 6 meses de administración oral de 1000 mg/día de RV.

Respecto al IEOx se observó un incremento significativo en el GP y una disminución en el GE1000. En este sentido, la disminución de IEOx es el resultado del incremento en la TAS y GAP, con lo cual se contrarresta a las EROs y se atenúa el daño oxidativo a las membranas, reflejándose en la disminución de los niveles de LPO y 8-Iso; y aun cuando la actividad de las enzimas SOD y GPx no incrementó significativamente, con el puntaje del IEOx, podemos inferir que las enzimas antioxidantes evaluadas actúan de manera integral y eficiente, para contrarrestar las concentraciones altas de EROs. Con relación al IEO, se encontró una disminución en el porcentaje de individuos con EOx moderado y severo en GE1000; mientras que en GP disminuyeron las proporciones de sujetos sin EOx y EOx leve, y aumentó la de EOx moderado. Esto concuerda con lo señalado en la literatura, ya que el grupo que recibió 1000 mg/día de RV presentó un efecto antioxidante más alto en comparación con los sujetos que recibieron tratamiento de 500 mg/día.

Por último, observamos un aumento significativo en la concentración de SIRT1 en el GE1000, lo cual es congruente con el mecanismo propuesto del RV.^{178,179} En este sentido, la SIRT1 tiene un efecto sobre la regulación de la autofagia, la mitofagia, la biogénesis mitocondrial, la expresión de enzimas antioxidantes, la supresión de NFκB, entre otras.¹⁷⁹ Asimismo, la producción, expresión y actividad de SIRT1 pueden ser modificadas por el RV de forma alostérica, por lo que un incremento de los niveles de SIRT1 proporciona información indirecta sobre los efectos del RV.¹⁷⁸

Por otro lado, cuando SIRT1 es estimulada desacetila y activa a la proteína cinasa LKB1 y esta fosforila y activa a AMPK, con lo cual se atenúa el daño oxidativo, mejora la RI y se reestablece la homeostasis energética.¹⁷⁹ Con respecto al papel de SIRT1 en el metabolismo energético, la evidencia científica sugiere que aumenta la fosforilación oxidativa a través de la desacetilación de PGC-1α y con ello funge como regulador de la biogénesis mitocondrial en hígado y músculo;¹⁸⁰ ya que PGC-1α controla la expresión de los genes que regulan la biogénesis y actividad mitocondrial, disminuyendo la acumulación de lípidos e incrementando la captación de glucosa, con lo que mejora el metabolismo energético.¹⁸¹

En relación al efecto antioxidante del RV a través de SIRT1, se ha demostrado que SIRT1 estimula a AMPK y esta regula negativamente a la NADPH oxidasa, enzima encargada de producir EROs, e induce un incremento en la expresión de SOD, cuyo resultado final sería una disminución del EOx.¹⁸² La SIRT1 también regula la acetilación de los factores de transcripción de la familia FOXO, involucrados no solo en el metabolismo de los lípidos y la glucosa sino en la respuesta al EOx. Al respecto, se ha observado que la interacción SIRT1-AMPK estimula a FOXO3 que a su vez inhibe a la NADPH oxidasa, por lo cual a través de SIRT1 y FOXO3 el RV disminuye la producción de EROs y por tanto se atenúa el EOx.¹⁸³ Además, se ha propuesto que el complejo formado por la interacción SIRT1-FOXO3- PGC-1α activa a Nfr2, como ha sido señalado es un regulador transcripcional de la expresión de genes involucrados en la respuesta antioxidante, ya que promueve la producción de SOD dependiente de manganeso y otras enzimas que brindan protección antioxidante a las mitocondrias.¹⁸⁴

Considerando lo anterior, los resultados de nuestra investigación demuestran un efecto antioxidante más eficiente de RV a dosis de 1000 mg/día en comparación con dosis de 500 mg/día, lo que además coincide con el incremento en los niveles de SIRT1.

Limitaciones.

El presente trabajo presenta algunas limitaciones como el tamaño de la muestra, ya que aún cuando se realizó el cálculo del tamaño de muestra considerando una potencia del 80%, ésta se obtuvo considerando sólo el efecto antioxidante del RV sin tomar en cuenta el efecto hipoglucemiante. Una limitación importante fue que no se midieron las concentraciones de RV en plasma debido a complicaciones logísticas y aún cuando se corroboró la ingesta del tratamiento con la devolución de los frascos vacíos al término de cada mes, no se tiene el dato exacto de la concentración de RV en plasma y por tanto no sabemos si fue absorbido de manera satisfactoria en todos los pacientes que lo ingirieron. Aunado a ello no fue posible controlar algunas variables que pudieron interferir con los resultados, tales como la alimentación, misma que pudo incluir alimentos que contienen RV, tampoco fue posible controlar la realización de actividad física ya que, aunque se solicitó que los participantes no realizaran actividad física pudieron haberla realizado sin informarlo. Finalmente, no fue posible controlar los niveles de estrés psicológico, el cual ha demostrado ser capaz de incrementar los niveles de EOx.

X. CONCLUSIONES

HIPÓTESIS

Considerando los hallazgos de los estudios que han reportado efectos antioxidantes y antiinflamatorios así como activación de SIRT1 de tipo dosis respuesta, suponemos que el grupo de adultos mayores con diabetes tipo 2 que consuman 1000 mg/día de RV, mostrarán una disminución significativa de los marcadores de estrés oxidante y aumento en la concentración de SIRT1, en comparación con el grupo que consuma 500 mg/día.

Conclusiones

- Nuestros hallazgos sugieren que el consumo de RV a dosis de 1000 mg/día ejerce un efecto antioxidante más eficiente que la dosis de 500 mg/día. Aunado a un incremento significativo en los niveles de SIRT1 en adultos mayores con diabetes tipo 2.
- El consumo de RV en dosis de 1000 mg/día durante 6 meses ejerce un efecto hipolipemiante.
- La administración oral de RV en dosis de 1000 mg/día no reducen los niveles de glucosa y HbA1c, por lo que no encontramos evidencia de su efecto hipoglucemiante.
- Asimismo, no se encontró evidencia del efecto hipotensor del RV administrado en dosis de 1000 mg/día.

XI. PERSPECTIVAS

- Acorde con los resultados de la presente investigación, se justifica extender el seguimiento a 12 meses con la finalidad de observar si el efecto que se presentó con dosis de 1000 mg/día permanece y si a largo plazo se observan efectos con la dosis de 500 mg/día como sugiere la evidencia científica.
- Sería conveniente ensayar dosis más altas (1500 y 2000 mg/día) para proponer una dosis efectiva en adultos mayores ya que presentan niveles considerables de EOx e IC y las dosis empleadas en el presente estudio podrían no ser suficientes para observar todos los efectos biológicos del RV.

XII. REFERENCIAS

1. Lemoine M. Defining aging. *Biol Philos.* 2020;35:46. Doi: 10.1007/s10539-020-09765-z.
2. Mendoza-Núñez VM. Envejecimiento humano: Un marco conceptual para la intervención comunitaria. En: Mendoza-Núñez VM, Martínez-Maldonado ML. Promoción de la salud en la mujer adulta mayor. Ciudad de México: Instituto Nacional de Geriatria; 2015. p. 13-40.
3. Golubev AG. An assay on the nominal vs. real definitions of aging. *Biogerontology.* 2021;22:441-457. Doi:10.1007/s10522-021-09926-x
4. Seals DR, Justice JN, LaRocca TJ. Physiological geroscience: targeting function to increase healthspan and achieve optimal longevity. *J Physiol.* 2016;594(8):2001–2024. Doi: 10.1113/jphysiol.2014.282665.
5. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging *Cell.* 2013;153:1194-1217. Doi: 10.1016/j.cell.2013.05.039.
6. Kennedy BK, Berger SL, Brunet A, Campisi J, Cuervo AM, Epel ES, et al. Geroscience: Linking aging to chronic disease. *Cell.* 2014;159:709-713. Doi: 10.1016/j.cell.2014.10.039.
7. Burch JB, Deckhut AA, Frieden LA, Hadley E, Howcroft TK, Johnson R. Advances in geroscience: Impact on healthspan and chronic disease. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2014;69(S1):S1–S3. Doi:10.1093/gerona/glu041.
8. Lynn CM. What is aging? *Dis Mon.* 2015;61:454-459.
9. Guerville F, De Souto PB, Ader I, Andrieu S, Casteilla L, Dray C. Revisiting the hallmarks of aging to identify markers of biological age. *J Prev Alz Dis.* 2020;1(7):56-64.
10. Sierra F. The emergence of geroscience as an interdisciplinary approach to the enhancement of health span and life span. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016;6(4). Doi:10.1101/cshperspect.a025163.
11. Khan SS, Singer B, Vaughan D. Molecular and physiological manifestations and measurement of aging in humans. *Aging Cell.* 2017. Doi: 10.1111/accel.12601
12. Slawinska N, Krupa R. Molecular aspects of senescence and organismal ageing- DNA damage response, telomeres, inflammation and chromatin. *Int J Mol Sci.* 2021;22(590). Doi:10.3390/ijms22020590.

-
13. Herranz N, Gil J. Mechanisms and functions of cellular senescence. *J Clin Invest.* 2018;128:1238-1246.
 14. Takahashi A, Moon TL, Okada R, Kamachi F, Watanabe Y, Wakita M, et al. Downregulation of cytoplasmic DNases is implicated in cytoplasmic DNA accumulation and SASP in senescent cells. *Nat Commun.* 2018;9(1249). Doi: 10.1038/s41467-018-03555-8.
 15. Rodier F, Coppe JP, Patil CK, Hoeijmakers WA, Munoz DP, Raza SR, et al. Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion. *Nat Cell Biol.* 2009;11:973-979.
 16. Saul D, Kosinski RL. Epigenetics of aging and aging-associated diseases. *Int J Mol Sci.* 2021;22(401). Doi: 10.3390/ijms22010401.
 17. Lee JH, Kim EW, Croteau DL, Bohr VA. Heterochromatin: An epigenetic point of view in aging. *Exp Mol Med.* 2020;52:1466-1474.
 18. Pal S, Tyle JK. Epigenetics and aging. *Sci Adv.* 2016;2(e16005842016). Doi: 10.1126/sciadv.1600584.
 19. Webb M, Sideris DP. Intimate relations-Mitochondria and ageing. *Int J Mols Sci.* 2020;21(7580). Doi:10.3390/ijms21207580.
 20. Protasoni M, Zeviani M. Mitochondrial structure and bioenergetics in normal and disease conditions. *Int J Mol Sci.* 2021;22(586). Doi: 10.3390/ijms22020586.
 21. Chan DC. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2020;15:235-259.
 22. Pickles S, Vigie P, Youle RJ. Mitophagy and quality control mechanisms in mitochondrial maintenance. *Curr Biol CB.* 2018;28:R170-R185.
 23. Labbadia J, Morimoto RI. The biology of proteostasis in aging and disease. *Annu Rev Biochem.* 2015;84:435-464.
 24. Powers ET, Balch WE. Diversity in the origins of proteostasis networks, a driver for protein function in evolution. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2013;14:237-248.
 25. Sontag EM, Samant RS, Frydman J. Mechanisms and functions of spatial protein quality control. *Annu Rev Biochem.* 2017;86(1):97-122.
 26. Barbosa MC, Grosso RA, Fader CM. Hallmarks of aging: An autophagy perspective. *Front Endocrinol.* 2019;9(790). Doi: 10.3389/fendo.2018.00790
 27. Nakamura S, Yoshimori T. Autophagy and longevity. *Mol Cells.* 2018;41(1):65-72.

-
28. Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F et al. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev.* 2007;128:92-105.
 29. Pawelec G. Immunosenescence comes of age. *EMBO reports.* 2007;8:220-223.
 30. Sheikh S, Haque E, Mir SS. Neurodegenerative diseases: Multifactorial conformational diseases and their therapeutic interventions. *J Neurodegener Dis.* 2013. Doi: 10.1155/2013/563481.
 31. Jellinger KA. Recent advances in our understanding of neurodegeneration. *J NeurTrans.* 2009;116(9):1111-1162.
 32. Tanik SA, Schultheiss CE, Volpicelli-Daley LA, Brunden KR, Lee VM. Lewy body-like alphasynuclein aggregates resist degradation and impair macroautophagy. *J Biol Chem.* 2013;288:15194-15210.
 33. Sánchez CF, Peiró C, Rodríguez-Mañas L. Disfunción endotelial asociada al envejecimiento. *Clin Invest Arterioscl.* 2011;23(3):135-139.
 34. Brandes RP, Fleming I, Busse R. Endothelial aging. *Cardiovasc Res.* 2005;66:286-294.
 35. Zhang W, Hui R, Yang S. Telomeres, cardiovascular aging, and potential intervention for cellular senescence. *Sci China Life Sci.* 2014;57:858-862.
 36. Genuth SM, Palmer JP, Nathan DM. Classification and diagnosis of diabetes. In: *Diabetes in America.* 3rd Ed. 2015.
 37. Solis-Herrera C, Triplitt C, Reasner C, et al. Classification of Diabetes Mellitus. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al., editors. *Endotext.* South Dartmouth (MA): 2000. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279119/>
 38. Calvo-Ochoa E, Heras-Sandoval E, Arias C. Diabetes tipo 3: Resistencia a la insulina y enfermedad de Alzheimer. *Arch Neurocién (Mex).* 2016;21(Supl1):83-87.
 39. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care.* 2017; 40(supl 1): S11-S24. Doi: 10.2337/dc17-S005
 40. Cowie CC, Casagrande SS, Geiss LS. Prevalence and incidence of type 2 diabetes and prediabetes. In: Cowie CC, Casagrande SS, Menke A, Cissell MA, Eberhardt MS, Meigs JB, Gregg EW, Knowler WC, Barrett-Connor E, Becker DJ, Brancati FL, Boyko EJ, Herman WH, Howard BV, Narayan KMV, Rewers M, Fradkin JE, eds.

-
- Diabetes in America. 3rd ed. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (US); 2018.
41. Sun H, Saeedi P, Kururanga S, Pinkepank M, Ogurtsova K, Duncan BB, et al. IDF: Diabetes atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract.* 2022;183. Doi: 10.1016/j.diabres.2021.109119.
 42. Basto-Abreu A, López-Olmedo N, Rojas-Martínez R, Aguilar-Salinas CA, Moreno-Banda GL, Carnalla M, et al. Prevalencia de prediabetes y diabetes en México: Ensanut 2022. *Salud Publica Mex.* 2023;65(Sup1):S163-S168. Doi: 10.21149/14832
 43. García-Ocaña P, Cobos-Palacios L, Caballero-Martínez LF. Complicaciones microvasculares de la diabetes. *Medicine.* 2020; 13(16):900-910.
 44. Ali MK, Pearson-Stuttard J, Selvin E, Gregg EW. Interpreting global trends in type 2 diabetes complications and mortality. *Diabetologia.* 2022;65:3-13. Doi: 10.1007/s00125-021-05585-2.
 45. Kolaric V, Svircevic V, Bijuk R, Zupancic V. Chronic complications of diabetes and quality of life. *Acta Clin Croat.* 2022; 61(3):520-527.
 46. Mediavilla BJJ. Complicaciones de la diabetes mellitus. Diagnóstico y tratamiento. *SEMERGEN.* 2001;27:132-145.
 47. Viigimaa M, Sachinidis A, Toumpourleka M, Koutsampasopoulos K, Alliksoo S, Titma T. Macrovascular complications of type 2 diabetes mellitus. *Curr Vasc Pharmacol.* 2020;18(2).Doi:10.2174/1570161117666190405165151
 48. Mizukami H, Kudoh K. Diversity of pathophysiology in type 2 diabetes shown by islet pathology. *J Diabetes Investig.* 2022;13:6-13. Doi: 10.1111/jdi.13679.
 49. Aznar-Rodríguez S, Lomas-Meneses A, Quílez-Toboso RP, Huguet-Moreno I. Diabetes mellitus. *Medicine.* 2012; 11(17): 995-1002.
 50. Olivares-Reyes JA, Arellano-Plancarte A. Bases moleculares de las acciones de la insulina. *REB.* 2008; 27 (1): 9-18.
 51. Pietropaolo M, Le Roith D. Pathogenesis of diabetes: Our current understanding. *Diabetes.* 2001; 4(2):1-16.

-
52. Sah SP, Singh B, Choudhary S, Kumar A. Animal models of insulin resistance: A review. *Pharmacol Rep.* 2016; 68(6): 1165-1177.
 53. Santos EL. Resistencia ala insulina: Revisión de la literatura. *Rev Méd Hondur.* 2022;90(1):63-70. Doi: 10.5377/rmh.v90i1.13824.
 54. Gastaldelli A. Rol of beta-cell dysfunction, ectopic fat accumulation and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 2011;93(supl 1):S60-S65.
 55. DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes. *Med Clin N Am.* 2004; 88(1):787-835.
 56. Cervantes-Villagrana RD, Presno-Bernal JM. Fisiopatología de la diabetes y los mecanismos de muerte de las células β pancreáticas. *Revista de Endocrinología y Nutrición.* 2013;21(3):98-106.
 57. Contreras-Zambrano MA. Disfunción beta pancreática. *Rev Venez Endocrinol Metabol.* 2008;6(3):1-5.
 58. Calderón-Salinas JV, Muñoz-Reyes EG, Quintana-Escorza MA. Estrés oxidativo y diabetes mellitus. *REB.* 2013; 32(2): 53-66.
 59. Daryabor G, Atashzar MR, Kabelitz D, Meri S, Kalantar K. The effects of type 2 diabetes mellitus on organ metabolism and the immune system. *Front Immunol.* 2020;11:1582. Doi:10.3389 / fimmu.2020.01582.
 60. Sánchez-Rodríguez MA, Santiago-Osorio E, Vargas LA, Mendoza-Núñez VM. Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquímica* 2004; 29(3):81-90.
 61. González TM, Betancourt RM, Ortiz MR. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica* 2000; 25(1):3-9.
 62. Corrales LC, Muñoz AMM. Estrés oxidativo: Origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *NOVA-Publicación Científica en Ciencias Biomédicas.* 2012;10(18):213-225.
 63. Coz RJ, Villavicencio VJ. Indicadores de estrés oxidativo en eritrocitos de una población de Huaraz [tesis doctoral]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013.

-
64. Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Bioche Biophys Res Commun.* 2017; 482(3):419-425. Doi: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086.
65. Sánchez-Rodríguez MA, Mendoza-Núñez VM. Envejecimiento, enfermedades crónicas y antioxidantes. Ciudad de México: FES Zaragoza, UNAM; 2003. p. 23-45.
66. Dani G, Falco A, Patrono C. Lipid peroxidation in diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal.* 2005; 7(1-2): 256-268.
67. Seghrouchni I, Drai J, Bannier E, Riviere J, Calmard P, García I et al. Oxidative stress parameters in type 1, type 2 and insulin-treated type 2 diabetes mellitus; insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta.* 2002; 321(1-2): 89-96.
68. Cruz-Hernández J, Licea-Puig ME, Hernández-García P, Abraham-Marcel EA, Yanes-Quesada M. Estrés oxidativo y diabetes mellitus. *Rev Mex Patol Clin.* 2011; 58(1): 4-15.
69. Neha K, Haider R, Pathak A, Shahar YM. Medicinal prospects of antioxidants: A review. *Eur J Med Chem.* 2019;178:687-704. Doi: 10.1016/j.ejmech.2019.06.010
70. Packer L, Witt EH, Tritschler HJ. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Rad Biol Med.* 1995; 19(2): 227-250.
71. Ahmad HI, Rani R, Ganie SI, Ahmad ST, Javaid D, Sanober QS, et al. Oxidative stress in human pathology and aging: Molecular mechanisms and perspectives. *Cells.* 2022; 11(552). Doi: 10.3390/cells11030552.
72. Macdonald OI. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomed Pharmother.* 2018;108:656-662. Doi: 10.1016/j.biopha.2018.09.058
73. Du X, Matsumura T, Edelstein D, Rossetti L, Zsengellér Z, Szabó C, Brownlee M. Inhibition of GAPDH activity by poly(ADP-ribose) polymerase activates three major pathways of hyperglycemic damage in endothelial cells. *J Clin Invest.* 2003; 112(7):1049-1057. Doi: 10.1172/JCI18127.
74. Thomas MC. Pathogenic mechanisms of diabetes nephropathy. *Controb Nephrol.* 2011;170:66-74.

-
75. Yao D, Brownlee M. Hyperglycemia-Induced reactive oxygen species increase expression of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) and RAGE ligands. *Diabetes*. 2009;59:249-255. Doi: 10.2337/db09-0801.
 76. Thornalley PJ, Langborg A, Minhas HS. Formation of glyoxal, methylglyoxal and 8-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose. *Biochemical Journal*. 1999;344(1):109-116.
 77. Nishizuka Y. Protein kinase C and lipid signaling for sustained cellular responses. *FASEB Journal*. 1995;9(7):484-496.
 78. Buse MG. Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: Current status. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006;290(1):E1-E8. Doi: 10.1152/ajpendo.00329.2005.
 79. Fülöp N, Marchase RB, Chatham JC. Role of protein O-linked N-acetylglucosamine in mediating cell function and survival in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res*. 2007;73(2):288-297.
 80. Garg SS, Gupta J. Polyol pathway and redox balance in diabetes. *Pharmacol Res*. 2022;182. Doi: 10.1016/j.phrs.2022.106326.
 81. Lorenzi M. The polyol pathway as a mechanism for diabetic retinopathy: attractive, elusive and resilient. *Exp Diabetes Res*. 2007;2007:61038. Doi: 10.1155/2007/61038.
 82. Mizukami H, Osonoi S. Pathogenesis and molecular treatment strategies of diabetic neuropathy collateral glucose-utilizing pathways in diabetic polyneuropathy. *Int J Mol Sci*. 2020;22(1):94. Doi: 10.3390/ijms22010094.
 83. Alekseev AE, Reyes S, Yamada S, Hodgson-Zingman DM, Sattiraju S, Zhu Z, Sierra A, et al. Sarcolemmal ATP-Sensitive K⁺ channels control energy expenditure determining body weight. *Cell Metabolism*. 2010;11(1):58-69. Doi: 10.1016/j.cmet.2009.11.009.
 84. Arora S. Molecular mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2010;1(3):68-75. Doi: 10.4239/wjd.v1.i3.68.
 85. Evans JL, Maddux BA, Goldfine ID. The molecular basis for oxidative stress-induced insulin resistance. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7(7). Doi: 10.1089/ars.2005.7.1040.

-
86. Zhang P, Li T, Wu X, Nice EC, Huang C, Zhang Y. Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies. *Front Med.* 2020;2020. <https://doi.org/10.1007/s11684-019-0729-1>.
 87. Jiménez-Osorio AS, González-Reyes S, Pedraza-Chaverri J. Natural Nrf2 activators in diabetes. *Clin Chim Acta.* 2015;448:182-192.
 88. Rochette L, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1840(9):2709–2729. Doi: 10.1016/j.bbagen.2014.05.017
 89. Dehdashtian E, Hossein M P, Hemati K, Mehrzadi S, Hosseinzadeh A, therapeutic application of nutraceuticals in diabetic nephropathy: Current evidence and future implications. *Diabetes Metab Res Rev.* 2020;2020. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3336>.
 90. Yanowsky-Escatell FG, Andrade-Sierra J, Pazarín-Villaseñor L, Santana-Arciniega C, Torres-Vázquez EJ, Chávez-Iñiguez JS, et al. The role of dietary antioxidants on oxidative stress in diabetic nephropathy. *Iran J Kidney Dis.* 2020;14(2):81-94.
 91. Oliveira S, Monteiro Alfredo T, Silva S, Matafome P, Curcumin derivatives for type 2 diabetes management and prevention of complications. *Arch Pharm Res.* 2020;2020. <https://doi.org/10.1007/s12272-020-01240-3>.
 92. Hameed A, Galli M, Adamska-Patruno E, Kretowski E, Ciborowski M. Select polyphenol-rich berry consumption to defer or deter diabetes and diabetes-related complications. *Nutrients.* 2020;12:2538; doi:10.3390/nu12092538
 93. Anhe F F, Desjardins Y, Pilon G, Dudonne S, Genovese M I, Lajolo F M, Marette A. Polyphenols and type 2 diabetes: A prospective review *Pharma. Nutrition.* 2013;1:105–114.
 94. Khurana S, Venkataraman K, Hollingsworth A, Piche M, Tai TC. Polyphenols: benefits to the cardiovascular system in health and in aging. *Nutrients.* 2013;5:3779-3827. doi:10.3390/nu5103779.
 95. Basu A. Role of Berry bioactive compounds on lipids and lipoproteins in diabetes and metabolic syndrome. *Nutrients.* 2019;11(9):1983. Doi: 10.3390/nu11091983.

-
96. Rauf A, Imran M, Rasul H, Ahmad B, Peters D, Mubarak M. A comprehensive review of the health perspectives of resveratrol. *Food & Funct.* 2017;8(1):4284-4305.
 97. Meng X, Zhou J, Zhao CN, Gan RY, Li HB. Health benefits and molecular mechanisms of resveratrol: A narrative review. *Foods.* 2020;9:340. Doi: 10.3390/foods9030340.
 98. Koushki M, Amiri-Dashatan N, Ahmadi N, Abbaszadeh HA, Rezaei-Tavirani M. Resveratrol: A miraculous natural compound for diseases treatment. *Food Sci Nutr.* 2018;6:2473–2490.
 99. Galiniak S, Aebischer D, Bartusik-Aebischer D. Health benefits of resveratrol administration. *Acta Biochim Pol.* 2019;66(1):13–21. https://doi.org/10.18388/abp.2018_2749
 100. Harikumar K, Aggarwal B. Resveratrol: A multitarget agent for age-associated. *Cell Cycle.* 2008; 7(8):1020-1035.
 101. Tomé-Carneiro J, Larrosa M, González-Sarrías A, Tomás-Barberán F, García-Conesa M et al. Resveratrol and clinical trials: the crossroad from in vitro studies to human evidence. *Curr Pharm Des.* 2013;19(34):6064-6093.
 102. Muñoz MO, Bustamante S. Pharmacological properties of resveratrol. A pre-clinical and clinical review. *Biochem Pharmacol.* 2015; 4(184).
 103. Berman AY, Motechin RA, Wiesenfeld MY, Holz MK. The therapeutic potential of resveratrol: a review of clinical trials. *NPJ precision oncology.* 2017;1(1):35.
 104. Huang DD, Shi G, Jiang Y, Yao C, Zhu C. A review on the potential of Resveratrol in prevention and therapy of diabetes and diabetic complications. *Biomed Pharmacother.* 2020;125:109767.
 105. Gowd V, Kang Q, Wang Q, Wang Q, Chen F, Cheng KW. Resveratrol: Evidence for its nephroprotective effect in diabetic nephropathy. *Adv Nutr.* 2020; 00:1–14. <https://doi.org/10.1093/advances/nmaa075>.
 106. Quadros BAG, Bastos JPS, Rodrigues CFR, dos Santos SM, Rodrigues CA, Rodrigues PG, et al. Neuroprotective mechanisms of resveratrol in alzheimer's

-
- disease: Role of SIRT1. *Oxid Med Cell Longev.* 2018; 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/8152373>.
107. Ahmada I, Hoda M. Attenuation of diabetic retinopathy and neuropathy by resveratrol: Review on its molecular mechanisms of action. *Life Sci.* 2020; 245. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117350>.
108. Rojas A, Delgado López F, González I, Pérez-Castro R, Romero J, Rojas I. Receptor for advanced glycation end-products: A complex signaling scenario for a promiscuous receptor. *Cellula Signalling.* 2013; 25(1): 609-614.
109. Kulkarni SS, Cantó C. The molecular targets of resveratrol. *Biochim Biophys Acta.* 2015; 1852: 1114–1123. Doi: 10.1016/j.bbadis.2014.10.005.
110. Kulashekar M, Stom SM, Peuler JD. Resveratrol's potential in the adjunctive management of cardiovascular disease, obesity, diabetes, alzheimer disease, and cancer. *J Am Osteopath Assoc.* 2018; 118(9 :596-605. doi:10.7556/jaoa.2018.133.
111. Limmongkon A, Janhom P, Amthong A, Kawpanuk P, et al. Antioxidant activity total phenolic and resveratrol content in five cultivars of peanuts sprouts Asian Pac. *J Trop Biomed.* 2017; 7(1):332-338.
112. Britton R, Kovoov C, Brown K. Direct molecular targets of resveratrol: identifying key interactions to unlock complex mechanisms. *Ann N Y Acad Sci.* 2015;1348(1):124-133.
113. Repossi G, Das UN, Eynard AE. Molecular basis of the beneficial actions of resveratrol. *Archives of Medical Research.* 2020;2020. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.01.010>.
114. Saldanha J, Leal V, Rizzeto F, Grimer G, Ribeiro-Alves M. Effects of resveratrol supplementation in Nrf2 and NF-KB expressions in nondialyzed chronic kidney disease patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover clinical trial. *Journal of Renal Nutrition.* 2016; 26(6):401-406.
115. Coutinho DS, Pacheco MT, Frozza RL, Bernardi A. Anti-inflammatory effects of resveratrol: Mechanistic insights. *Int J Mol Sci.* 2018;19(1812). Doi:10.3390/ijms19061812.

-
116. Kuršvietienė L, Stanevičienė I, Mongirdienė A, Bernatoniene J. Multiplicity of effects and health benefits of resveratrol. *Medicine*. 2016; 52: 148–155. Doi: 10.1016/j.medic.2016.03.003.
 117. Saqib U, Kelley TT, Panguluri SK, Liu D, Savai R, Baig MS, et al. Polypharmacology or promiscuity? Structural interactions of resveratrol with its bandwagon of targets. *Front Pharmacol*. 2018; 9:1201. doi: 10.3389/fphar.2018.01201.
 118. Kitada M, Ogura Y, Monno I, Koya D. Sirtuins and type 2 diabetes: Role in inflammation, oxidative stress, and mitochondrial function. *Front Endocrinol*. 2019;10. doi:10.3389/fendo.2019.00187.
 119. Pyo IS, Yun S, Yoon YE, Choi JW, Lee SJ. Mechanisms of aging and the preventive effects of resveratrol on age-related diseases. *Molecules*. 2020;25(20):4649. Doi: 10.3390/molecules25204649
 120. Szkudelski T, Szkudelska K. Resveratrol and diabetes: from animal to human studies. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1852(6):1145-54. Doi: 10.1016/j.bbadis.2014.10.013.
 121. Yuan Y, Cruzat VF, Newshome P, Cheng J, Chen Y, Lu Y. Regulation of SIRT1 in aging: Roles in mitochondrial function and biogenesis. *Mech Ageing Dev*. 2016;155:10–21. Doi: 10.1016/j.mad.2016.02.003.
 122. Chen C, Zhou M, Ge Y, Wang X. SIRT1 and aging related signaling pathways. *Mech Ageing Dev*. 2020;187:111215. Doi: 10.1016/j.mad.2020.111215.
 123. Tang BL. Sirt1 and the Mitochondria. *Mol Cells*. 2016;39(2):87-95. doi: 10.14348/molcells.2016.2318.
 124. Oellerich MF, Potente M. FOXOs and sirtuins in vascular growth, maintenance, and aging. *Circ Res*. 2012;110(9):1238-51. Doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.246488.
 125. Imai SI, Guarente L. NAD⁺ and sirtuins in aging and disease. *Trends Cell Biol*. 2014;24(8):464-471. Doi: 10.1016/j.tcb.2014.04.002.
 126. Diaz-Gerevini GT, Repossi G, Dain A, Tarres MC, Das UN, Eynard AR. Beneficial action of resveratrol: How and why? *Nutrition*. 2016;32:174–178. Doi:10.1016/j.nut.2015.08.017.

-
127. De Ligt M, Timmers S, Schrauwen P. Resveratrol and obesity: Can resveratrol relieve metabolic disturbances? *Biochim Biophys Acta*. 2015;1852(6):1137-1144. Doi: 10.1016/j.bbadis.2014.11.012.
 128. Sousa JCE, Santana ACF, Magalhães GJP. Resveratrol in Alzheimer's disease: a review of pathophysiology and therapeutic potential. *Arq Neuropsiquiatr*. 2020;78(8):501-511. Doi: 10.1590/0004-282X20200010.
 129. La Porte C, Voduc N, Zhang G, Seguin I, Tardiff D, Singhal N. Steady-state pharmacokinetics and tolerability of trans-resveratrol 2000 mg twice daily with food, quercetin and alcohol (ethanol) in healthy human subjects. *Clinical Pharmacokinetics*. 2010;49(7):449–454.
 130. Abdollahi S, Salehi-Abargouei A, Toupchian O, Sheikhha MH, Fallahzadeh H, Rahmanian M, et al. The effect of resveratrol supplementation on cardio-metabolic risk factors in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind controlled trial. *Phytotherapy Research*. 2019. Doi: 10.1002/ptr.6487.
 131. Bashmakov YK, Assaad-Khalil SH, Abou M, Udumyan R, Megallaa M, Rohoma KH, et al. Resveratrol promotes foot ulcer size reduction in type 2 diabetes patients. *ISRN Endocrinol*. 2014;816307. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/816307>
 132. Bhatt JK, Thomas S, Nanjan MJ. Resveratrol supplementation improves glycemic control in type 2 diabetes mellitus. *Nutr Res*. 2012;32:537-541.
 133. Bhatt JK, Nanjan MJ. Resveratrol supplementation in patients with type 2 diabetes mellitus: a prospective, open label, randomized controlled trial. *Int Res J Pharm*. 2013;4(8):45-249.
 134. Bo S, Ponzo V, Ciccone G, Evangelista A, Saba F, Goitre I, et al. Six months of resveratrol supplementation has no measurable effect in type 2 diabetic patients. A randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Pharmacol Res*. 2016;111:896-905.
 135. Brasnyó P, Molnár G, Mohás M, Markó L, Laczy B, Cseh J, et al. Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. *Br J Nutr*. 2011;106:383-389.

-
136. Goh KP, Lee HY, Lau DP, Supaat W, Chan YH, Yung AF. Effects of resveratrol in patients with type 2 diabetes mellitus on skeletal muscle SIRT1 expression and energy expenditure. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2014; 24:2-13.
 137. Hoseini A, Namazi G, Farrokhian A, Reiner Z, Aghadavod E, Bahmania F, et al. The effects of resveratrol on metabolic status in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease. *Food Funct.* 2019;10:6042-6051.
 138. Imamura H, Yamaguchi T, Nagayama D, Saiki A, Shirai K, Tatsuno I. Resveratrol ameliorates arterial stiffness assessed by cardio-ankle vascular index in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int Heart J.* 2017;58(4):578-583. Doi: 10.1536/ihj.16-373
 139. Khodabandehloo H, Seyyedebrahimi S, Esfahani EN, Razi F, Meshkani R. Resveratrol supplementation decreases blood glucose without changing the circulating CD14+ CD16+ monocytes and inflammatory cytokines in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutr Res.* 2018;54:40-51.
 140. Movahed A, Nabipour I, Lieben XL, Thandapilly SJ, Yu L, Kalantarhormozi M et al. Antihyperglycemic effects of short-term resveratrol supplementation in type 2 diabetic patients. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;851267. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/851267>
 141. Sattarinezhad A, Roozbeh J, Yeganeh S, Omrani G, Shams M. Resveratrol reduces albuminuria in diabetic nephropathy: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Diabetes Metab.* 2019;45:53-59.
 142. Seyyedebrahimi S, Khodabandehloo H, Esfahani EN, Meshkani R. The effects of resveratrol on markers of oxidative stress in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Acta Diabetol.* 2018;55:341-353.
 143. Thazhath SS, Wu T, Bound MJ, Checklin HL, Standfield S, Jones KL et al. Administration of resveratrol for 5 wk has no effect on glucagon-like peptide 1 secretion, gastric emptying, or glycemic control in type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2016;103:66-70.

-
144. Timmers S, De Ligt M, Phielix E, Van de Weijer T, Hansen J, Moonen-Kornips E, et al. Resveratrol as add-on therapy in subjects with well-controlled type 2 diabetes: A randomized controlled trial. *Diabetes care*. 2016;19:2211-2217.
 145. Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-030-SSA-2-2009, Para la Prevención, Tratamiento y Control de la Hipertensión Arterial; Secretaría de Salud: Mexico City, Mexico, 2009.
 146. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase an enzyme function for erythrocyte. *J Biol Chem*. 1969;244(22):6049-6055.
 147. Plagia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative characterization of erythrocyte of glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70(1): 158-169.
 148. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*. 1984, 105, 121-126. Doi: 10.1019//s0076-6879(84)05016-3.
 149. Jentsch AM, Bachmann H, Fürst P, Biesalski, H.K. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic Biol Med*. 1996, 20, 251-256. Doi: 10.1016/0891-5849(95)02043-8.
 150. Öztürka E, Karaboğa AKA, Yerer MB, Bishayee A. Resveratrol and diabetes: A critical review of clinical studies. *Biomed Pharmacother*. 2017; 95: 230–234. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.070>.
 151. Samuel VP, Gupta G, Dahiya R, Jain DA, Mishra A, Dua K. Current update on preclinical and clinical studies of resveratrol, a naturally occurring phenolic compound. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2019;29(6):529–537.
 152. Marques BCAA, Trindade M, Aquino JCF, et al. Beneficial effects of acute trans-resveratrol supplementation in treated hypertensive patients with endothelial dysfunction. *Clin Exp Hypertens*. 2018;40(3):218-223
 153. Margherita Springer M, Sofia Moco S. Resveratrol and its human metabolites—effects on metabolic health and obesity. *Nutrients*. 2019; 11(143). doi:10.3390/nu11010143.
 154. Oyenihini OR, Oyenihini AB, Adeyanju AA, Oguntibeju OO. Antidiabetic effects of resveratrol: the way forward in its clinical utility. *J Diabetes Res*. 2016;2016. Doi: 10.1155/2016/9737483.

