



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Diabetis mellitus tipus 2: Impacte metabòlic d'una dieta rica en sardina

Mariona Balfegó Díaz

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

Programa de doctorat Biomedicina

Facultat de Medicina

**DIABETIS MELLITUS TIPUS 2:**  
Impacte metabòlic  
d'una dieta rica en sardina

Tesi presentada per

**Mariona Balfegó Díaz**

Per obtenir el títol de doctora per la Universitat de Barcelona

Dirigida per

**Dr. Ramon Gomis**

Barcelona, desembre 2016





*A la meva família*



*La nutrició òptima és la medicina del demà*

*Linus Pauling, 1901-1994, bioquímic, investigador,  
premi Nobel de Química l'any 1954 i Premi Nobel de la Pau l'any 1962*



# Agraïments

En primer lloc vull donar les gràcies al Dr. Ramon Gomis, director de la present tesi doctoral, per haver-me donat l'oportunitat de formar part del seu grup d'investigació, per la confiança dipositada en mi i haver-me guiat i donat suport en aquest llarg camí que és la tesi doctoral.

A tots els companys i ex-companys del laboratori de Diabetis i Obesitat de l'IDIBAPS que m'han donat suport i amb els que he compartit bons moments durant aquests 5 anys, especialment al Serafín i la Laura.

A totes les persones que han col·laborat en el projecte de tesi i han fet que sigui possible, especialment al Serafín Murillo, al Dr. Aleix Sala i la Dra. Margarita Martínez; per compartir els seus coneixements sobre nutrició i diabetis, àcids grassos omega 3 i microbiota intestinal amb mi. A la Dra. Silvia Canivell per la seva implicació en el reclutament de pacients i l'anàlisi estadístic dels resultats. A la Elena i la Yaiza per la seva participació en la part experimental. A la Dra. Teresa Mur, per la seva implicació en el reclutament i les visites de seguiment dels pacients. A tots els co-autors de l'article, pel seu suport i participació durant tot el procés.

A l'equip humà de diferents centres i institucions: el CIBERDEM, l'Hospital Clínic, la Unitat d'Endocrinologia de l'Hospital Vall d'Hebrón, de l'Hospital Carlos Haya de Màlaga, el CAP Les Corts i el CAP Terrassa Sud.

A la Dra. Elena Roura i l'equip de la Fundació Alícia pel seu esforç, dedicació i implicació durant tot l'estudi en el procés de desenvolupament, fabricació i repartiment dels aliments amb sardina i l'organització dels tallers de cuina.

A tots els pacients que van participar en l'estudi "de la sardina" de manera desinteressada i van seguir els meus consells nutricionals.

A la Cande, per la seva creativitat i dedicació en el disseny de la portada. A la Glòria, per la seva implicació, creativitat i dedicació al disseny gràfic

de la tesi, treient temps de la seva “moda sana”.

I per suposat, l'agraïment més profund a la meva família, als meus pares, la meva germana Joana, al meu cunyat Pere i al petit Pere. Per estar sempre al meu costat, tant en els bons moments com els no tan bons, per aguantar les meves dèries durant l'escriptura de la tesi, pel vostre suport incondicional per tirar endavant, els vostres consells i la vostra estima. Gràcies per ensenyar-me a lluitar pels meus somnis, sense vosaltres no ho hauria aconseguit.

# Finançament

Aquest treball de tesi ha rebut finançament de la Fundació Catalunya-La Pedrera, la Generalitat de Catalunya amb la beca SGR659 l'any 2014 i l'Associació Catalana de Diabetis amb l'ajut Gonçal Lloveras i Vallès l'any 2014. El Centro de Investigación en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM) és una iniciativa del Instituto de Salud Carlos III.





# Índex de continguts

|                                                                                                        |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. Introducció .....</b>                                                                            | <b>43</b> |
| 1.1. Definició i classificació de la diabetis mellitus .....                                           | 43        |
| 1.2. Criteris de diagnòstic de diabetis mellitus .....                                                 | 46        |
| 1.3. La transició nutricional en l'èpidemia mundial de diabetis<br>tipus 2.....                        | 48        |
| 1.3.1.El cas d'Espanya .....                                                                           | 51        |
| 1.4. Obesitat, resistència a la insulina i disfunció $\beta$ cel·lular en la<br>diabetis tipus 2 ..... | 52        |
| 1.5. La inflamació metabòlica en la diabetis tipus 2 .....                                             | 60        |
| 1.6. La microbiota intestinal en la diabetis tipus 2 .....                                             | 66        |
| 1.7. Adiponectina, diabetis tipus 2 i malaltia cardiovascular.....                                     | 69        |
| 1.8. Teràpia nutricional de la diabetis tipus 2.....                                                   | 73        |

|                                                                    |            |
|--------------------------------------------------------------------|------------|
| 1.8.1. Evolució històrica de la teràpia nutricional de la diabetis |            |
| tipus 2 .....                                                      | 73         |
| 1.8.2. Bases actuals de la teràpia nutricional de la diabetis      |            |
| tipus 2 .....                                                      | 77         |
| 1.8.3. Composició química i valor nutricional del peix .....       | 82         |
| 1.8.4. El peix com a component dietètic en la diabetis tipus 2 ..  | 91         |
| 1.8.5. Ingesta de peix i risc de malaltia cardiovascular,          |            |
| diabetis tipus 2 i depressió .....                                 | 95         |
| 1.8.5.1. Índex omega-3 i risc cardiovascular .....                 | 98         |
| 1.8.6. Evidència del efectes del peix blau i els seus nutrients    |            |
| en la diabetis tipus 2 .....                                       | 100        |
| 1.8.6.1. Àcids grassos poliinsaturats de cadena llarga             |            |
| omega 3 .....                                                      | 100        |
| 1.8.6.2. Proteïna de peix .....                                    | 107        |
| 1.8.6.3. Pèptids de peix .....                                     | 108        |
| 1.8.6.4. Taurina .....                                             | 109        |
| 1.8.6.5. Efectes de la ingesta de peix blau en el control          |            |
| glucèmic i la sensibilitat a la insulina de pacients               |            |
| amb diabetis i elevat risc cardiovascular .....                    | 114        |
| 1.8.6.6. Efectes de la ingesta de peix blau en la inflamació ..    | 124        |
| 1.8.6.7. Efectes de la ingesta de peix blau en factors de          |            |
| risc cardiovascular .....                                          | 132        |
| <b>2. Justificació .....</b>                                       | <b>145</b> |
| <b>3. Hipòtesi .....</b>                                           | <b>149</b> |

|                                                                            |            |
|----------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>4. Objectius .....</b>                                                  | <b>151</b> |
| <b>5. Metodologia .....</b>                                                | <b>153</b> |
| 5.1. Reclutament i randomització dels pacients .....                       | 153        |
| 5.2. Criteris d'inclusió i d'exclusió .....                                | 155        |
| 5.3. Disseny de l'estudi .....                                             | 156        |
| 5.3.1. Disseny de l'educació dietètica .....                               | 157        |
| 5.3.2. Disseny de les intervencions dietètiques .....                      | 157        |
| 5.3.2.1. Distribució dels hidrats de carboni de la dieta .....             | 158        |
| 5.3.2.2. Dieta enriquida en sardina .....                                  | 158        |
| 5.4. Mesures, avaluacions clíniques i determinacions<br>bioquímiques ..... | 161        |
| 5.4.1. Mesures antropomètriques .....                                      | 161        |
| 5.4.2. Mesura de la pressió arterial i la freqüència cardíaca ...          | 161        |
| 5.4.3. Avaluació de la qualitat de vida .....                              | 161        |
| 5.4.4. Determinacions en sang total i plasma .....                         | 162        |
| 5.4.5. Composició de la microbiota intestinal .....                        | 163        |
| 5.5. Protocol de visites .....                                             | 164        |
| 5.6. Anàlisi estadístic .....                                              | 165        |
| <b>6. Resultats .....</b>                                                  | <b>167</b> |
| 6.1. Característiques basals dels pacients .....                           | 167        |
| 6.2. Antropometria .....                                                   | 169        |
| 6.3. Control glucèmic .....                                                | 170        |
| 6.4. Insulina en dejú i resistència a la insulina .....                    | 172        |
| 6.5. Adiponectina i marcadors d'inflamació .....                           | 173        |