-
155. Gowd V, Kang Q, Wang Q, Wang Q, Chen F, Cheng KW. Resveratrol: Evidence for its nephroprotective effect in diabetic nephropathy . *Adv Nutr.* 2020; 00:1–14. Doi: 10.1093/advances/nmaa075.
156. Brouwer S, Hoffmeister T, Gresch A, Schönhoff L, Düfer M. Resveratrol influences pancreatic islets by opposing effects on electrical activity and insulin release. *Mol Nutr Food Res.* 2017;2017. doi:10.1002/mnfr.201700902.
157. Mahjabeen W, Khan DA, Mirza SA. Role of resveratrol supplementation in regulation of glucose hemostasis, inflammation and oxidative stress in patients with diabetes mellitus type 2: A randomized, placebo-controlled trial. *Complement Ther Med.* 2022;6:102819. Doi: 10.1016/j.ctim.2022.102819.
158. Javid AZ, Hormoznejad R, Yousefimanesh H, Zakerkish M, Haghighi-zadeh MH, Dehghan P, Ravanbakhsh M. The impact of resveratrol supplementation on blood glucose, insulin, insulin resistance, triglyceride, and periodontal markers in type 2 diabetic patients with chronic periodontitis. *Phytother Res.* 2016. Doi: 10.1002/ptr.5737.
159. García-Martínez BI, Ruiz-Ramos M, Pedraza-Chaverri J, Santiago-Osorio E, Mendoza-Núñez VM. Hypoglycemic effect of resveratrol: A systematic review and meta-analysis. *Antioxidants.* 2021;10:69. Doi.org/10.3390/antiox10010069
160. Hausenblas HA, Schoulda JA, Smoliga JM. Resveratrol treatment as an adjunct to pharmacological management in type 2 diabetes mellitus—systematic review and meta-analysis. *Mol Nutr Food Res.* 2015; 59(1):147-159.
161. Liu K, Zhou R, Wang B, Mi MT. Effect of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity: a meta-analysis of 11 randomized controlled trials. *The American journal of clinical nutrition.* 2014;99(6):1510-1519.
162. De Ligt M, Bruls Y, Hansen J, Habets MF, Havekes B, Nascimento EBM, Moonen-Kornips E, Schaart G, Schrauwen-Hinderling VB, Lichtenbelt WVM, Schrauwen P. Resveratrol improves ex vivo mitochondrial function but does not insulin sensitivity or brown adipose tissue in first degree relatives of patients with type 2 diabetes. *Mol Metab.* 2018;12:39-47. Doi 10.1016/j.molmet.2018.04.004.

-
163. Jeyaraman MM, Al-Yousif NS, Mann AS, Dolinsky VW, Rabbani R, Zarychanski R, Abou-Setta AM. Resveratrol for adults with type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database of Syst Rev.* 2020;(1). Doi: 10.1002/14651858.CD011919
 164. García-Martínez BI, Ruiz-Ramos M, Pedraza-Chaverri J, Santiago-Osorio E, Mendoza-Núñez VM. Influence of age and dose on the effect of resveratrol for glycemic control in type 2 diabetes mellitus: Systematic review and meta-analysis. *Molecules.* 2022;27:5232. Doi: 10.3390/molecules27165232.
 165. Zhang C, Luo J, Yu B, Chen J, Chen D. Effect of resveratrol on lipid metabolism in muscle and adipose tissues: A reevaluation in a pig model. *J Funct Foods.* 2015;14:590-595. Doi: 10.1016/j.jff.2015.02.039.
 166. Cao X, Liao W, Xia H, Wang S, Sun G. The effect of resveratrol on blood lipid profile: A dose-response Meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients,* 2022;14:3755. Doi: 10.3390/nu14183755.
 167. Lee CC, Adler AI, Sandhu MS, Sharp SJ, Forouhi NG, Erqou S, Luben R, Bingham S, Khaw KT, Wareham NJ. Association of C-reactive protein with type 2 diabetes: Prospective analysis and meta-analysis. *Diabetologia.* 2009;52:1040-1047. Doi: 10.1007/s00125-009-1338-3.
 168. Oguntibeju OO. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2019;11(3):45–63.
 169. Meng T, Xiao D, Muhammed A, Deng J, Chen L, He J. Anti-inflammatory action mechanisms of resveratrol. *Molecules.* 2021;26:229. Doi: 10.3390/molecules26010229.
 170. Zhang LX, Li CX, Kakar MU, Khan MS, Wu PF, Amir RM, Dai DF, Naveed M, Li QY, Saeed M, Shen JK, Rajput SA, Li JH. Resveratrol (RV): A pharmacology review and call for further research. *Biomed Pharmacother.* 2021;143:112164. Doi: 10.1016/j.biopha.2021.112164.
 171. Khattar S, Khan SA, Zaidi SAA, Darvishikolour M, Farooq U, Naseef PP, Kurunian MS, Khan MZ, Shamin A, Khan MMU, Iqbal Z, Mirza MA. Resveratrol from dietary supplement to a drug candidate: an assessment of potential. *Pharmaceuticals.* 2022;15:957. Doi: 10.3390/ph15080957.

-
172. Salehi B, Mishra AP, Nigam M, Sener B, Kilic M, Sharifi-Rad M, Fokou PVT, Martins N, Sharifi-Rad J. Resveratrol: A double-edged sword in health benefits. *Biomedicines*. 2018;6:91. Doi: 10.3390/biomedicines6030091.
 173. Collodel G, Moretti E, Noto D, Corsaro R, Signorini C. Oxidation of polyunsaturated fatty acids a promising area of research in infertility. *Antioxidants*. 2022;11:1002. Doi: 10.3390/antiox11051002.
 174. Sadi G, Konat D. Resveratrol regulates oxidative biomarkers and antioxidant enzymes in the brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol*. 2016;5(7):1156-1163. Doi: 10.3109/13880209.2015.1056311.
 175. Gu T, Wang N, Wu T, Ge Q, Chen L. Antioxidative stress mechanisms behind Resveratrol: A multidimensional analysis. *J Food Qual*. 2021;55:1733. Doi: 10.1155/2021/5171733.
 176. Menshchikova EB, Zenkov NK, Tkachev VO, Lemza AE, Kandalintseva NN. Protective effect of ARE-Inducing phenol antioxidant TS-13 in chronic inflammation. *Bull Exp Biol Med*. 2013;155(3):330–334. Doi: 10.1007/s10517-013-2146-9.
 177. Kou X, Kirberger M, Yang Y, Chen N. Natural products for cancer prevention associated with Nrf2-ARE pathway. *Food Sci Hum Wellness*. 2013;2(1):22–28. Doi: 10.1016/j.fshw.2013.01.001.
 178. DiNicolantonio JJ, McCarty MF, O’Keefe JH. Nutraceutical activation of Sirt1: A review. *Open heart*. 2022;9:e002171. Doi: 10.1136/openhrt-2022-002171.
 179. Grzeczka A, Kordowitzki P. Resveratrol and SIRT1: Antiaging cornerstones for oocytes? *Nutrients*. 2022;14:510. Doi: 10.3390/nu1423101.
 180. Song J, Yang B, Jia X, Li M, Tan W, Ma S, Shi X, Feng L. Distinctive roles of sirtuins on diabetes, protective or detrimental? *Front endocrinol*. 2018;9:724. Doi: 10.3389/fendo.2018.00724
 181. Houtkooper RH, Pirinen E, Auwerx J. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2016;13(4):225-238.
 182. Xu J, Kitada M, Koya D. The impact of mitochondrial quality control by sirtuins on the treatment of type 2 diabetes and diabetic kidney disease. *Biochim*

Biophys Acta Mol Basis Dis. 2020;1866:165756. Doi: 10.1016/j.bbadis.2020165756.

183. DiNicolantonio JJ, McCarty MF, Assanga SI, Lujan LL, O'Keefe JH. Ferulic acid and berberine, via SIRT1 and AMPK, may act as cell clearing promoters of healthy longevity. *Open Heart*. 2022;9:e001801. Doi: 10.1136/openhrt-2021-001801.
184. Olmos Y, Sánchez-Gómez FJ, Wild B, García-Quintana N, Cabezudo S, Lamas S, Monsalve M. Sirt1 regulation of antioxidant genes is dependent on the formation of a FOXO3a/PGC-1 α complex. *Antioxid Redox Signal*. 2013;19(13):1507-1521. Doi: 10.1089/ars.2012.4713.

ANEXO 1



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Efecto de la administración oral de resveratrol sobre los marcadores de estrés oxidante, inflamación y funciones cognitivas en una población de adultos mayores con diabetes mellitus tipo 2.

Antecedente y Objetivo

Se ha demostrado que el consumo constante de resveratrol tiene un efecto positivo sobre el grado de control de los pacientes diabéticos, ya que debido a sus propiedades antioxidante y antiinflamatoria mejoran los niveles de glucosa, disminuye el riesgo de complicaciones y se benefician las funciones cognitivas. Sin embargo, en población adulta mayor mexicana, este efecto no ha sido investigado de manera formal. Por tal motivo, en el presente estudio se evaluarán los efectos de la administración oral de resveratrol por un periodo de doce meses en pacientes diabéticos.

Procedimiento

Se invitará a personas adultas mayores con diabetes mellitus tipo 2 para que participen de manera voluntaria en el proyecto. A todas las personas incluidas en el estudio se les realizará un examen médico, incluyendo una historia clínica, una evaluación gerontológica integral, toma de tres tubos de sangre para mediciones bioquímicas, medición de composición corporal, así como de tensión arterial, antes de iniciar la administración del resveratrol y después de tres, seis y doce meses de intervención.

Condiciones para ingresar al estudio

- Pacientes con diagnóstico clínico de diabetes mellitus tipo 2
- Que se encuentren bajo tratamiento hipoglucemiante oral.
- Mayores de 60 años de edad, sin distinción de sexo.
- Firmar o poner su huella digital en esta carta de compromiso.

Riesgos

No existe ningún riesgo para la salud, se ha demostrado que el resveratrol es una sustancia segura y aprobada para su uso en humanos. Las tomas de muestras sanguíneas serán llevadas a cabo por personal experimentado con material nuevo y desechable.

Beneficios

Las pruebas realizadas y el resveratrol **no tendrán ningún costo** y los resultados de glucosa, perfil lipídico, perfil renal, biometría hemática y hemoglobina glucosilada se entregarán a los participantes para el control y vigilancia de su estado de salud.

Confidencialidad

Toda la información obtenida es **ESTRICTAMENTE CONFIDENCIAL**, por lo que sólo se le proporcionará al participante y a su médico tratante, si así lo desea el interesado.

Preguntas

Toda duda que surja durante el tiempo que dure la investigación la podrá consultar con su médico tratante y con los participantes de la Unidad de Investigación en Gerontología.

Derecho a rehusar

La aceptación a participar en este estudio es enteramente **VOLUNTARIA**. Asimismo, puede decidir abandonar el estudio en el momento que usted lo considere conveniente.

CONSENTIMIENTO

DECLARO QUE HE LEÍDO O ME HAN LEÍDO EN PRESENCIA DE UN FAMILIAR RESPONSABLE EL CONTENIDO DEL PRESENTE DOCUMENTO, COMPRENDO LOS COMPROMISOS QUE ASUMO Y LOS ACEPTO EXPRESAMENTE. POR ELLO, MANIFESTO MI DESEO DE PARTICIPAR EN ESTA INVESTIGACIÓN CON TÍTULO: **EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE RESVERATROL SOBRE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDANTE, INFLAMACIÓN Y FUNCIONES COGNITIVAS EN UNA POBLACIÓN DE ADULTOS MAYORES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2** Y FIRMO VOLUNTARIAMENTE ESTE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Al firmar este consentimiento no renuncio a ninguno de mis derechos y he recibido una copia de este impreso.

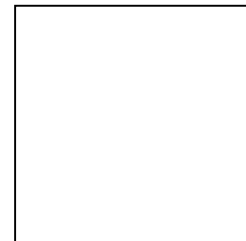
Nombre y firma del participante _____

Nombre y firma de un familiar (testigo): _____

Nombre y firma del investigador: _____

Ciudad de México, a ____ de _____ del _____.

En caso de no saber leer y escribir poner huella digital



ANEXO 2



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACION
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN**



OFICIO No.: FESZID/EP/ICM037/20
ASUNTO: APROBACIÓN DE PROYECTO

**DRA. MIRNA RUIZ RAMOS
RESPONSABLE DE PROYECTO
P R E S E N T E**

Hago de su conocimiento que por acuerdo de la Comisión de Bioética del Comité de Investigación de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, su proyecto "Efecto de la administración oral de resveratrol sobre los marcadores de estrés oxidante, inflamación y funciones cognitivas en una población de adultos mayores con diabetes mellitus tipo 2", fue **APROBADO**, ya que cumple con los principios bioéticos para llevar a cabo la investigación y con los lineamientos establecidos por el Comité de Investigación, en su Sesión Ordinaria del 27 de febrero de 2020.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad de México, a 10 de marzo de 2020.

MTR. JOSÉ LUIS TREJO MIRANDA
DRO/ALTM/1111

Campus I: Av. Guadalupe No. 66, Col. Ejército de Oriente, Iztapalapa C.P. 09230, Ciudad de México.
Campus II: Batalla 5 de mayo s/n esquina Fuerte de Loreto, Col. Ejército de Oriente, Iztapalapa C.P. 09230, Ciudad de México.
Campus III: Ex Fábrica de San Manuel s/n, Col. San Manuel entre Correidora y Camino a Zaira, San Miguel Coatlá, Santa Cruz Tlaxcala.





Article

Effect of Resveratrol on Markers of Oxidative Stress and Sirtuin 1 in Elderly Adults with Type 2 Diabetes

Beatriz Isabel García-Martínez ^{1,2} , Mirna Ruiz-Ramos ² , José Pedraza-Chaverri ³ ,
Edelmiro Santiago-Osorio ⁴ and Víctor Manuel Mendoza-Núñez ^{2,*}

¹ Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Unidad de Posgrado, Mexico City 04510, Mexico; isabelgm06@gmail.com

² Research Unit on Gerontology, FES Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Mexico City 09230, Mexico

³ Department of Biology, Faculty of Chemistry, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Mexico City 04510, Mexico; pedraza@unam.mx

⁴ Hematopoiesis and Leukemia Laboratory, Research Unit on Cell Differentiation and Cancer, FES Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Mexico City 09230, Mexico

* Correspondence: mendovic@unam.mx

Abstract: Type 2 diabetes (T2D) affects a large part of the adult population and impairs its quality of life. Because of this, natural compounds with antioxidant, anti-inflammatory and hypoglycemic properties have been used as adjuvants. Among these compounds, resveratrol (RV) stands out, a polyphenol that has been studied in several clinical trials, the results of which are controversial. We conducted a randomized clinical trial on 97 older adults with T2D to evaluate the effect of RV on oxidative stress markers and sirtuin 1, using doses of 1000 mg/day (EG1000, $n = 37$) and 500 mg/day (EG500, $n = 32$) compared with a placebo (PG, $n = 28$). Biochemical markers, oxidative stress and sirtuin 1 levels were measured at baseline and after six months. We observed a statistically significant increase ($p < 0.05$) in total antioxidant capacity, antioxidant gap, the percentage of subjects without oxidant stress and sirtuin 1 levels in EG1000. In the PG, we observed a significant increase ($p < 0.05$) in lipoperoxides, isoprostanes and C-reactive protein levels. An increase in the oxidative stress score and in the percentage of subjects with mild and moderate oxidative stress was observed too. Our findings suggest that 1000 mg/day of RV exerts a more efficient antioxidant effect than 500 mg/day.

Keywords: oxidative stress; sirtuin 1; resveratrol; type 2 diabetes



Citation: García-Martínez, B.I.; Ruiz-Ramos, M.; Pedraza-Chaverri, J.; Santiago-Osorio, E.; Mendoza-Núñez, V.M. Effect of Resveratrol on Markers of Oxidative Stress and Sirtuin 1 in Elderly Adults with Type 2 Diabetes. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 7422. <https://doi.org/10.3390/ijms24087422>

Academic Editor: Antonio Lucacchini

Received: 7 March 2023

Revised: 3 April 2023

Accepted: 16 April 2023

Published: 18 April 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Type 2 diabetes (T2D) is a metabolic and chronic disease that arises due to inefficiency in the body in the use and/or production of insulin, whose hormone is involved in glucose metabolism, which triggers hyperglycemia [1]. T2D is a public health problem in the world. In this sense, a prevalence of 10.5% (536.6 million people) has been estimated, projecting an increase to 12.2% (783.2 million) by 2045 in the population aged 20 to 79, being significantly higher in older adults [2]. This is worrisome since, in the long term, hyperglycemia gives rise to the appearance of micro- and macrovascular complications that affect the functionality of organs such as the eyes, kidneys and heart, which has a negative impact on the quality of life of those with T2D in addition to representing a huge burden on the health system [3]. It has been shown that the hyperglycemia that characterizes T2D is partially responsible for the excessive production of free radicals (FR) and/or reactive oxygen species (ROS), which cause oxidative damage to biomolecules since excess glucose in the blood auto-oxidizes and generates ROS; therefore, if they are not counteracted by the antioxidant systems, they alter the physiology of the cells, whose biochemical disorder is defined as oxidative stress (OS) [4]. Excess ROS interferes with nerve conduction and alters the functionality of renal cells, favoring the appearance of neuropathy and nephropathy,

which are highly recurrent complications in T2D [5]. In addition, the elevated production and accumulation of ROS also occur during the aging process, which is why OS levels are significantly higher in older adults with T2D [6,7].

In this context, alternative therapeutic options have been proposed to attenuate oxidative damage and thereby delay the onset of T2D complications. In this sense, one of the most widely used is resveratrol (RV), a compound from the stilbenes family that, due to its polyphenolic nature, is capable of donating electrons to FR and ROS, which is why it is considered a powerful antioxidant [8–10]. In this regard, several investigations have shown that RV could be useful in the treatment of chronic non-communicable diseases, whose pathophysiology involves OS and inflammation, as occurs with neurodegenerative, cardiovascular and metabolic diseases since it also has anti-inflammatory properties [11–15]. The therapeutic mechanisms of RV are largely attributed to its ability to activate sirtuin 1 (SIRT1), a deacetylase enzyme that, once activated, stimulates AMP-dependent protein kinase (AMPK) and is the interaction between both proteins, which manages to improve biogenesis and mitochondrial function, increase insulin sensitivity, attenuate oxidative damage and regulate metabolic homeostasis [16–18]. In some studies, carried out in animal models with T2D, it has been shown that RV exerts antioxidant, anti-inflammatory and even hypoglycemic effects; however, clinical trials have shown controversial results [19–21]. Such discrepancies have been attributed to differences in the age and health conditions of the participants, the duration of the interventions and the doses used, which range from 10 mg/day to 3000 mg/day [22]. In this sense, in a systematic review and meta-analysis carried out by our research group, we found that doses greater than 100 mg/day have a hypoglycemic effect, although this effect is greater with doses of 500–1000 mg/day [23]. This suggests that the therapeutic properties of RV occur in a dose-dependent manner, so the aim of this study was to evaluate the effect of the oral administration of RV at a dose of 500 mg/day compared with 1000 mg/day on markers of SIRT1 and SIRT1 in older adults with T2D.

2. Results

Figure 1 presents the general scheme of the study.

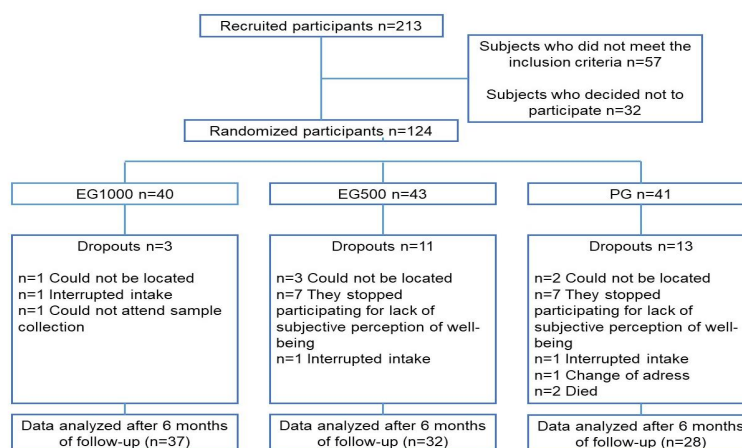


Figure 1. General study flowchart. Abbreviations: EG1000, group supplemented with 1000 mg/day of RV; EG500, group supplemented with 500 mg/day of RV; PG, placebo group.

2.1. Clinical Parameters (BMI and Blood Pressure)

Table 1 presents the data on the clinical and anthropometric characteristics of the three study groups. No differences were observed between the groups at the end of the 6-month follow-up.

Table 1. Clinical parameters (BMI and blood pressure) at baseline and after six months in the study groups.

Parameter	EG1000 (n = 37)		EG500 (n = 32)		Placebo (n = 28)	
	Baseline	Six months	Baseline	Six months	Baseline	Six months
Age (years)	66 ± 6		63 ± 7		64 ± 5	
BMI (kg/m ²)	27.6 ± 4.4	27.7 ± 4.2	27.8 ± 3.6	27.9 ± 4.0	28.3 ± 3.4	27.9 ± 3.0
SBP (mmHg)	127 ± 16	124 ± 12	128 ± 17	127 ± 14	127 ± 10	123 ± 10
DBP (mmHg)	84 ± 6	82 ± 9	84 ± 13	86 ± 8	82 ± 7	82 ± 9

BMI: body mass index, SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure. Data are presented as mean ± SD. ANOVA of repeated measures.

2.2. Biochemical Parameters

Regarding biochemical parameters, a statistically significant decrease ($p < 0.05$) was observed in triglyceride levels in the EG1000 after the intervention (baseline, 170 ± 69 vs. six months, 147 ± 46 mg/dL). Likewise, a significant increase ($p < 0.05$) was found in the CRP values in the PG after 6 months of follow-up (baseline, 0.37 ± 0.4 vs. six months, 0.48 ± 0.5 mg/dL); as can be seen in Table 2, no change was observed in the rest of the biochemical parameters evaluated.

Table 2. Biochemical parameters of the study groups at baseline and after six months.

Parameters	EG1000 (n = 37)		EG500 (n = 32)		Placebo (n = 28)	
	Baseline	Six months	Baseline	Six months	Baseline	Six months
Hemoglobin (g/dL)	14 ± 1	14 ± 2	14 ± 1	15 ± 2	14 ± 2	14 ± 2
Hematocrit (%)	45 ± 4	45 ± 4	45 ± 6	46 ± 5	45 ± 6	46 ± 5
Glucose (mg/dL)	169 ± 73	186 ± 83	185 ± 65	203 ± 77	189 ± 74	184 ± 67
Urea (mg/dL)	33 ± 8	36 ± 14	33 ± 14	33 ± 15	36 ± 11	38 ± 17
Creatinine (mg/dL)	0.92 ± 0.2	0.92 ± 0.2	0.96 ± 0.2	1.0 ± 0.33	0.95 ± 0.2	1.01 ± 0.3
Uric acid (mg/dL)	4.5 ± 1.6	4.0 ± 1.3	4.4 ± 1.8	3.8 ± 0.9	5.1 ± 1.9	4.6 ± 1.4
Total cholesterol (mg/dL)	200 ± 44	202 ± 69	196 ± 41	211 ± 70	198 ± 42	210 ± 47
Triglycerides (md/dL)	170 ± 69	147 ± 46 *	219 ± 115	221 ± 122	197 ± 85	205 ± 62
HDL-cholesterol (mg/dL)	61 ± 26	56 ± 16	54 ± 16	53 ± 15	54 ± 17	52 ± 11
Albumin (g/dL)	4.3 ± 0.3	4.8 ± 0.6	4.4 ± 0.4	4.9 ± 0.5	4.3 ± 0.3	4.8 ± 0.5
CRP (mg/dL)	0.23 ± 0.3	0.22 ± 0.4	0.22 ± 0.2	0.33 ± 0.3	0.37 ± 0.4	0.48 ± 0.5 *
HbA1c (%)	7.9 ± 2.0	7.8 ± 1.8	8.0 ± 2.0	8.1 ± 1.5	7.7 ± 2.2	8.0 ± 1.7

HbA1c: glycosylated hemoglobin; CRP: C reactive protein. Data are presented as mean ± SD. ANOVA of repeated measures. Tukey test as post hoc, * $p < 0.05$.

2.3. OS Markers

A statistically significant increase ($p < 0.05$) was found in the concentration of lipoperoxides and 8-isoprostanes in the PG after the intervention (LPO: baseline, 0.219 ± 0.07 vs. six months, 0.282 ± 0.07 $\mu\text{mol/L}$; 8-Iso: baseline, 61 ± 24 vs. six months, 76 ± 35 pg/mL). We also observed a significant increase ($p < 0.05$) in TAC and GAP in EG1000 after RV treatment (TAC: baseline, 1003 ± 247 vs. six months, 1225 ± 249 $\mu\text{mol/L}$; GAP: baseline 283 ± 242 vs. six months, 434 ± 234). Likewise, SOD activity decreased in the PG (baseline, 171 ± 15 vs. six months, 167 ± 10 IU/L; $p < 0.05$). A statistically significant increase in the oxidative stress score (OSS) was also found (baseline, 1.9 ± 1 vs. six months, 2.8 ± 1 ; $p < 0.05$). The rest of the evaluated markers did not show significant changes after six months (Table 3).

Regarding the OS index (OSI), an increase was found in the percentage of individuals without OS in EG1000 (baseline, 13 vs. six months, 35%; $p < 0.05$). Likewise, the percentages of moderate OS (MOS) and severe OS (SOS) decreased (MOS: baseline, 27 vs. six months, 13%; SOS: baseline, 22 vs. six months, 83%; $p < 0.05$) after the intervention. In the EG500, a significant increase ($p < 0.05$) was found in the percentage of individuals without OS (baseline, 10 vs. six months, 28%). In the PG, we observed a significant decrease in the percentage of subjects without OS (baseline, 21 vs. six months, 7%; $p < 0.05$) and in subjects with mild OS (baseline, 43 vs. six months, 29%; $p < 0.05$), while the percentage of

individuals with moderate OS increased after the intervention (baseline, 29 vs. six months, 54%; $p < 0.05$), as seen in Table 4.

Table 3. OS markers in the study groups: baseline and after six months.

Parameters	EG1000 (n = 37)		EG500 (n = 32)		Placebo (n = 28)	
	Baseline	Six months	Baseline	Six months	Baseline	Six months
LPO ($\mu\text{mol/L}$)	0.230 \pm 0.08	0.212 \pm 0.04	0.236 \pm 0.09	0.229 \pm 0.06	0.219 \pm 0.07	0.282 \pm 0.07 *
8-Iso (pg/mL)	60 \pm 25	45 \pm 27	56 \pm 29	53 \pm 38	61 \pm 24	76 \pm 35 †
GPx (UI/L)	7181 \pm 3794	8362 \pm 2910	8219 \pm 3616	8926 \pm 3010	7635 \pm 2988	7329 \pm 3049
Cat ($\times 10^4$ UI/gHb)	3.0 \pm 1	2.9 \pm 1	2.9 \pm 1	2.7 \pm 1	2.9 \pm 1	2.3 \pm 1
TAC ($\mu\text{mol/L}$)	1003 \pm 247	1225 \pm 249 *	1016 \pm 216	1014 \pm 269	1004 \pm 202	993 \pm 217
SOD (UI/L)	167 \pm 15	173 \pm 12	172 \pm 16	178 \pm 10	171 \pm 15	167 \pm 10 †
SOD/GPx ratio	0.030 \pm 0.01	0.023 \pm 0.01	0.027 \pm 0.01	0.026 \pm 0.01	0.026 \pm 0.01	0.023 \pm 0.01
GAP	283 \pm 242	434 \pm 234 ‡	288 \pm 221	202 \pm 284	276 \pm 175	205 \pm 229
OSS	2.5 \pm 1	1.3 \pm 1	2.0 \pm 1	1.7 \pm 1	1.9 \pm 1	2.8 \pm 1 *

LPO: lipoperoxides; 8-Iso: isoprostanes; GPx: glutathione peroxidase; Cat: catalase; TAC: total antioxidant capacity; SOD: superoxide dismutase; OSS: oxidative stress score. Data are presented as mean \pm SD. ANOVA of repeated measures. Tukey test as post hoc, * $p < 0.05$ placebo vs. EG1000; † $p < 0.05$ placebo vs. (EG1000 and EG500); ‡ $p < 0.05$ EG1000 vs. (EG500 and placebo).

Table 4. Oxidative stress index in the study groups: baseline and after six months.

	EG1000 (n = 37)		EG500 (n = 32)		Placebo (n = 28)	
	Baseline	Six months	Baseline	Six months	Baseline	Six months
Without OS	5 (13%)	13 (35%) *	3 (10%)	9 (28%) *	6 (21%)	2 (7%) *
Mild OS	14 (38%)	18 (49%)	19 (59%)	15 (47%)	12 (43%)	8 (29%) *
Moderate OS	10 (27%)	5 (13%) *	9 (28%)	8 (25%)	8 (29%)	15 (54%) *
Severe OS	8 (22%)	1 (3%) *	1 (3%)	0 (0%)	2 (7%)	3 (10%)

OS: oxidative stress. McNemar test, * $p < 0.05$ baseline vs. after six months.

2.4. SIRT1 Concentration

Regarding the concentration of SIRT1, we observed a statistically significant increase in EG1000 (baseline, 1.5 \pm 1 vs. six months, 3.1 \pm 2 ng/mL; $p < 0.05$) after six months of follow-up, as shown in Figure 2.

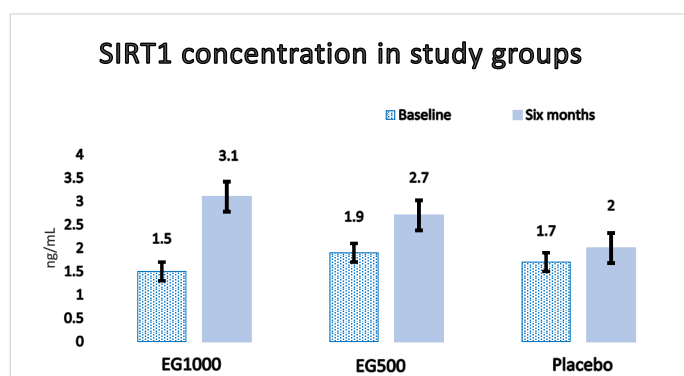


Figure 2. SIRT1 concentration in study groups: baseline and after six months. Data are presented as mean \pm SE. A statistically significant increase (1.5 \pm 0.15 vs. 3.1 \pm 0.20 ng/mL; $p < 0.05$) in EG1000 is observed after follow-up.

2.5. Adverse Events

None of the participants reported adverse events attributable to RV administration.

3. Discussion

In recent decades, RV has been one of the most studied nutraceuticals in numerous research groups. In this sense, in some experiments carried out *in vitro* and in animal models, its antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycemic, neuroprotective, anti-aging and even antineoplastic effects have been demonstrated, for which reason it is recognized as a product of natural origin with great potential as a therapeutic agent for cardiovascular, neurodegenerative and metabolic diseases [24,25], among which T2D stands out, whose prevalence, incidence and lethality have family, social and economic implications. T2D represents a great burden on health systems because of its high frequency of complications, which increases the need for hospital care and severely affects the resources of diabetic people and their families, in addition to deteriorating their quality of life [26]. Despite the efforts of the medical community with conventional treatments, it has not been possible to reduce the prevalence and incidence of T2D or the development of micro- and macrovascular complications in diabetic subjects, which is why complementary antioxidant and anti-inflammatory treatments have been proposed [27]. In this regard, although these effects of RV have been demonstrated in animal models with induced diabetes, the evidence in clinical trials shows inconsistent results, so research on the potential beneficial effects of RV on humans is a relevant and current topic [19–21].

On the other hand, it has also been proposed that RV could exert a hypotensive effect due to its ability to induce the production of nitric oxide (NO), a potent vasodilator that is produced in the vascular endothelium [28,29]. However, this effect has only been observed in hypertensive people. In accordance with the above, in our clinical trial, we did not observe such an effect, which suggests that RV could have a specific modulatory effect that responds to high blood pressure figures. It has also been reported that RV stimulates the coactivator of the receptor γ -1 α , which is activated by peroxisomal proliferators (PGC-1 α), a transcription factor that regulates genes that modulate the storage of body fat; thus, through this pathway, it could induce weight loss and decrease BMI [30]. This effect has been observed in studies carried out on subjects with obesity (BMI > 30 kg/m²) [30,31]; however, in our study, a decrease in BMI was not observed because our population did not present with obesity. Therefore, this result also suggests a specific modulating effect of RV on lipolysis, similar to that observed on blood pressure.

Regarding the effect of RV on the control of T2D, RV has been shown to reduce blood glucose levels due to the increase in the expression of the glucose transporter (GLUT4) in skeletal muscle cells, improving its uptake, use and storage [15]. It has also been proposed that RV protects the islet cells of Langerhans from oxidative damage, increases their viability, restores β cell secretory functions and normalizes insulin secretion, which gradually restores the signaling pathway of insulin and contributes to glycemic control [12,32]. In this sense, in some clinical trials, it has been reported that, with doses between 200 and 1000 mg/day of RV, the levels of glucose, insulin, HbA1c and insulin resistance are reduced [33–36] in subjects with T2D younger than 50 years. Likewise, in two randomized double-blind placebo-controlled clinical trials carried out on individuals older than 60 years, using doses of 500 and 800 mg/day, respectively, a hypoglycemic effect was demonstrated after 4 and 8 months of treatment [37,38]. This effect in older adults has been consistent, as reported in the meta-analyses published by Hausenblas et al. (2014) [39] and Liu et al. (2014) [40]. In contrast, in our study, we did not observe significant changes in glucose and HbA1c levels after 6 months of treatment, results that coincide with what was reported in two double-blind randomized clinical trials, in which 150 mg/day doses of RV were administered for 30 days in subjects with DM2 younger than 50 years [41,42]. These results may be due to the dose and duration of the interventions, which may be insufficient to observe the hypoglycemic effects of RV. The results of our clinical trial also coincide with those obtained in two double-blind randomized clinical trials in which doses of 500 and 1000 mg/day of RV were administered for 6 months and 5 weeks, respectively, both in subjects older than 60 years [43,44], in whom no significant changes were found in insulin sensitivity, glycemic control, glucose levels or HbA1c. Likewise, in the meta-analysis conducted by

Jeyaraman et al. (2020), they also did not find a hypoglycemic effect in subjects 60 years of age or older [45]. The findings of the mentioned studies agree with what was observed in a systematic review and meta-analysis carried out by our research group, in which it was found that the effects of RV are notably less on people over 60 years of age compared with younger people since, in parallel with the low bioavailability of RV, adults over 60 years of age present with absorption problems at the intestinal level and have a reduced capacity to metabolize RV, in addition to OS related to aging, for which reason it has been suggested that doses at high rates and interventions of longer duration (6 months or more) be used in this age group [46].

Regarding the lipid-lowering effect, we observed a statistically significant decrease in the serum concentration of triglycerides in EG1000, which can be attributed to the ability of RV to decrease the absorption of fatty acids and de novo lipogenesis, in addition to increasing fat mobilization and inducing the β -oxidation of fatty acids [47]. This lipid-lowering effect is consistent with what was observed in the meta-analysis carried out by Cao et al. (2022), who found that the oral administration of RV significantly reduces serum triglyceride levels [48].

In the present study, a significant increase in CRP was also observed in the PG after follow-up, which may be due to chronic low-grade inflammation arising as a consequence of the hyperglycemia that characterizes T2D [49]. In this sense, it has been shown that hyperglycemia promotes the excessive formation of advanced glycation end products (AGEs), and these activate nuclear factor κ B (NF κ B), which triggers the transcription of pro-inflammatory cytokine promoter genes, and, in turn, the latter stimulate the production of CRP in the liver, which is why the protein is elevated in individuals with T2D [49,50], as was observed in the PG. In contrast, in EG1000, no significant changes were observed after RV administration, as it is able to block NF κ B activation and prevent increased CRP production [51].

Regarding OS markers, RV has been shown to exert antioxidant effects through two mechanisms: (i) through direct interaction with RL and ROS and (ii) through its ability to increase the activity of antioxidant enzymes [52]. In this sense, the first mechanism is due to the polyphenolic nature of RV, mainly the free hydroxyl group in position 4, since the extraction of its hydrogen allows electrons to be mobilized throughout the chemical structure of RV and gives it redox characteristics, which allow it to interact with FR and ROS, making it an excellent scavenger of hydroxyl, peroxide and superoxide [52,53]; as a consequence of this activity, it can minimize or prevent the oxidation of polyunsaturated fatty acids that are abundant in cell membranes, protecting them from oxidative damage [52–54]. In line with this, the results of two randomized double-blind clinical trials found a significant decrease in malondialdehyde (MDA) levels, a direct biomarker of lipid peroxidation in membranes, with doses of 200 and 500 mg/day of RV in subjects with T2D [33,55]. In our clinical trial, we observed a statistically significant decrease in LPO (MDA) levels in EG1000 and an increase in the same marker in the PG, which is consistent with the antioxidant effect of RV reported in other studies. Likewise, we observed a significant increase in 8-isoprostane (8-Iso) concentration in the PG and a significant decrease in EG1000, demonstrating the antioxidant effect of RV; 8-Iso is formed as a secondary product of lipid peroxidation, whose molecule is similar in structure to prostaglandins and is currently considered the gold standard for measuring oxidative damage to membranes [56], which agrees with the results observed in the PG. The second mechanism of RV is through the increase in the activity of antioxidant enzymes (SOD, GPx, Cat), responsible for eliminating excess FR and ROS to prevent oxidative damage [57]. These three enzymes work together to protect cells from ROS. First, SOD dismutates the superoxide anion into hydrogen peroxide, and later, GPx and Cat degrade it into oxygen and water [58]. This effect is achieved through its interaction with erythroid-derived nuclear factor 2 (Nrf2), a transcription factor that modulates the expression of genes containing antioxidant response elements (AREs). The activation of the Nrf2/ARE pathway promotes the expression of antioxidant genes and stimulates the production of SOD, GPx and Cat enzymes, whose function is to eliminate ROS [58,59]. In

this sense, it has been observed that RV activates Nrf2 through the activation of AMPK, which, in turn, stimulates the Nrf2/ARE pathway and, as a result, increases the production of antioxidant enzymes [58–60]. In our study, we found a non-significant increase in SOD activity in EG1000 and a statistically significant decrease in the PG, which agrees with what was stated above, as well as with the results of two randomized double-blind clinical trials in which an increase in SOD activity was observed with RV treatments in doses of 500 and 800 mg/day, and a decrease in the activity of the enzyme was observed in groups treated with a placebo [55,61]. The authors of these studies also reported that TAC was elevated after RV administration, as occurred in the EG1000 of our clinical trial. In addition to this, we observed that, after the follow-up, the antioxidant gap (GAP) increased in the EG1000. The GAP is a calculation that provides information about the antioxidant activity of plasma components other than uric acid and albumin, such as α -tocopherol, ascorbic acid, transferrin and other antioxidants obtained from the diet, for example, RV [62], which explains the increase in GAP in the EG1000 after six months of orally administering 1000 mg/day of RV.