|                                                                                                                               |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 6.6. Perfil lipídic .....                                                                                                     | 176        |
| 6.7. Pressió arterial .....                                                                                                   | 177        |
| 6.8. Ingesta dietètica .....                                                                                                  | 178        |
| 6.8.1. Ingesta energètica, de macronutrients, fibra dietètica<br>i etanol .....                                               | 178        |
| 6.8.2. Ingesta de greixos .....                                                                                               | 182        |
| 6.8.3. Ingesta d'aminoàcids .....                                                                                             | 186        |
| 6.8.4. Ingesta de vitamines i minerals .....                                                                                  | 189        |
| 6.9. Composició d'àcids grassos en membranes d'eritròcits .....                                                               | 192        |
| 6.10. Composició de la microbiota intestinal .....                                                                            | 196        |
| 6.11. Qualitat de vida .....                                                                                                  | 201        |
| <b>7. Discussió .....</b>                                                                                                     | <b>205</b> |
| 7.1. Disminució de la insulinèmia i el HOMA-IR sense<br>modificació del control glucèmic .....                                | 205        |
| 7.2. Increment de l'adiponectina i disminució de la insulinèmia i<br>resistència a la insulina .....                          | 210        |
| 7.3. Increment paral·lel en la IL-10 i l'adiponectina sense canvis<br>en altres marcadors d'inflamació .....                  | 211        |
| 7.4. Efectes neutres en el perfil lipídic .....                                                                               | 213        |
| 7.5. Modificació de la composició d'àcids grassos en membranes<br>d'eritròcits relacionada amb protecció cardiovascular ..... | 215        |
| 7.6. Disminució de la freqüència cardíaca sense efecte en la<br>pressió arterial .....                                        | 216        |
| 7.7. Modificació del patró de microbiota intestinal .....                                                                     | 219        |

|                                                                                           |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 7.8. Influència de la intervenció dietètica en la qualitat de<br>vida dels pacients ..... | 222        |
| <b>8. Conclusions .....</b>                                                               | <b>225</b> |
| <b>9. Bibliografia .....</b>                                                              | <b>229</b> |
| <b>10. Annexos .....</b>                                                                  | <b>265</b> |
| Annex I. Publicació de l'Estudi Pilchardus .....                                          | 266        |
| Annex II. Consentiment informat .....                                                     | 277        |
| Annex III. Qüestionari de freqüència de consum d'aliments .....                           | 278        |
| Annex IV. Qüestionari de qualitat de vida .....                                           | 282        |
| Annex V. Metodologia de la determinació de la microbiota<br>intestinal .....              | 284        |
| Annex VI. Receptari de plats amb sardina .....                                            | 287        |



# Índex de taules

|                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Taula 1. Classificació i característiques clíniques de la DM .....                                  | 45 |
| Taula 2. Criteris diagnòstics de DM segons l'OMS i l'ADA .....                                      | 47 |
| Taula 3. Prevalença de diabetis tipus 2 a Espanya .....                                             | 52 |
| Taula 4. Classificació del sobrepès i la obesitat d'acord amb l'índex<br>de massa corporal .....    | 56 |
| Taula 5. Principals adipoquines relacionades amb la inflamació .....                                | 64 |
| Taula 6. Espècies de bacteries intestinals relacionades amb la DM2 ....                             | 69 |
| Taula 7. Evolució històrica de la teràpia nutricional de la DM .....                                | 77 |
| Taula 8. Composició en energia, aigua, i macronutrients de diferents<br>peixos blaus i blancs. .... | 83 |
| Taula 9. Comparació del contingut d'AGS, AGM i AGPI de diferents<br>peixos .....                    | 84 |
| Taula 10. Contingut d'AGPICL $\omega$ -3 i $\omega$ -6 de diferents peixos .....                    | 85 |



|                                                                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Taula 11. Classificació dels aminoàcids en essencials, no essencials<br>i funcionals .....                                            | 88  |
| Taula 12. Contingut d'aminoàcids essencials en la sardina i<br>el bacallà .....                                                       | 89  |
| Taula 13. Contingut de taurina i tirosina de diferents peixos blaus,<br>blancs i carns .....                                          | 89  |
| Taula 14. Contingut de calci, ferro, seleni i vitamines A i D de<br>diferents peixos blaus, blancs i carns .....                      | 90  |
| Taula 15. Patrons dietètics que inclouen peix i han demostrat<br>beneficis en el tractament de la DM2 .....                           | 92  |
| Taula 16. Recomanacions d'ingesta de peix de diferents<br>organitzacions de nutrició, diabetis i salut cardiovascular .....           | 93  |
| Taula 17. Punts de tall proposats per l'índex omega-3 en relació al<br>risc cardiovascular .....                                      | 100 |
| Taula 18. Efectes de la suplementació d'AGPICL $\omega$ -3 en pacients<br>amb obesitat i/o síndrome metabòlic .....                   | 102 |
| Taula 19. Efectes de la suplementació d'AGPICL $\omega$ -3 en pacients<br>amb DM2 .....                                               | 102 |
| Taula 20. Estudis clínics de suplementació amb taurina .....                                                                          | 112 |
| Taula 21. Efectes de la ingesta de peix blau en el metabolisme de la<br>glucosa i la insulina en pacients amb prediabetis i DM2 ..... | 116 |
| Taules 22-22.2. Efectes de la ingesta de peix blau en el metabolisme<br>de la glucosa i la insulina en pacients sense DM2 .....       | 118 |

|                                                                                                                           |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Taula 23. Efectes de la ingesta de peix blau en la inflamació en<br>pacients amb prediabetis i DM2 .....                  | 126 |
| Taules 24 i 24.1. Efectes de la ingesta de peix blau en la inflamació<br>en pacients sense DM2 .....                      | 128 |
| Taula 25. Efectes de la ingesta de peix blau en factors de risc<br>cardiovascular en pacients amb prediabetis i DM2 ..... | 134 |
| Taules 26-26.3. Efectes de la ingesta de peix blau en factors<br>de risc cardiovascular en pacients sense DM2 .....       | 136 |
| Taula 27. Característiques basals dels pacients .....                                                                     | 168 |
| Taula 28. Pes i IMC a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica ..                                                | 169 |
| Taula 29. Perímetre de cintura i cadera a l'inici i als 6 mesos de la<br>intervenció dietètica .....                      | 170 |
| Taula 30. Glucosa en dejú i HbA1c a l'inici i als 6 mesos de la<br>intervenció dietètica .....                            | 171 |
| Taula 31. Insulina en dejú i HOMA-IR a l'inici i als 6 mesos de la<br>intervenció dietètica .....                         | 172 |
| Taula 32. Concentracions d'adiponectina, PCRu i TNF $\alpha$ a l'inici i<br>als 6 mesos de la intervenció dietètica ..... | 174 |
| Taula 33. Concentracions d'IL-10, IL-6 i IL8 a l'inici i als 6 mesos<br>de la intervenció dietètica .....                 | 175 |
| Taula 34. Perfil lipídic a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica ..                                           | 176 |
| Taula 35. Pressió arterial i freqüència cardíaca a l'inici i als 6 mesos<br>de la intervenció dietètica .....             | 177 |

|                                                                                                                                          |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Taula 36. Ingesta energètica i percentatge d'aport energètic de macronutrients a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica ..... | 179 |
| Taula 37. Ingesta de macronutrients, fibra dietètica i etanol a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica .....                  | 180 |
| Taula 38. Ingesta de greixos en percentatge d'aport d'energètic total a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica .....          | 183 |
| Taula 39. Ingesta de greixos en g/dia l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica .....                                            | 184 |
| Taula 40. Ingesta d'aminoàcids a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica .....                                                 | 186 |
| Taula 41. Ingesta d'aminoàcids a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica .....                                                 | 187 |
| Taula 42. Ingesta d'aminoàcids a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica .....                                                 | 188 |
| Taula 43. Ingesta de vitamines a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica .....                                                 | 190 |
| Taula 44. Ingesta de minerals a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica .....                                                  | 191 |
| Taula 45. Composició dels àcids grassos en membranes d'eritròcits a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica .....              | 193 |
| Taula 46. Composició dels àcids grassos en membranes d'eritròcits a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica .....              | 195 |

|                                                                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Taula 47. Composició de la microbiota intestinal a l'inici i als 6<br>mesos de la intervenció dietètica .....                                                      | 197 |
| Taula 48. Composició de la microbiota intestinal a l'inici i als 6<br>mesos de la intervenció dietètica .....                                                      | 199 |
| Taula 49. Avaluació de la qualitat de vida global a l'inici i als 6<br>mesos de la intervenció dietètica .....                                                     | 201 |
| Taula 50. Avaluació dels paràmetres de mobilitat i cura personal<br>a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica .....                                      | 202 |
| Taula 51. Avaluació dels paràmetres d'activitats quotidianes, dolor/<br>discomfort i ansietat/depressió l'inici i als 6 mesos de la<br>intervenció dietètica ..... | 203 |
| Taules 52-52.2. Primers, proves, estàndards de quantificació i<br>condicions de la PCR .....                                                                       | 284 |