Regarding the oxidative stress score (OSS), a statistically significant increase was observed in the PG, and a decrease was observed in EG1000. In this sense, the decrease in the OSS is the result of an increase in TAC and GAP, which counteracts ROS and attenuates oxidative damage to the membranes, reflected in the decrease in LPO and 8-isoprostane levels. Although the activity of the SOD and GPx enzymes did not increase significantly with the OSS value, we can infer that the antioxidant enzymes evaluated act in an integral and efficient manner to counteract high ROS concentrations. Regarding the oxidative stress index (OSI), a decrease was found in the percentage of individuals with moderate and severe OS in EG1000, while in the PG, the proportions of subjects without OS and mild OS decreased, and that of moderate OS increased. This is consistent with what has been reported in the literature since the group that received 1000 mg/day of RV showed a higher antioxidant effect compared with the subjects that received 500 mg/day treatment.

We also observed a statistically significant increase in SIRT1 concentrations in the EG1000, which is consistent with the proposed mechanism of RV [63,64]. In this sense, SIRT1 has an effect on the regulation of autophagy, mitophagy, mitochondrial biogenesis, the expression of antioxidant enzymes and the suppression of NF κ B, among others [63]. Likewise, the production, expression and activity of SIRT1 can be modified by RV in an allosteric way [64] so that an increase in SIRT1 levels provides indirect information on the effects of RV [63]. On the other hand, when SIRT1 is stimulated, it deacetylates and activates the LKB1 protein kinase, which phosphorylates and activates AMPK, thereby attenuating oxidative damage, improving insulin resistance and restoring energy homeostasis [64]. Regarding the role of SIRT1 in energy metabolism, scientific evidence suggests that it increases oxidative phosphorylation through the deacetylation of PGC-1 α and thereby functions as a regulator of mitochondrial biogenesis in the liver and muscle [65]; PGC-1 α controls the expression of genes that regulate biogenesis and mitochondrial activity, decreasing lipid accumulation and increasing glucose uptake, thereby improving energy metabolism [66]. In relation to the antioxidant effect of RV through SIRT1, it has been shown that SIRT1 stimulates AMPK, and this negatively regulates NADPH oxidase, the enzyme responsible for producing ROS, and induces an increase in the expression of SOD, the final result of which is a decreased OS [67]. SIRT1 also regulates the acetylation of FOXO family transcription factors, involved not only in lipid and glucose metabolism but also in the response to OS. In this regard, it has been observed that the SIRT1–AMPK interaction stimulates the transcriptional activity of FOXO3, and the expression of manganese-dependent SOD (MnSOD) is induced in cells that overexpress FOXO3 [68]. Likewise, the transcriptional activity of FOXO3 triggers the inhibition of NADPH oxidase, and, therefore, the production of ROS is reduced; therefore, through SIRT1 and FOXO3, the RV decreases the amount of ROS and increases the expression of MnSOD, mechanisms through which it attenuates OS [69]. In addition, it has been proposed that the complex formed by the SIRT1–FOXO3–PGC-1 α interaction activates Nrf2; as has been pointed out, it is a transcriptional regulator of the expression of genes involved in the antioxidant response since it promotes MnSOD

production and other enzymes that provide antioxidant protection to mitochondria [70]. The mentioned mechanisms explain how SIRT1 mitigates OS and prevents oxidative damage to cells, which has been evidenced in cell cultures, where it has been observed that a moderate overexpression of SIRT1 protects cells from OS, while a deficiency in SIRT1 induces an increase in the production of ROS [69–71]. However, the relationship between SIRT1 and OS is more complex than it seems since SIRT1 is involved in redox-dependent cellular processes such that, just as SIRT1 can influence the redox state of cells, the redox state is capable of altering the production and enzymatic activity of SIRT1 through post-translational modifications (phosphorylations, S-nitrosylations and carbonylations). In some cases, these alterations can be detrimental to cells and influence the pathogenesis of chronic diseases involving SG; such is the case for T2D [71]. In this sense, the activation of SIRT1 by RV induces the proposed antioxidant mechanisms only if adequate redox conditions are achieved since SIRT1 is a protein sensitive to the redox state, and if this does not foster the adequate conditions, activation by RV is insufficient in exerting antioxidant effects. Considering the above, the results of our investigation demonstrate a more efficient antioxidant effect of RV at doses of 1000 mg/day compared with doses of 500 mg/day, which also coincides with an increase in SIRT1 levels induced by RV.

There are several foods and beverages that contain RV: (i) 150 mL of red wine contains up to 2.15 mg; (ii) 250 mL of red grape juice contains 1.25 mg; (iii) 250 g of dehydrated red grapes contains 1.6 mg; (iv) 150 g of frozen strawberries contains 1.56 mg; (v) 125 g of blueberries contains 2.41 mg; and (vi) 250 g of peanuts contains 1.3 mg [10,72]. The daily consumption of these foods can provide <10 mg of RV, which is insufficient to exert therapeutic effects [72]. In this regard, our study did not control the amount of RV consumed through the diet; however, the RV obtained from food does not reach sufficient amounts to influence the results obtained. In addition, considering that the participants are diabetic, the consumption of said foods would have to be assessed since most of them contain sugar, and their consumption can trigger the elevation of blood glucose levels.

Finally, none of the participants reported adverse events during the intervention. In this sense, RV is considered a safe compound for human consumption since it does not exert secondary or toxic effects at relatively high doses (1000–2000 mg/day). In fact, with doses of 2.5 to 5 g/day, only mild gastrointestinal effects occur, such as nausea, vomiting and diarrhea [54,73].

4. Materials and Methods

A double-blind randomized clinical trial was carried out, previously approved by the Bioethics and Biosafety Committee of the Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) FES Zaragoza (FESZ/DEPI/CI/037/20) and registered in ISRCTN (ISRCTN15172592).

4.1. Population and Study Design

A call was made through social networks to recruit the study population according to the following selection criteria: men and women between 60 and 74 years of age, with a clinical diagnosis of T2D treated with metformin and/or glibenclamide as a hypoglycemic agent, without kidney or liver damage, residents of Mexico City. A total of 213 candidates agreed to participate in the study, of which 124 met the established inclusion criteria and signed the informed consent (Figure 1). Weight, height, body mass index (BMI) and blood pressure were measured for all participants entering the study. Blood samples were also taken to evaluate biochemical parameters, such as glucose, HbA1c, total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides, uric acid, urea and complete blood count, as well as for the measurement of OS markers (lipoperoxidation; 8-isoprostanes; activities of the antioxidant enzymes superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase; and total antioxidant capacity), SIRT1 levels and C-reactive protein (CRP).

After performing the baseline measurements of all the clinical and biochemical parameters, a person outside our research team randomly assigned the 124 participants using the online tool “randomizer.com”, integrating the following 3 study groups: (i) exper-

imental group 1000 mg/day (EG1000), $n = 40$ participants who received 1000 mg/day of trans-resveratrol, divided into 2 capsules, each containing 500 mg; (ii) experimental group 500 mg/day (EG500), $n = 43$ participants who were administered 500 mg/day of trans-resveratrol, divided into 2 capsules, each containing 250 mg; (iii) placebo group (PG), $n = 41$ participants who received daily 2 capsules identical in appearance to those of the other two groups but whose content was a placebo (Figure 1). Treatments were performed with synthetic trans-resveratrol (>99% purity) and a mixture of crystalline microcellulose with magnesium stearate as anti-caking, dispersing and stabilizing agents. The aforementioned mixture of excipients was used as a placebo since both compounds are considered “safe for human consumption” by the FDA, as well as inert. The treatments for the three study groups were prepared by “Productos Naturales Anáhuac S.A. de C.V.” Randomization and assignment to groups were blinded for the participants and for the personnel in charge of the investigation until the final analysis of all the data collected during the study was carried out. The treatments (capsules) were delivered to the participants in an identical presentation in shape, color, size and weight, regardless of the group to which they were administered. In addition, they were contained in opaque bottles labeled with the names of the participants, which were delivered monthly by a person unrelated to the investigation. The deliveries were made out for 6 months, and adherence to the treatment was verified by counting the remaining capsules in the bottles. During the intervention, the research team maintained telephone contact with the participants to identify possible unwanted effects. After 6 months, all the initial measurements were performed again; however, during the follow-up, 27 participants dropped out of the study for various reasons, so only 97 data were analyzed (EG1000 $n = 37$, EG500 $n = 32$, PG $n = 28$), as presented in Figure 1.

4.2. Measurement of Clinical Parameters (Weight, Height, BMI and Blood Pressure)

The weight of the participants in underwear was measured using a calibrated scale (Torino, Tecno Logica Mexicana, Mexico City, Mexico[®]). To measure the height, the participants were placed standing with their heels together, keeping the buttocks, shoulders and head in contact with an aluminum stadiometer graduated in millimeters (SECA[®], Hamburg, Germany), with their eyes facing forward and the Frankfurt plane parallel down. The BMI was calculated by dividing the weight (expressed in kg) by the square of the height (expressed in meters) ($IMC = \text{kg}/\text{m}^2$). Blood pressure was determined in accordance with the provisions of NOM-030-SSA-1999 for the prevention, detection, diagnosis, treatment and control of arterial hypertension. Each participant was asked to sit in a chair with a backrest, with one arm uncovered and flexed on a support. A stethoscope and a sphygmomanometer coupled with a mercury column were used to measure systolic and diastolic blood pressure [74].

4.3. Measurement of Biochemical Parameters

After fasting for 8 to 10 h, blood samples were obtained with vacutainer equipment in tubes (Beckton-Dickinson, NJ, USA) with an EDTA anticoagulant to perform a complete blood count and quantify the percentage of HbA1c. Likewise, samples were taken without an anticoagulant for biochemical tests (glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides, uric acid, urea). Blood count was performed with a whole blood sample in a hematology analyzer (Spincell, Spinreact, Girona, Spain). The measurement of the biochemical parameters and the CRP was carried out with serum samples using an autoanalyzer (Selectra Junior, Siemens, Munich, Germany) through colorimetric and turbidimetry techniques, respectively. HbA1c was measured in EDTA anticoagulated blood samples via turbidimetry in the Selectra Junior autoanalyzer.

4.4. Measurement of OS Markers

Blood was drawn into heparinized tubes for the measurement of OS markers.

4.4.1. Lipoperoxidation (LPO)

This determination was performed on a heparinized plasma sample, as described by Jentzsch [75]. We used malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker since it is one of the main oxidation bioproducts of polyunsaturated fatty acids, as well as the main reactive molecule of thiobarbituric acid (TBA). Each MDA molecule contained in the sample reacts with two TBA molecules to form a pink-colored compound, whose absorbance is measured at 535 nm. To obtain the MDA concentration, the absorbance was interpolated in a calibration curve.

4.4.2. 8-Isoprostane (8-Iso)

To measure the concentration of 8-isoprostane, we used plasma samples obtained from blood with EDTA. We also used the 8-isoprostane EIA kit (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA). The basis of this measurement is the competition between 8-isoprostane and an 8-isoprostane–acetylcholinesterase conjugate for the binding of a certain number of 8-isoprostane-specific antibodies. The amount of 8-isoprostane tracer remains constant, but the levels of 8-isoprostane in the sample vary such that the amount of tracer that binds to the specific antibody of the 8-isoprostane is inversely proportional to the concentration of 8-isoprostane in the sample. The antibody–8-isoprostane complex binds to a second antibody, and upon the addition of the corresponding substrate, a yellow-colored compound is formed, which is measured spectrophotometrically at 412 nm. The intensity of the color is inversely proportional to the amount of 8-isoprostane present in the analyzed sample.

4.4.3. Superoxide Dismutase (SOD)

To measure SOD activity, a heparinized blood sample and the Ransod commercial kit (Randox Laboratories Ltd., Crumlin, UK) were used. The method is based on what was described by McCord and Fridovich [76], in which the reaction between xanthine and xanthine oxidase (XOD) produces superoxide radicals that react with 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium to form formazan red. The SOD present in the sample neutralizes the superoxide radicals and inhibits the formation of formazan red, so the activity of the enzyme is directly proportional to the degree of inhibition. The kinetics of the reaction was measured spectrophotometrically at 505 nm.

4.4.4. Glutathione Peroxidase (GPx)

To measure the GPx, the method reported by Plagia and Valentine [77] was used. A heparinized blood sample and the commercial Ransel kit (Randox Laboratories Ltd., Crumlin, UK) were required. The GPx present in the sample to be analyzed catalyzes the oxidation of glutathione (GSH) via cumene hydroperoxide in the presence of glutathione reductase (GR) and NADPH; then, the oxidized glutathione (GSSG) is converted into its reduced form with the concomitant oxidation of NADPH into NADP⁺. This reaction causes a decrease in absorbance, which was measured at 340 nm in a spectrophotometer.

4.4.5. Catalase (Cat)

To quantify the activity of this enzyme, the method described by Aebi [78] was used, in which H₂O₂ is used as a substrate and the continuous decrease in its concentration is monitored using its decomposition due to the action of the enzyme. The decrease in absorbance at 240 nm was measured since said decrease is proportional to the catalase activity.

4.4.6. SOD/GPx Ratio

The calculation was made using the values obtained for each enzyme. It is a theoretical model that provides information about the biochemical interactions of enzymes.

4.4.7. Total Antioxidant Capacity (TAC)

In this technique, a sample of heparinized plasma and a commercial total antioxidant status kit (Randox Laboratories Ltd., Crumlin, UK) were used. For the measurement, the

peroxidase enzyme is combined with H_2O_2 and 2,2'-azido-diethylbenzothialinsulfonate; this results in the production of the ABTS+ cation, which presents a bluish-green coloration. The antioxidants contained in the sample suppress this coloration, this being proportional to the concentration of antioxidants [79]. The kinetics of the reaction was measured at 600 nm. All spectrophotometric measurements were performed on a Multiskan Go Microplate spectrophotometer (Thermo Scientific, Denver, CO, USA).

4.4.8. GAP Calculation

We applied the following formula to calculate the antioxidant gap (GAP):

$$\text{GAP} = (\text{TAC} - [(\text{albumin (mmol)} \times 0.69) + \text{uric acid (mmol)}])$$

4.4.9. Calculation of Oxidative Stress Score (OSS)

In this calculation, we used cutoff points previously established by our research group for the following markers: $\text{LPO} \geq 0.340$ mmol/L, $\text{SOD} \leq 170$ IU/mL, $\text{GPx} \leq 5500$ IU/L, $\text{Cat} \leq 0.9$ mmol/L, $\text{SOD/GPx} \geq 0.023$ and $\text{GAP} \leq 190$ mmol/L. For each datum outside the cutoff values, one point was awarded, and a sum was made to obtain the OSS. The OSS value is directly proportional to OS levels [62].

4.4.10. OS Index (OSI)

This index was obtained by categorizing the OSS as follows [62]:

0 points: Without OS;

1–2 points: Mild OS;

3–4 points: Moderate OS;

5–6 points: Severe OS.

4.5. Measurement of SIRT1

SIRT1 quantification was performed using the double sandwich ELISA technique. We used a monoclonal anti-human SIRT1 antibody and a biotinylated detection antibody. Samples and biotinylated antibodies were added to ELISA plate wells and then washed with buffer. Then, avidin–peroxidase conjugate was added to the wells, and the corresponding substrate was added. The reaction mixture turned blue and then turned yellow upon the addition of acid. The absorbance of the colored compound was read at 450 nm on a Multiskan Go Microplate spectrophotometer (Thermo Scientific, Denver, CO, USA).

4.6. Statistical Analysis

Frequencies and percentages for qualitative variables, mean and standard deviation for quantitative variables were calculated. Comparisons were made using the repeated measures of ANOVA and McNemar, with a 95% confidence interval. A value of $p < 0.05$ was considered an indication of a statistically significant test. All statistical analyses were performed using the SPSS 21 software.

5. Conclusions

Our findings suggest that the consumption of RV at a dose of 1000 mg/day exerts a more efficient antioxidant effect than a dose of 500 mg/day, which coincides with a statistically significant increase in SIRT1 levels in older adults with T2D. This provides evidence suggesting that the consumption of RV in doses of at least 1000 mg/day for 6 months or more could be an adjunctive treatment that reduces the incidence of micro- and macrovascular complications linked to T2D.

Author Contributions: Conceptualization, V.M.M.-N. and E.S.-O.; methodology, B.I.G.-M. and M.R.-R.; formal analysis, B.I.G.-M. and V.M.M.-N.; investigation J.P.-C.; writing—original draft preparation, B.I.G.-M. and V.M.M.-N.; writing—review and editing, J.P.-C. and M.R.-R.; visualization, E.S.-O.; funding acquisition, M.R.-R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was Supported by the Dirección General de Asuntos del Personal Académico, Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA-UNAM) (PAPIIT IN308120); Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM; and Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Beca de Posgrado, CVU 706595). Programa para la Investigación Bibliográfica Científica sobre Salud (PIBCIS) de la FES Zaragoza, UNAM.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Bioethics and Biosafety Committee of the Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) FES Zaragoza (FESZ/DEPI/CI/037/20).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available upon request from the corresponding authors.

Acknowledgments: This paper is part of the requirements for obtaining a doctoral degree at the Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM of G-M.B.I.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes-2018. *Diabetes Care* **2018**, *41* (Suppl. S1), S13–S27. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Sun, H.; Saeedi, P.; Karuranga, S.; Pinkepank, M.; Ogurtsova, K.; Duncan, B.B.; Stein, C.; Basit, A.; Chan, J.C.N.; Mbanya, J.C.; et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2022**, *183*, 109119. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Deshpande, A.D.; Harris-Hayes, M.; Schootman, M. Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. *Phys. Ther.* **2008**, *88*, 1254–1264. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Yaribeygi, H.; Sathyapalan, T.; Atkin, S.L.; Sahebkar, A. Molecular mechanisms linking oxidative stress and diabetes mellitus. *Oxidative Med. Cell. Longev.* **2020**, *2020*, 8609213. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Pang, L.; Lian, X.; Liu, H.; Zhang, Y.; Li, Q.; Cai, Y.; Ma, H.; Yu, X. Understanding diabetic neuropathy: Focus on oxidative stress. *Oxidative Med. Cell. Longev.* **2020**, *2020*, 9524635. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Liguori, I.; Russo, G.; Curcio, F.; Bulli, G.; Aran, L.; Della-Morte, D. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin. Interv. Aging* **2018**, *13*, 757–772. [[CrossRef](#)]
7. Venkataraman, K.; Khurana, S.; Tai, T.C. Oxidative stress in aging—Matters of the heart and mind. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 17897–17925. [[CrossRef](#)]
8. Pannu, N.; Bhatnagar, A. Resveratrol: From enhanced biosynthesis and bioavailability to multitargeting chronic diseases. *Biomed. Pharmacother.* **2019**, *109*, 2237–2251. [[CrossRef](#)]
9. Diaz-Gerevini, G.T.; Repossi, G.; Dain, A.; Tarres, M.C.; Das, U.N.; Eynard, A.R. Beneficial action of resveratrol: How and why? *Nutrition* **2016**, *32*, 174–178. [[CrossRef](#)]
10. Koushki, M.; Amiri-Dashatan, N.; Ahmadi, N.; Abbaszadeh, H.A.; Rezaei-Tavirani, M. Resveratrol: A miraculous natural compound for diseases treatment. *Food Sci. Nutr.* **2018**, *6*, 2473–2490. [[CrossRef](#)]
11. Meng, X.; Zhou, J.; Zhao, C.N.; Gan, R.Y.; Li, H.B. Health benefits and molecular mechanisms of resveratrol: A narrative review. *Foods* **2020**, *9*, 340. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Galiniak, S.; Aebisher, D.; Bartusik-Aebisher, D. Health benefits of resveratrol administration. *Acta Biochim. Pol.* **2019**, *66*, 13–21. [[CrossRef](#)]
13. Colica, C.; Milanović, M.; Milić, N.; Aiello, V.; De Lorenzo, A.; Abenavoli, L. A Systematic review on natural antioxidant properties of resveratrol. *Nat. Prod. Commun.* **2018**, *13*, 1195–1203. [[CrossRef](#)]
14. Rauf, A.; Imran, M.; Suleria, H.A.R.; Ahmad, B.; Petersf, D.G.; Mubarak, M.S. A comprehensive review of the health perspectives of resveratrol. *Food Funct.* **2017**, *8*, 4284–4305. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Öztürka, E.; Karaboğa, A.K.A.; Yerer, M.B.; Bishayee, A. Resveratrol and diabetes: A critical review of clinical studies. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *95*, 230–234. [[CrossRef](#)]
16. Watroba, M.; Szukiewicz, D. The role of sirtuins in aging and age-related diseases. *Adv. Med. Sci.* **2016**, *61*, 52–62. [[CrossRef](#)]
17. Kitada, M.; Ogura, Y.; Monno, I.; Koya, D. Sirtuins and type 2 diabetes: Role in inflammation, oxidative stress, and mitochondrial function. *Front. Endocrinol.* **2019**, *10*, 187. [[CrossRef](#)]
18. Goh, K.P.; Lee, H.Y.; Lau, D.P.; Supaat, W.; Chan, Y.H.; Yung, A.F. Effects of resveratrol in patients with type 2 diabetes mellitus on skeletal muscle SIRT1 expression and energy expenditure. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2014**, *24*, 2–13. [[CrossRef](#)]
19. Samuel, V.P.; Gupta, G.; Dahiya, R.; Jain, D.A.; Mishra, A.; Dua, K. Current update on preclinical and clinical studies of resveratrol, a naturally occurring phenolic compound. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* **2019**, *29*, 529–537. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Park, E.J.; Pezzuto, J.M. The pharmacology of resveratrol in animals and humans. *Biochim. Biophys. Acta* **2015**, *1852*, 1071–1113. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

21. Oyenih, O.R.; Oyenih, A.B.; Adeyanju, A.A.; Oguntibeju, O.O. Antidiabetic effects of resveratrol: The way forward in its clinical utility. *J. Diabetes Res.* **2016**, *2016*, 9737483. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Singh, A.P.; Singh, R.; Singh, S.V.; Rai, V.; Kaschula, C.H.; Maiti, P.; Gupta, S.C. Health benefits of resveratrol: Evidence from clinical studies. *Med. Res. Rev.* **2019**, *39*, 1851–1891. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. García-Martínez, B.I.; Ruiz-Ramos, M.; Pedraza-Chaverri, J.; Santiago-Osorio, E.; Mendoza-Núñez, V.M. Hypoglycemic effect of resveratrol: A systematic review and meta-analysis. *Antioxidants* **2021**, *10*, 69. [[CrossRef](#)]
24. Ahmed, T.; Javed, S.; Javed, S.; Tariq, A.; Šamec, D.; Tejada, S.; Nabavi, S.F.; Braid, N.; Nabavi, S.M. Resveratrol and Alzheimer's disease: Mechanistic insights. *Mol. Neurobiol.* **2017**, *54*, 2622–2635. [[CrossRef](#)]
25. Berman, A.Y.; Motechin, R.A.; Wiesenfeld, M.Y.; Holz, M.K. The therapeutic potential of resveratrol: A review of clinical trials. *NPJ Precis. Oncol.* **2017**, *1*, 35. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Tonetto, I.F.A.; Baptista, M.H.B.; Gomides, D.S.; Pace, A.E. Quality of life of people with diabetes mellitus. *Rev. Esc. Enferm. USP* **2019**, *53*, e03424. [[CrossRef](#)]
27. Dehdashtian, E.; Hossein, M.P.; Hemati, K.; Mehrzadi, S.; Hosseinzadeh, A. Therapeutic application of nutraceuticals in diabetic nephropathy: Current evidence and future implications. *Diabetes Metab. Res. Rev.* **2020**, *36*, e3336. [[CrossRef](#)]
28. Theodotou, M.; Fokianos, K.; Mouzouridou, A.; Konstantinou, C.; Aristotelous, A.; Prodromou, D.; Chrysokou, A. The effect of resveratrol on hypertension: A clinical trial. *Exp. Ther. Med.* **2017**, *13*, 295–301. [[CrossRef](#)]
29. Cao, X.; Luo, T.; Tang, Z. Resveratrol prevents AngII-induced hypertension via AMPK activation and RhoA/ROCK suppression in mice. *Hypertens Res.* **2014**, *37*, 803–810. [[CrossRef](#)]
30. Timmers, S.; Konings, E.; Bilet, N.; Houtkooeper, R.; Van Der Weijer, T.; Goossens, G.H.; Hoeks, J.; Van Der Krieken, S.; Ryu, D.; Kersten, S.; et al. Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol (resVida™) supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. *Cell Metab.* **2011**, *14*, 612–622. [[CrossRef](#)]
31. Méndez-del Villar, M.; González-Ortiz, M.; Martínez-Abundis, E.; Pérez-Rubio, K.; Lizárraga-Valdez, R. Effect of resveratrol administration on metabolic syndrome, insulin sensitivity, and insulin secretion. *Metab. Syndr. Relat. Disord.* **2014**, *12*, 497–501. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Gowd, V.; Kang, Q.; Wang, Q.; Wang, Q.; Chen, F.; Cheng, K.W. Resveratrol: Evidence for its nephroprotective effect in diabetic nephropathy. *Adv. Nutr.* **2020**, *11*, 1555–1568. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Mahjabeen, W.; Khan, D.A.; Mirza, S.A. Role of resveratrol supplementation in regulation of glucose hemostasis, inflammation and oxidative stress in patients with diabetes mellitus type 2: A randomized, placebo-controlled trial. *Complement. Ther. Med.* **2022**, *6*, 102819. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Abdollahi, S.; Salehi-Abargouei, A.; Toupchian, O.; Sheikhha, M.H.; Fallahzadeh, H.; Rahmanian, M.; Tabatabaie, M.; Mozaffari-Khosravi, H. The effect of resveratrol supplementation on cardio-metabolic risk factors in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind controlled trial. *Phytother. Res.* **2019**, *33*, 3153–3162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Javid, A.Z.; Hormoznejad, R.; Yousefimanesh, H.; Zakerkish, M.; Haghghi-zadeh, M.H.; Dehghan, P.; Ravanbakhsh, M. The impact of resveratrol supplementation on blood glucose, insulin, insulin resistance, triglyceride, and periodontal markers in type 2 diabetic patients with chronic periodontitis. *Phytother. Res.* **2016**, *31*, 108–114. [[CrossRef](#)]
36. Bhatt, J.K.; Thomas, S.; Nanjan, M.J. Resveratrol supplementation improves glycemic control in type 2 diabetes mellitus. *Nutr. Res.* **2012**, *32*, 537–541. [[CrossRef](#)]
37. Hoseini, A.; Namazi, G.; Farrokhi, A.; Reiner, Z.; Aghadavod, E.; Bahmani, F.; Asemi, Z. The effects of resveratrol on metabolic status in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease. *Food Funct.* **2019**, *10*, 6042–6051. [[CrossRef](#)]
38. Khodabandehloo, H.; Seyyedebrahimi, S.; Esfahani, E.N.; Razi, F.; Meshkani, R. Resveratrol supplementation decreases blood glucose without changing the circulating CD14+ CD16+ monocytes and inflammatory cytokines in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutr. Res.* **2018**, *54*, 40–51. [[CrossRef](#)]
39. Hausenblas, H.A.; Schoulda, J.A.; Smoliga, J.M. Resveratrol treatment as an adjunct to pharmacological management in type 2 diabetes mellitus—Systematic review and meta-analysis. *Mol. Nutr. Food Res.* **2015**, *59*, 147–159. [[CrossRef](#)]
40. Liu, K.; Zhou, R.; Wang, B.; Mi, M.T. Effect of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity: A meta-analysis of 11 randomized controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.* **2014**, *99*, 1510–1519. [[CrossRef](#)]
41. De Ligt, M.; Bruls, Y.; Hansen, J.; Habets, M.F.; Havekes, B.; Nascimento, E.B.M.; Moonen-Kornips, E.; Schaart, G.; Schrauwen-Hinderling, V.B.; Lichtenbelt, W.V.M.; et al. Resveratrol improves ex vivo mitochondrial function but does not insulin sensitivity or brown adipose tissue in first degree relatives of patients with type 2 diabetes. *Mol. Metab.* **2018**, *12*, 39–47. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Timmers, S.; De Ligt, M.; Phielix, E.; Van de Weijer, T.; Hansen, J.; Moonen-Kornips, E.; Schaart, G.; Kunz, I.; Hesselink, M.K.C.; Schrauwen-Hinderling, V.B.; et al. Resveratrol as add-on therapy in subjects with well-controlled type 2 diabetes: A randomized controlled trial. *Diabetes Care* **2016**, *19*, 2211–2217. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Thazhath, S.S.; Wu, T.; Bound, M.J.; Checklin, H.L.; Standfield, S.; Jones, K.L.; Horowitz, M.; Rayner, C.K. Administration of resveratrol for 5 wk has no effect on glucagon-like peptide 1 secretion, gastric emptying, or glycemic control in type 2 diabetes: A randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* **2016**, *103*, 66–70. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Bo, S.; Ponzio, V.; Ciccone, G.; Evangelista, A.; Saba, F.; Goitre, I.; Procopio, M.; Pagano, G.F.; Cassader, M.; Gambino, R. Six months of resveratrol supplementation has no measurable effect in type 2 diabetic patients. A randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Pharmacol. Res.* **2016**, *111*, 896–905. [[CrossRef](#)]

45. Jeyaraman, M.M.; Al-Yousif, N.S.; Mann, A.S.; Dolinsky, V.W.; Rabbani, R.; Zarychanski, R.; Abou-Setta, A.M. Resveratrol for adults with type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2020**, 2020, CD011919. [[CrossRef](#)]
46. García-Martínez, B.I.; Ruiz-Ramos, M.; Pedraza-Chaverri, J.; Santiago-Osorio, E.; Mendoza-Núñez, V.M. Influence of age and dose on the effect of resveratrol for glycemic control in type 2 diabetes mellitus: Systematic review and meta-analysis. *Molecules* **2022**, *27*, 5232. [[CrossRef](#)]
47. Zhang, C.; Luo, J.; Yu, B.; Chen, J.; Chen, D. Effect of resveratrol on lipid metabolism in muscle and adipose tissues: A reevaluation in a pig model. *J. Funct. Foods* **2015**, *14*, 590–595. [[CrossRef](#)]
48. Cao, X.; Liao, W.; Xia, H.; Wang, S.; Sun, G. The effect of resveratrol on blood lipid profile: A dose-response Meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients* **2022**, *14*, 3755. [[CrossRef](#)]
49. Lee, C.C.; Adler, A.I.; Sandhu, M.S.; Sharp, S.J.; Forouhi, N.G.; Erqou, S.; Luben, R.; Bingham, S.; Khaw, K.T.; Wareham, N.J. Association of C-reactive protein with type 2 diabetes: Prospective analysis and meta-analysis. *Diabetologia* **2009**, *52*, 1040–1047. [[CrossRef](#)]
50. Oguntibeju, O.O. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: Examining the links. *Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol.* **2019**, *11*, 45–63.
51. Meng, T.; Xiao, D.; Muhammed, A.; Deng, J.; Chen, L.; He, J. Anti-inflammatory action mechanisms of resveratrol. *Molecules* **2021**, *26*, 229. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Zhang, L.-X.; Li, C.-X.; Kakar, M.U.; Khan, M.S.; Wu, P.-F.; Amir, R.M.; Dai, D.-F.; Naveed, M.; Li, Q.-Y.; Saeed, M.; et al. Resveratrol (RV): A pharmacology review and call for further research. *Biomed. Pharmacother.* **2021**, *143*, 112164. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Khattar, S.; Khan, S.A.; Zaidi, S.A.A.; Darvishikolour, M.; Farooq, U.; Naseef, P.P.; Kurunian, M.S.; Khan, M.Z.; Shamin, A.; Khan, M.M.U.; et al. Resveratrol from dietary supplement to a drug candidate: An assessment of potential. *Pharmaceuticals* **2022**, *15*, 957. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Salehi, B.; Mishra, A.P.; Nigam, M.; Sener, B.; Kilic, M.; Sharifi-Rad, M.; Fokou, P.V.T.; Martins, N.; Sharifi-Rad, J. Resveratrol: A double-edged sword in health benefits. *Biomedicines* **2018**, *6*, 91. [[CrossRef](#)]
55. Sattarinezhad, A.; Roozbeh, J.; Yeganeh, S.; Omrani, G.; Shams, M. Resveratrol reduces albuminuria in diabetic nephropathy: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Diabetes Metab.* **2019**, *45*, 53–59. [[CrossRef](#)]
56. Collodel, G.; Moretti, E.; Noto, D.; Corsaro, R.; Signorini, C. Oxidation of polyunsaturated fatty acids a promising area of research in infertility. *Antioxidants* **2022**, *11*, 1002. [[CrossRef](#)]
57. Sadi, G.; Konat, D. Resveratrol regulates oxidative biomarkers and antioxidant enzymes in the brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm. Biol.* **2016**, *5*, 1156–1163. [[CrossRef](#)]
58. Gu, T.; Wang, N.; Wu, T.; Ge, Q.; Chen, L. Antioxidative stress mechanisms behind Resveratrol: A multidimensional analysis. *J. Food Qual.* **2021**, 2021, 5571733. [[CrossRef](#)]
59. Menshchikova, E.B.; Zenkov, N.K.; Tkachev, V.O.; Lemza, A.E.; Kandalintseva, N.N. Protective effect of ARE-Inducing phenol antioxidant TS-13 in chronic inflammation. *Bull. Exp. Biol. Med.* **2013**, *155*, 330–334. [[CrossRef](#)]
60. Kou, X.; Kirberger, M.; Yang, Y.; Chen, N. Natural products for cancer prevention associated with Nrf2-ARE pathway. *Food Sci. Hum. Wellness* **2013**, *2*, 22–28. [[CrossRef](#)]
61. Seyyedebrahimi, S.; Khodabandehloo, H.; Esfahani, E.N.; Meshkani, R. The effects of resveratrol on markers of oxidative stress in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Acta Diabetol.* **2018**, *55*, 341–353. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Sánchez-Rodríguez, M.A.; Santiago-Osorio, E.; Vargas, L.A.; Mendoza-Núñez, V.M. Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquímica* **2004**, *29*, 81–90.
63. DiNicolantonio, J.J.; McCarty, M.F.; O’Keefe, J.H. Nutraceutical activation of Sirt1: A review. *Open Heart* **2022**, *9*, e002171. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Grzeczka, A.; Kordowitzki, P. Resveratrol and SIRT1: Antiaging cornerstones for oocytes? *Nutrients* **2022**, *14*, 510. [[CrossRef](#)]
65. Song, J.; Yang, B.; Jia, X.; Li, M.; Tan, W.; Ma, S.; Shi, X.; Feng, L. Distinctive roles of sirtuins on diabetes, protective or detrimental? *Front. Endocrinol.* **2018**, *9*, 724. [[CrossRef](#)]
66. Houtkooper, R.H.; Pirinen, E.; Auwerx, J. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2016**, *13*, 225–238. [[CrossRef](#)]
67. Xu, J.; Kitada, M.; Koya, D. The impact of mitochondrial quality control by sirtuins on the treatment of type 2 diabetes and diabetic kidney disease. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* **2020**, 1866, 165756. [[CrossRef](#)]
68. DiNicolantonio, J.J.; McCarty, M.F.; Assanga, S.I.; Lujan, L.L.; O’Keefe, J.H. Ferulic acid and berberine, via SIRT1 and AMPK, may act as cell clearing promoters of healthy longevity. *Open Heart* **2022**, *9*, e001801. [[CrossRef](#)]
69. Khan, M.A.; Chen, H.; Wan, X.; Tania, M.; Xu, A.; Chen, F.; Zhang, D. Regulatori effects of resveratrol on antioxidant enzymes: A mechanism of growth inhibition and apoptosis induction in cancer cells. *Mol. Cells.* **2013**, *35*, 219–225. [[CrossRef](#)]
70. Olmos, Y.; Sánchez-Gómez, F.J.; Wild, B.; García-Quintans, N.; Cabezudo, S.; Lamas, S.; Monsalve, M. SirT1 regulation of antioxidant genes is dependent on the formation of a FOXO3a/PGC-1 α complex. *Antioxid. Redox Signal.* **2013**, *19*, 1507–1521. [[CrossRef](#)]
71. Hwang, J.; Yao, H.; Caito, S.; Sundar, I.K.; Rahman, I. Redox regulation of SIRT1 in inflammation and cellular senescence. *Free. Radic. Biol. Med.* **2013**, *61*, 95–110. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

72. Chachay, V.S.; Kirkpatrick, C.M.; Hickman, I.J.; Ferguson, M.; Prins, J.B.; Martin, J.H. Resveratrol—pills to replace a healthy diet? *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2011**, *72*, 27–38. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Ramírez-Garza, S.L.; Laveriano-Santos, E.P.; Marhuenda-Muñoz, M.; Storniolo, C.E.; Tresserra-Rimbau, A.; Vallverdú-Queralt, A.; Lamuela-Raventós, R.M. Health effects of resveratrol: Results from human intervention trials. *Nutrients* **2018**, *10*, 1892. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. de Salud, S. *Norma Oficial Mexicana NOM-030-SSA2-1999, Para la Prevención, Tratamiento y Control de la Hipertensión Arterial*; Secretaría de Salud: Mexico City, Mexico, 1999.
75. Jentzsch, A.M.; Bachmann, H.; Fürst, P.; Biesalski, H.K. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free. Radic. Biol. Med.* **1996**, *20*, 251–256. [[CrossRef](#)]
76. McCord, J.M.; Fridovich, I. Superoxide dismutase an enzyme function for erythrocyte. *J. Biol. Chem.* **1969**, *244*, 6049–6055. [[CrossRef](#)]
77. Plagia, D.E.; Valentine, W.N. Studies on the quantitative characterization of erythrocyte of glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* **1967**, *70*, 158–169.
78. Aebi, H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* **1984**, *105*, 121–126. [[CrossRef](#)]
79. Miller, N.J.; Rice, E.C.; Davies, M.J. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods Enzymol.* **1994**, *234*, 279–293. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



Review

Hypoglycemic Effect of Resveratrol: A Systematic Review and Meta-Analysis

Beatriz Isabel García-Martínez ¹, Mirna Ruiz-Ramos ¹, José Pedraza-Chaverri ² , Edelmiro Santiago-Osorio ³
and Víctor Manuel Mendoza-Núñez ^{1,*}

¹ Research Unit on Gerontology, FES Zaragoza, National Autonomous University of Mexico, Mexico City 09230, Mexico; isabelgm06@gmail.com (B.I.G.-M.); mirna1411@yahoo.com.mx (M.R.-R.)