# Índex de figures

|                                                                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Estimació del nombre de persones amb DM per regions<br>del món l'any 2015 i predicció per l'any 2040 .....                            | 50 |
| Figura 2. Països del món amb més adults amb DM per territori<br>l'any 2015 .....                                                                | 50 |
| Figura 3. Homeostàsi de la glucosa en l'estat de dejuni .....                                                                                   | 53 |
| Figura 4. Homeostàsi de la glucosa en l'estat d'ingesta d'aliments .....                                                                        | 54 |
| Figura 5. Fallida $\beta$ cel·lular i història natural de la DM2 .....                                                                          | 55 |
| Figura 6. Acumulació de teixit adipós en l'obesitat .....                                                                                       | 57 |
| Figura 7. Paper dels gens i l'ambient en el desenvolupament de<br>l'obesitat i la DM2 .....                                                     | 58 |
| Figura 8. Probabilitat de supervivència de DM (A) i escurçament<br>dels anys de vida supervivència deguts a la DM (B) en<br>homes i dones ..... | 59 |

|                                                                                                                                                                       |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 9. Rutes de senyalització implicades en la inflamació clàssica<br>i la metainflamació .....                                                                    | 61  |
| Figura 10. Equilibri entre metabolisme i immunitat .....                                                                                                              | 62  |
| Figura 11. Vies inflamatòries implicades en el desenvolupament de la<br>resistència a la insulina .....                                                               | 63  |
| Figura 12. Polarització proinflamatòria de macròfags al teixit adipós<br>durant l'obesitat .....                                                                      | 65  |
| Figura 13. Regulació de la microbiota intestinal en el metabolisme,<br>l'obesitat i la inflamació associada a l'obesitat .....                                        | 68  |
| Figura 14. Estructura de l'adiponectina .....                                                                                                                         | 70  |
| Figura 15. Principals accions de l'adiponectina en el sistema<br>cardiovascular .....                                                                                 | 72  |
| Figura 16. Transformació metabòlica dels AGPICL $\omega$ -6 i $\omega$ -3. Vies<br>Vies de desaturació i elongació dels àcids linoleic<br>i $\alpha$ -linolènic ..... | 86  |
| Figura 17. Consum de peix per persona al món durant el període<br>2007-2009 .....                                                                                     | 94  |
| Figura 18. Ruta metabòlica dels AGPICL $\omega$ -3 desde l'aliment fins<br>als teixits .....                                                                          | 99  |
| Figura 19. Incorporació de l'EPA i l'DHA a les membranes cel·lulars<br>produint mediadors lipídics amb activitat antiinflamatòria ..                                  | 104 |
| Figura 20. Vies de senyalització, receptors i mecanismes<br>antiinflamatoris de l'EPA i l'DHA als adipòcits i macròfags ..                                            | 106 |
| Figura 21. Estructura tridimensional de la taurina .....                                                                                                              | 109 |

|                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 22. Ruta metabòlica de biosíntesi de la taurina .....                                                       | 110 |
| Figura 23. Unitats Clíniques participants en l'estudi Pilchardus .....                                             | 154 |
| Figura 24. Diagrama de flux del reclutament, participació i<br>abandonaments de l'estudi Pilchardus .....          | 155 |
| Figura 25. Disseny de l'estudi Pilchardus .....                                                                    | 156 |
| Figura 26. Exemples d'aliments a base de sardina durant el procés<br>de desenvolupament a la Fundació Alícia ..... | 159 |
| Figura 27. Esquema del protocol de visites de l'Estudi Pilchardus .....                                            | 164 |





# Índex de gràfics

|                                                                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Gràfic 1. Contingut en taurina de la sardina en llauna i els aliments<br>a base de sardina utilitzats en l'Estudi Pilchardus ..... | 160 |
| Gràfic 2. Modificació de l'HbA1c entre l'inici i el final de l'estudi .....                                                        | 171 |
| Gràfics 3a i 3b. Disminució de la insulina en dejú i el HOMA-IR entre<br>l'inici i el final de la intervenció dietètica .....      | 173 |
| Gràfic 4. Increment en l'adiponectina entre l'inici i el final de la<br>intervenció dietètica .....                                | 175 |
| Gràfic 5. Disminució de la freqüència cardíaca entre l'inici i el final<br>de la intervenció dietètica .....                       | 178 |
| Gràfic 6. Modificació de la ingesta energètica entre l'inici i el final<br>de la intervenció dietètica .....                       | 181 |
| Gràfic 7. Modificació de la ingesta de fibra entre l'inici i el final de la<br>intervenció dietètica .....                         | 181 |

|                                                                                                                                                                                                  |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Gràfic 8. Disminució de la ingesta d'àcids grassos saturats entre<br>l'inici i el final de la intervenció dietètica .....                                                                        | 182 |
| Gràfic 9. Augment de la ingesta d'AGPICL $\omega$ -3 entre l'inici i el final<br>de la intervenció dietètica .....                                                                               | 185 |
| Gràfic 10. Augment de la ingesta d'EPA+DHA entre l'inici i el final<br>de la intervenció dietètica .....                                                                                         | 185 |
| Gràfic 11. Modificació de la ingesta de taurina entre l'inici i el final<br>de la intervenció dietètica .....                                                                                    | 189 |
| Gràfic 12. Increment de la ingesta de vitamina D entre l'inici i el final<br>de l'estudi .....                                                                                                   | 191 |
| Gràfic 13. Increment de la ingesta de vitamina B <sub>12</sub> entre l'inici i el<br>final de la intervenció dietètica .....                                                                     | 192 |
| Gràfic 14. Increment de l'IO3 entre l'inici i el final de la intervenció<br>dietètica .....                                                                                                      | 194 |
| Gràfic 15. Increment dels AGPICL $\omega$ -3 en membranes d'eritròcits<br>entre l'inici i el final de la intervenció dietètica .....                                                             | 194 |
| Gràfic 16. Disminució de l'àcid araquidònic en membranes d'eritròcits<br>entre l'inici i el final de la intervenció dietètica .....                                                              | 196 |
| Gràfic 17. Modificació de les concentracions de bacteries del fílum<br><i>Firmicutes</i> al grup control (a) i al grup sardina (b) entre<br>l'inici i el final de la intervenció dietètica ..... | 198 |
| Gràfic 18. Modificació del ratio <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> al grup<br>control (a) i al grup sardina (b) entre l'inici i el final de la<br>intervenció dietètica .....                      | 198 |

|                                                                                                                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Gràfic 19. Modificació de les concentracions de bactèries del grup<br><i>E.coli</i> al grup control (a) i al grup sardina (b) entre l'inici i<br>el final de la intervenció dietètica ..... | 200 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

|                                                                                                                                                                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Gràfic 20. Modificació de les concentracions de bactèries del grup<br><i>Bacteroides-Prevotella</i> al grup control (a) i al grup sardina<br>(b) entre l'inici i el final de la intervenció dietètica ..... | 200 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|



# Abreviatures i acrònims

|                    |                                                                      |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------|
| AA                 | Àcid araquidònic                                                     |
| AACs               | Aminoàcids                                                           |
| ADA                | <i>American Diabetes Association</i>                                 |
| ADIPOR1            | Receptor d'adiponectina 1                                            |
| ADIPOR2            | Receptor d'adiponectina 2                                            |
| AET                | Aport energètic total                                                |
| AGPI               | Àcids grassos poliinsaturats                                         |
| AGPICL- $\omega$ 3 | Àcids grassos poliinsaturats de cadena llarga de la sèrie $\omega$ 3 |
| AGPICL- $\omega$ 6 | Àcids grassos poliinsaturats de cadena llarga de la sèrie $\omega$ 6 |
| AGM                | Àcids grassos monoinsaturats                                         |
| AGS                | Àcids grassos saturats                                               |
| AGs                | Àcids grassos                                                        |