² Department of Biology, Faculty of Chemistry, National Autonomous University of Mexico (UNAM), Mexico City 04510, Mexico; pedraza@unam.mx

³ Hematopoiesis and Leukemia Laboratory, Research Unit on Cell Differentiation and Cancer, FES Zaragoza, National Autonomous University of Mexico, Mexico City 09230, Mexico; edelmiro@unam.mx

* Correspondence: mendovic@unam.mx

Abstract: Resveratrol (RV) is a polyphenolic compound with antioxidant, anti-inflammatory, and hypoglycemic properties. Several in vitro and animal model studies have demonstrated the beneficial effects of RV; however, the results in humans are not conclusive. After a search of different databases, 32 studies were selected for this systematic review and 30 were included in the meta-analysis. Studies that evaluated the effect of RV on glucose, insulin, HbA1c, and insulin resistance (HOMA-IR) levels were included. A significant decrease of glucose (-5.24 mg/dL, $p = 0.002$) and insulin levels (-1.23 mIU/L, $p = 0.0003$) was observed. HbA1c and HOMA-IR did not show significant changes. Due to heterogeneity, sub-analyses were performed. Sub-analysis by dose revealed that glucose levels improve significantly after the administration of 500–1000 mg/day of RV (-7.54 mg/dL, $p = 0.002$), while insulin improves with doses lower than 500 mg/day (-1.43 mIU/L, $p = 0.01$) and greater than 1000 mg/day (-2.12 mIU/L, $p = 0.03$). HbA1c and HOMA-IR remained unchanged after sub-analysis by dose. Our findings suggest that RV improves glucose and insulin levels in subjects with type 2 diabetes mellitus (T2DM) and aged 45–59 years, regardless of the duration of the intervention. HbA1c improves with interventions ≥ 3 months. HOMA-IR does not exhibit significant changes after RV administration.

Keywords: glucose; insulin; glycated hemoglobin; glycemic control; insulin resistance; polyphenolic compounds



Citation: García-Martínez, B.I.; Ruiz-Ramos, M.; Pedraza-Chaverri, J.; Santiago-Osorio, E.; Mendoza-Núñez, V.M. Hypoglycemic Effect of Resveratrol: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antioxidants* **2021**, *10*, 69. <https://doi.org/10.3390/antiox10010069>

Received: 2 December 2020

Accepted: 4 January 2021

Published: 7 January 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Resveratrol (RV) is a polyphenolic compound that includes two benzene rings connected through a methylene, and three hydroxyl groups in its structure. This structure allows the RV molecule to give up electrons to distinct free radicals (FR) and thereby attenuates the damage to biomolecules. Moreover, RV has anti-inflammatory properties due to its ability to block the activation and subsequent translocation of nuclear factor κ B (NF κ B), which is responsible for the synthesis of pro-inflammatory proteins, such as tumor necrosis factor α (TNF α), interleukin 1 (IL1), interleukin 6 (IL6), and prothrombotic molecules [1–3]. RV is found in grapes, peanuts, and blueberries, although the plant *Polygonum cuspidatum* (Mexican baboo, knotty herb from Japan) is the main natural source of this compound. In the last two decades, multiple investigations have been carried out on the therapeutic properties of RV, which are given by the participation of RV in the signaling pathways that modulate the processes of apoptosis, mitochondrial dysfunction, platelet aggregation, oxidative stress, and inflammation [4,5]. In this sense, RV is an attractive compound for the adjunctive treatment of chronic noncommunicable diseases (NCDs), such as diabetes, cardiovascular diseases, arthritis, neurodegenerative disorders, and even cancer [6,7].

Regarding the therapeutic effects of RV, these are strongly related to the activation of sirtuin 1 (SIRT1) and AMP-activated protein kinase (AMPK). Both proteins act as energy regulators due to their participation in metabolism and mitochondrial function, which makes them a suitable target for the treatment of metabolic diseases, such as type 2 diabetes mellitus (T2DM) [7,8].

Scientific evidence, obtained from *in vitro* studies and in animal models, suggests that RV has antioxidant, anti-inflammatory, and even anti-cancer properties; however, the results of clinical trials are not conclusive. In this context, some clinical trials suggest that RV exerts beneficial effects on metabolic diseases (obesity, metabolic syndrome, and diabetes), which has been evidenced by its ability to reduce the levels of lipids, glucose, and some adipokines. Furthermore, it has been observed that after RV administration, the antioxidant capacity increases and the concentrations of pro-inflammatory markers decrease [9–11].

Despite the above, in some investigations carried out in humans, no evidence of the therapeutic effects of RV has been found. Therefore, there is currently no consensus regarding the therapeutic benefits of RV and the dose at which they are presented, so research on this compound is still continuing [12,13]. Considering this, the aim of this systematic review and meta-analysis is to show and analyze the findings on the hypoglycemic effect of different doses of RV from clinical trials and quasi-experimental studies.

2. Materials and Methods

The study was carried out according to the guidelines for the presentation of systematic reviews and meta-analyses (PRISMA 2009) [14].

2.1. Search Strategy

A literature search was carried out in the following databases: PubMed-Medline; Scopus; Cochrane library; Web of Science; Wiley online library; ScienceDirect; and Lilacs. The search was carried out among all articles published from January 1980 to 31 May 2020. The following search strategy was used: Resveratrol AND (glycemic control OR fasting glucose OR insulin resistance). A National Autonomous University of Mexico (UNAM) thesis search was also carried out to identify unpublished studies that could potentially be included in the review. Titles and abstracts identified through the search strategy were independently assessed by two reviewers (B.I.G.-M. and M.R.-R.), and discrepancies were resolved by a third reviewer (V.M.M.-N.). Once the titles and abstracts that met the selection criteria had been selected, the full texts of potentially relevant articles for the review were retrieved and an exhaustive review was carried out to select the definitive studies.

2.2. Inclusion Criteria

The inclusion criteria were as follows: (a) Blind or double-blind randomized clinical trials (RCTs); (b) the use of RV as a nutritional supplement; (c) placebo controlled; (d) published in the English language; (e) evaluation of at least one of the following biochemical markers: Serum glucose and insulin levels; HbA1c; and insulin resistance (HOMA-IR); (f) duration of at least 2 weeks; and (g) the participation of adults aged ≥ 20 years, without the distinction of sex, healthy, or with metabolic and/or inflammatory conditions, except cancer.

2.3. Exclusion Criteria

The exclusion criteria were as follows: (a) Studies that administered RV in combination with other compounds (e.g., quercetin); (b) studies that administered compounds derived from resveratrol, red wine, or a diet rich in polyphenols; (c) studies without a control group; (d) pilot studies; and (e) research only available in summary, to avoid risk of bias given a lack of information.

2.4. Outcomes

The primary outcomes included the following:

- Serum glucose and insulin levels;
- HbA1c percentage;
- HOMA-IR value.

2.5. Data Extraction

Once the studies were chosen, two reviewers (J.P.-C. and E.S.-O.) performed data extraction. Data extracted for the systematic review included the first author's last name, year of publication, study design, dose of resveratrol used, duration of intervention, sample size, characteristics of participants (age, health status, and/or metabolic condition), parameters evaluated, and findings of each study. For the meta-analysis, the following data were extracted: The means (\bar{X}) and standard deviations (SD) of the pre- and post-treatment measurements corresponding to the levels of glucose, insulin, HbA1c, and HOMA-IR. The \bar{X} , SD, mean difference, and their respective SD were calculated in cases in which the studies did not report them; for this purpose, appropriate statistical methods were used [15–17]. The \bar{X} was calculated from the median, the minimum and maximum values, and the sample size (n), using the formula $\bar{X} = (\text{minimum value} + 2n + \text{maximum value})/4$. The SD was calculated with the formula $SD = \sqrt{1/12[\bar{X}^2 + (\text{maximum value} - \text{minimum value})^2]}$. When standard error (SE) was reported, the formula $SD = SE \times \sqrt{n}$ was applied to calculate SD. For calculation of the mean difference, the following formula was used: Difference in means = meanpost-treatment – meanpre-treatment. Furthermore, for the calculation of the corresponding SD, the following formula was used:

$$SD_{\text{difference}} = \sqrt{[(SD_{\text{pre-treatment}})^2 + (SD_{\text{post-treatment}})^2] - (2 \times R \times SD_{\text{pre-treatment}} \times SD_{\text{post-treatment}})},$$

where R = 0.8.

Because the studies did not report the data in the same units, some conversions were necessary. To convert mmol/L to mg/dL of glucose, the value was multiplied by 18. The conversion of insulin units from pmol/L to mIU/L was performed by dividing pmol/L ÷ 6945. To convert the units of HbA1c, the following formula was used: %HbA1c = (mmol/mol/10,929) + 2.15. In some cases, the HOMA-IR index was also calculated, for which the following formula was used: HOMA-IR = [insulin (mIU/L) × glucose (mg/dL)]/405.

2.6. Assessment of Risk of Bias and Quality of Studies

After retrieving the full text of the selected studies, they were reviewed in detail to eliminate those that did not meet the inclusion criteria, in addition to assessing their methodological quality. For this purpose, the Cochrane collaboration risk of bias assessment tool was used. This tool considers seven items for evaluation, including the generation of the random sequence, allocation concealment, blinding of staff and participants, blinding of the analysis of results, incomplete results data, selective reports of results, and other sources of bias.

2.7. Statistical Analysis

To estimate the overall effect of RV supplementation on glucose, insulin, HbA1c levels, and HOMA-IR values, a random effects model was used. This model considers intra- and inter-study heterogeneity. Heterogeneity was assessed using the I² test, considering the existence of significant heterogeneity if I² > 50%. Subgroup analyzes were performed, separating by resveratrol dosage (<500 mg/day, 500–1000 mg/day, and >1000 mg/day), health status (with T2DM and without T2DM), duration of the intervention (<3 months and ≥3 months), and age (<45 years, 45–59 years, and >60 years). In addition, sensitivity analyzes were performed to assess the effect of each study on the overall effect. For this, all meta-analyzes were carried out, removing one study at a time. Funnel plots and Egger's

test were performed to assess publication bias. The value of $p < 0.05$ was considered as statistically significant. The statistical analyzes were performed with Review Manager version 5.3 software from the Cochrane collaboration.

3. Results

3.1. Literature Search

The total number of articles identified from the database search was 1848, plus 31 theses from UNAM. After reviewing the titles and abstracts, duplicate studies were eliminated, as well as those that did not meet the selection criteria, leaving a total of 62 eligible articles, of which the full text was recovered. After reviewing the full text of the 62 preselected studies, 30 of them were eliminated from the qualitative analysis for several reasons (see Appendix A), which are presented in Figure 1, and 32 studies were included in the systematic review. However, two studies (Bo et al. 2013 and Brasnyó et al. 2011) were discarded from the quantitative analysis because they did not present the necessary information (means before and after treatment or mean difference), so only 30 studies were included in the meta-analysis (Figure 1).

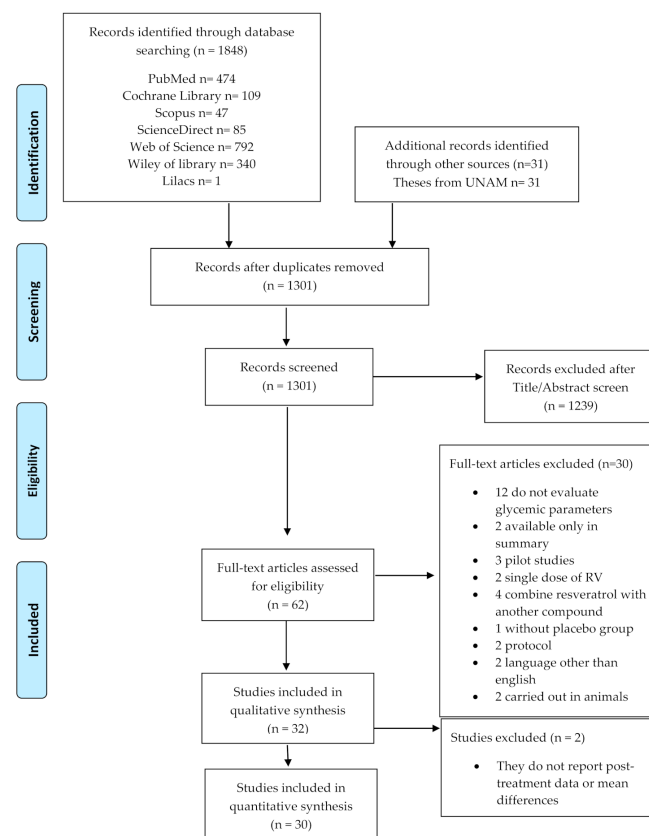


Figure 1. Flow diagram of study selection included in the systematic review and meta-analysis.

3.2. Study Characteristics

Of the included randomized clinical trials, 22 had a parallel double-blind design, 7 a double-blind crossover design, 1 was parallel-blind, and 2 were open-label. The total number of participants included in the meta-analysis was 1651 with different ages and health conditions. The subjects included in each study ranged from 8 to 129, the doses used ranged from 10 to 3000 mg/day, and the duration of the interventions was at least 4 weeks and a maximum of 12 months. The characteristics of the studies included in the present review are shown in Table 1. The results on the assessment of the methodological quality and risk of bias are presented in Figure 2.

Table 1. Characteristics of clinical trials included in the review.

First Author (Year)	Study Design	RV Dosage	Duration	Subjects	Age	Evaluated Parameters	Findings
Abdollahi et al. (2019) [18]	RCT double-blind	1 g/day	8 weeks	71 subjects with T2DM and overweight	50 ± 7	Glucose and insulin levels, HbA1c, HOMA-IR, HOMA-β, QUICKI	Significant decrease in glucose ($p = 0.03$) and insulin ($p = 0.02$), improvement in HOMA-IR ($p = 0.01$) and QUICKI ($p = 0.008$). No significant changes in HOMA-β and HbA1c after resveratrol administration
Asghari et al. (2018) [19]	RCT double-blind	600 mg/day	12 weeks	75 subjects with fatty liver	40 ± 7	Glucose and insulin levels HOMA-IR	Non-significant changes in the glycemic parameters evaluated
Banaszewska et al. (2016) [20]	RCT double-blind	1.5 g/day	3 months	30 women with POS	27 ± 1	Fasting blood glucose, insulin sensitivity index	Significant decrease in insulin levels (38%, $p = 0.007$) and increase in the insulin sensitivity index (66%, $p = 0.04$)
Bashmakov et al. (2014) [21]	RCT parallel-blind	100 mg/day	2 months	24 patients with diabetic food	56 ± 9	Glucose and insulin levels, HOMA-IR	Tendency of a decrease of glucose levels in both study groups. No changes in insulin levels and HOMA-IR
Bhatt et al. (2012) [22]	RCT open-label	250 mg/day	3 months	57 subjects with T2DM	57 ± 9	Fasting blood glucose and HbA1c	Significant decrease in HbA1c levels ($p < 0.05$) after resveratrol administration
Bhatt et al. (2013) [23]	RCT open-label	250 mg/day	6 months	57 subjects with T2DM	57 ± 9	HbA1c and glucose levels	Non-significant decrease in HbA1c and glucose levels after intervention
Bo et al. (2016) [24]	RCT double-blind	40, 500 mg/day	6 months	179 subjects with T2DM	65 ± 8	Glucose and insulin levels, HOMA-IR, HbA1c, C-peptide	Non-significant differences between the study groups after intervention
Bo et al. (2013) [25]	RCT double-blind crossover	500 mg/day	4 weeks	49 healthy smokers	35 ± 9	Glucose and insulin levels HOMA-IR	Non-significant changes after resveratrol intervention
Brasnyó et al. (2011) [26]	RCT double-blind	10 mg/day	4 weeks	19 men with T2DM	55 ± 9	Insulin levels, HOMA-IR, HOMA-β	No changes in insulin and HOMA-β levels, tendency of a decrease of HOMA-IR in the experimental group
Chachay et al. (2014) [27]	RCT double-blind	3 g/day	8 weeks	20 men with NAFLD	49 ± 12	HOMA-IR, glucose and insulin levels	Resveratrol did not improve glucose, insulin, and HOMA-IR levels
Chen (2015) [28]	RCT double-blind	600 mg/day	3 months	57 subjects with NAFLD	44 ± 10	Glucose, insulin, C-peptide and HOMA-IR	Significant decrease in glucose ($p = 0.001$) and HOMA-IR ($p = 0.016$). No significant changes in insulin and C-peptide levels
Dash et al. (2013) [29]	RCT double-blind crossover	1–2 g/day	2 weeks	8 overweight and obese subjects	46 ± 3	Glucose and insulin levels, HOMA-IR	Non-significant changes in evaluated parameters after resveratrol administration
De Ligt et al. (2020) [30]	RCT double-blind	150 mg/day	6 months	41 overweight individuals	62 ± 1	Glucose and insulin levels, HbA1c	Non-significant differences in glucose and insulin levels. Significant decrease in HbA1c ($p = 0.007$) after resveratrol administration

Table 1. Cont.

First Author (Year)	Study Design	RV Dosage	Duration	Subjects	Age	Evaluated Parameters	Findings
De Ligt et al. (2018) [31]	RCT double-blind crossover	150 mg/day	4 weeks	13 men at high risk of T2DM	66 ± 4	Glucose and insulin levels, HbA1c	Non-significant differences between the study groups after resveratrol administration
Faghihzadeh et al. (2015) [32]	RCT double-blind	500 mg/day	12 weeks	50 subjects with NAFLD	45 ± 10	Glucose and insulin levels, HOMA-IR, HOMA-β, QUICKI	Non-significant changes after the resveratrol intervention
Godínez-Salas et al. (2018) [33]	RCT double-blind	150 mg/day	3 months	42 subjects with MS	43 ± 1	Glucose and insulin levels	Non-significant changes in glucose and insulin levels after resveratrol intervention
Goh et al. (2014) [34]	RCT double-blind	3 g/day	12 weeks	10 subjects with T2DM	56 ± 6	Glucose and insulin levels, HbA1c, HOMA-IR	Tendency of a decrease in HbA1c, no significant changes in insulin sensitivity
Hoseini et al. (2019) [35]	RCT double-blind	500 mg/day	4 weeks	56 subjects with T2DM and CD	62 ± 9	Glucose and insulin levels, HOMA-IR, QUICKI	Significant decrease in glucose, insulin ($p = 0.01$), and HOMA-IR ($p = 0.001$); QUICKI increase ($p = 0.02$)
Javid et al. (2016) [36]	RCT double-blind	480 mg/day	4 weeks	43 subjects with T2DM and CP	50 ± 8	Glucose and insulin levels, HOMA-IR	Significant decrease in insulin and HOMA-IR levels ($p < 0.05$), non-significant decrease in glucose levels after resveratrol intervention
Kantartzis et al. (2018) [37]	RCT double-blind	150 mg/day	12 weeks	105 overweight and obese subjects	48 ± 13	Fasting blood glucose, HbA1c, HOMA-IR	No significant changes in evaluated parameters
Khodabandehloo et al. (2018) [38]	RCT double-blind	800 mg/day	2 months	45 subjects with T2DM	57 ± 9	Glucose and insulin levels, HbA1c, HOMA-IR, HOMA-β	Significant decrease in glucose levels ($p < 0.05$) in experimental group. No changes in HbA1c. No significant changes in insulin, HOMA-IR, and HOMA β levels
Kjaer et al. (2017) [39]	RCT double-blind	1,501,000 mg/day	16 weeks	66 subjects with MS	50 ± 1	Glucose and insulin levels, HOMA-IR	No change in glucose and insulin concentrations, no change in HOMA-IR
Méndez-del Villar et al. (2014) [40]	RCT double-blind	1.5 g/day	3 months	21 subjects with MS	40 ± 5	AUC of glucose and insulin, insulin index	Significant decrease in insulin AUC and insulin index ($p < 0.05$)
Movahed et al. (2013) [41]	RCT double-blind	1 g/day	45 days	64 subjects with T2DM	52 ± 7	Glucose and insulin levels, HOMA-IR, HOMA-β	Significant decrease ($p < 0.05$) in glucose, insulin, and HbA1c levels. Improvement of HOMA-IR and HOMA β in experimental group
Pollack et al. (2017) [42]	RCT double-blind crossover	2 g/day	6 weeks	30 overweight older adults with impaired glucose tolerance	67 ± 7	Glucose and insulin levels, AUC of glucose and insulin, HbA1c, HOMA-IR	No effect of resveratrol on glycemic parameters
Poulsen et al. (2013) [43]	RCT double-blind	500 mg/day	4 weeks	24 obese subjects	39 ± 3	Glucose and insulin levels, HbA1c, HOMA-IR	No changes in evaluated parameters

Table 1. Cont.

First Author (Year)	Study Design	RV Dosage	Duration	Subjects	Age	Evaluated Parameters	Findings
Sattarinezhad et al. (2019) [44]	RCT double-blind	500 mg/day	3 months	60 subjects with T2DM and albuminuria	57 ± 9	Glucose and insulin levels, HbA1c, HOMA-IR	Significant decrease in evaluated parameters in experimental group ($p < 0.05$)
Seyyedebrahimi et al. (2018) [45]	RCT double-blind	800 mg/day	8 weeks	46 subjects with T2DM	58 ± 6	Glucose and insulin levels, HbA1c, HOMA-IR	No significant changes after resveratrol intervention
Thaung et al. (2020) [46]	RCT double-blind	150 mg/day	12 months	129 postmenopausal women	64 ± 1	Glucose and insulin levels, HOMA-IR	No significant changes in evaluated parameters
Thazhath et al. (2016) [47]	RCT double-blindcrossover	1 g/day	5 weeks	14 subjects with T2DM	68 ± 2	Glucose and HbA1c	No significant changes in glucose and HbA1c levels
Timmers et al. (2016) [48]	RCT double-blindcrossover	150 mg/day	4 weeks	16 subjects with T2DM	64 ± 4	Glucose and insulin levels, insulin sensitivity, HbA1c	No effect of resveratrol on glycemic parameters
Van der Made et al. (2015) [49]	RCT double-blindcrossover	150 mg/day	4 weeks	45 overweight and obese subjects	61 ± 7	Glucose and insulin levels, HOMA-IR	No changes in HOMA-IR and insulin levels. Glucose levels showed a tendency to decrease

Abbreviations: AUC, area under curve; CD, coronary disease; CP, chronic periodontitis; HbA1c, glycated hemoglobin; HOMA- β , insulin resistance of pancreatic cell β ; HOMA-IR, insulin resistance; MS, metabolic syndrome; NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease; POS, polycystic ovary syndrome; RCT, randomized clinical trials; T2DM, type 2 diabetes mellitus; and QUICKI, Quantitative Insulin Sensitivity Check Index.

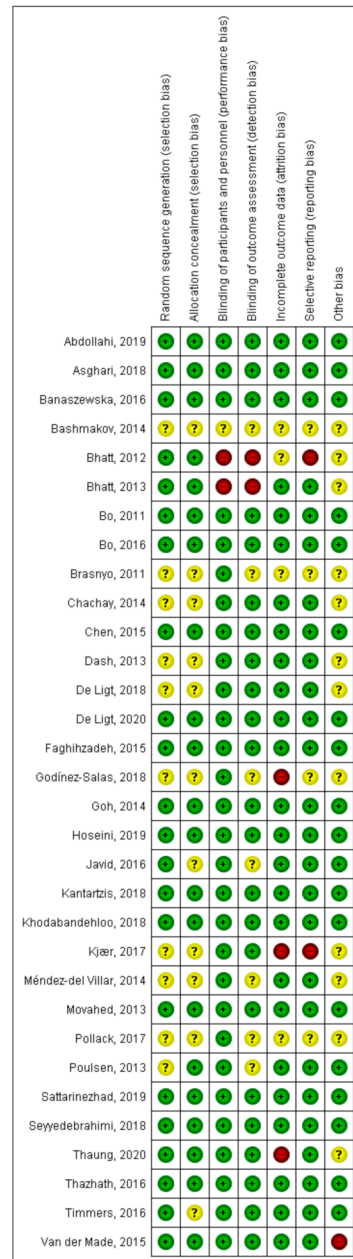


Figure 2. Assessment of the risk of bias and methodological quality of clinical trials included. Most clinical trials display a low risk of bias.

3.3. Meta-Analysis

Thirty articles that reported 32 effect sizes were included for the meta-analysis that evaluated the effect of RV on glucose levels, 24 publications with 26 effect sizes for insulin, 16 articles with 17 effect sizes of RV on HbA1c, and 26 studies with 28 effect sizes on HOMA-IR. There was a statistically significant decrease of glucose (-5.24 mg/dL, $p = 0.002$; Figure 3) and insulin levels (-1.23 mIU/L, $p = 0.0003$; Figure 4). HbA1c (Figure 5) and HOMA-IR (Figure 6) did not show significant changes. Due to the considerable heterogeneity of the included studies, sub-analyzes were performed (Table 2). Sub-analysis by dose revealed that glucose levels improve significantly after the administration of 500–1000 mg/day of RV (-7.54 mg/dL, $p = 0.002$), while insulin improves with doses lower than 500 mg/day (-1.43 mIU/L, $p = 0.01$) and with doses greater than 1000 mg/day (-2.12 mIU/L, $p = 0.03$). HbA1c and HOMA-IR remained unchanged after sub-analysis by dose.

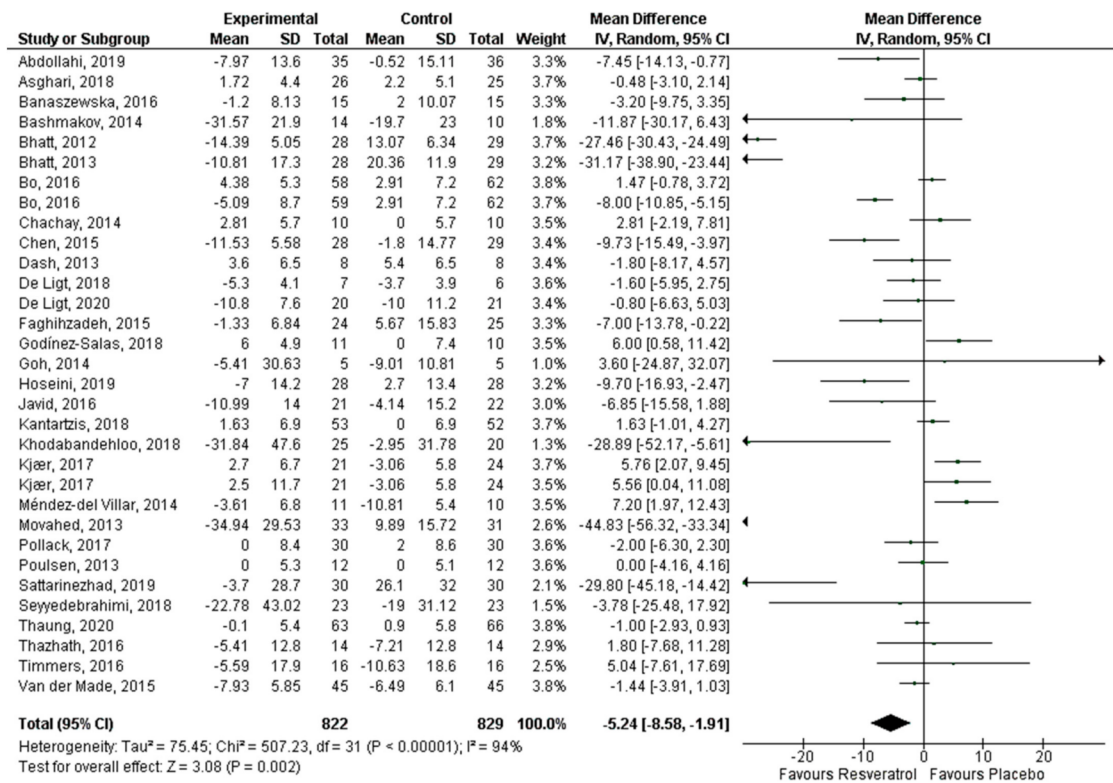


Figure 3. Effect of resveratrol on glucose levels.

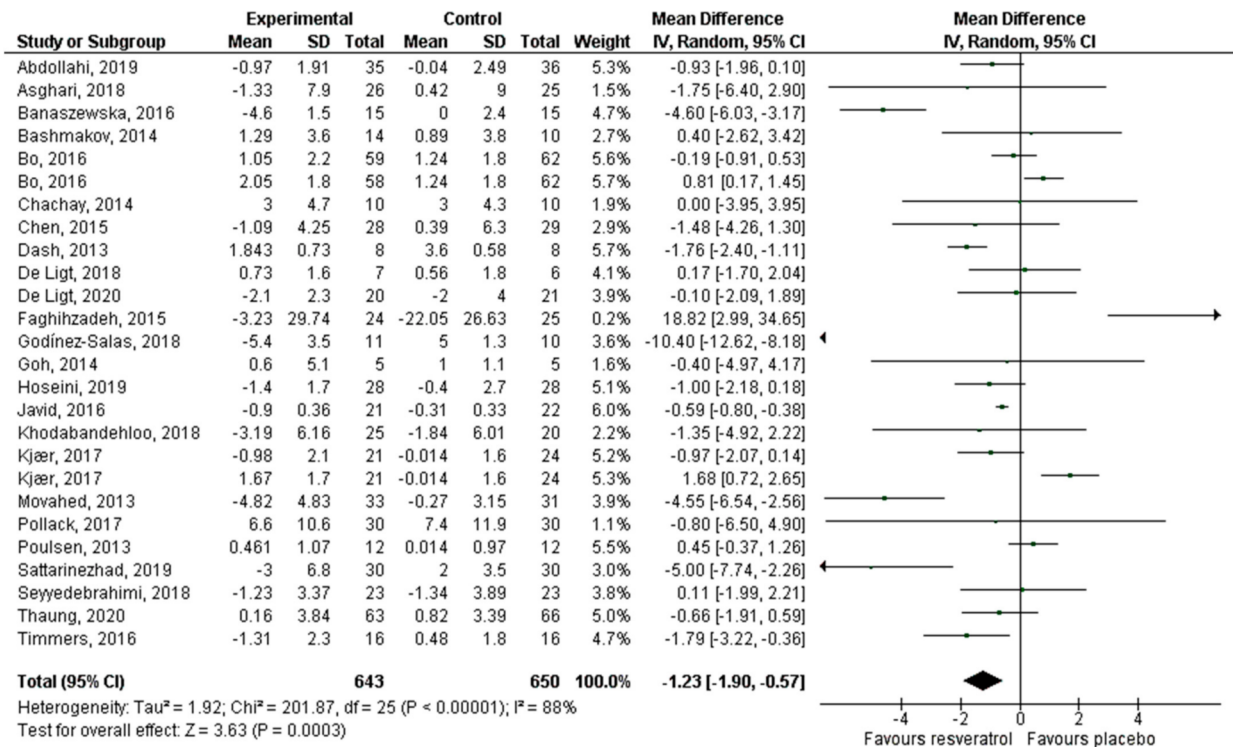


Figure 4. Effect of resveratrol on insulin levels.

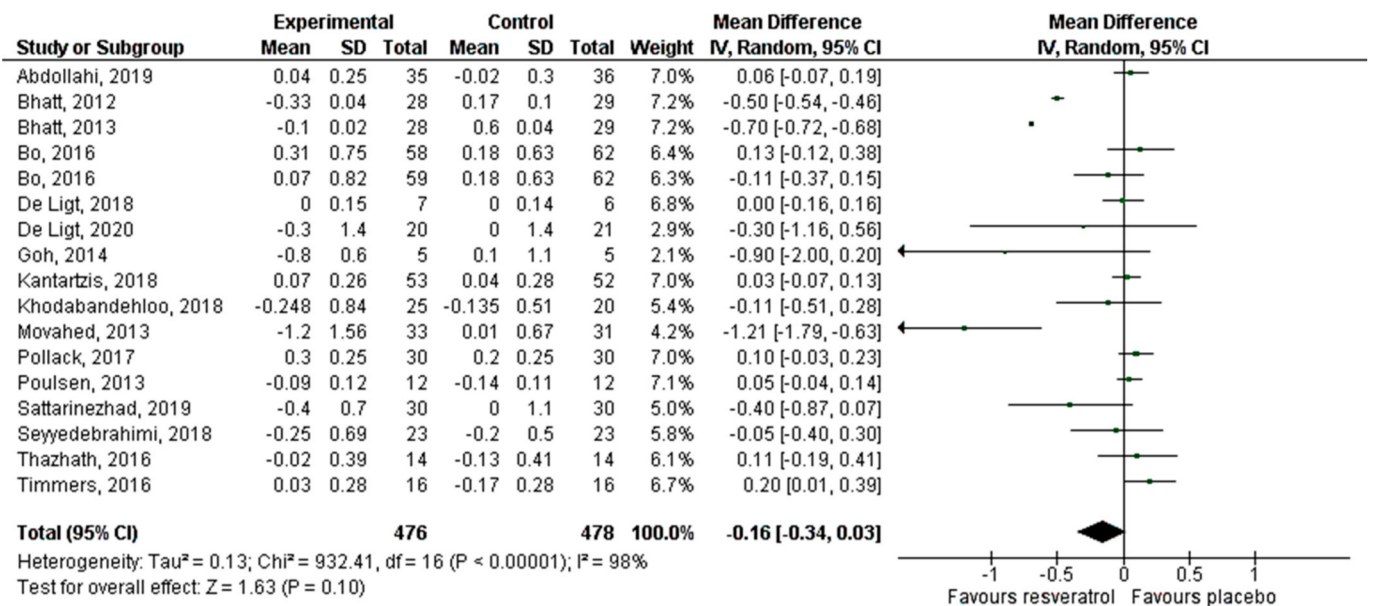


Figure 5. Effect of resveratrol on HbA1c.

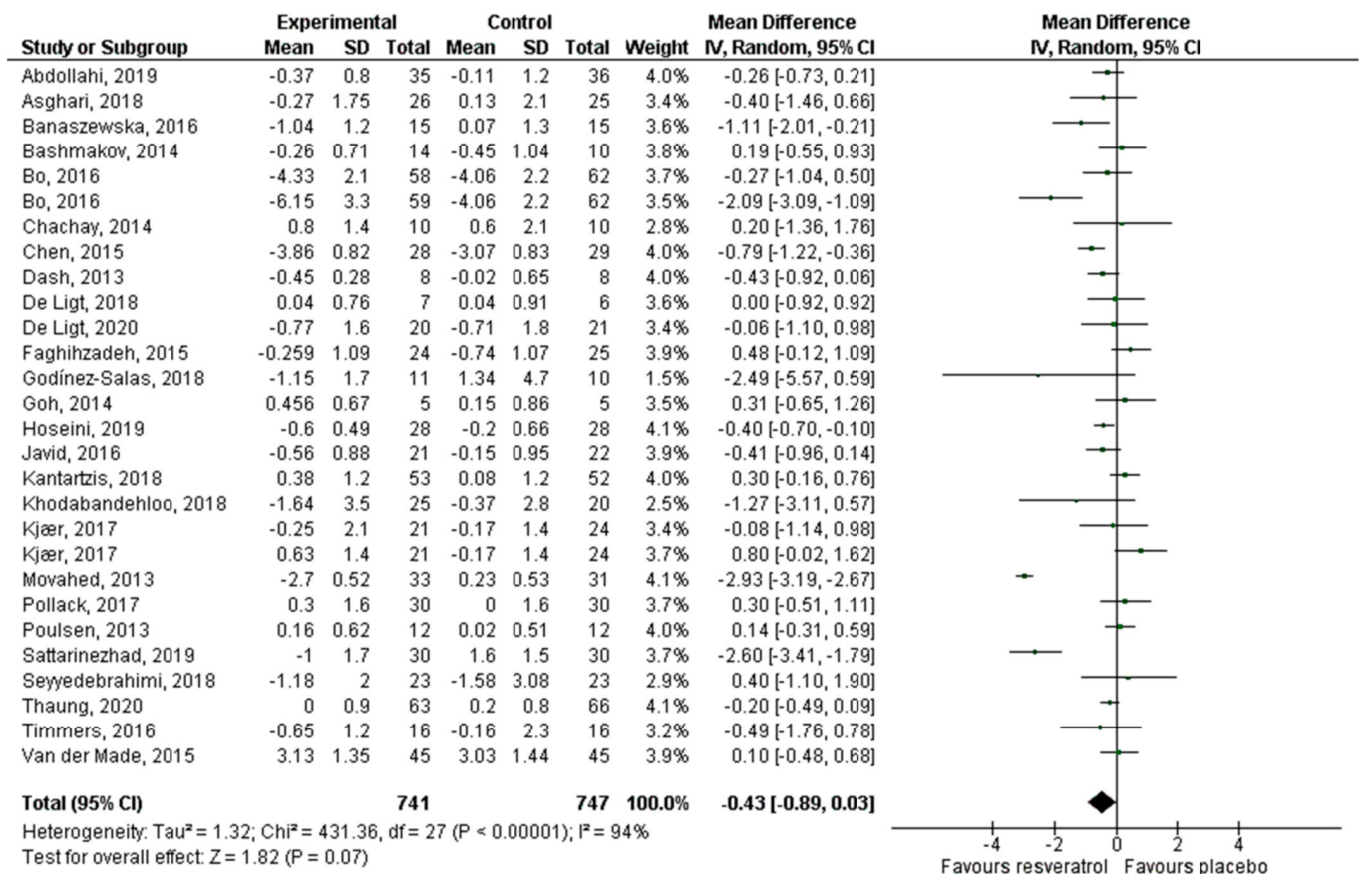


Figure 6. Effect of resveratrol on HOMA-IR.