|                    |                                                                                                                            |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AHA                | <i>American Heart Association</i>                                                                                          |
| ALA                | Àcid $\alpha$ -linolènic (de l'anglès, <i>alpha-linolenic acid</i> )                                                       |
| AMPK               | Proteïna quinasa activada per adenosina monofosfat (de l'anglès, <i>adenosine monophosphate-activated protein kinase</i> ) |
| ANCOVA             | Anàlisi de la covariança (de l'anglès, <i>analysis of covariance</i> )                                                     |
| CAGME              | Composició d'àcids grassos en membranes d'eritròcits                                                                       |
| CAP                | Centre d'Atenció Primària                                                                                                  |
| <i>C.coccoides</i> | <i>Clostridium coccoides</i>                                                                                               |
| CDB                | Centre de Diagnòstic Biomèdic de l'Hospital Clínic                                                                         |
| CESNID             | Centre Superior d'Ensenyament en Nutrició humana i Dietètica                                                               |
| CIBERDEM           | Centro de Investigación en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas                                            |
| COX                | Ciclooxigenasa                                                                                                             |
| DASH               | <i>Dietary Approaches to Stop Hypertension</i>                                                                             |
| DDCT               | <i>Diabetes Control and Complications Trial</i>                                                                            |
| DHA                | Àcid docosahexaenoic (del'anglès, <i>docosahexaenoic acid</i> )                                                            |
| DHGLA              | Àcid dihomogamma-linolenic (de l'anglès <i>dihomo-gamma-linolenic acid</i> )                                               |
| DM                 | Diabetis mellitus                                                                                                          |
| DM1                | Diabetis mellitus tipus 1                                                                                                  |
| DM2                | Diabetis mellitus tipus 2                                                                                                  |
| EASD               | <i>European Association for the Study of Diabetes</i>                                                                      |

|                       |                                                                                                                                                          |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>E.coli</i>         | <i>Escherichia coli</i>                                                                                                                                  |
| ELISA                 | Assaig per immunoadsorció lligat a enzims (de l'anglès <i>Enzym-linked ImmunoSorbent Assay</i> )                                                         |
| ENCAT                 | Enquesta Nutricional de la població Catalana                                                                                                             |
| ENIDE                 | Encuesta Nacional de Ingesta Dietética Española                                                                                                          |
| ENS                   | Enquesta Nacional de Salut                                                                                                                               |
| EPA                   | Àcid eicosapentaenoic (de l'anglès <i>eicosapentaenoic acid</i> )                                                                                        |
| <i>E. rectale</i>     | <i>Eubacterium rectale</i>                                                                                                                               |
| ES                    | Error estàndard                                                                                                                                          |
| EQ-5D                 | EuroQol-5D                                                                                                                                               |
| EVA                   | Escala visual analògica                                                                                                                                  |
| FAO                   | <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>                                                                                           |
| FC                    | Freqüència cardíaca                                                                                                                                      |
| <i>F. prausnitzii</i> | <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>                                                                                                                      |
| GC                    | Grup control                                                                                                                                             |
| GLP-1                 | Pèptid-1 similar al glucagó (de l'anglès, <i>Glucagon-like-peptide-1</i> )                                                                               |
| GPD                   | Glucosa plasmàtica en dejú                                                                                                                               |
| GS                    | Grup sardina                                                                                                                                             |
| HbA1c                 | Hemoglobina glicosilada                                                                                                                                  |
| HO                    | Hipoglucemiants orals                                                                                                                                    |
| HOMA-IR               | Model d'homeostàsi d'avaluació estimada de la resistència a la insulina (de l'anglès, <i>homeostasis model assessment-estimated insulin resistance</i> ) |



|              |                                                                                                      |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| IDF          | <i>International Diabetes Federation</i>                                                             |
| IDIBAPS      | Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer                                             |
| IECA         | Inhibidors de l'enzim convertidor de l'angiotensina                                                  |
| IKK $\beta$  | quinasa beta I-kappaB (de l'anglès <i>IkappaB kinase-beta</i> )                                      |
| IL-1 $\beta$ | Interleuquina 1 $\beta$                                                                              |
| IL-6         | Interleuquina 6                                                                                      |
| IL-10        | Interleuquina 10                                                                                     |
| IL-18        | Interleuquina 18                                                                                     |
| IMC          | Índex de massa corporal                                                                              |
| IO3          | Índex omega-3                                                                                        |
| IRS-1        | Substrat receptor d'insulina 1 (de l'anglès <i>Insulin receptor substrate 1</i> )                    |
| IRS-2        | Substrat receptor d'insulina 2 (de l'anglès <i>Insulin receptor substrate 2</i> )                    |
| JNK          | Proteïna quinasa c-Jun N-terminal (de l'anglès <i>c-Jun N-terminal protein kinase</i> )              |
| LA           | Àcid linoleic ( de l'anglès <i>linoleic acid</i> )                                                   |
| LADA         | Diabetis latent autoimmunitària en adults (de l'anglès <i>Latent Autoimmune Diabetes in Adults</i> ) |
| LOX          | Lipooxigenasa                                                                                        |
| LPS          | Lipopolisacàrid                                                                                      |
| MAPA         | Monitor ambulatori de la pressió arterial                                                            |
| MCP-1        | Proteïna quimioatracent de monòcits (de l'anglès <i>Monocyte chemoattractant protein-1</i> )         |