Table 2. Subgroup analysis conducted to evaluate the hypoglycemic effect of resveratrol.

Subgroup	No. of Trials	Effect Size	95% CI	p Value	Heterogeneity (I ²)	p Value for I ²
Glucose						
Resveratrol dosage (I² = 76%; p = 0.01)						
<500 mg/day	13	−5.40	−11.29, 0.49	0.07	97%	0.00001
500–1000 mg/day	13	−7.54	−12.29, −2.79	0.002	89%	0.00001
>1000 mg/day	6	0.82	−2.78, 4.42	0.66	51%	0.00001
Health status (I² = 91%; p = 0.0008)						
With T2DM	15	−13.36	−21.09, −5.63	0.0007	96%	0.00001
Without T2DM	17	0.18	−1.52, 1.89	0.83	67%	0.0001
Duration (I² = 0%; p = 0.89)						
<3 months	15	−5.29	−9.20, −1.39	0.008	81%	0.00001
≥3 months	17	−4.83	−9.75, 0.09	0.05	96%	0.00001
Age (I² = 66%; p = 0.05)						
<45 years	6	0.08	−4.08, −4.24	0.97	79%	0.0002
45–59 years	16	−11.04	−19.0, −3.07	0.007	96%	0.00001
≥60 years	10	−2.06	−4.39, 0.27	0.08	73%	0.0001
Insulin						
Resveratrol dosage (I² = 0%; p = 0.44)						
<500 mg/day	9	−1.43	−2.53, −0.32	0.01	90%	0.00001
500–1000 mg/day	12	−0.78	−1.85, 0.30	0.16	83%	0.00001
>1000 mg/day	5	−1.23	−1.90, −0.57	0.03	73%	0.006
Health status (I² = 0%; p = 0.57)						
With T2DM	12	−0.94	−1.62, −0.25	0.007	77%	0.00001
Without T2DM	14	−1.39	−2.80, 0.01	0.05	91%	0.00001
Duration (I² = 0%; p = 0.38)						
<3 months	13	−0.93	−1.53, −0.33	0.002	69%	0.0001
≥3 months	13	−1.65	−3.15, −0.16	0.03	93%	0.00001
Age (I² = 42%; p = 0.18)						
<45 years	5	−3.60	−7.65, 0.46	0.08	96%	0.00001
45–59 years	13	−0.97	−1.82, −0.12	0.02	82%	0.00001
≥60 years	8	−0.32	−1.01, 0.36	0.35	57%	0.02
HbA1c						
Resveratrol dosage (I² = 0%; p = 0.56)						
<500 mg/day	7	−0.20	−0.42, 0.02	0.08	99%	0.00001
500–1000 mg/day	8	−0.06	−0.21, 0.10	0.48	69%	0.002
>1000 mg/day	2	−0.25	−1.18, 0.69	0.61	68%	0.08
Health status (I² = 87%; p = 0.005)						
With T2DM	12	−0.22	−0.40, −0.04	0.02	97%	0.00001
Without T2DM	5	0.05	−0.01, 0.10	0.11	0%	0.78
Duration (I² = 0%; p = 0.38)						
<3 months	9	0.02	−0.08, 0.13	0.66	64%	0.004
≥3 months	8	−0.29	−0.50, −0.08	0.006	98%	0.00001
Age (I² = 85%; p = 0.001)						
<45 years	1	0.05	−0.04, 0.14	0.29	—	—
45–59 years	9	−0.34	−0.54, −0.13	0.002	98%	0.00001
≥60 years	6	0.07	0, 0.15	0.05	0	0.48
HOMA-IR						
Resveratrol dosage (I² = 0%; p = 0.62)						
<500 mg/day	11	−0.22	−0.55, 0.11	0.19	57%	0.01
500–1000 mg/day	12	−0.60	−1.44, 0.24	0.16	97%	0.00001
>1000 mg/day	5	−0.22	−0.74, 0.30	0.42	46%	0.11
Health status (I² = 64%; p = 0.10)						
With T2DM	12	−0.83	−1.68, −0.02	0.04	96%	0.00001
Without T2DM	16	−0.08	−0.33, 0.17	0.54	55%	0.004
Duration (I² = 0%; p = 0.83)						
<3 months	14	−0.36	−1.11, 0.39	0.35	96%	0.00001
≥3 months	14	−0.45	−0.91, 0.00	0.05	83%	0.00001
Age (I² = 0%; p = 0.70)						
<45 years	5	−0.57	−1.19, 0.04	0.07	68%	0.01
45–59 years	14	−0.39	−1.25, 0.47	0.38	96%	0.00001
≥60 years	9	−0.28	−0.60, 0.03	0.08	55%	0.02

Abbreviations: CI, confidence interval; HbA1c, glycated hemoglobin; HOMA-IR, insulin resistance (homeostatic model); and T2DM, type 2 diabetes mellitus.

In the sub-analysis by health status, we found that the four parameters evaluated improve significantly after the administration of RV in subjects with T2DM (effect size on glucose = −13.36 mg/dL, $p = 0.0007$; effect size on insulin = −0.94 mIU/L, $p = 0.007$; effect size

on HbA1c = -0.22% , $p = 0.02$; effect size of HOMA-IR = -0.83 , $p = 0.04$). The sub-analysis by duration (<3 months or ≥ 3 months) revealed that glucose levels decrease significantly after RV administration for <3 months (-5.29 mg/dL, $p = 0.008$). Insulin levels improve regardless of the duration of the intervention (effect size at <3 months = -0.93 mIU/L, $p = 0.002$; effect size at ≥ 3 months = -1.65 mIU/L, $p = 0.03$). HbA1c improves significantly (effect size = -0.29% , $p = 0.006$) in interventions lasting ≥ 3 months. HOMA-IR is not significantly modified, regardless of the duration of the intervention.

Finally, the sub-analysis by age revealed that glucose, insulin, and HbA1c levels significantly improve in subjects aged 45 to 59 years who use RV (effect size on glucose = -11.04 mg/dL, $p = 0.007$; effect size on insulin = -0.97 , $p = 0.02$; effect size on HbA1c = -0.34% , $p = 0.002$). However, HOMA-IR exhibited no significant changes.

4. Discussion

Currently, the incidence of NCDs, such as obesity, diabetes, cardiovascular diseases (CVD), and metabolic syndrome (MS), is increasing and according to the World Health Organization (WHO), is the main cause of death worldwide. The uncontrolled increase in NCDs is related to unhealthy lifestyles, such as diets rich in carbohydrates and fat, sedentary lifestyles, and tobacco and alcohol consumption [50–54]. For this reason, the main strategies applied for the prevention and control of these pathologies focus on achieving a change in lifestyles and improving therapeutic adherence in the population at risk [55–57]. However, it is well-known that the proposed strategies have not been entirely successful and the search for new therapeutic agents has been necessary, among which nutraceuticals stand out. These compounds have aroused great interest among the scientific community, including phenolic acids, stilbenes, flavonoids, lignans, and curcuminoids, which have been the object of multiple investigations aimed at understanding their role in preventing diseases and increasing longevity [58–60]. In this sense, RV has been widely studied. Some research suggests that its use is associated with a lower incidence and better control of a wide variety of NCDs. This occurs due to the antioxidant capacity of RV and its interaction with cell signaling pathways for the modulation of gene expression. However, other investigations show the lack of a therapeutic effect of this nutraceutical [19,22–25,27,29,33–35,61–63]. This means that researchers need to continue conducting clinical trials and analyzing existing ones to identify the efficacy and safety of RV as a complementary treatment for NCDs.

This meta-analysis contains 30 articles that study the effects of RV supplementation vs. a placebo on glucose, insulin, HbA1c, and insulin resistance (measured by the HOMA-IR index). These biochemical parameters are important for evaluating the prevention and control of metabolic diseases such as T2DM, obesity, nonalcoholic fatty liver, and MS. For this reason, they are the main biomarkers of outcome in most clinical trials evaluating the effectiveness of RV.

Our global results show that RV supplementation vs. a placebo decreases glucose and insulin levels, but has no therapeutic effect on HbA1c and HOMA-IR, which is contrary to what was found in the meta-analysis by Hausenblas et al. [64], who observed a significant decrease in HbA1c, without a considerable effect on glucose levels. In addition to this, in the study carried out by Jeyaraman et al. [65], they found that RV did not significantly improve HbA1c, glucose, and insulin levels.

Among the biochemical parameters most used in research, due to their reliability in evaluating the therapeutic efficacy of different nutraceuticals in the control of metabolic diseases, are HbA1c, insulin resistance (calculated by the HOMA-IR index), fasting glucose, and insulin. On the one hand, HbA1c is formed when glucose binds to an amino group of the β chain of hemoglobin through a non-enzymatic reaction that is influenced by the concentration of glucose in the blood, so that a state of hyperglycemia is manifested as a high percentage of HbA1c [66]. On the other hand, it is known that insulin is the most important regulator in glucose and lipid metabolism, so insulin resistance is a distinctive feature of obesity, T2DM, and cardiovascular diseases [67].

The evidence from our meta-analysis shows that RV consumption does not improve HbA1c and insulin resistance, since, in most of the included studies, there were no significant changes in these parameters. Given the above, our results suggest that RV administration is not effective for prolonged glycemic control (around 90–120 days). However, there is considerable heterogeneity between the studies, which is attributed to the wide variation of RV dosage, duration of administration, and number of participants. Furthermore, some studies were at risk of bias in selection and blinding, due to the open and single-blind design [23,26,29,30,39,43,46,48].

Considering the general results and the influence of heterogeneity, a subgroup analysis was performed, stratifying the publications included by dose, health status, duration of intervention, and age of the participants.

4.1. Sub-Analysis by RV Dosage

After performing the stratified analysis by dose, a positive and statistically significant effect of RV on glucose levels was found at doses of 500–1000 mg/day, while the effect of RV on insulin was significant after consuming doses of less than 500 mg/day and greater than 1000 mg/day. In the systematic review and meta-analysis carried out by Zhu et al. [68], they found that, at doses of less than 100 mg/day, there are no changes in glucose levels, but higher doses (even 1 g) are capable of decreasing glucose levels, which partially coincides with our results. This is due to the fact that Zhu et al. only included subjects with T2DM, while in our study, subjects with and without T2DM were included. It has been shown that the efficacy of RV may differ according to the administered dose, because the molecular target changes. In addition, it has been proposed that RV could have a dose–response effect (hormesis), so, at low doses, it triggers a stimulating response of some metabolic pathways, and at high doses, it causes the inhibition of the same pathways [69].

SIRT1 is known to play an important role in AMPK activation to improve mitochondrial function and stimulate glucose utilization, as well as protect cells against metabolic decline. In this regard, both in vitro and in vivo studies have shown that moderate doses of RV activate SIRT1 and this, in turn, activates AMPK. In contrast, high doses activate AMPK independently of SIRT1, but do not improve mitochondrial function or protect against metabolic deterioration [70]. It has also been observed that in murine models, low doses of RV improve the insulin sensitivity and decrease its secretion by parts of the pancreatic β cells in the long term, while high doses have the same effect in the short term; however, high doses of RV cause nephrotoxicity [71].

In our meta-analysis, we found that high and low doses of RV exert similar effects on insulin levels. However, the variability in the duration of the interventions and in the health conditions of the participants does not allow us to establish if this result is due to the biological effects of RV occurring in a dose-dependent manner or a consequence of the metabolic conditions of cells, since, depending on the cellular needs, RV activates different molecules and signaling pathways, which translates into different biological effects [7,8]. In addition, it should be emphasized that changes in insulin levels after RV administration, although statistically significant, do not necessarily represent a clinically important change. Due to this, it is necessary to carry out more research on the biological effects of RV to determine if these are presented in a dose-dependent manner in humans, since, so far, many of the results in animal models have not been reproduced in humans. For this reason, it is very difficult to propose a therapeutic dose of RV.

Regarding the insulin resistance markers (HOMA-IR) and HbA1c, in this review, no significant changes were observed in these parameters, which, in addition to being consistent among most of the publications included, coincides with that reported by Zhu et al. [68].

4.2. Sub-Analysis by Health Condition

According to the analysis by the presence or absence of T2DM, we observed that RV consumption had a positive effect on the four measured parameters (glucose, insulin,

HOMA-IR, and HbA1c), in favor of the subjects with T2DM, which was consistent with the majority of the results from clinical trials conducted in diabetic subjects that were included in the meta-analysis (Abdollahi et al.; Bhatt et al.; Hoseini et al.; Javid et al.; Khodabandenhoo et al.; Movahed et al.; and Sattarinezhad et al.) [18,22,35,36,38,41,44]. They observed a significant decrease in glycemic control markers after RV consumption in diabetic subjects. These results are consistent with the meta-analysis by Liu et al. [72], where they found that RV consumption significantly reduced glucose, insulin, insulin resistance, and HbA1c levels in participants with T2DM.

The hypoglycemic effect of RV has been attributed to its antioxidant and anti-inflammatory properties. It is known that molecular targets include SIRT1, AMPK, nuclear factor kappa β , and transcription factor Nrf2, among others [73]. It has been demonstrated in several in vitro experiments and in vivo in diabetic animal models that RV increases glucose uptake, utilization, and storage, at the same time that it restores insulin signaling pathways and increases its sensitivity [74–76]. The proposed mechanisms are the following:

- Increases the expression of GLUT4 (an insulin-dependent glucose transporter) and improves glucose uptake;
- Activation of SIRT1, which modulates different metabolic pathways, as follows: (i) It deacetylates the FOXO 1 protein, inhibiting its activity and suppressing the apoptosis of pancreatic β cells; (ii) it reduces the expression of the nuclear factor kappa β , which translates into a decrease in the activity of inflammation markers and oxidative stress, responsible for the production of advanced glycation end products (AGE); (iii) it activates AMPK, which regulates various intracellular processes, such as energy metabolism, mitochondrial functions, and cellular homeostasis. AMPK inactivity is correlated with insulin resistance and tissue damage caused by hyperglycemia; and (iv) it activates FOXO 3 expression, thereby suppressing the production of reactive oxygen species and improving regulation in manganese superoxide dismutase (MnSOD) expression;
- Decreases the expression of the AGE receptor (RAGE) that contributes to insulin resistance by modifying its receptor proteins, by phosphorylating the serine/threonine segment, causing insulin resistance. Therefore, the decrease in the production and activity of AGE improves insulin signaling;
- Activation of factor Nrf2, which is a transcription factor that coordinates the activation of a wide range of genes of antioxidant systems, thereby increasing the activity of the antioxidant enzymes glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), superoxide dismutase (SOD), and catalase.

In the meta-analysis carried out by Liu et al. [72], non-diabetic subjects who consumed RV did not show a significant decrease in the glycemic control parameters. In this meta-analysis, we found similar results. The same has been reported in other investigations for healthy animal models [76]. In these studies, it has been observed that RV administration does not have a significant effect on glucose, the lipid profile, and the insulin sensitivity, although the cellular mechanisms are not entirely clear [9,11]. These results can be explained considering that, in normal physiological conditions, glucose and insulin concentrations are in an acceptable range. Therefore, there are no metabolic alterations and RV consumption does not activate the molecular targets or metabolic pathways that are affected due to the presence of T2DM. In this sense, the results suggest that RV does not cause hypoglycemia in healthy people, although more quality clinical trials are required to evaluate the effects of RV consumption in healthy people.

4.3. Sub-Analysis by Duration of Intervention

Analysis by duration of the intervention (studies with an intervention <3 months and studies with an intervention \geq 3 months) revealed a positive effect on glucose when the intervention was less than three months. HbA1c showed a significant decrease when the intervention had a duration of more than three months, while the effect on insulin was

positive in both interventions (<3 months and \geq 3 months). However, the HOMA-IR index had no significant effect regarding the duration of the intervention.

The discrepancy in glucose and HbA1c results is due to the serum glucose levels reflecting a very short period of glucose metabolism and being influenced by diet in the short term. In contrast, HbA1c reflects glucose metabolism for a period ranging from 90 to 120 days, which is why it is considered a highly reliable marker of long-term glycemic control. In this regard, the results of different clinical trials included in this meta-analysis show that the intervention time plays an important role in glycemic control. Abdollahi et al. [18] observed that the administration of 1 g/day of RV for 8 weeks is not enough to have a positive effect on HbA1C, despite lowering glucose levels, as did Thazhath et al. [47], who reported that 5 weeks of treatment with 1 g/day of RV has no effect on HbA1c levels in diabetic patients. On the other hand, Bhatt et al. [22] reported that 3 months of supplementation with 250 mg/day of RV significantly reduces HbA1c, while Sattarinezhad et al. [44] found that 500 mg/day of RV for 3 months triggers a significant decrease in HbA1C, insulin, and the HOMA-IR index.

Our results are consistent with the study by Timmers et al. [77] carried out in obese subjects. This study reported that RV consumption for a period of 30 days improves glucose homeostasis and insulin resistance because it mimics the effects of caloric restriction. Meanwhile, the meta-analysis carried out by Guo et al. [78], who evaluated the effects of VR intervention on risk factors for NCDs, showed that a 3-month intervention significantly reduces low-density lipoproteins (LDL-cholesterol) and HbA1c levels.

4.4. Sub-Analysis by Age

Three groups were formed according to the age of participants: Those (i) under 45 years old; (ii) from 45 to 59 years old; and (iii) over 60 years old. Significant changes in favor of RV were only presented for glucose, insulin, and HbA1c levels in the studies that included subjects aged 45 to 59 years, while the HOMA-IR index did not have significant changes in any group.

These results are in contrast to the findings of Crandall et al. [79] and Witte et al. [80], who found that RV administration in older adults improves the insulin sensitivity, plasma glucose, and glucose metabolism. However, in the clinical trials included in our meta-analysis, which were conducted in subjects under 45 years of age (Asghari et al.; Bo et al.; Godínez-Salas et al.; Poulsen et al. [19,25,33,43]), it was observed that glycemic control markers did not change. Moreover, among clinical trials with people older than 60 years, only Hoseini et al. [35] reported a significant change in glucose levels after an intervention with 500 mg/day of RV for 4 weeks. Most of the studies where the age of the participants ranged between 45 and 59 years found significant changes in the biomarkers of glycemic control, except those with low doses of RV (Kantartzis et al. [37]) or short intervention periods (Dash et al. [29]).

RV is a nutraceutical widely studied for the control of metabolic diseases due to its antioxidant and anti-inflammatory properties. Its role has been demonstrated in preclinical studies, but its effects in humans are controversial. This is probably due to its unfavorable pharmacokinetics and its low bioavailability, which could be influenced by the intestinal microbiota [81,82]. In addition, the genetic influence is an important factor for the individual response to RV [83]. RV has been shown to activate the expression of SIRT1, which is a histone deacetylase that plays a crucial role in glucose metabolism, lipids, the inflammatory process, and antioxidant defenses [74,75,84]. In vivo investigations have indicated that, in aging, the activity of SIRT1 is decreased [85], which could cause a poor response of the body to the administration of RV in older adults.

The controversy about the biological effects of RV in humans justifies the continuity of research, and it is necessary to know the efficacy and safety of RV in the prevention and treatment of high prevalence metabolic diseases, most of which are related to oxidative stress and inflammatory process. Another important factor to elucidate is the metabolic

pathways that it activates and how age, health status, dose, and time of treatment influence these.

4.5. Limitations

This meta-analysis was not registered in PROSPERO; however, the guidelines established in PRISMA were followed.

5. Conclusions

The findings of this meta-analysis suggest that RV significantly improves glucose and insulin levels in subjects with T2DM and aged 45–59 years, regardless of the duration of the intervention. Meanwhile, HbA1c improves significantly with interventions whose duration is greater than 3 months. Nevertheless, the insulin resistance measured by HOMA-IR does not display significant changes after RV administration. Regarding the dose used, the results do not allow a therapeutic dose to be suggested. Therefore, more clinical trials are required to identify how the RV dosage, duration of the interventions, health status, and age of the subjects influence the biological effects of RV, since, due to the heterogeneity presented by the available publications, the results are not conclusive. In this sense, it would be convenient to carry out studies that compare the effects of RV in young vs. old adults, in addition to studies comparing small vs. large doses. Long-term follow-up studies (>12 months) with intermediate measurements in the short and medium term (1, 3, 6, and 12 months, for example) could also be carried out, in order to observe and compare the effects of RV at different doses and durations. Finally, it is recommended that future clinical trials analyze and compare the results of subjects with different health conditions, such as diabetes, hypertension, dyslipidemias, and metabolic syndrome, since this will allow more clarity about the hypoglycemic efficacy of RV, as well as the proposal of a therapeutic dose, depending on the patient's conditions (age and health status). In addition to this, long-term research will be useful for obtaining data about the safety of this compound over long periods of time.

Author Contributions: Conceptualization, V.M.M.-N. and J.P.-C.; methodology, B.I.G.-M. and M.R.-R.; software, B.I.G.-M.; validation, E.S.-O. and V.M.M.-N.; formal analysis, B.I.G.-M. and M.R.-R.; investigation, E.S.-O. and J.P.-C.; resources, E.S.-O.; data curation, J.P.-C. and V.M.M.-N.; writing—original draft preparation, B.I.G.-M. and M.R.-R.; writing—review and editing, V.M.M.-N.; visualization, E.S.-O.; supervision, J.P.-C.; project administration, V.M.M.-N.; funding acquisition, M.R.-R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was supported by Dirección General de Asuntos del Personal Académico, Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA-UNAM) (PAPIIT IN308120); Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM; and Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Beca de Posgrado, CVU 706595), Programa para la Investigación Bibliográfica Científica sobre Salud (PIBCIS) de la FES Zaragoza, UNAM.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Appendix A. Studies Excluded from the Systematic Review and Meta-Analysis

Study	Reason for Exclusion
Abdollahi, et al. <i>BMJ</i> . 2019;9:e026337, doi:10.1136/bmjopen-2018-026337	It is a protocol
Asghari, et al. <i>Adv Phar Bull</i> . 2018, 8(2), 307–317, doi:10.15171/apb.2018.036	They do not evaluate glycemic parameters
Bo, et al. <i>Acta Diabetol</i> . 2018;55:331–3402018, doi:10.1007/s00592-017-1097-4	They do not report pre- and post-treatment means of glycemic parameters
Brenjian, et al. <i>Am J Reprod Immunol</i> . 2020;83:e13186, doi:10.1111/aji.13186	They do not evaluate glycemic parameters
Cao, et al. <i>Exp Ther Med</i> . 2018; 15: 576–584, doi:10.3892/etm.2017.5400	They do not evaluate glycemic parameters
Crandall, et al. <i>J Gerontol A Biol Sci Med Sci</i> . 2012;67:1307–1312, doi:10.1093/gerona/ glr235	It is a pilot study
Foroghi, et al. <i>IJEM</i> . 2018;20:169-176.	Language other than English
Gospin, et al. <i>J Investig Med</i> 2016;64:800–825, doi:10.1136/jim-2016-000080.35	Only abstract available
Huhn, et al. 2018. <i>NeuroImage</i> Doi:10.1016/j.neuroimage.2018.03.023	They use a combination of resveratrol with quercetin
Kjaer, et al. <i>The Prostate</i> . 2015;75:1255–1263, doi:10.1002/pros.23006	They do not evaluate glycemic parameters
Knop, et al. <i>Diabet Med</i> . 2013;61:1886 Doi:10.1111/dme.12231	They do not evaluate glycemic parameters
Köbe, et al. <i>Front. Neurosci</i> . 2017. 11:105. Doi:10.3389/fnins.2017.00105	They use a combination of resveratrol with quercetin
Konings, et al. <i>Int J Obes</i> . 2014;38:470–473. Doi:10.1038/ijo.2013.155	They do not evaluate glycemic parameters
Korsholm, et al. <i>Int. J. Mol. Sci</i> . 2017, 18, 554; doi:10.3390/ijms18030554	They do not evaluate glycemic parameters
Maginley, et al. <i>J Investig Med</i> . 2019;67:793, doi:10.1136/jim-2019-001036.20	Only abstract available
Mahmood, et al. <i>J. Pharm Sci Res</i> . 2018;10(5):999–1005.	They do not evaluate glycemic parameters
Milton-Laskibar, et al. <i>IUBMB</i> . 2016, doi:10.1002/biof.1347	Study carried out on animals
Most et al. <i>Am J Clin Nutr</i> 2016;104:215–27, doi:10.3945/ajcn.115.122937	They use a combination of resveratrol with epigallocatechin
Ornstrup, et al. <i>J Clin Endocrinol Metab</i> . 2014;99:4720–4729, doi:10.1210/jc.2014-2799	They do not evaluate glycemic parameters
Pankaj, et al. <i>Biochem Bioph Res Co</i> . 2015. 10.1016/j.bbrc.2015.10.126	Study carried out on animals
Poulsen, et al. <i>Diabetes Obes Metab</i> . 2018;20:2504–2509, doi:10.1111/dom.13409	They do not report pre- and post-treatment means of glycemic parameters
Theodotou, et al. <i>Exp Ther Med</i> . 2018; 18: 559–565, doi:10.3892/etm.2019.7607	The comparison group is not a placebo
Van der Made, et al. <i>Nutrients</i> . 2017;9:596, doi:10.3390/nu9060596	They do not evaluate glycemic parameters
Vatavuk-Serrati, et al. <i>Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo-Supl-2019;29(1):88–93</i>	Language other than English
Voduc, et al. <i>Appl. Physiol. Nutr. Metab</i> . 2014. 39:1183–1188. Doi.org/10.1139/apnm-2013-0547	It is a pilot study
Walker, et al. <i>J Clin Transl Res</i> . 2019;4:122–135. Doi:10.18053/jctres.04.201802.004	It is a pilot study
Wicklow, et al. <i>Biochem Cell Biol</i> . 2015; 93: 1–9, doi:/10.1139/bcb-2014-01362015	It is a protocol
Witte, et al. <i>J Neurosci</i> . 2014. 4(23):7862–7870, doi:10.1523/JNEURISCI.0385-14.2014	They use a combination of resveratrol with quercetin
Wong, et al. <i>Nutr Metabol Cardiovasc Dis</i> . 2016, doi:10.1016/j.numecd.2016.03.003	They use a single dose of RV
Wong, et al. <i>Nutrients</i> . 2016, 8, 425, doi:10.3390/nu8070425	They use a single dose of RV

References

1. Koushki, M.; Amiri-Dashatan, N.; Ahmadi, N.; Abbaszadeh, H.; Rezaei-Tavirani, M. Resveratrol: A miraculous natural compound for diseases treatment. *Food Sci. Nutr.* **2018**, *6*, 2473–2490. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Harikumar, K.B.; Aggarwal, B.B. Resveratrol: A multitarget agent for age-associated. *Cell Cycle* **2008**, *7*, 1020–1035. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Catalgol, B.; Batirel, S.; Taga, Y.; Ozer, N.K. Resveratrol: French paradox revisited. *Front. Pharmacol.* **2012**, *3*, 141. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Kopp, P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the “French paradox”? *Eur. J. Endocrinol.* **1998**, *138*, 619–620. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

5. Galiniak, S.; Aebisher, D.; Bartusik-Aebisher, D. Health benefits of resveratrol administration. *Acta Biochim. Pol.* **2019**, *66*, 13–21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Gambini, I.; Inglés, M.; Olaso, G.; López-Grueso, R.; Bonet-Costa, V.; Gimeno-Mallench, L.; Mas-Bargues, C.; Abdelaziz, K.M.; Gomez-Cabrera, M.C.; Vina, J.; et al. Properties of resveratrol: In vitro and in vivo studies about metabolism, bioavailability and biological effects in animal models and humans. *Oxid Med. Cell Longev.* **2015**, 837042. [[CrossRef](#)]
7. Britton, R.; Kooroor, C.; Brown, K. Direct molecular targets of resveratrol: Identifying key interactions to unlock complex mechanisms. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2015**, *1348*, 124–133. [[CrossRef](#)]
8. Kulkarni, S.S.; Cantó, C. The molecular targets of resveratrol. *Biochim. Biophys. Acta* **2015**, *1852*, 1114–1123. [[CrossRef](#)]
9. Rauf, A.; Imran, M.; Rasul, H.; Ahmad, B.; Peters, D.; Mubarak, M. A comprehensive review of the health perspectives of resveratrol. *Food Funct.* **2017**, *8*, 4284–4305. [[CrossRef](#)]
10. Tomé-Carneiro, J.; Larrosa, M.; González-Sarrías, A.; Tomás-Barberán, F.; García-Conesa, M.; Espín, J.C. Resveratrol and clinical trials: The crossroad from in vitro studies to human evidence. *Curr. Pharm. Des.* **2013**, *19*, 6064–6093. [[CrossRef](#)]
11. Muñoz, O.; Muñoz, R.; Bustamante, S. Pharmacological properties of resveratrol. A pre-clinical and clinical review. *Biochem. Pharmacol.* **2015**, *4*, 5. [[CrossRef](#)]
12. Ramírez-Garza, S.L.; Laveriano-Santos, E.P.; Marhuenda-Muñoz, M.; Storniolo, C.E.; Tresserra-Rimbau, A.; Vallverdú-Queralt, A.; Lamuela-Raventós, R.M. Health effects of resveratrol: Results from human intervention trials. *Nutrients* **2018**, *10*, 1892. [[CrossRef](#)]
13. Berman, A.Y.; Motechin, R.A.; Wiesenfeld, M.Y.; Holz, M.K. The therapeutic potential of resveratrol: A review of clinical trials. *NPJ Precis. Oncol.* **2017**, *1*, 1–9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Moher, D.; Liberati, A.; Tetzlaff, J.; Altman, D.G. The PRISMA Group. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Med.* **2009**, *6*, e1000097. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Sergi, C.; Chiu, B.; Feulefack, J.; Shen, F.; Chiu, B. Usefulness of resveratrol supplementation in decreasing cardiometabolic risk factors comparing subjects with metabolic syndrome and healthy subjects with or without obesity: Meta-analysis using multinational, randomised, controlled trials. *Arch. Med. Sci. Atheroscler. Dis.* **2020**, *5*, e98–e111. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Li, N.; Yue, H.; Jia, M.; Liu, W.; Qiu, B.; Hou, H.; Huang, F.; Xu, T. Effect of low-ratio n-6/n-3 PUFA on blood glucose: A meta-analysis. *Food Funct.* **2019**, *10*, 4557–4565. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Hozo, S.P.; Djulbegovic, B.; Hozo, I. Estimating the mean and variance from the median, range, and the size of a sample. *BMC Med. Res. Metodol.* **2005**, *5*, 13. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Abdollahi, S.; Salehi-Abargouei, A.; Toupchian, O.; Sheikha, M.H.; Fallahzadeh, H.; Rahmanian, M.; Tabatabaie, M.; Mozaffari-Khosravi, H. The effect of resveratrol supplementation on cardio-metabolic risk factors in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind controlled trial. *Phytother. Res.* **2019**, *33*, 3153–3162. [[CrossRef](#)]
19. Ashgari, S.; Ashgari-Jafarabadi, M.; Mohammad-Hosseini, S.; Seyed-Mostafa, G.; Rafrat, M. Comparison of calorie-restricted diet and resveratrol supplementation on anthropometric indices, metabolic parameters, and serum sirtuin-1 levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A randomized controlled clinical trial. *J. Am. Coll. Nutr.* **2018**, *37*, 223–233. [[CrossRef](#)]
20. Banaszewska, B.; Wrotynska-Barczynska, J.; Spaczynski, R.Z.; Pawelczyk, L.; Duleba, A.J. Effects of resveratrol on polycystic ovary syndrome: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2016**, *101*, 4322–4328. [[CrossRef](#)]
21. Bashmakov, Y.K.; Assaad-Khalil, S.H.; Abou, M.; Udumyan, R.; Megallaa, M.; Rohoma, K.H.; Zeitoun, M.; Petyaev, I.M. Resveratrol promotes foot ulcer size reduction in type 2 diabetes patients. *ISRN Endocrinol.* **2014**, *2014*, 816307. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Bhatt, J.K.; Thomas, S.; Nanjan, M.J. Resveratrol supplementation improves glycemic control in type 2 diabetes mellitus. *Nutr. Res.* **2012**, *32*, 537–541. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Bhatt, J.K.; Nanjan, M.J. Resveratrol supplementation in patients with type 2 diabetes mellitus: A prospective, open label, randomized controlled trial. *Int. Res. J. Pharm.* **2013**, *4*, 45–249. [[CrossRef](#)]
24. Bo, S.; Ponzio, V.; Ciccone, G.; Evangelista, A.; Saba, F.; Goitre, I.; Procopio, M.; Pagano, G.F.; Cassader, M.; Gambino, R. Six months of resveratrol supplementation has no measurable effect in type 2 diabetic patients. A randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Pharmacol. Res.* **2016**, *111*, 896–905. [[CrossRef](#)]
25. Bo, S.; Ciccone, G.; Castiglione, A.; Gambino, R.; De Micheli, F.; Villosio, D.P.M.; Cavallo-Perin, P.; Cassader, M. Anti-inflammatory and antioxidant effects of resveratrol in healthy smokers. A randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over trial. *Curr. Med. Chem.* **2011**, *20*, 1323–1331. [[CrossRef](#)]
26. Brasnyó, P.; Molnár, G.; Mohás, M.; Markó, L.; Laczy, B.; Cseh, J.; Mikolás, J.; Mikolás, I.A.; Mérei, A.; Halmai, R. Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. *Br. J. Nutr.* **2011**, *106*, 383–389. [[CrossRef](#)]
27. Chachay, V.S.; Macdonald, G.; Martin, J.H.; Whitehead, J.P.; O'Moore-Sullivan, T.; Lee, P.; Franklin, M.; Klein, K.; Taylor, P.; Ferguson, M. Resveratrol does not benefit patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2014**, *12*, 2092–2103. [[CrossRef](#)]
28. Chen, S.; Zhao, X.; Ran, L.; Wan, J.; Wang, X.; Qin, Y.; Shu, F.; Gao, Y.; Yuan, L.; Zhang, Q. Resveratrol improves insulin resistance, glucose and lipid metabolism in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A randomized controlled trial. *Dig. Liver Dis.* **2015**, *47*, 226–232. [[CrossRef](#)]
29. Dash, S.; Xiao, C.; Morgantini, C.; Szeto, L.; Lewis, G.F. High-dose resveratrol treatment for 2 weeks inhibits intestinal and hepatic lipoprotein production in overweight/obese men. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2013**, *33*, 2895–2901. [[CrossRef](#)]





30. De Ligt, M.; Bergman, M.; Mancilla, R.; Essers, H.; Moonen-Kornips, E.; Havekes, B.; Schrauwen-Hinderling, V.; Schrauwen, P. No effect of resveratrol supplementation after 6 months on insulin sensitivity in overweight adults: A randomized trial. *Am. J. Clin. Nutr.* **2020**, *112*, 1029–1038. [[CrossRef](#)]
31. De Ligt, M.; Bruls, Y.; Hansen, J.; Habets, M.F.; Havekes, B.; Nascimento, E.; Moonen-Kornips, E.; Schaart, G.; Schrauwen-Hinderling, V.; Lichtenbelt, W.; et al. Resveratrol improves ex vivo mitochondrial function but does not insulin sensitivity or brown adipose tissue in first degree relatives of patients with type 2 diabetes. *Mol. Metab.* **2018**, *12*, 39–47. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Faghihzadeh, F.; Adibi, P.; Hekmatdoost, A. The effects of resveratrol supplementation on cardiovascular risk factors in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Br. J. Nutr.* **2015**, *114*, 796–803. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Godínez-Salas, E.T.; Guevara-Cruz, M.; Villanueva-Luna, P.; Del Rocío Guizar-Heredia, M.; Torres, V.G.; Pichardo, O.E.; Nava, G.; Villalvazo, I.; Torres, N.; Tovar, A. Effect of the bioactive compounds genistein and resveratrol on insulin resistance in patients with metabolic syndrome. *FASEB J.* **2017**, *31*. [[CrossRef](#)]
34. Goh, K.P.; Lee, H.Y.; Lau, D.P.; Supaat, W.; Chan, Y.H.; Yung, A.F. Effects of resveratrol in patients with type 2 diabetes mellitus on skeletal muscle SIRT1 expression and energy expenditure. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2014**, *24*, 2–13. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Hoseini, A.; Namazi, G.; Farrokhan, A.; Reiner, Z.; Aghadavod, E.; Bahmania, F.; Asemi, Z. The effects of resveratrol on metabolic status in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease. *Food Funct.* **2019**, *10*, 6042–6051. [[CrossRef](#)]
36. Javid, A.Z.; Hormoznejad, R.; Yousefimanesh, H.A.; Zakerkish, M.; Haghighi-zadeh, M.H.; Dehghan, P.; Ravanbakhsh, M. The impact of resveratrol supplementation on blood glucose, insulin, insulin resistance, triglyceride, and periodontal markers in type 2 diabetic patients with chronic periodontitis. *Phytother. Res.* **2017**, *31*, 108–114. [[CrossRef](#)]
37. Kantartzis, K.; Fritsche, L.; Bombrich, M.; Machann, J.; Schick, F.; Staiger, H.; Kunz, I.; Schoop, R.; Lehn-Stefan, A.; Heni, M.; et al. Effects of resveratrol supplementation on liver fat content in overweight and insulin-resistant subjects: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Diabetes Obes. Metab.* **2018**, *20*, 1793–1797. [[CrossRef](#)]
38. Khodabandehloo, H.; Seyyedebrahimi, S.; Esfahani, E.N.; Razi, F.; Meshkani, R. Resveratrol supplementation decreases blood glucose without changing the circulating CD14+ CD16+ monocytes and inflammatory cytokines in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutr. Res.* **2018**, *54*, 40–51. [[CrossRef](#)]
39. Kjær, T.N.; Ornstrup, M.J.; Poulsen, M.M.; Stødkilde-Jørgensen, H.; Jessen, N.; Lunde, J.J.; Richelsen, B.; Pedersen, S. No beneficial effects of resveratrol on the metabolic syndrome: A randomized placebo-controlled clinical trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2017**, *102*, 1642–1651. [[CrossRef](#)]
40. Méndez-del Villar, M.; González-Ortiz, M.; Martínez-Abundis, E.; Pérez-Rubio, K.G.; Lizárraga-Valdez, R. Effect of resveratrol administration on metabolic syndrome, insulin sensitivity and insulin secretion. *Metab. Syndr. Relat. Disord.* **2014**, *12*, 497–502. [[CrossRef](#)]
41. Movahed, A.; Nabipour, I.; Lieben, X.L.; Thandapilly, S.J.; Yu, L.; Kalantarhormozi, M.; Rekabpour, S.; Netticadan, T. Antihyperglycemic effects of short-term resveratrol supplementation in type 2 diabetic patients. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* **2013**, *2013*, 851267. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Pollack, R.M.; Barzilay, N.; Anghel, V.; Kulkarni, A.S.; Golden, A.; O’Broin, P.; Sinclair, D.; Bonkowski, M.; Coleville, A.; Powell, D.; et al. Resveratrol improves vascular function and mitochondrial number but not glucose metabolism in older adults. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* **2017**, *72*, 1703–1709. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Poulsen, M.M.; Vestergaard, P.F.; Clasen, B.F.; Radko, Y.; Christensen, L.P.; Stødkilde-Jørgensen, H.; Møller, N.; Jessen, N.; Pedersen, S.; Jørgensen, J.O.L. High-dose resveratrol supplementation in obese men. An investigator-initiated, randomized, placebo-controlled clinical trial of substrate metabolism, insulin sensitivity, and body composition. *Diabetes* **2013**, *62*, 1186–1195. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Sattarinezhad, A.; Roozbeh, J.; Yeganeh, S.; Omrani, G.; Shams, M. Resveratrol reduces albuminuria in diabetic nephropathy: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Diabetes Metab.* **2019**, *45*, 53–59. [[CrossRef](#)]
45. Seyyedebrahimi, S.; Khodabandehloo, H.; Esfahani, E.N.; Meshkani, R. The effects of resveratrol on markers of oxidative stress in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Acta Diabetol.* **2018**, *55*, 341–353. [[CrossRef](#)]
46. Thaug, J.; Rowe, P.; Wong, R. Sustained cerebrovascular and cognitive benefits of resveratrol in postmenopausal women. *Nutrients* **2020**, *12*, 828. [[CrossRef](#)]
47. Thazhath, S.S.; Wu, T.; Bound, M.J.; Checklin, H.L.; Standfield, S.; Jones, K.L.; Horowitz, M.; Rayner, C.K. Administration of resveratrol for 5 wk has no effect on glucagon-like peptide 1 secretion, gastric emptying, or glycemic control in type 2 diabetes: A randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* **2016**, *103*, 66–70. [[CrossRef](#)]
48. Timmers, S.; De Ligt, M.; Phielix, E.; Van de Weijer, T.; Hansen, J.; Moonen-Kornips, E.; Schaart, G.; Kunz, I.; Hesselink, M.; Hinderling, V.; et al. Resveratrol as add-on therapy in subjects with well-controlled type 2 diabetes: A randomized controlled trial. *Diabetes Care* **2016**, *19*, 2211–2217. [[CrossRef](#)]
49. Van der Made, S.M.; Plat, J.; Mensink, R.P. Resveratrol does not influence metabolic risk markers related to cardiovascular health in overweight and slightly obese subjects: A randomized, placebo-controlled crossover trial. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0118393. [[CrossRef](#)]
50. Hales, C.M.; Carroll, M.D.; Fryar, C.D.; Ogden, C.L. *Prevalence of Obesity and Severe Obesity among Adults: United States, 2017–2018*; NCHS data brief, no 360; National Center for Health Statistics: Hyattsville, MD, USA, 2020.

51. Midway National Health and Nutrition Survey 2016. Final Results Report. Health: History of Chronic Diseases. Mexico. 2016. Available online: <https://www.gob.mx/ENSANUT> (accessed on 15 October 2020).
52. Padwal, R.S. Obesity, diabetes, and the metabolic syndrome: The global scourge. *Can. J. Cardiol.* **2014**, *30*, 467–472. [[CrossRef](#)]
53. Engin, A.B. What is lipotoxicity? In *Obesity and Lipotoxicity*; AEMB: Cham, Switzerland, 2017; Volume 960, pp. 197–220. [[CrossRef](#)]
54. World Health Organization. *Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2014*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2014. Available online: <https://www.who.int/nmh/publications/ncd-status-report-2014/en/> (accessed on 12 October 2020).
55. Balakumar, P.; Maung-U, K.; Jagadeesh, G. Prevalence and prevention of cardiovascular disease and diabetes mellitus. *Pharmacol. Res.* **2016**, *113*, 600–609. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. World Health Organization. *Global Action Plan for the Prevention and Control of NCDs 2013–2020*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2013. Available online: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241506236> (accessed on 12 October 2020).
57. Kontis, V.; Mathers, C.D.; Rehm, J.; Stevens, G.A.; Shield, K.D.; Bonita, R.; Ezzati, M. Contribution of six risk factors to achieving the 25×25 non-communicable disease mortality reduction target: A modelling study. *Lancet.* **2014**, *384*, 427–437. [[CrossRef](#)]
58. Cione, E.; La Torre, C.; Cannataro, R.; Caroleo, M.C.; Plastina, P.; Gallelli, L. Quercetin, epigallocatechin gallate, curcumin, and resveratrol: From dietary sources to human microRNA modulation. *Molecules* **2020**, *25*, 63. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Janabi, A.H.W.; Kamboh, A.A.; Saeed, M.; Xiaoyu, L.; BiBi, J.; Majeed, F.; Naveed, M.; Mughal, M.; Korejo, N.; Kamboh, R.; et al. Flavonoid-rich foods (FRF): A promising nutraceutical approach against lifespan-shortening diseases. *Iran. J. Basic Med. Sci.* **2020**, *23*, 140. [[CrossRef](#)]
60. Gollucke, A.P.; Peres, R.C.; Odair, A.; Ribeiro, D.A. Polyphenols: A nutraceutical approach against diseases. *Recent Pat. Food Nutr Agric.* **2013**, *5*, 214–219. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. Fujitaka, K.; Otani, H.; Jo, F.; Jo, H.; Nomura, E.; Iwasaki, M.; Nishikawa, M.; Iwasaka, T.; Das, D.K. Modified resveratrol Longevinex improves endothelial function in adults with metabolic syndrome receiving standard treatment. *Nutr. Res.* **2011**, *31*, 842–847. [[CrossRef](#)]
62. Magyar, K.; Halmosi, R.; Palfi, A.; Feher, G.; Czopf, L.; Fulop, A.; Szabados, E. Cardioprotection by resveratrol: A human clinical trial in patients with stable coronary artery disease. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* **2012**, *50*, 179–187. [[CrossRef](#)]
63. Patel, K.R.; Brown, V.A.; Jones, D.J.; Britton, R.G.; Hemingway, D.; Miller, A.S.; Brenner, D.E. Clinical pharmacology of resveratrol and its metabolites in colorectal cancer patients. *Cancer Res.* **2010**, *70*, 7392–7399. [[CrossRef](#)]
64. Hausenblas, H.A.; Schoulda, J.A.; Smoliga, J.M. Resveratrol treatment as an adjunct to pharmacological management in type 2 diabetes mellitus—systematic review and meta-analysis. *Mol. Nut. Food Res.* **2015**, *59*, 147–159. [[CrossRef](#)]
65. Jeyaraman, M.M.; Al-Yousif, N.S.; Mann, A.S.; Dolinsky, V.W.; Rabbani, R.; Zarychanski, R.; Abou-Setta, A.M. Resveratrol for adults with type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2020**. [[CrossRef](#)]
66. Welsh, K.J.; Kirkman, M.S.; Sacks, D.B. Role of glycated proteins in the diagnosis and management of diabetes: Research gaps and future directions. *Diabetes Care* **2016**, *39*, 1299–1306. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Singh, B.; Saxena, A. Surrogate markers of insulin resistance: A review. *World J. Diabetes* **2010**, *1*, 36–47. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Zhu, X.; Wu, C.; Qiu, S.; Yuan, X.; Li, L. Effects of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity in subjects with type 2 diabetes: Systematic review and meta-analysis. *Nutr. Metab.* **2017**, *14*, 60. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Calabrese, E.J.; Mattson, M.P.; Calabrese, V. Resveratrol commonly displays hormesis: Occurrence and biomedical significance. *Hum. Exp. Toxicol.* **2010**, *29*, 980–1015. [[CrossRef](#)]
70. Price, N.L.; Gomes, A.P.; Ling, A.J.; Duarte, F.V.; Martin-Montalvo, A.; North, B.J.; Hubbard, B.P. SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. *Cell Metab.* **2012**, *15*, 675–690. [[CrossRef](#)]
71. Mukherjee, S.; Dudley, J.L.; Das, D.K. Dose-dependency of resveratrol in providing health benefits. *Dose Response* **2010**, *8*, 478–500. [[CrossRef](#)]
72. Liu, K.; Zhou, R.; Wang, B.; Mi, M.T. Effect of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity: A meta-analysis of 11 randomized controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.* **2014**, *99*, 1510–1519. [[CrossRef](#)]
73. Oyenih, O.R.; Oyenih, A.B.; Adeyanju, A.A.; Oguntibeju, O.O. Antidiabetic effects of resveratrol: The way forward in its clinical utility. *J. Diabetes Res.* **2016**, *2016*, 9737483. [[CrossRef](#)]
74. Chang, C.C.; Chang, C.Y.; Wu, Y.T.; Huang, J.P.; Yen, T.H.; Hung, L.M. Resveratrol retards progression of diabetic nephropathy through modulations of oxidative stress, proinflammatory cytokines, and AMP-activated protein kinase. *J. Biomed. Sci.* **2011**, *18*, 1–10. [[CrossRef](#)]
75. Lagouge, M.; Argmann, C.; Gerhart-Hines, Z.; Meziane, H.; Lerin, C.; Daussin, F.; Geny, B. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α . *Cell* **2006**, *127*, 1109–1122. [[CrossRef](#)]
76. Juan, M.E.; Vinardell, M.P.; Planas, J.M. The daily oral administration of high doses of trans-resveratrol to rats for 28 days is not harmful. *J. Nutr.* **2002**, *132*, 257–260. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
77. Timmers, S.; Konings, E.; Bilet, L.; Houtkooper, R.H.; Van de Weijer, T.; Goossens, G.H.; Moonen-Kornips, E. Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. *Cell Metab.* **2011**, *14*, 612–622. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
78. Guo, X.F.; Li, J.M.; Tang, J.; Li, D. Effects of resveratrol supplementation on risk factors of non-communicable diseases: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2018**, *58*, 3016–3029. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

79. Crandall, J.P.; Oram, V.; Trandafirescu, G.; Reid, M.; Kishore, P.; Hawkins, M.; Cohen, H.W.; Barzilai, N. Pilot study of resveratrol in older adults with impaired glucose tolerance. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* **2012**, *67*, 1307–1312. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
80. Witte, A.V.; Kerti, L.; Margulies, D.S.; Flöel, A. Effects of resveratrol on memory performance, hippocampal functional connectivity, and glucose metabolism in healthy older adults. *J. Neurosci.* **2014**, *34*, 7862–7870. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
81. Walle, T.; Hsieh, F.; DeLegge, M.H.; Oatis, J.E.; Walle, U.K. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metab. Dispos.* **2004**, *32*, 1377–1382. [[CrossRef](#)]
82. Boocock, D.J.; Faust, G.E.; Patel, K.R.; Schinas, A.M.; Brown, V.A.; Ducharme, M.P.; Steward, W.P. Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **2007**, *16*, 1246–1252. [[CrossRef](#)]
83. Gambino, R.; Fanni, G.; Togliatto, G.; Ponzio, V.; Goitre, I.; Cassader, M.; Brizzi, M.F. Bo, S. Rs12778366 single nucleotide polymorphism of Sirtuin 1 (SIRT1) and response to resveratrol supplementation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* **2019**, *56*, 963–966. [[CrossRef](#)]
84. Cao, Y.; Jiang, X.; Ma, H.; Wang, Y.; Xue, P.; Liu, Y. SIRT1 and insulin resistance. *J. Diabetes Complicat.* **2016**, *30*, 178–183. [[CrossRef](#)]
85. Ramsey, K.M.; Mills, K.F.; Satoh, A.; Imai, S.I. Age-associated loss of Sirt1-mediated enhancement of glucose-stimulated insulin secretion in beta cell-specific Sirt1-overexpressing (BESTO) mice. *Aging Cell* **2008**, *7*, 78–88. [[CrossRef](#)]

Review

Influence of Age and Dose on the Effect of Resveratrol for Glycemic Control in Type 2 Diabetes Mellitus: Systematic Review and Meta-Analysis

Beatriz Isabel García-Martínez ¹, Mirna Ruiz-Ramos ¹, José Pedraza-Chaverri ², Edelmiro Santiago-Osorio ³
and Víctor Manuel Mendoza-Núñez ^{1,*}

¹ Research Unit on Gerontology, FES Zaragoza, National Autonomous University of Mexico, Mexico City 09230, Mexico

² Department of Biology, Faculty of Chemistry, National Autonomous University of Mexico (UNAM), Mexico City 04510, Mexico

³ Hematopoiesis and Leukemia Laboratory, Research Unit on Cell Differentiation and Cancer, FES Zaragoza, National Autonomous University of Mexico, Mexico City 09230, Mexico

* Correspondence: mendovic@unam.mx

Abstract: Background: Several clinical trials have suggested that resveratrol has hypoglycemic properties; however, there are other studies in which such an effect has not been observed. Methods: We carried out a systematic search in several databases; seventeen studies were selected for the systematic review and fifteen were included in the meta-analysis. Results: Resveratrol decreases glucose levels in subjects aged 45–59 years at doses <250 mg/day (−8.64 mg/dL, $p < 0.00001$), 250–500 mg/day (−22.24 mg/dL, $p = 0.0003$), and 500–1000 mg/day (−28.40 mg/dL, $p = 0.0008$), while in subjects older than 60 years, it only decreases with doses of 250–500 mg/day. Likewise, HbA1c improved in subjects aged 45–59 years with doses of 250–500 mg (−0.60%, $p < 0.00001$), but not in subjects older than 60 years. Insulin levels improved in subjects aged 45–59 years with doses < 250 mg/day (−0.80 mIU/L, $p = 0.0003$) and doses of 250–500 mg/day (−5.0 mIU/L, $p = 0.0003$), although in subjects older than 60 years, they only improved with doses of 250–500 mg/day (−1.79 mIU/L, $p = 0.01$). On the other hand, HOMA-IR only improved in subjects older than 60 years with doses of 250–500 mg/day (−0.40, $p = 0.01$). Conclusions: Resveratrol has a statistically significant dose–response effect on glucose concentrations, HbA1c, and insulin levels; however, there is not enough scientific evidence to propose a therapeutic dose.

Keywords: resveratrol; glucose; glycated hemoglobin; insulin resistance; dose; age



Citation: García-Martínez, B.I.; Ruiz-Ramos, M.; Pedraza-Chaverri, J.; Santiago-Osorio, E.; Mendoza-Núñez, V.M. Influence of Age and Dose on the Effect of Resveratrol for Glycemic Control in Type 2 Diabetes Mellitus: Systematic Review and Meta-Analysis. *Molecules* **2022**, *27*, 5232. <https://doi.org/10.3390/molecules27165232>

Academic Editor: Mamoru Isemura

Received: 30 June 2022

Accepted: 13 August 2022

Published: 16 August 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) represents a serious public health problem worldwide owing to its high prevalence among the adult population. T2DM triggers the appearance of micro and macrovascular complications, making it necessary to implement complementary therapeutic strategies to decrease blood glucose levels [1,2]. In this sense, the therapeutic usefulness of naturally occurring compounds with hypoglycemic properties has been investigated, among which resveratrol (RV) stands out [3]. Antioxidant, anti-inflammatory, and hypoglycemic effects are attributed to RV, because it has been observed that, in cell cultures and in animal models, it improves insulin sensitivity and reduces blood glucose [4,5]. It has been proposed that RV could improve pancreatic β -cell functionality by protecting them from oxidative damage and decreasing the production of pro-inflammatory cytokines in the islets of Langerhans, restoring β -cell secretory functions and normalizing insulin secretion [6,7]. In this sense, several clinical trials have suggested that RV increases insulin sensitivity and decreases blood glucose levels in subjects with T2DM, and the same effect has been observed in subjects with insulin resistance [8,9]. However, there are other clinical

trials in which the therapeutic effects of RV have not been observed. These inconsistencies have been attributed to the low bioavailability of the compound and to the wide range of doses used, as doses from 5 mg to 5000 mg/day have been used [8]. Likewise, age relative to aging is a factor that influences effectiveness, as biological reserve and efficiency decrease with aging, so inflammation and oxidative stress increase significantly as age increases from the fifth decade of life [10,11].

In accordance with the above, in a systematic review and meta-analysis previously published by our research team, we found that, after oral administration of RV, glucose, insulin, HbA1c, and HOMA-IR levels decrease in subjects with T2DM; however, the age-related effective dose could not be ascertained [12]. In this regard, it has been proposed that the dose of RV plays a crucial role, because, according to the biological mechanism of hormesis, an antioxidant or pro-oxidant effect could be present depending on the dose administered [13,14]. This type of inverse response to varied doses administered to the same individual has been observed with various drugs, allowing the therapeutic doses to be specified based on the desired effect, which can be beneficial or harmful because both are possible depending on the situation [15,16]. This biphasic response rules out dose linearity and response threshold models, helping to establish the therapeutic use of different drugs [17,18]. Given this, it has been suggested that RV could trigger opposite responses depending on the dose used, a phenomenon that has been observed with other nutraceuticals, such as vitamins C and E, which, at low doses, act as antioxidants, but at high doses, act as pro-oxidants [19]. Regarding age, our previously published systematic review found that age could also influence the therapeutic effects of RV. In this regard, it was found that, in individuals under 60 years old, RV significantly decreases glucose, insulin, and HbA1c levels, which was not observed in subjects over 60 years old [12]. In this context, it is well-known that physiological function declines with aging, which arises as a result of the interaction of several cellular and molecular mechanisms, such as oxidative stress, inflammation, and cellular senescence, among others, whose processes interact additively and even synergistically, and thereby alter the normal functioning of cells, with subsequent damage to tissues, organs, and systems [20,21].

An aging-related alteration occurs in the gastrointestinal system, where the number of functional intestinal epithelial cells decreases significantly as a result of molecular alterations that induce cell senescence or apoptosis, significantly affecting the gastrointestinal absorption of substances, including drugs and nutraceuticals such as RV. This would directly impact the effects it exerts, so higher doses than those indicated for young people would be required to reach the blood concentration with a therapeutic effect in older adults [21,22]. On the other hand, higher doses of RV are also required in older subjects because of the large number of altered pathways that occur during the aging process, which could include one or more RV target molecules, causing a large portion of RV to be consumed and leaving a small amount to exert hypoglycemic effects [21].

Considering the above, the purpose of this systematic review and meta-analysis is to present a synthesis of knowledge on the differentiated effect of RV considering dose and age on the glycemic control of T2DM.

2. Results

2.1. Literature Search

A total of 1958 records were identified from databases and 400 from other sources (Figure 1). Duplicate records (261 records identified from databases and 15 records from other sources) were eliminated, and after a review of titles and abstracts, those that did not meet the selection criteria were discarded. The number of eligible records from the databases was 32, while 54 potentially includable records were selected from other sources. Documents were retrieved from the 86 preselected records, as shown in Figure 1. After a detailed review of the full text, 16 documents were excluded from databases (Appendix A) and 53 from other sources (Appendix B), leaving only 17 studies that were included in the systematic review; however, two studies were excluded from the meta-analysis owing to insufficient data.

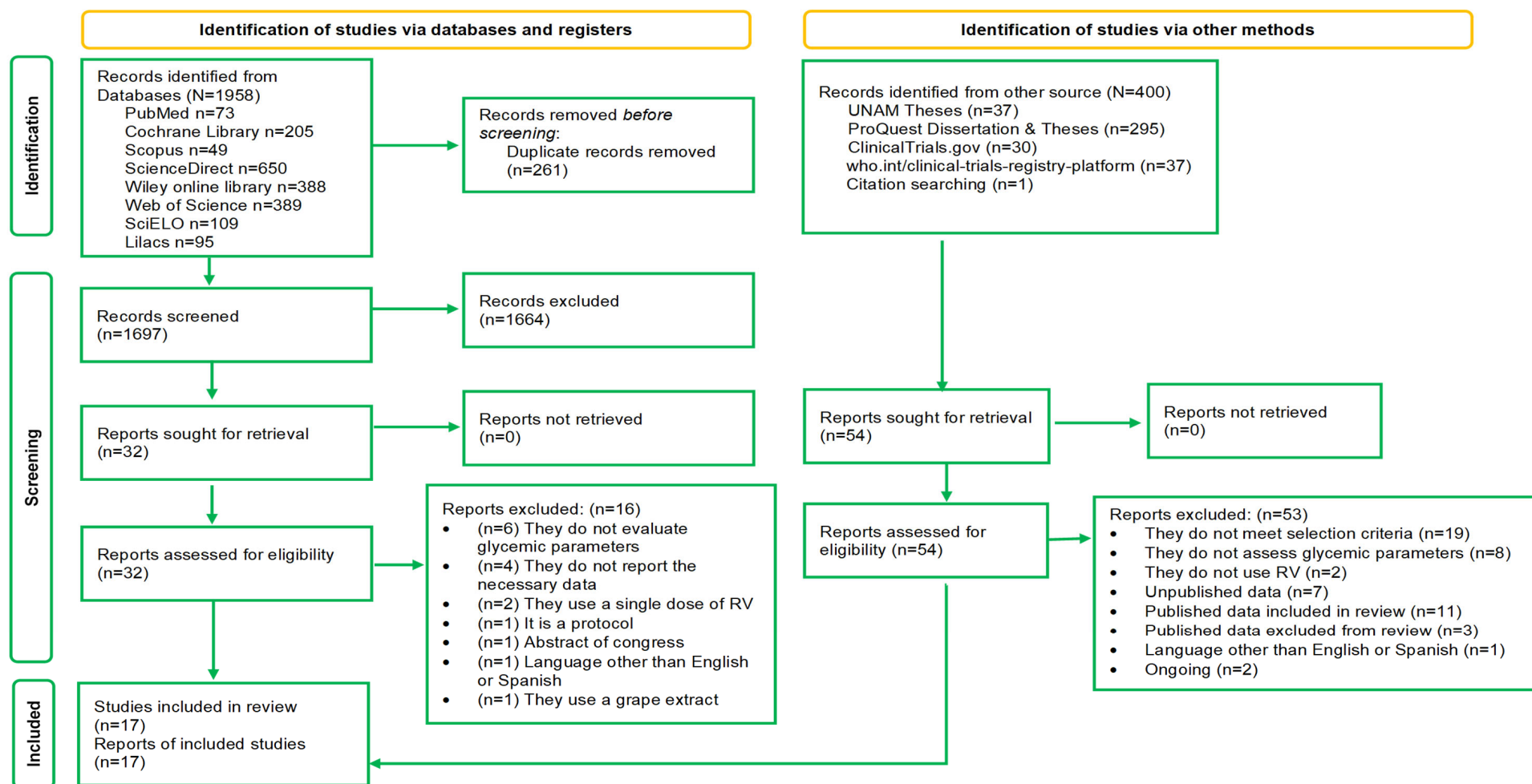


Figure 1. Study selection flow chart.

2.2. Study Characteristics

Among the included studies, 12 had a double-blind parallel design, 2 were double-blind crossover, 1 had a parallel-blind design, and 2 were open-label. The number of individuals with T2DM included in the systematic review and meta-analysis was 921, aged between 50 and 68 years. The minimum number of subjects included in each study was 10 and the maximum was 179; the minimum dose of RV was 10 mg/day and the maximum was 3 g/day. The duration of the interventions ranged from 4 weeks to 6 months. Table 1 summarizes the characteristics of the studies included in the systematic review and certainty assessment (GRADE). Figure 2 presents the general result of the risk of bias assessment.

Study ID	D1	D2	D3	D4	D5	Overall	
Abdollahi, 2019	+	+	+	+	+	+	+
Bashmakov, 2014	!	-	!	-	!	-	!
Bhatt, 2012	-	!	+	-	!	-	-
Bhatt, 2013	-	!	+	-	!	-	
Bo, 2016	+	+	+	+	+	+	D1 Randomisation process
Brasnyo, 2011	!	-	+	-	!	-	D2 Deviations from the intended interventions
Goh, 2014	+	+	+	+	+	+	D3 Missing outcome data
Hoseini, 2019	+	+	+	+	+	+	D4 Measurement of the outcome
Imamura, 2017	-	!	+	-	!	-	D5 Selection of the reported result
Javid, 2016	+	+	!	+	+	!	
Khodabandehloo, 2018	+	!	+	+	+	+	
Mahjabeen, 2022	!	+	+	!	+	!	
Movahed, 2013	+	+	+	+	+	+	
Sattarinezhad, 2019	+	+	+	+	+	+	
Seyyedebrahimi, 2018	+	+	+	+	+	+	
Thazhath, 2016	+	+	+	+	!	+	
Timmers, 2016	!	+	+	!	+	!	

Figure 2. Assessment of the risk of bias (Robins-2 Beta version, Cochrane) [23–39].

Table 1. Characteristics of clinical trials included in the review.

First Author (Year)	Study Design	Intervention	Population	Glycemic Parameters	Findings	Certainty
<i>Subjects 45–59 years old</i>						
Brasnyó et al. (2011) [23]	RCT double-blind	10 mg/day 4 weeks	19 men with T2DM 55 ± 9 years old	Insulin levels and HOMA-IR,	No changes in insulin levels, tendency to decrease of HOMA-IR after RV administration	⊕○○○ Very low
Bashmakov et al. (2014) [24]	RCT parallel-blind	100 mg/day 8 weeks	24 subjects with diabetic food 56 ± 9 years old	Glucose e insulin levels, HOMA-IR	Non-significant decrease of glucose in both study groups. No changes in insulin and HOMA-IR.	⊕○○○ Very low
Imamura et al. (2017) [25]	RCT double-blind	100 mg/day 3 months	50 subjects with T2DM 57 ± 10 years old	Glucose levels and HbA1c	Non-significant changes after intervention	⊕○○○ Very low
Mahjabeen et al. (2022) [26]	RCT double-blind	200 mg/day 24 weeks	110 subjects with T2DM 50 ± 11 years old	Glucose and insulin levels, HbA1c and HOMA-IR	Significant decrease in glucose and HbA1c ($p < 0.05$). Significant decrease in insulin and HOMA-IR ($p = 0.001$)	⊕⊕⊕○ Moderate
Bhatt et al. (2012) [27]	RCT open-label	250 mg/day 3 months	57 subjects with T2DM 57 ± 9 years old	Glucose levels and HbA1c	Significant decrease in HbA1c ($p < 0.05$) after RV administration	⊕⊕○○ Low
Bhatt et al. (2013) [28]	RCT open-label	250 mg/day 6 months	57 subjects with T2DM 57 ± 9 years old	Glucose levels and HbA1c	Non-significant decrease in HbA1c and glucose levels	⊕⊕○○ Low
Javid et al. (2016) [29]	RCT double-blind	480 mg/day 4 weeks	43 subjects with T2DM and CP 50 ± 8 years old	Glucose and insulin levels, HOMA-IR	Significant decrease in insulin and HOMA-IR ($p < 0.05$). No significant changes in glucose levels	⊕⊕⊕○ Moderate
Khodabandenhoo et al. (2018) [30]	RCT double-blind	800 mg/day 8 weeks	45 subjects wit T2DM 57 ± 9 years old	Glucose and insulin levels, HbA1c, HOMA-IR	Significant decrease in glucose levels ($p < 0.05$). No significant changes in HbA1c, insulin levels, and HOMA-IR	⊕⊕○○ Low
Seyyedebrahimi et al. (2018) [31]	RCT double-blind	800 mg/day 8 weeks	46 subjects with T2DM 58 ± 6 years old	Glucose and insulin levels, HbA1c and HOMA-IR	Non-significant changes after RV administration	⊕⊕○○ Low

Table 1. Cont.

First Author (Year)	Study Design	Intervention	Population	Glycemic Parameters	Findings	Certainty
Abdollahi et al. (2019) [32]	RCT double-blind	1 g/day 8 weeks	71 subjects with T2DM and overweight 50 ± 7 years old	Glucose and insulin levels, HbA1c, HOMA-IR	Significant decrease in glucose ($p = 0.03$) and insulin levels ($p = 0.02$), improvement in HOMA-IR ($p = 0.01$). No significant changes in HbA1c	⊕⊕⊕○ Moderate
Movahed et al. (2013) [33]	RCT double-blind	1 g/day 45 days	64 subjects with T2DM 52 ± 7 years old	Glucose and insulin levels, HbA1c and HOMA-IR	Significant decrease in glucose, insulin and HbA1c levels ($p < 0.05$). Improvement in HOMA-IR after RV administration	⊕⊕○○ Low
Goh et al. (2014) [34]	RCT double-blind	3 g/day 3 months	10 subjects with TD2M 56 ± 6 years old	Glucose and insulin levels, HbA1c, HOMA-IR	Tendency to decrease in HbA1c; no significant changes in HOMA-IR. No changes in glucose and insulin levels	⊕⊕⊕○ Moderate
Sattarinezhad et al. (2019) [35]	RCT double-blind	500 mg/day 3 months	60 subjects with T2DM and albuminuria 57 ± 9 years old	Glucose and insulin levels, HbA1c and HOMA-IR	Significant decrease in glucose, insulin and HbA1c levels ($p < 0.05$). Improvement in HOMA-IR after RV administration	⊕⊕⊕○ Moderate
<i>Subjects > 60 years old</i>						
Timmers et al. (2016) [36]	RCT double-blind cross-over	150 mg/day 4 weeks	16 subjects with T2DM 64 ± 4 years old	Glucose and insulin levels, HbA1c	Non-significant changes after RV administration	⊕⊕○○ Low
Bo et al. (2016) [37]	RCT double-blind	40, 500 mg/day 6 months	179 subjects with T2DM 65 ± 8 years old	Glucose and insulin levels, HOMA-IR, HbA1c	Non-significant changes between study groups	⊕⊕⊕○ Moderate
Hoseini et al. (2019) [38]	RCT double-blind	500 mg/day 4 weeks	56 subjects with T2DM and CD 62 ± 9 years old	Glucose and insulin levels, HOMA-IR	Significant decrease in glucose and insulin levels ($p = 0.01$) and HOMA-IR ($p = 0.001$)	⊕⊕⊕○ Moderate
Thazhath et al. (2016) [39]	RCT double-blind cross-over	1 g/day 5 weeks	14 subjects with T2DM 68 ± 2 years old	Glucose levels and HbA1c	Non-significant changes in glucose and HbA1c	⊕⊕○○ Low

Abbreviations: CD, coronary disease; CP, chronic periodontitis; HbA1c, glycated hemoglobin; HOMA-IR, insulin resistance; RCT, randomized clinical trial; RV, resveratrol; T2DM, type 2 diabetes mellitus.

2.3. Meta-Analysis

Fifteen effect sizes on glucose concentrations, 12 effect sizes on HbA1c, 11 effect sizes on insulin levels, and 11 effect sizes on HOMA-IR were included in the meta-analysis. To evaluate the influence of the age of the participants and the dose of RV used on its therapeutic effect, analyses stratified by dose of RV and age of the participants were carried out (Table 2). In addition, a combined analysis by age and dose was performed, owing to the heterogeneity found in the included studies. In the analysis by dose, the included studies were categorized into four groups: (i) doses < 250 mg/day, (ii) doses of 250–500 mg/day; (iii) doses > 500–1000 mg/day; and (iv) doses > 1000 mg/day. The results suggest that glucose concentrations and HbA1c percentage decrease significantly if doses of 250–500 mg/day are administered (-20.72 mg/dL, $p < 0.0001$; -0.42% , $p < 0.001$). Meanwhile, insulin levels improve with RV doses < 250 mg/day (-1.22 mIU/L, $p < 0.0001$). HOMA-IR remained unchanged. Additionally, dose–response regression analyses were performed to assess the effect of the daily dose of RV on serum levels of glucose, insulin, HbA1c, and HOMA-IR (Appendix C), in which we observed a statistically significant relationship between the dose of RV with HbA1c ($R^2 = 0.22$, $p < 0.05$).

Table 2. Analysis to evaluate the influence of age and dose on the effect of RV in T2DM.

Subgroup	No. of Trials	Effect Size	95% CI	<i>p</i> -Value	Heterogeneity (I^2)	<i>p</i> -Value for I^2
Glucose -14.13 ($-20.90, -7.36$) $p < 0.0001$						
RV dosage ($I^2 = 58\%$; $p = 0.07$)						
<250 mg/day	4	-5.41	$-12.74, 1.93$	0.15	42%	0.16
250–500 mg/day	5	-20.72	$-30.62, -10.83$	<0.0001	90%	<0.00001
>500–1000 mg/day	5	-16.40	$-34.05, 1.25$	0.07	91%	<0.00001
>1000 mg/day	1	3.60	$-24.87, 32.07$	0.80	----	----
Age ($I^2 = 84\%$; $p = 0.01$)						
45–59 years	12	-17.73	$-25.93, -9.54$	<0.0001	95%	<0.00001
≥ 60 years	3	-2.00	$-11.29, 7.28$	0.67	64%	0.06
HbA1c -0.27 ($-0.44, -0.10$) $p = 0.002$						
RV dosage ($I^2 = 78\%$; $p = 0.003$)						
<250 mg/day	4	-0.04	$-0.27, 0.19$	0.72	77%	0.005
250–500 mg/day	3	-0.58	$-0.76, -0.39$	<0.0001	98%	0.00001
>500–1000 mg/day	4	-0.26	$-0.71, 0.19$	0.25	81%	0.001
>1000 mg/day	1	-0.90	$-2.00, 0.20$	0.11	----	----
Age ($I^2 = 95\%$; $p = 0.0001$)						
45–59 years	10	-0.37	$-0.54, -0.20$	<0.0001	96%	0.0001
≥ 60 years	2	0.17	0.01, 0.34	0.04	0%	0.62
Insulin -1.36 ($-2.03, -0.68$) $p < 0.0001$						
RV dosage ($I^2 = 0\%$; $p = 0.92$)						
<250 mg/day	4	-1.22	$-1.73, -0.71$	<0.0001	0%	0.56
250–500 mg/day	3	-1.55	$-3.08, -0.03$	0.05	81%	0.00
>500–1000 mg/day	3	-1.99	$-5.19, 1.21$	0.22	80%	0.006
>1000 mg/day	1	-0.40	$-4.97, 4.17$	0.86	----	----

Table 2. Cont.

Subgroup	No. of Trials	Effect Size	95% CI	p-Value	Heterogeneity (I ²)	p-Value for I ²
Age (I² = 0%; p = 0.92)						
45–59 years	9	−1.39	−2.21, −0.56	0.001	73%	0.0003
≥60 years	2	−1.32	−2.23, −0.41	0.005	69%	<0.0001
HOMA-IR −0.77 (−1.60, 0.06) p = 0.07						
RV dosage (I² = 26%; p = 0.26)						
<250 mg/day	3	−0.41	−1.10, 0.29	0.25	63%	0.07
250–500 mg/day	3	−1.08	−2.16, 0.01	0.05	92%	0.00001
>500–1000 mg/day	4	−1.06	−2.95, 0.83	0.27	97%	0.00001
>1000 mg/day	1	0.31	−0.65, 1.26	0.53	----	----
Age (I² = 0%; p = 0.41)						
45–59 years	9	−0.84	−1.83, 0.15	0.10	96%	0.00001
≥60 years	2	−0.40	−0.70, −0.11	0.007	0%	0.89

Abbreviations: CI, confidence interval; HbA1c, glycated hemoglobin; HOMA-IR, insulin resistance (homeostatic model); RV, resveratrol.

The analysis carried out according to the age of the participants reveals that glucose concentrations, percentage of HbA1c, and insulin levels improve significantly in subjects between 45 and 59 years ($p < 0.01$); insulin levels also improve significantly in individuals 60 years and over, while HOMA-IR decreases significantly in individuals aged 60 years and over ($p = 0.007$), despite the fact that no changes are observed globally.

Finally, in the combined analysis by age and dose, we observed that, from doses lower than 250 mg and up to 1000 mg of RV, glucose levels decrease in subjects between 45 and 59 years and the effect is more evident at doses of 500–1000 mg (<250 mg: -8.64 mg/dL, $p < 0.0001$, 250–500 mg: -22.24 mg/dL, $p = 0.0003$, 500–1000 mg: -28.40 , $p = 0.0008$). We also found that HbA1c decreased significantly using doses of 250–500 mg in individuals aged 45–59 years (-0.60% , $p < 0.00001$); and insulin levels decrease by administering doses < 250 mg and between 250 and 500 mg of RV in subjects aged 45–59 years (-0.80 mIU/L, $p = 0.0003$; -5.0 mIU/L, $p < 0.0003$), while in people 60 years and over, it decreases only with doses < 250 mg/day. Regarding HOMA-IR, even though the global result does not show RV effects, in the combined analysis by age and dose, we observed that insulin resistance decreases in subjects 60 years and over (-0.40 , $p = 0.01$) using a 250–500 mg RV dose. Egger's test did not show the presence of publication bias.

3. Discussion

T2DM is a health problem that requires immediate attention given its high prevalence in the population, which highlights the need to design strategies that allow delaying the appearance of micro and macrovascular complications that accompany it [40,41]. For this reason, nutraceutical compounds with antioxidant and anti-inflammatory properties have been used to attenuate OS and the inflammation that occurs in people with T2DM and slow down the development of cardiovascular diseases [42–44]. Among the nutraceutical compounds, RV stands out, a polyphenol that has been extensively studied to evaluate its antioxidant and anti-inflammatory capacity, as well as hypoglycemic capacity [45]. In the last decade, several clinical trials have been carried out to evaluate the therapeutic efficacy of RV in glycemic control; however, the results are controversial [46,47].

In the present systematic review and meta-analysis, the effect of RV supplementation on markers of glycemic control in subjects with T2DM was evaluated. We found that glucose levels decrease considerably after oral administration of RV, in agreement with the meta-analyses of Zhang et al. (2021) [48] and Liu et al. (2014) [49], as well as with the results previously found by our research group [12]. Our results suggest that RV significantly

improves the percentage of HbA1c, which coincides with Hausenblas et al. (2015) [50], who, after performing a meta-analysis, found that RV exerts a beneficial effect on the percentage of HbA1c in diabetic subjects. Similarly, we observed that the administration of RV has a beneficial impact on insulin levels, although it does not modify insulin resistance—partially similar results to those observed by Liu et al. (2014) [49], whose meta-analysis showed that RV consumption significantly reduces glucose and insulin concentrations, in addition to decreasing the HbA1c percentage and improving insulin resistance in diabetic subjects.

Despite the above, our conclusions are opposed to the results of the meta-analysis carried out by Jeyaraman et al. (2020) [51]. They found that RV does not exert beneficial effects on glucose, HbA1c, and insulin levels. These conflicting results are probably due to the difference between the number of studies included by Jeyaraman et al. (2020) [51] and our research team (3 vs. 15), a situation that results from the disparity in the employee selection criteria, with ours being broader, as occurs in the meta-analyses carried out by Hausenblas et al. (2015) [50] and Liu et al. (2014) [49].

To meet the proposed objectives, it was necessary for the analyses of the different glycemic markers to be stratified by dose and age of the participants (Table 2), in addition to performing a combined analysis by age and dose of RV, as shown in Figures 3–6.

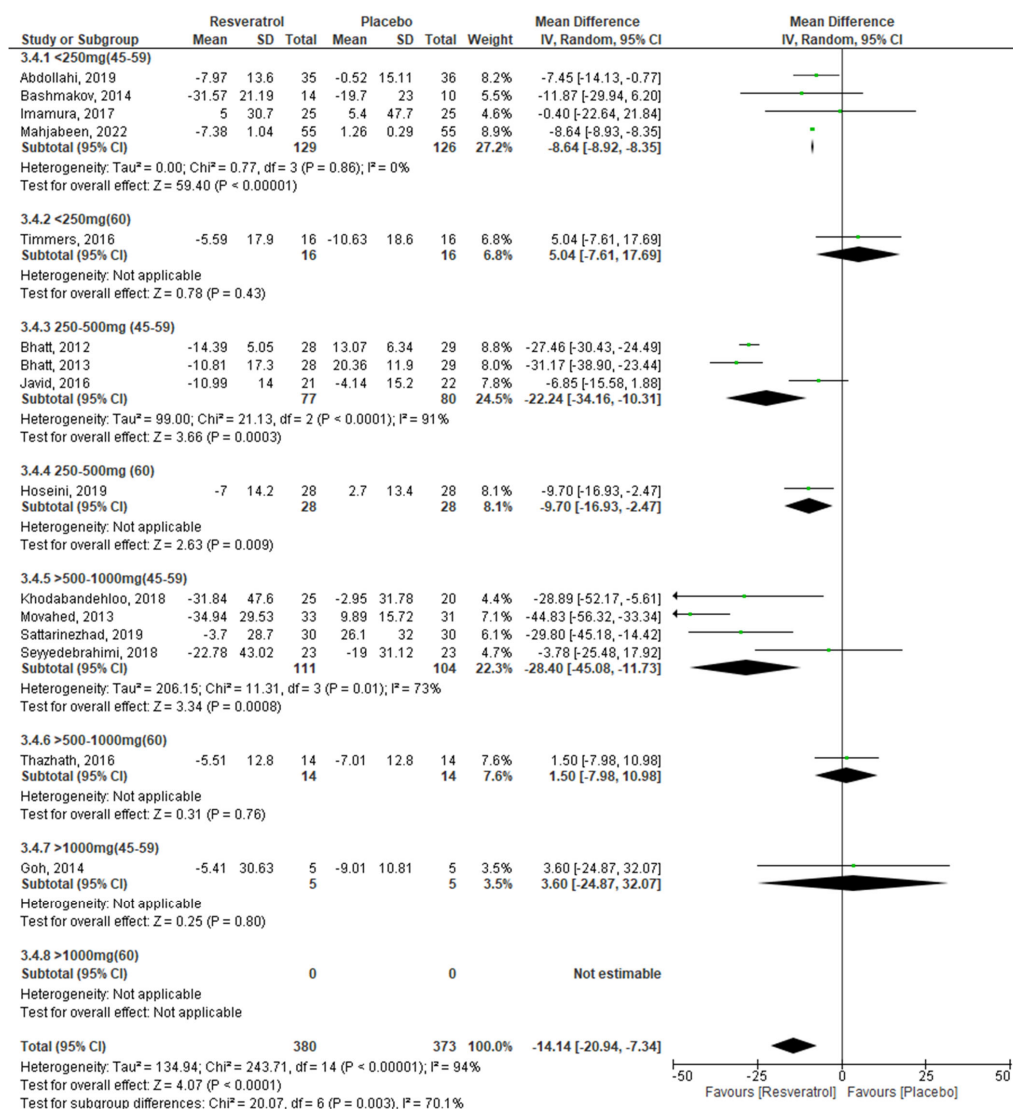


Figure 3. Effect of RV on glucose, stratified by age and dose.

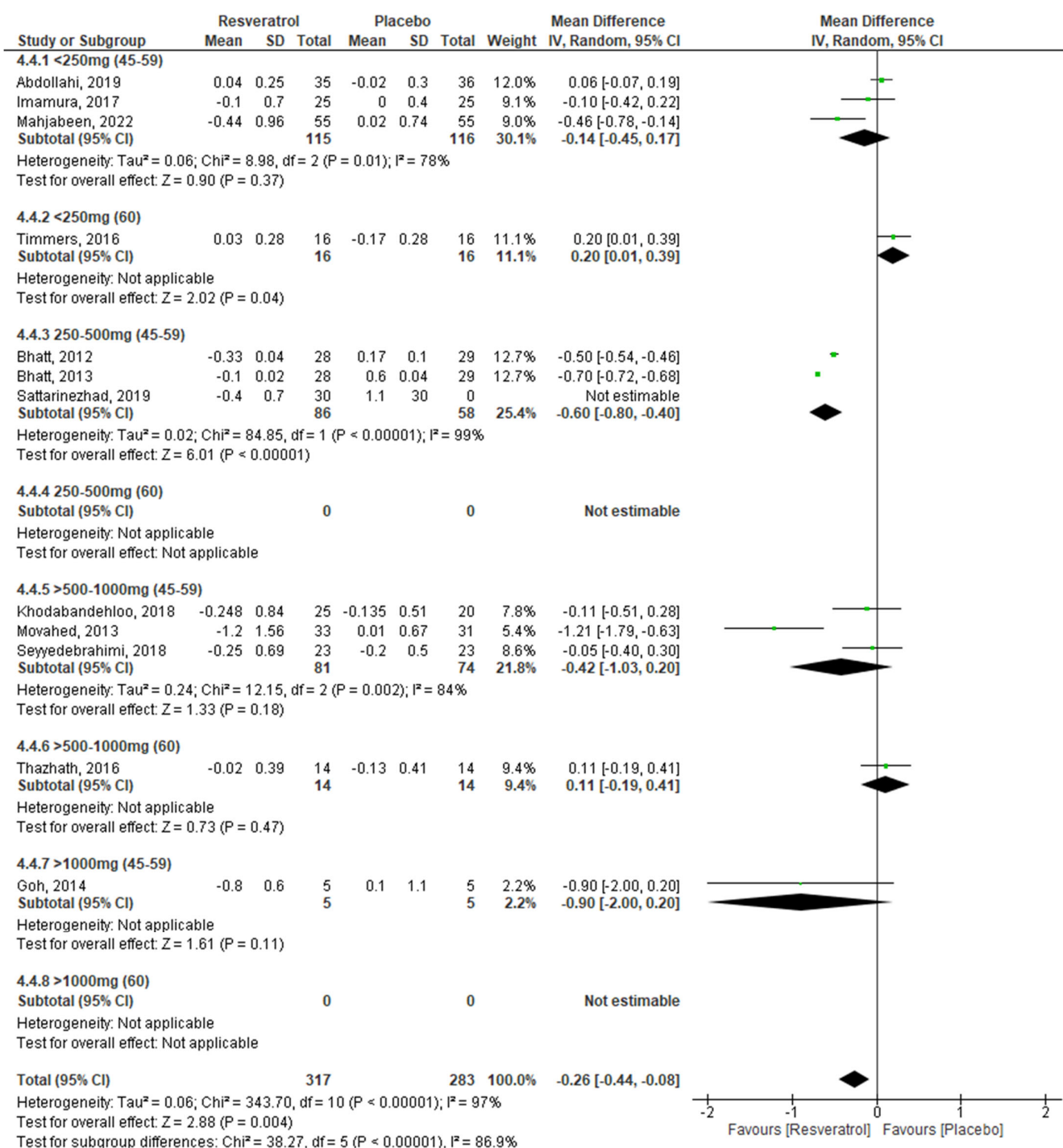


Figure 4. Effect of RV on HbA1c, stratified by age and dose.

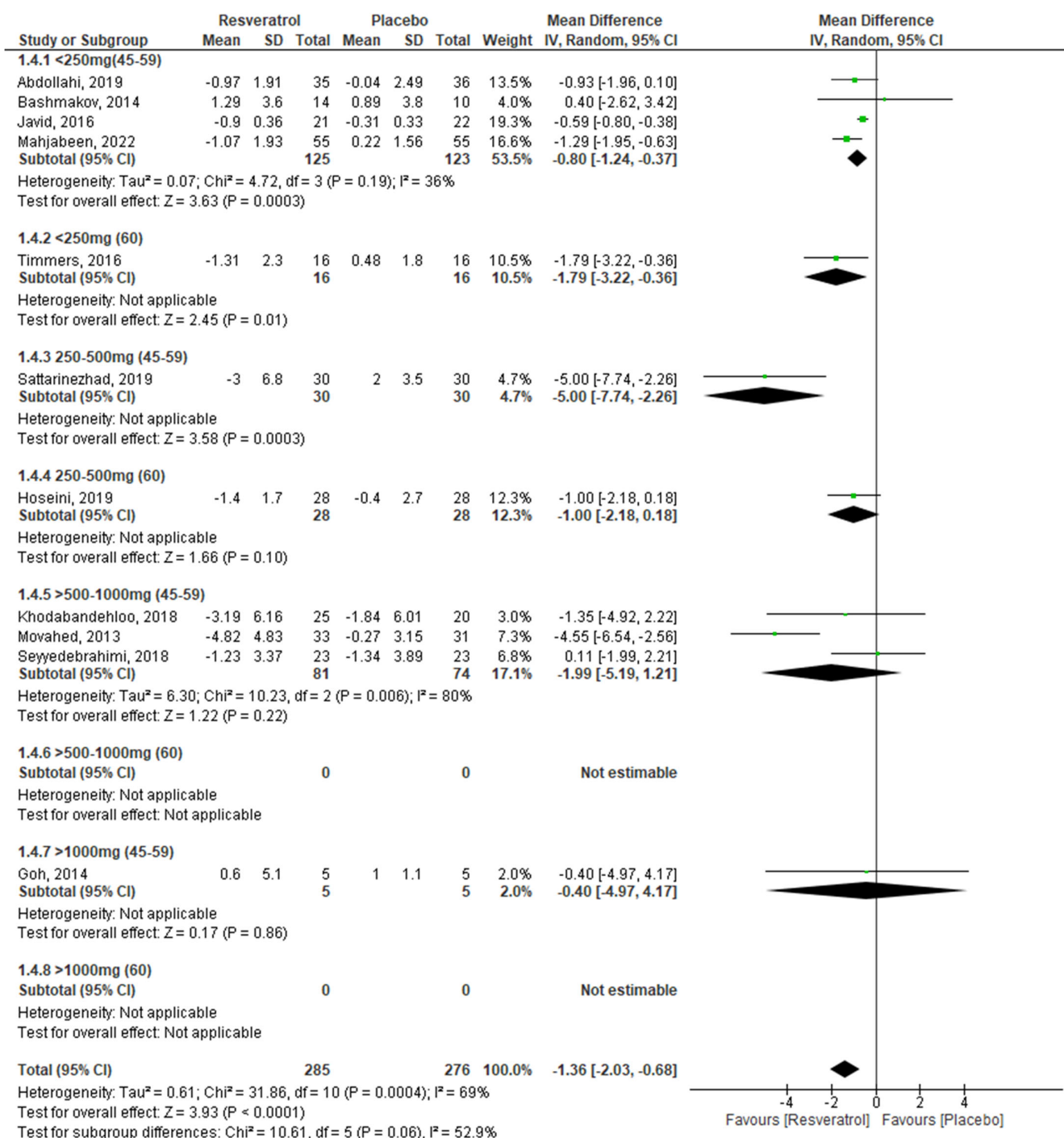


Figure 5. Effect of RV on insulin, stratified by age and dose.

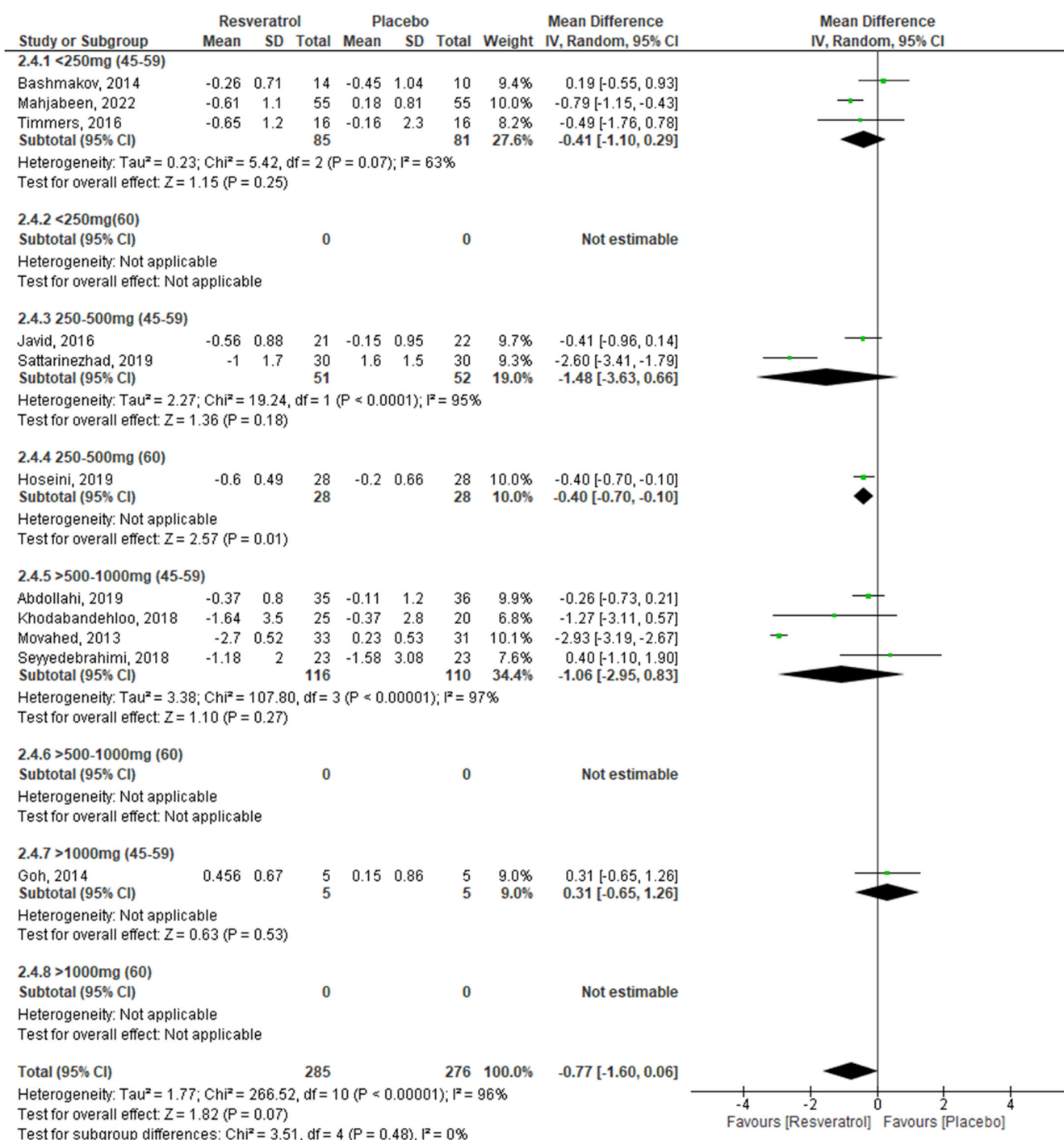


Figure 6. Effect of RV on HOMA-IR, stratified by age and dose.

3.1. Effect of RV on Glycemic Control by Dose

The analysis by dose, presented in Table 2, shows a significantly beneficial effect of RV consumption on glucose concentrations, insulin levels, and the percentage of HbA1c at doses of 250–500 mg/day; insulin also improves at doses < 250 mg/day. In this sense, it has been documented that the efficacy of RV can be modified, as the molecular target changes depending on the dose [51]. In addition to this, it is considered that RV exhibits the effect of hormesis, that is, its therapeutic effects are presented as a dose–response relationship. This implies that low doses of RV stimulate a response, while high doses inhibit it [52]. In this regard, it has been shown that the histone deacetylase called sirtuin 1 (SIRT1), one of

the main molecular targets of the RV, modulates several signaling pathways that regulate metabolic activities. One of them is the activation of AMP-dependent kinase (AMPK), which is directly involved in energy metabolism because it stimulates mitochondrial biogenesis and function, thus inducing glucose uptake and subsequent use [53]. Some studies have shown that moderate doses of RV activate SIRT1 and AMPK, while high doses activate AMPK independently of SIRT1 without affecting mitochondrial function, which translates into less glucose uptake by cells and thus an increase in blood [54,55].

The hormetic effect of RV is due to the fact that the agonist molecules activate two or more subtypes of receptors with different binding affinity, and then the receptor–agonist union would give rise to different responses with different magnitude, in such a way that some receptor subtypes would induce certain pathways, while others would inhibit them. It has also been proposed that agonists can bind to a single type of receptor, but at different sites, triggering very different responses [56,57]. For this reason, the dose of RV can cause different responses depending on the availability of the agonist, so if there is a low concentration of RV, it could bind to a single receptor, but if there is a high amount of the compound, the binding could occur in two or more subtypes, giving rise to different responses [57,58]. In addition, it is necessary to consider the time factor, as it can be of vital importance in the hormetic response, because, depending on the time of exposure to a substance, an immediate response or a delayed response that arises as a result of an adaptive process can be generated. However, studying the phenomenon of hormesis considering the dose–response–time relationship is complicated, as it would be necessary to use a wide variety of RV doses and monitor them at different times, which, in addition to being complicated, would be very expensive [56–58].

Regarding hypoglycemic effects, we have mentioned that RV activates AMPK through the activation of SIRT1, increasing glucose uptake. In addition, SIRT1 is capable of deacetylating and inactivating the Forkhead box-O1 protein (FOXO1), thereby inhibiting pancreatic β -cell apoptosis and triggering an increase in insulin production, the final result of which is an increase in glucose uptake [55,59]. RV also increases the synthesis and expression of insulin-dependent glucose transporter (GLUT4), increasing glucose internalization by cells [59]. Another molecular target of RV is the receptor for advanced glycation end products (RAGE), which is capable of phosphorylating the serine/threonine fragment of the insulin receptor (IR), altering its protein structure and inhibiting its binding to insulin. The expression of RAGE is decreased by the effect of RV [59]. The conjunction of these mechanisms induced by RV produces several results: it (i) increases the synthesis of insulin; (ii) increases the internalization, use, and storage of glucose; (iii) improves sensitivity to insulin; and (iv) restores insulin binding to IR, managing to reduce glycemia and gradually reduce HbA1c levels. Considering the above, our findings are partially similar to those observed by Zhu et al. (2017) [60], who found that doses < 100 mg/day do not modify glucose concentrations, while higher doses, even 1000 mg/day, significantly decrease glucose concentrations in individuals with T2DM.

On the other hand, RV administered at relatively low doses has also been shown to improve insulin sensitivity, in addition to decreasing insulin secretion when administered over the long term [61]. Similar effects have been observed after short-term, high-dose RV administration [62]. The present meta-analysis denoted that insulin levels decrease after the administration of doses between 250 and 500 mg/day of RV, but also do so at low doses of RV (<250 mg/day), which coincides with what was previously mentioned.

Regarding HOMA-IR, we did not observe significant changes related to the dose used, which is consistent with the findings of Zhu et al. (2017) [60] and Jeyaraman et al. (2020) [63].

3.2. Effect of RV on Glycemic Control by Age

In the analysis by age (Table 2), it was observed that glucose concentrations, HbA1c percentage, and insulin levels improve significantly in subjects aged 45–59 years, while HOMA-IR shows significant changes in subjects aged 60 years and over. Such results

are partially similar to what was observed by Crandall et al. (2012) [62], whose meta-analysis found that oral administration of RV significantly improves insulin sensitivity and decreases glucose levels in older adults. In this context, among the studies included in this review that were carried out in adults over 60 years old, only the one carried out by Hoseini et al. (2019) [38] found a statistically significant decrease in serum glucose after RV administration. Meanwhile, of the studies carried out on people between 45 and 59 years of age, the studies by Brasnyó et al. (2011) [23], Goh et al. (2014) [34], Imamura et al. (2017) [25], and Seyyedebrahimi et al. (2018) [31] did not report significant changes in the glycemic parameters evaluated; however, it is necessary to mention that Brasnyó et al. (2011) [23] and Imamura et al. (2017) [25] used very low doses of RV, while Goh et al. (2014) [34] used a very high dose and, in all three studies, the duration was relatively short (<3 months), which explains the positive effect of low doses for long periods, in contrast to the effect of doses higher than 2.5 g, which no longer exhibit beneficial effects, and may even be harmful [61]. Regarding the study by Seyyedebrahimi et al. (2018) [31], despite using a dose of 800 mg/day, the duration of the intervention is short (8 weeks) and the sample size is relatively small, so these two factors are considered to be largely responsible for the lack of RV effect.

As the analysis by age does not provide sufficient evidence to propose an effective dose, a combined analysis by age and dose was performed, as described below.

3.3. Effect of RV on Glycemic Control by Age and Dose

This combined analysis by age and dose showed that serum glucose levels improve in subjects aged 45–59 years using a maximum dose of 1000 mg/day, as higher doses do not exhibit any effect on glucose (Figure 3). This agrees with the results of Zhang et al. (2021) [48], Liu et al. (2014) [49], Zhu et al. (2017) [60], and Guo et al. (2018) [64], who, in their respective meta-analyses, observed a significant decrease in blood glucose concentrations. Furthermore, these studies were mostly conducted in people under 60 years old. Meanwhile, in subjects aged 60 years and over, beneficial effects of RV on blood glucose were observed at doses of 250–500 mg/day, although only one study was included in this subgroup. In addition, it was not possible to estimate the effect at doses greater than 1000 mg/day in this age group because of the scarcity of studies carried out. Our results are similar to what was observed by Jeyaraman et al. (2020) [63], whose meta-analysis shows no beneficial effects of RV on blood glucose in subjects 60 years and over.

Regarding the percentage of HbA1c (Figure 4), we observed a statistically significant decrease in subjects aged 45–59 years who were administered doses between 250 and 500 mg/day, but no beneficial effects found using other doses, which coincides with the results of the meta-analyses by Husenblas et al. (2015) [50], Zhu et al. (2017) [60], and Guo et al. (2018) [64], where an improvement in HbA1c is observed. However, in subjects aged 60 years and over, no beneficial effects of RV administration on HbA1c were observed, results that coincide with those found in the meta-analysis by Jeyaraman et al. (2020) [63].

Regarding insulin levels, beneficial effects of RV were observed using doses of 250–500 mg/day in subjects aged 45–59 years, as occurred with the percentage of HbA1c, and there were also significant changes at doses < 250 mg/day. These results coincide with what was observed in the meta-analyses carried out by Zhang et al. (2021) [48] and Zhu et al. (2017) [60], whose results show a considerable improvement in insulin levels after oral administration of resveratrol. We found significant changes in insulin levels in subjects 60 years and over at doses < 250 mg/day, although only one study was included in this dose subgroup. Our results are partially consistent with what was observed by Hausenblas et al. (2015) [50].

Finally, the analysis to observe the effects of RV on insulin resistance (HOMA-IR) showed that this marker improves considerably in individuals aged 60 and over who received doses of RV ranging from 250 to 500 mg/day. These results agree with those of Zhang et al. (2021) [48], Liu et al. (2014) [49], and Zhu et al. (2017) [60].

As can be seen in the results, favorable effects of oral administration of RV are observed in individuals aged 60 years and over on insulin levels and HOMA-IR, although these effects are very small compared with those observed in younger individuals. Therefore, they lack clinical relevance. In this context, it is known that one of the main molecular targets of RV is SIRT1, a protein that plays a key role in glucose metabolism, and whose activity decreases as the aging process progresses, which is why the response of organisms aged before RV may be diminished [65,66], which would explain the lack of effect in adults older than 60 years. Because of this, the use of higher doses of RV has been proposed, because, together with its low bioavailability, we find a diminished response on the part of older adults, who largely present absorption problems at the intestinal level, as well as a lower ability to metabolize RV, which suggests the need to use higher doses than those that are effective in younger individuals [67]. In this sense, during aging, organisms undergo a series of changes at the molecular and cellular level, which lead to a decrease in the ability to maintain homeostasis, which is reflected through a decrease in physiological functions, including the metabolism of substances such as RV [10]. Among the molecular and cellular changes that could affect the response of aging organisms to RV, we find cellular senescence, mitochondrial dysfunction, alterations in proteostasis, as well as oxidative stress (OS) and inflammation [68].

Cellular senescence is a state of suppressed proliferation, in which metabolic functions and cell viability are maintained [69]. This is because of the fact that telomeres wear out and shorten their length in each cell cycle, so that, after a certain number of cell divisions, a response mechanism is activated in the face of possible DNA damage, the main consequence of which is the arrest of the cycle cell to limit the spread of damage [70]. Senescence may also be due to damage caused by stressors such as OS that occurs in aging subjects [71]. Regardless of the cause, cells lose their proliferative capacity and exhibit some metabolic and morphological changes, which give them the ability to alter the tissues of which they are a part and decrease or modify their functionality. Such is the case of the tissues involved in the absorption of substances such as RV, which would explain, in part, the lower uptake of the compound in subjects aged 60 years and over and, therefore, the decreased response to it [72]. Regarding mitochondrial dysfunction, it is well known that the mitochondria are responsible for energy production of cells, a function that is altered during aging [73]. This occurs as a result of the excessive production of reactive oxygen species (ROS), which damage mitochondrial components and reduce their ability to supply energy [74]. Although defective mitochondria are eliminated through a process known as mitophagy, aged cells have a large number of damaged mitochondria because of the inefficiency of mitophagy, the result of which is the release of mitochondrial DNA into the cytoplasm and the subsequent activation of senescence cellular [75], which derives in alterations in the functionality of the tissues.

In this sense, it is known that RV, through the activation of SIRT1, is able to restore mitophagy and induce mitochondrial biogenesis, thereby increasing glucose uptake and energy production; however, it is possible that the administered dose of RV is not sufficient to induce mitochondrial biogenesis, as the compound would be mainly responsible for counteracting the damage caused by ROS, which, together with the cellular senescence that takes place in individuals of 60 years and over, would require a higher dose [76,77]. Regarding the alterations of proteostasis, it has been documented that, because proteins modulate various metabolic pathways, as well as the alterations they suffer such as misfolding, oxidation, and aggregation, and the reduced capacity of cells to eliminate damaged proteins, they are essential to understand the deterioration in the functionality of various tissues and organs, an event that takes place in aged individuals [78]. The aging of organisms is characterized by the presence of a considerable number of damaged or oxidized proteins, which are produced as a consequence of alterations in protein homeostasis, also called proteostasis, which can be defined as the balance of structural and biochemically functional proteins [79]. The accumulation and aggregation of damaged proteins increases in parallel with age, which directs human cells towards a senescence process, with the

respective alteration of the functionality of the tissues [80]. In addition, protein misfolding can alter various metabolic pathways, including those induced by SIRT1 and that play a crucial role in glucose uptake, partially explaining the lack of effect of RV in subjects aged 60 years and over, as observed in this meta-analysis.

As has been pointed out, during aging, there is an excessive production of ROS, coupled with a decrease in the activity of enzymes and antioxidant mechanisms of aged organisms, triggering OS [81]. This condition causes damage to different macromolecules such as lipids, proteins, and DNA, as well as mitochondrial dysfunction [82]. In addition, ROS are able to induce the synthesis of proinflammatory cytokines through the activation of the nuclear transcription factor κ B (NF- κ B), which gradually results in the development of low-grade chronic inflammation, called inflammaging, whose presence favors damage at the molecular, organ, and systemic levels [83]. It has been documented that there is a close interconnection between OS and inflammation, as the existence of one of them induces the other, establishing a vicious circle that leads to cell damage, and this in turn causes the cell to enter into a state of senescence to avoid the proliferation of the damage caused [84]. As a result, the functionality of the cells is altered, as well as that of the tissues of which they are a part, which is why it is probable that they do not take up RV in sufficient quantity to induce a favorable response.

It is important to highlight the hormetic effect of RV, as the dual response of a cell to different doses of a compound can be interpreted as an adaptive mechanism of the same cell to compensate for any imbalance in homeostasis, as occurs in aging, thus understanding the mechanisms involved in hormesis would help to precisely define the appropriate doses and target molecules that allow the design of effective strategies to assist in the treatment of diseases associated with old age, such as T2DM and its complications [14].

Among the most relevant limitations of this study, we can point out that five of the included studies have a high risk of bias, which could affect the interpretation of the results. In addition, in the evaluation of certainty (GRADE), we observed that 10 studies provided a low or very low certainty of evidence, which directly impacts the results obtained, so it is necessary to interpret them carefully. Finally, the small number of studies carried out in people aged 60 years and over did not allow analysis with doses higher than 1000 mg/day and, in some cases, such as HOMA-IR and insulin, it was not possible to analyze the effect of RV with doses between 500 and 1000 mg/day, given the scarcity of studies in subjects belonging to this age group. In this way, the evidence provided by our meta-analysis is not sufficient to propose a possible effective dose of RV based on age, although it allows us a glimpse that, in subjects over 60 years of age, the dose used plays a crucial role in the effect of the compound.

4. Materials and Methods

This systematic review and meta-analysis was carried out following the guidelines for the presentation of systematic reviews and meta-analyses (PRISMA 2020) [85]. The protocol was previously registered in PROSPERO (CRD42021227865).

4.1. Search Strategy

Two authors (G.-M. B.I. and P.-C. J.) searched the following databases: PubMed-Medline, Scopus, Cochrane library, Web of Science, Wiley online library, ScienceDirect, SciELO, and LILACS; the search was carried out until 31 January 2022, and was performed again prior to the final analysis of the results. The search strategy for the Cochrane Library, Web of Science, and Scopus was as follows: “Resveratrol AND (glycemic control OR fasting blood glucose OR insulin resistance OR insulin levels, OR glycosylated hemoglobin OR diabetes mellitus OR diabetics)”. For the search in PubMed, the same strategy was used and the filter “clinical trials” was additionally activated. In ScienceDirect, the same strategy was used again, but the filter “research articles” was activated, and it was indicated that the titles always included the term “resveratrol”. The Wiley online library search was performed using the aforementioned strategy and the “journals” filter was additionally activated.

For the search in SciELO and LILACS, only the term “resveratrol” was used. Additionally, a search of UNAM theses, ProQuest Dissertation and Theses, [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov), and who.int/clinical-trials-registry-platform was performed to identify unpublished studies, but potentially included in the systematic review and meta-analysis. For the UNAM theses, the keyword “Resveratrol” was used; in ProQuest Dissertations and Theses, “Resveratrol AND type 2 diabetes mellitus” was used, specifying that the following keywords be included in the title: diabetes, metabolism, insulin resistance, type 2 diabetes, resveratrol, insulin, glucose, or diabetes mellitus. In [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov), “Diabetes” was placed in condition or disease and “Resveratrol” in other terms, while for the search in who.int/clinical-trials-registry-platform, the terms “Resveratrol AND diabetes” were used. Subsequently, two reviewers (S-O. E. and R-R. M.), independently evaluated the identified titles and abstracts, and discrepancies were resolved by a third reviewer (M-N. V.M.). After selecting the titles and abstracts that met the established criteria, the full texts of the chosen articles were retrieved and carefully reviewed to make a final selection of the studies included in the review.

4.2. Selection of Studies

To select the publications of the systematic review and meta-analysis, the following criteria were used:

4.2.1. Selection Criteria

- Randomized clinical trials (RCTs) blind, double blind, open, or crossover
- Oral administration of RV as a coadjuvant in T2DM treatment
- Studies with placebo group as comparator
- Published in English and/or Spanish
- Evaluate at least one of the following glycemic markers: serum glucose and insulin levels, HbA1c, and insulin resistance (HOMA-IR)
- Intervention lasting at least 2 weeks
- Carried out in individuals over 20 years of age with T2DM

4.2.2. Exclusion Criteria

- Use of RV in combination with other compounds
- Use of compounds derived from resveratrol
- Investigations without a comparator
- Conference summaries

4.3. Assessment of the Risk of Bias and Certainty of the Included Studies

After reviewing the full texts, those that did not meet the established criteria were eliminated. Likewise, the risk of bias was assessed using the risk of bias assessment tool Robins-2 beta version of the Cochrane collaboration [86]. The following items were considered: randomization process, deviations from the intended interventions, missing outcome data, measurement of the outcome, and selection of the reported result. The certainty of the evidence was evaluated using the GRADE approach, which considers the existence of risk of bias, inconsistency in results, uncertainty about whether the evidence is direct, imprecision, and publication bias as factors that decrease the certainty of the evidence, while factors such as a strong association, the presence of a dose–response gradient, and evidence that confounding factors could have reduced the observed effect tend to increase the degree of certainty. For the evaluation, we used the GRADEproGDT tool available at <https://gradepro.org/> (accessed on 5 August 2022).

4.4. Data Extraction

Once the publications of the systematic review and meta-analysis were selected, two reviewers (G-M. B.I. and P-C. J.) extracted the following data: last name of the first author, year of publication, study design, VR dose, duration of the intervention, sample size, age

of the participants, glycemic parameters evaluated, and findings. For the meta-analysis, the mean (\bar{X}) and standard deviation (SD) of the pre- and post-intervention measurements of glucose, HbA1c, insulin, and HOMA-IR were extracted. The mean difference and SD were calculated using the following statistical formulas:

Difference in means = meanpost-treatment – meanpre-treatment;

For the calculation of the corresponding SD, the following formula was used:

$$SD_{\text{difference}} = \sqrt{[(SD_{\text{pretreatment}})^2 + (SD_{\text{posttreatment}})^2] - (2 \times R \times SD_{\text{pretreatment}} \times SD_{\text{posttreatment}})}$$

where $R = 0.8$.

The \bar{X} , SD, mean differences, and their respective SD were calculated for the studies that did not report them, using suitable statistical methods [87,88]. The \bar{X} was calculated using the minimum and maximum values, the median, and the sample size (n), using the following formula:

$$\bar{X} = (\text{minimum value} + 2n + \text{maximum value})/4$$

The SD was calculated with the following formula:

$$SD = \sqrt{1/12[\bar{X}^2 + (\text{maximum value} - \text{minimum value})^2]}$$

In some cases, the SD was calculated from the standard error (SE) with the following formula:

$$SD = ES \times \sqrt{n}$$

Unit conversions were also performed to standardize the results reported in the studies. The glucose value in mmol/L was multiplied by 18 to convert to mg/dL. The conversion of insulin units from pmol/L to mIU/L was carried out by dividing pmol/L \div 6.945. The formula %HbA1c = (mmol/mol/10.929) + 2.15 was applied to convert HbA1c units to a percentage. To calculate the HOMA-IR index, the following formula was used:

$$\text{HOMA-IR} = [\text{insulin (mIU/L)} \times \text{glucose (mg/dL)}]/405$$

4.5. Statistic Analysis

For the meta-analyses, we used the inverse variance method to estimate the global effect of RV on each of the glycemic parameters (serum glucose, insulin, HbA1c, and HOMA-IR levels). This method gives greater weight to larger studies with smaller standard errors, while small studies with larger standard errors contribute less weight to the meta-analysis, thus minimizing imprecision in the estimation of the overall effect. We also used the random effects model (Dersimonian and Laird method) to estimate the overall effect of RV supplementation on glycemic control, as this model accounts for intra- and inter-study heterogeneity. The heterogeneity of the included studies was assessed using the I^2 statistic, which describes the percentage of variability present in the estimates of effect; we consider an I^2 value $< 40\%$ as not considerable. To address heterogeneity, in addition to evaluating the influence of age and dose on the effects of RV on glycemic control, analyses were performed by dose (<250 mg/day, 250–500 mg/day, >500 –1000 mg/day, and >1000 mg/day); by age (45–59 years and >60 years); and by dose and age (<250 mg/day, 45–59 years old; <250 mg/day, >60 years old; 250–500 mg/day, 45–59 years old; 250–500 mg/day, >60 years old; >500 –1000 mg/day, 45–59 years; >500 –1000 mg/day, >60 years; >1000 mg/day, 45–59 years; and >1000 mg/day, >60 years). In addition, sensitivity analyses were performed to assess the weight that each of the included studies contributed to the overall estimate. For this, all meta-analyses were carried out eliminating one study at a time. Egger's test was performed to assess publication bias, which estimates the regression line between the precision of the studies and the standardized effect. For all analyses, $p < 0.05$ was considered statistically significant. The meta-analysis was performed with Review Manager version 5.4 software.

5. Conclusions

Our findings suggest that RV has a statistically significant dose–response effect on glucose concentrations, HbA1c percentage, and insulin levels in subjects with T2DM aged 45–59 years; however, HOMA-IR is not modified by the effect of oral administration of RV, except in subjects aged 60 years and over. In addition to this, there is not enough scientific evidence to propose a therapeutic dose, as individuals aged 60 years and over require higher doses than younger subjects to present the beneficial effects of RV; however, the small number of studies carried out in adults aged 60 years and over did not allow an adequate analysis of the influence of age on the effects of the polyphenolic compound in question. For this reason, is necessary to carry out more research in aged populations, as well as to elucidate the mechanisms through which the dose used and the age of the participants modify such effects.

Author Contributions: Conceptualization, V.M.M.-N. and J.P.-C.; methodology, B.I.G.-M. and M.R.-R.; software, B.I.G.-M.; validation, E.S.-O. and V.M.M.-N.; formal analysis, B.I.G.-M. and J.P.-C.; investigation, E.S.-O. and M.R.-R.; resources, E.S.-O.; data curation, E.S.-O. and V.M.M.-N.; writing—original draft preparation, B.I.G.-M. and M.R.-R.; writing—review and editing, V.M.M.-N.; visualization, E.S.-O.; supervision, J.P.-C.; project administration, V.M.M.-N.; funding acquisition, M.R.-R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was supported by Dirección General de Asuntos del Personal Académico, Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA-UNAM) (PAPIIT IN308120); Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM; and Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Beca de Posgrado, CVU 706595). Programa para la Investigación Bibliográfica Científica sobre Salud (PIBCIS) de la FES Zaragoza, UNAM.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Institutional Review Ethics.

Informed Consent Statement: Informed consent is not required for systematic reviews.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Appendix A. Studies Retrieved from Databases that Were Excluded from the Systematic Review and Meta-Analysis

Table A1. Studies excluded from the systematic review.

Study	Reason for Exclusion
Abdollahi, et al. BMJ. 2019;9:e026337. Doi:10.1136/ bmjopen-2018-026337	It is a protocol
Arcanjo, et al. Biochim Biophys Acta Gen. 2018;1862:1938–1947. Doi: 10.1016/j.bbagen.2018.06.007	They do not evaluate glycemic parameters
Bo, et al. Acta Diabetol. 2018;55:331–3402018. Doi:10.1007/s00592-017-1097-4	They report only pre-treatment means of glycemic parameters
Bo, et al. Nutr Diabetes. 2018;8:51. Doi: 10.1038/s41387-018-0059-4	They do not evaluate glycemic parameters
Bo, et al. Acta Diabetol. 2017;54:499–507. Doi: 10.1007/s00592-017-0977-y	They do not report only pre- and post-treatment means of glycemic parameters
De Ligt, et al. Mol Metab. 2018;12: 39e47. Doi: 10.1016/j.molmet.2018.04.004	They do not evaluate glycemic parameters
Froghi, et al. IJEM. 2018;20:169–176.	Language other than English or Spanish

Table A1. *Cont.*

Study	Reason for Exclusion
Javid, et al. <i>Diabetes Metab Syndr.</i> 2019;13:2769–2774. Doi: 10.1016/j.dsx.2019.07.042	They do not evaluate glycemic parameters
Pollack, et al. <i>J Gerontol A Biol Sci Med Sci.</i> 2017;72(12):1703–1709. Doi: 10.1093/gerona/glx041	They report only pre-treatment means of glycemic parameters
Saldanha, et al. <i>J Ren Nutr.</i> 2016. Doi: 10.1053/j.jrn.2016.06.005	They do not evaluate glycemic parameters
Tabatabaie, et al. <i>Phytoter Res.</i> 2020;34:2023–2031. Doi: 10.1002/ptr.6655	They report only pre-treatment means of glycemic parameters
Tomé-Carneiro et al. <i>Pharmacol Res.</i> 2013. Doi: 10.1016/j.phrs.2013.03.011	They use a grape extract
Toupchian, et al. <i>Phytoter Res.</i> 2021;35:3205–3213. Doi: 10.1002/ptr.7031	They do not evaluate glycemic parameters
Wong, et al. <i>Nutr Metabol Cardiovasc Dis.</i> 2016. Doi: 10.1016/j.numecd.2016.03.003	They use a single dose of RV
Wong, et al. <i>Nutrients.</i> 2016, 8, 425. Doi:10.3390/nu8070425	They use a single dose of RV
Zhang, et al. <i>Arterioscler Thromb Vasc Biol.</i> 2017;37:A164. Doi: 10.1161/atvb.37.suppl_1.164	Only abstract available

Appendix B. Documents Retrieved from Other Sources that Were Excluded from the Systematic Review and Meta-Analysis

Table A2. Records of clinical trials excluded from the systematic review.

Reason for Exclusion	Document Excluded
They do not meet the selection criteria (n = 19)	NCT04449198, NCT03762096, NCT03436992, NCT01997762, NCT03436992, IRCT201710108129N11, CTRI/2017/04/008384, NCT04449198, NCT00823381, NCT01593605, NCT02565979, NCT02129595, NCT02247596, NCT02834078, NCT01451918, NCT01714102, NCT03597568, NCT01150955, NCT03866005
They do not assess glycemic parameters (n = 8)	IRCT20171118037528N1, NCT01158417, NCT03762096, NCT01354977, NCT02502253, NCT02216552, NCT01302639, NCT02244879
Unpublished data (n = 7)	SLCTR/2018/019, IRCT201601022394N19, NCT01038089, NCT05172947IRCT201411112394N14, NCT02502253, NCT02549924,
Published data included in review (n = 11)	IRCT2016100716876N2, NCT02704494 (Sattarinezhad, 2019) [35], IRCT2015080223336N2 (Khodabandehloo, 2018) [30], IRCT2015072523336N1 (Seyyedbrahimi, 2018) [31], IRCT2015012420765N1 (Javid, 2016) [29], ACTRN12613000717752 (Thazhath, 2016) [39], IRCT20111198129N1 (Movahed, 2013) [33], CTRI/2011/05/001731 (Bhatt, 2012; Bhatt, 2013) [27,28], ACTRN12610000565044 (Basmakov, 2014) [24], NCT01677611 (Goh, 2014) [34], NCT01638780 (Timmers, 2016) [36].
Published data excluded from review (n = 3)	ACTRN12614000891628 (Wong, 2016), NCT01881347 (Zhang, 2017), NCT02244879 (Bo, 2018)

Table A2. Cont.

Reason for Exclusion	Document Excluded
Language other than English or Spanish (n = 1)	IRCT20191203045588N1
Ongoing (n = 2)	CTRI/2022/05/042806, ISRCTN15172592

Appendix C. Dose–Response Regression Analysis to Assess the Effect of RV on Glycemic Parameters

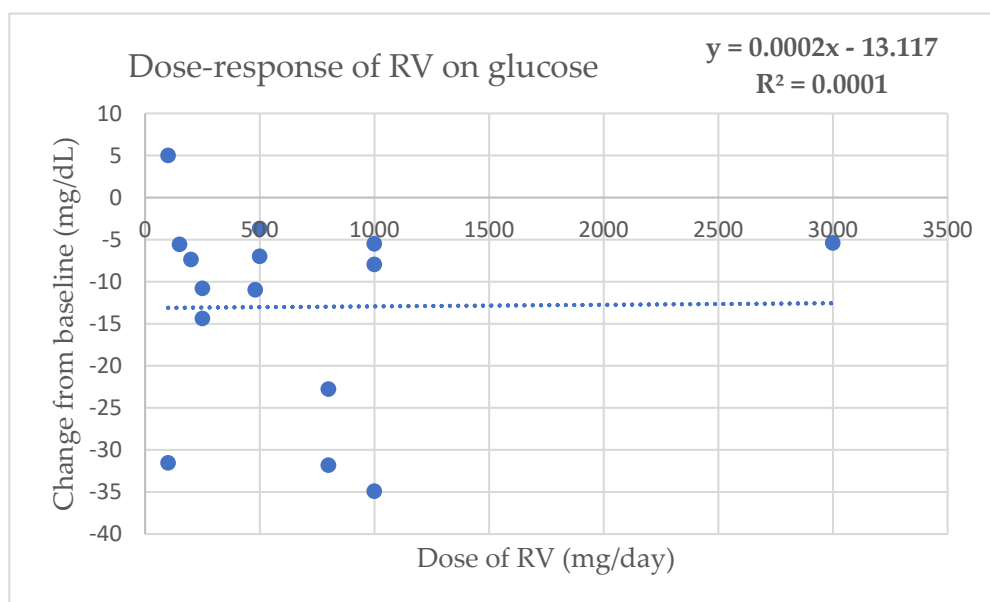


Figure A1. Dose–response regression analysis to assess the effect of RV on serum glucose levels.

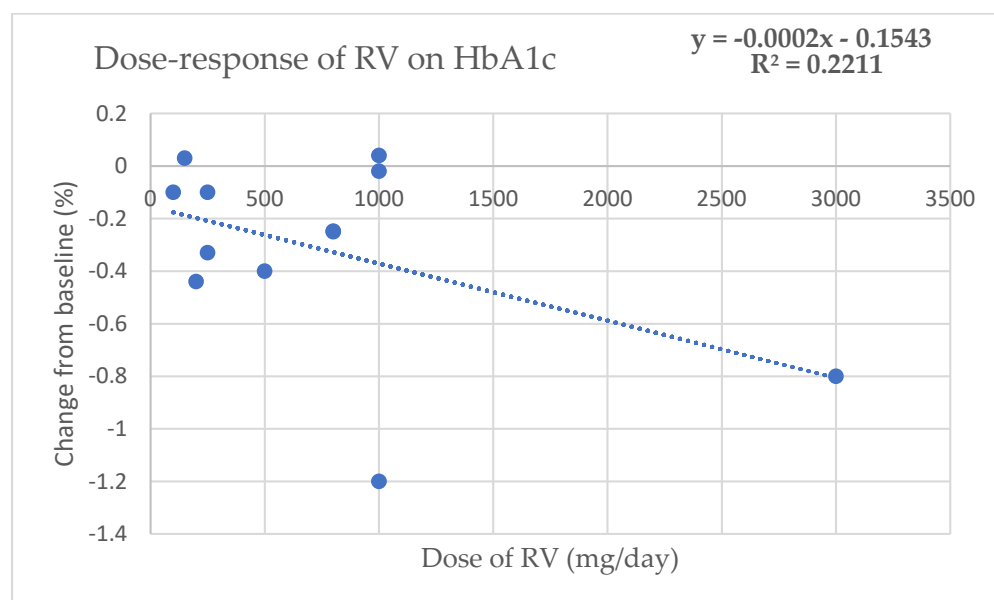


Figure A2. Dose–response regression analysis to assess the effect of RV on HbA1c.

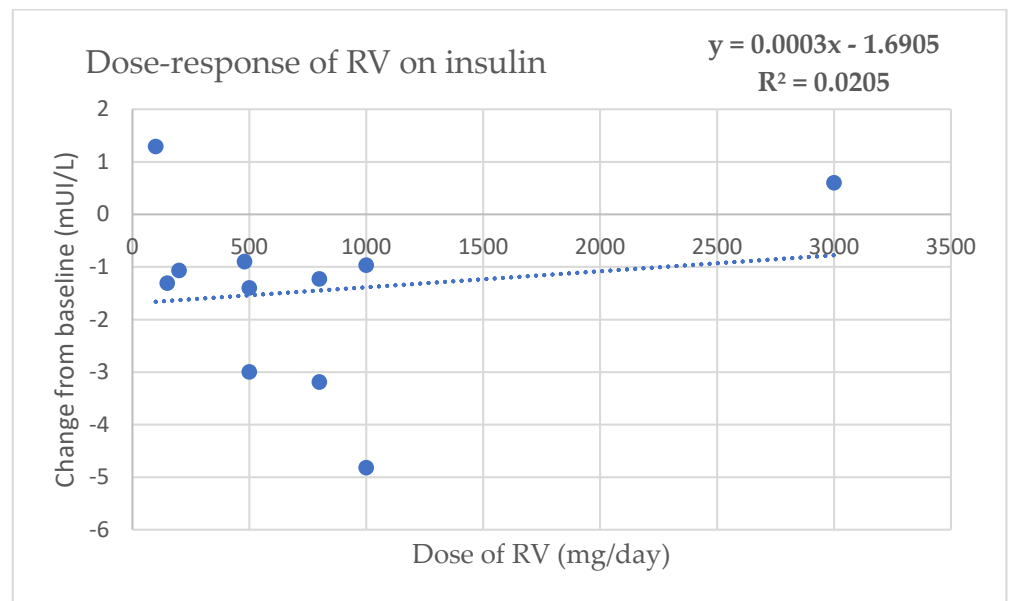


Figure A3. Dose–response regression analysis to assess the effect of RV on serum insulin levels.

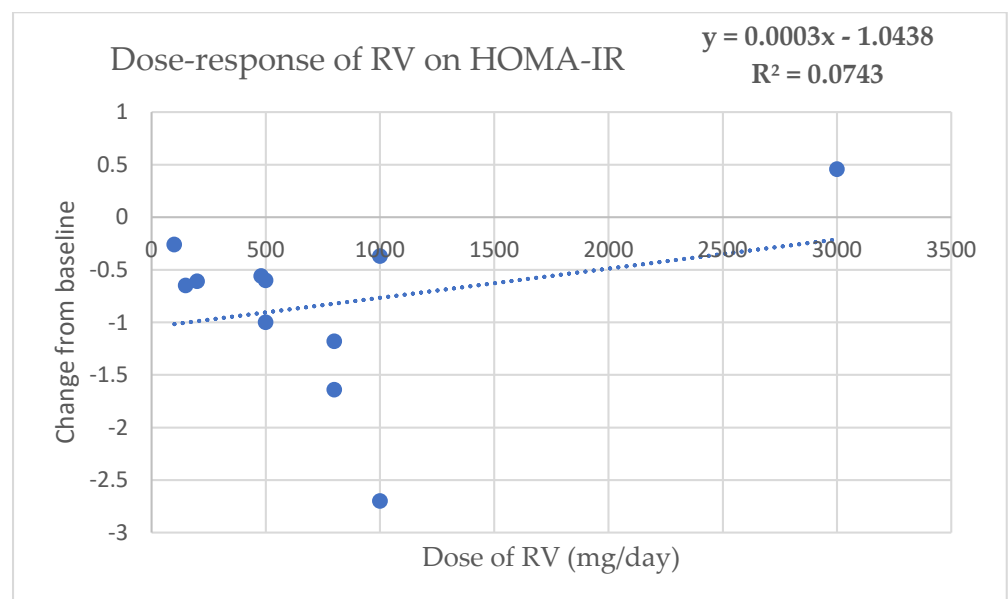


Figure A4. Dose–response regression analysis to assess the effect of RV on HOMA-IR.

References

1. Daryabor, G.; Atashzar, M.R.; Kabelitz, D.; Meri, S.; Kalantar, K. The effects of type 2 diabetes mellitus on organ metabolism and the immune system. *Front. Immunol.* **2020**, *11*, 1582. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. World Health Organization. *Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2014*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2014.
3. Rauf, A.; Imran, M.; Suleria, H.A.R.; Ahmad, B.; Petersf, D.G.; Mubarak, M.S. A comprehensive review of the health perspectives of resveratrol. *Food Funct.* **2017**, *8*, 4284–4305. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Singh, A.P.; Singh, R.; Singh, S.V.; Rai, V.; Kaschula, C.H.; Maiti, P.; Gupta, S.C. Health benefits of resveratrol: Evidence from clinical studies. *Med. Res. Rev.* **2019**, *39*, 1851–1891. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Galiniak, S.; Aebisher, D.; Bartusik-Aebisher, D. Health benefits of resveratrol administration. *Acta Biochim. Pol.* **2019**, *66*, 13–21. [[CrossRef](#)]
6. Rouse, M.; Younès, A.; Egan, J.M. Resveratrol and curcumin enhance pancreatic β -cell function by inhibiting phosphodiesterase activity. *J. Endocrinol.* **2014**, *223*, 107–117. [[CrossRef](#)]

7. Gowd, V.; Kang, Q.; Wang, Q.; Chen, F.; Cheng, K.W. Resveratrol: Evidence for its nephroprotective effect in diabetic nephropathy. *Adv. Nutr.* **2020**, *11*, 1555–1568. [[CrossRef](#)]
8. Öztürka, E.; Karaboğa, A.K.A.; Yerer, M.B.; Bishayee, A. Resveratrol and diabetes: A critical review of clinical studies. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *95*, 230–234. [[CrossRef](#)]
9. Oyenih, O.R.; Oyenih, A.B.; Adeyanju, A.A.; Oguntibeju, O.O. Antidiabetic effects of resveratrol: The way forward in its clinical utility. *J. Diabetes Res.* **2016**, *2016*, 9737483. [[CrossRef](#)]
10. Mendoza-Núñez, V.M. Envejecimiento humano: Un marco conceptual para la intervención comunitaria. In *Promoción de la Salud en la Mujer Adulta Mayor*; Mendoza-Núñez, V.M., Martínez-Maldonado, M.L., Eds.; Instituto Nacional de Geriátria: Ciudad de México, Mexico, 2015; pp. 13–40.
11. Yegorov, Y.E.; Poznyak, A.V.; Nikiforov, N.G.; Sobenin, I.A.; Orekhov, A.N. The link between chronic stress and accelerated aging. *Biomedicines* **2020**, *8*, 198. [[CrossRef](#)]
12. García-Martínez, B.I.; Ruiz-Ramos, M.; Pedraza-Chaverri, J.; Santiago-Osorio, E.; Mendoza-Núñez, V.M. Hypoglycemic effect of resveratrol: A systematic review and meta-analysis. *Antioxidants* **2021**, *10*, 69. [[CrossRef](#)]
13. Li, X.; Yang, T.; Sun, Z. Hormesis in health and chronic diseases. *Trends Endocrinol. Metab.* **2019**, *30*, 944–958. [[CrossRef](#)]
14. Bhakta-Guha, D.; Efferth, T. Hormesis: Decoding two sides of the same coin. *Pharmaceuticals* **2015**, *8*, 865–883. [[CrossRef](#)]
15. Mehdi, M.M.; Solanki, P.; Singh, P. Oxidative stress, antioxidants, hormesis and calorie restriction: The current perspective in the biology of aging. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **2021**, *95*, 104413. [[CrossRef](#)]
16. Calabrese, E.J.; Iavicoli, I.; Calabrese, V. Hormesis: Why it is important to biogerontologists. *Biogerontology* **2012**, *13*, 215–235. [[CrossRef](#)]
17. Calabrese, E.; Mattson, M.P. How does hormesis impact biology, toxicology, and medicine? *Aging Mech. Dis.* **2017**, *3*, 13. [[CrossRef](#)]
18. Agathokleous, E.; Calabrese, E. Hormesis: The dose response for the 21st century: The future has arrived. *Toxicology* **2019**, *425*, 152249. [[CrossRef](#)]
19. Retana-Ugalde, R.; Casanueva, E.; Altamirano-Lozano, M.; González-Torres, C.; Mendoza-Núñez, V.M. High dosage of ascorbic acid and alpha-tocopherol is not useful for diminishing oxidative stress and DNA damage in healthy elderly adults. *Ann. Nutr. Metab.* **2008**, *52*, 167–173. [[CrossRef](#)]
20. Seals, D.R.; Justice, J.N.; LaRocca, T.J. Physiological geroscience: Targeting function to increase healthspan and achieve optimal longevity. *J. Physiol.* **2016**, *594*, 2001–2024. [[CrossRef](#)]
21. Yabluchanskiy, A.; Ungvari, Z.; Tarantini, S. Advances and challenges in geroscience research: An update. *Physiol. Int.* **2018**, *105*, 298–308. [[CrossRef](#)]
22. Kulkarni, A.S.; Aleksic, S.; Berger, D.M.; Sierra, F.; Kuchel, G.A.; Barzilai, N. Geroscience-guided repurposing of FDA-approved drugs to target aging: A proposed process and prioritization. *Aging Cell* **2022**, *21*, e13596. [[CrossRef](#)]
23. Brasnyó, P.; Molnár, G.; Mohás, M.; Markó, L.; Laczy, B.; Cseh, J.; Mikolás, E.; Szijártó, I.A.; Mérei, A.; Halmai, R.; et al. Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. *Br. J. Nutr.* **2011**, *106*, 383–389. [[CrossRef](#)]
24. Bashmakov, Y.K.; Assaad-Khalil, S.H.; Abou, M.; Udumyan, R.; Megallaa, M.; Rohoma, K.H.; Zeitoun, M.; Petyaev, I.M. Resveratrol promotes foot ulcer size reduction in type 2 diabetes patients. *ISRN Endocrinol.* **2014**, *2014*, 816307. [[CrossRef](#)]
25. Imamura, H.; Yamaguchi, T.; Nagayama, D.; Saiki, A.; Shirai, K.; Tatsuno, I. Resveratrol ameliorates arterial stiffness assessed by cardio-ankle vascular index in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int. Heart J.* **2017**, *58*, 578–583. [[CrossRef](#)]
26. Mahjabeen, W.; Khan, D.A.; Mirza, S.A. Role of resveratrol supplementation in regulation of glucose hemostasis, inflammation and oxidative stress in patients with diabetes mellitus type 2: A randomized, placebo-controlled trial. *Complement. Ther. Med.* **2022**, *6*, 102819. [[CrossRef](#)]
27. Bhatt, J.K.; Thomas, S.; Nanjan, M.J. Resveratrol supplementation improves glycemic control in type 2 diabetes mellitus. *Nutr. Res.* **2012**, *32*, 537–541. [[CrossRef](#)]
28. Bhatt, J.K.; Nanjan, M.J. Resveratrol supplementation in patients with type 2 diabetes mellitus: A prospective, open label, randomized controlled trial. *Int. Res. J. Pharm.* **2013**, *4*, 245–249. [[CrossRef](#)]
29. Javid, A.Z.; Hormoznejad, R.; Yousefimanesh, H.; Zakerkish, M.; Haghghi-zadeh, M.H.; Dehghan, P.; Ravanbakhsh, M. The impact of resveratrol supplementation on blood glucose, insulin, insulin resistance, triglyceride, and periodontal markers in type 2 diabetic patients with chronic periodontitis. *Phytother. Res.* **2016**, *31*, 108–114. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Khodabandehloo, H.; Seyyedbrahimi, S.; Esfahani, E.N.; Razi, F.; Meshkani, R. Resveratrol supplementation decreases blood glucose without changing the circulating CD14+ CD16+ monocytes and inflammatory cytokines in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutr. Res.* **2018**, *54*, 40–51. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Seyyedbrahimi, S.; Khodabandehloo, H.; Esfahani, E.N.; Meshkani, R. The effects of resveratrol on markers of oxidative stress in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Acta Diabetol.* **2018**, *55*, 341–353. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Abdollahi, S.; Salehi-Abargouei, A.; Toupchian, O.; Sheikhha, M.H.; Fallahzadeh, H.; Rahmanian, M.; Tabatabaie, M.; Mozaffari-Khosravi, H. The effect of resveratrol supplementation on cardio-metabolic risk factors in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind controlled trial. *Phytother. Res.* **2019**, *33*, 3153–3162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

33. Movahed, A.; Nabipour, I.; Lieben, X.L.; Thandapilly, S.J.; Yu, L.; Kalantarhormozi, M.; Rekabpour, S.J.; Netticadan, T. Antihyperglycemic effects of short-term resveratrol supplementation in type 2 diabetic patients. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* **2013**, *2013*, 851267. [[CrossRef](#)]
34. Goh, K.P.; Lee, H.Y.; Lau, D.P.; Supaat, W.; Chan, Y.H.; Yung, A.F. Effects of resveratrol in patients with type 2 diabetes mellitus on skeletal muscle SIRT1 expression and energy expenditure. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2014**, *24*, 2–13. [[CrossRef](#)]
35. Sattarinezhad, A.; Roozbeh, J.; Yeganeh, S.; Omrani, G.; Shams, M. Resveratrol reduces albuminuria in diabetic nephropathy: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Diabetes Metab.* **2019**, *45*, 53–59. [[CrossRef](#)]
36. Timmers, S.; De Ligt, M.; Phielix, E.; Van de Weijer, T.; Hansen, J.; Moonen-Kornips, E.; Schaart, G.; Kunz, I.; Hesselink, M.K.; Schrauwen-Hinderling, V.B.; et al. Resveratrol as add-on therapy in subjects with well-controlled type 2 diabetes: A randomized controlled trial. *Diabetes Care* **2016**, *19*, 2211–2217. [[CrossRef](#)]
37. Bo, S.; Ponzio, V.; Ciccone, G.; Evangelista, A.; Saba, F.; Goitre, I.; Procopio, M.; Pagano, G.; Cassader, M.; Gambino, R. Six months of resveratrol supplementation has no measurable effect in type 2 diabetic patients. A randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Pharmacol. Res.* **2016**, *111*, 896–905. [[CrossRef](#)]
38. Hoseini, A.; Namazi, G.; Farrokhan, A.; Reiner, Z.; Aghadavod, E.; Bahmania, F.; Asemi, Z. The effects of resveratrol on metabolic status in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease. *Food Funct.* **2019**, *10*, 6042–6051. [[CrossRef](#)]
39. Thazhath, S.S.; Wu, T.; Bound, M.J.; Checklin, H.L.; Standfield, S.; Jones, K.L.; Horowitz, M.; Rayner, C.K. Administration of resveratrol for 5 wk has no effect on glucagon-like peptide 1 secretion, gastric emptying, or glycemic control in type 2 diabetes: A randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* **2016**, *103*, 66–70. [[CrossRef](#)]
40. Anhe, F.F.; Desjardins, Y.; Pilon, G.; Dudonne, S.; Genovese, M.I.; Lajolo, F.M.; Marette, A. Polyphenols and type 2 diabetes: A prospective review. *Pharma. Nutr.* **2013**, *1*, 105–114. [[CrossRef](#)]
41. Repposi, G.; Das, U.N.; Eynard, A.E. Molecular basis of the beneficial actions of resveratrol. *Arch. Med. Res.* **2020**, *51*, 105–114. [[CrossRef](#)]
42. Huang, D.D.; Shi, G.; Jiang, Y.; Yao, C.; Zhu, C. A review on the potential of resveratrol in prevention and therapy of diabetes and diabetic complications. *Biomed. Pharmacother.* **2020**, *125*, 109767. [[CrossRef](#)]
43. Sergi, C.; Chiu, B.; Feulefack, J.; Shen, F.; Chiu, B. Usefulness of resveratrol supplementation in decreasing cardiometabolic risk factors comparing subjects with metabolic syndrome and healthy subjects with or without obesity: Meta-analysis using multinational, randomised, controlled trials. *Arch. Med. Sci. Atheroscler. Dis.* **2020**, *5*, e98–e111. [[CrossRef](#)]
44. Avogaro, A.; Fadini, G.P. Microvascular complications in diabetes: A growing concern for cardiologists. *Int. J. Cardiol.* **2019**, *291*, 29–35. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. American Diabetes Association. Microvascular complications and foot care: Standards of medical care in diabetes—2021. *Diabetes Care* **2021**, *44* (Suppl.S1), S151–S167. [[CrossRef](#)]
46. Oliveira, S.; Monteiro, A.T.; Silva, S.; Matafome, P. Curcumin derivatives for Type 2 Diabetes management and prevention of complications. *Arch. Pharm. Res.* **2020**, *43*, 567–581. [[CrossRef](#)]
47. Dehdashtian, E.; Hossein, M.P.; Hemati, K.; Mehrzadi, S.; Hosseinzadeh, A. A therapeutic application of nutraceuticals in diabetic nephropathy: Current evidence and future implications. *Diabetes Metab. Res. Rev.* **2020**, *36*, e3336. [[CrossRef](#)]
48. Zhang, T.; He, Q.; Liu, Y.; Chen, Z.; Hu, H. Efficacy and safety of resveratrol supplements on blood lipid and blood glucose control in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* **2021**, *2021*, 5644171. [[CrossRef](#)]
49. Liu, K.; Zhou, R.; Wang, B.; Mi, M.T. Effect of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity: A meta-analysis of 11 randomized controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.* **2014**, *99*, 1510–1519. [[CrossRef](#)]
50. Hausenblas, H.A.; Schoulda, J.A.; Smoliga, J.M. Resveratrol treatment as an adjunct to pharmacological management in type 2 diabetes mellitus—systematic review and meta-analysis. *Mol. Nutr. Food Res.* **2015**, *59*, 147–159. [[CrossRef](#)]
51. Shaito, A.; Posadino, A.M.; Younes, N.; Hasan, H.; Halabi, S.; Alhababi, D.; Al-Mohannadi, A.; Abdel-Rahman, W.M.; Eid, A.H.; Nasrallah, G.K.; et al. Potential adverse effects of resveratrol: Literature review. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 2084. [[CrossRef](#)]
52. Calabrese, E.J.; Mattson, M.P.; Calabrese, V. Resveratrol commonly displays hormesis: Occurrence and biomedical significance. *Hum. Exp. Toxicol.* **2010**, *29*, 980–1015. [[CrossRef](#)]
53. Lagouge, M.; Argmann, C.; Gerhart-Hines, Z.; Meziane, H.; Lerin, C.; Daussin, F.; Geny, B. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α . *Cell* **2006**, *127*, 1109–1122. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Gambino, R.; Fanni, G.; Togliatto, G.; Ponzio, V.; Goitre, I.; Cassader, M.; Brizzi, M.F.; Bo, S. Rs12778366 single nucleotide polymorphism of Sirtuin 1 (SIRT1) and response to resveratrol supplementation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* **2019**, *56*, 963–966. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Price, N.L.; Gomes, A.P.; Ling, A.J.; Duarte, F.V.; Martin-Montalvo, A.; North, B.J.; Hubbard, B.P. SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. *Cell Metab.* **2012**, *15*, 675–690. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Calabrese, E.J. Hormesis: Principles and applications. *Homeopathy* **2015**, *104*, 69e82. [[CrossRef](#)]
57. Calabrese, E.J.; Dhawan, G.; Kapoor, R.; Iavicoli, I.; Calabrese, V. Hormesis: A fundamental concept with widespread biological and biomedical applications. *Gerontology* **2016**, *62*, 530–535. [[CrossRef](#)]
58. Calabrese, E.J. Hormesis: Path and progression to significance. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 2871. [[CrossRef](#)]
59. Kulkarni, S.S.; Cantó, C. The molecular targets of resveratrol. *Biochim. Biophys. Acta* **2015**, *1852*, 1114–1123. [[CrossRef](#)]

60. Zhu, X.; Wu, C.; Qiu, S.; Yuan, X.; Li, L. Effects of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity in subjects with type 2 diabetes: Systematic review and meta-analysis. *Nutr. Metab.* **2017**, *14*, 60. [CrossRef]
61. Mukherjee, S.; Dudley, J.I.; Das, D.K. Dose-dependency of resveratrol in providing health benefits. *Dose Response* **2010**, *8*, 478–500. [CrossRef]
62. Crandall, J.P.; Oram, V.; Trandafirescu, G.; Reid, M.; Kishore, P.; Hawkins, M.; Cohen, H.W.; Barzilai, N. Pilot study of resveratrol in older adults with impaired glucose tolerance. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* **2012**, *67*, 1307–1312. [CrossRef]
63. Jeyaraman, M.M.; Al-Yousif, N.S.; Mann, A.S.; Dolinsky, V.W.; Rabbani, R.; Zarychanski, R.; Abou-Setta, A.M. Resveratrol for adults with type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2020**, *1*, CD011919. [CrossRef]
64. Guo, X.F.; Li, J.M.; Tang, J.; Li, D. Effects of resveratrol supplementation on risk factors of non-communicable diseases: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2018**, *58*, 3016–3029. [CrossRef]
65. Rahman, S.; Islam, R. Mammalian Sirt1: Insights on its biological functions. *Cell Commun. Signal* **2011**, *9*, 11. [CrossRef]
66. Ramsey, K.M.; Mills, K.F.; Satoh, A.; Imai, S.I. Age-associated loss of Sirt1-mediated enhancement of glucose-stimulated insulin secretion in beta cell-specific Sirt1-overexpressing (BESTO) mice. *Aging Cell* **2008**, *7*, 78–88. [CrossRef]
67. Grassi, M.; Petracchia, L.; Mennuni, G.; Fontana, M.; Scarno, A.; Sabetta, A.; Fraioli, A. Changes, functional disorders, and diseases in the gastrointestinal tract of elderly. *Nutr. Hosp.* **2011**, *26*, 659–668. [CrossRef]
68. Khan, S.S.; Singer, B.; Vaughan, D. Molecular and physiological manifestations and measurement of aging in humans. *Aging Cell* **2017**, *16*, 624–633. [CrossRef]
69. Slawinska, N.; Krupa, R. Molecular aspects of senescence and organismal ageing-DNA damage response, telomeres, inflammation and chromatin. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 590. [CrossRef]
70. Herranz, N.; Gil, J. Mechanisms and functions of cellular senescence. *J. Clin. Investig.* **2018**, *128*, 1238–1246. [CrossRef]
71. Malaquin, N.; Martinez, A.; Rodier, F. Keeping the senescence secretome under control: Molecular reins on the senescence-associated secretory phenotype. *Exp. Gerontol.* **2016**, *82*, 39–49. [CrossRef]
72. Borghesan, M.; Hoogaars, W.M.H.; Varela-Eirin, M.; Talma, N.; Demaria, M. A senescence-centric view of aging: Implications for longevity and disease. *Trends Cell Biol.* **2020**, *30*, 777–791. [CrossRef]
73. Webb, M.; Sideris, D.P. Intimate relations-Mitochondria and ageing. *Int. J. Mols. Sci.* **2020**, *21*, 7580. [CrossRef] [PubMed]
74. Lambert, A.J.; Brand, M.D. Reactive oxygen species production by mitochondria. *Methods Mol. Biol.* **2009**, *554*, 165–181. [CrossRef] [PubMed]
75. Di Nottia, M.; Verrigni, D.; Torracco, A.; Rizza, T.; Bertini, E.; Carozzo, R. Mitochondrial dynamics: Molecular mechanisms, related primary mitochondrial disorders and therapeutic approaches. *Genes* **2021**, *12*, 247. [CrossRef]
76. Blanco-Benítez, M.; Calderón-Fernández, A.; Canales-Cortés, S.; Alegre-Cortés, E.; Uribe-Carretero, E.; Paredes-Barquero, M.; Gimenez-Bejarano, A.; González, G.D.; Gómez-Suaga, P.; Ortega-Vidal, J.; et al. Biological effects of olive oil phenolic compounds on mitochondria. *Mol. Cell Oncol.* **2022**, *9*, 2044263. [CrossRef] [PubMed]
77. Ashrafizadeh, M.; Javanmardi, S.; Moradi-Ozarlou, M.; Mohammadinejad, R.; Farkhondeh, T.; Samarghandian, S.; Garg, M. Natural products and phytochemical nanoformulations targeting mitochondria in oncotherapy: An updated review on resveratrol. *Biosci. Rep.* **2020**, *40*, BSR20200257. [CrossRef] [PubMed]
78. Labbadia, J.; Morimoto, R.I. The biology of proteostasis in aging and disease. *Annu. Rev. Biochem.* **2015**, *84*, 435–464. [CrossRef] [PubMed]
79. Walter, P.; Ron, D. The unfolded protein response: From stress pathway to homeostatic regulation. *Science* **2011**, *334*, 1081–1086. [CrossRef] [PubMed]
80. Höhn, A.; König, J.; Grune, T. Protein oxidation in aging and removal of oxidized proteins. *J. Proteom.* **2013**, *92*, 132–159. [CrossRef]
81. Vatner, S.; Zhang, J.; Oydanich, M.; Berkman, T.; Naftalovich, R.; Vatner, D. Healthful aging mediated by inhibition of oxidative stress. *Ageing Res. Rev.* **2020**, *64*, 101194. [CrossRef]
82. Sies, H. Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.* **2015**, *4*, 180–183. [CrossRef]
83. Liu, T.; Zhang, L.; Joo, D.; Sun, S.C. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct. Target Ther.* **2017**, *2*, 17023. [CrossRef]
84. De la Fuente, M.; Miquel, J. An update of the oxidation-inflammation theory of aging: The involvement of the immune system in oxi-inflammaging. *Curr. Pharm. Des.* **2009**, *15*, 3003–3026. [CrossRef]
85. Page, M.J.; McKenzie, J.E.; Bossuyt, P.M.; Boutron, I.; Hoffmann, T.C.; Mulrow, C.D.; Shamseer, L.; Tetzlaff, J.M.; Akl, E.A.; Brennan, S.E.; et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* **2021**, *372*, n71. [CrossRef]
86. The Nordic Cochrane Centre. Review Manager (RevMan). Cochrane Collab, 2014. Available online: <http://community.cochrane.org/tools/review-production-tools/revman-5/about-revman-5> (accessed on 5 August 2022).
87. Li, N.; Yue, H.; Jia, M.; Liu, W.; Hou, H.; Huang, F.; Xu, T. Effect of low-ratio n-6/n-3 PUFA on blood glucose: A meta-analysis. *Food Funct.* **2019**, *10*, 4557–4565. [CrossRef]
88. Hozo, S.P.; Djulbegovic, B.; Hozo, I. Estimating the mean and variance from the median, range, and the size of a sample. *BMC Med. Res. Metodol.* **2005**, *5*, 13. [CrossRef]