|       |                                                                                                                                                                             |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| MI    | Microbiota intestinal                                                                                                                                                       |
| MODY  | Diabetis de l'edat adulta que es presenta en el jove (de l'anglès <i>Maturity Onset Diabetes of the Young</i> )                                                             |
| NF-κB | Factor nuclear potenciador de les cadenes lleugeres kappa de les cèl·lules B activades (de l'anglès <i>nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i> ) |
| NGSP  | <i>National Glycohemoglobin Standardization Program</i>                                                                                                                     |
| NLRP3 | <i>Nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat family pyrin domain-containing 3</i>                                                                                   |
| OMS   | Organització Mundial de la Salut                                                                                                                                            |
| PA    | Pressió arterial                                                                                                                                                            |
| PAD   | Pressió arterial diastòlica                                                                                                                                                 |
| PAI-1 | Inhibidor de l'activador del plasminògen 1 (de l'anglès <i>Plasminogen activator inhibitor-1</i> )                                                                          |
| PAS   | Pressió arterial sistòlica                                                                                                                                                  |
| PCR   | Proteïna C Reactiva                                                                                                                                                         |
| PCR   | Reacció en cadena de la polimerasa (de l'anglès <i>polymerase chain reaction</i> )                                                                                          |
| PCRu  | Proteïna C Reactiva Ultrasensible                                                                                                                                           |
| PPAR  | Receptor activat pe proliferadors peroxisomals (de l'anglès <i>Peroxisome proliferator-activated receptor</i> )                                                             |
| QFCA  | Qüestionari de freqüència de consum d'aliments                                                                                                                              |
| QRD   | Qüestionari de Recollida de Dades                                                                                                                                           |
| QV    | Qualitat de vida                                                                                                                                                            |
| RI    | Resistència a la insulina                                                                                                                                                   |
| TG    | Triglicèrids                                                                                                                                                                |

|              |                                                                                      |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| TLRs         | Receptors tipus Toll (de l'anglès <i>Toll-like receptors</i> )                       |
| TNF $\alpha$ | Factor de necrosi tumoral $\alpha$ (de l'anglès <i>tumor necrosis factor alpha</i> ) |
| TNG          | Tolerància normal a la glucosa                                                       |
| TTOG         | Test de Tolerància Oral a la Glucosa                                                 |
| Val-Tir      | Valina-Tirosina                                                                      |







# Resum

**Introducció:** La teràpia nutricional és un dels pilars del tractament de la diabetis tipus 2. Diverses organitzacions nacionals i internacionals de nutrició i diabetis recomanen el consum de peix (preferentment peix blau) com a mínim 2 cops a la setmana per prevenir la malaltia cardiovascular. Tot i això, existeixen molt pocs estudis que hagin investigat els efectes de la inclusió del peix blau en el control glucèmic i la sensibilitat a la insulina de pacients amb DM2.

**Objectius:** L'objectiu primari d'aquesta tesi va ser investigar els efectes d'una dieta rica en sardina en els valors d'hemoglobina glicosilada (HbA1c) de pacients amb diabetis tipus 2 sense tractament antidiabètic. Els objectius secundaris van ser investigar els efectes de la intervenció dietètica en la resistència a la insulina, les concentracions d'adiponectina, marcadors d'inflamació, la pressió arterial, la freqüència cardíaca, el perfil lipídic, la microbiota intestinal, la composició d'àcids grassos en membranes d'eritròcits i la qualitat de vida dels pacients.

**Metodologia:** 35 pacients amb diabetis tipus 2 sense tractament antidiabètic van ser randomitzats per seguir una dieta amb recomanacions generals per la diabetis tipus 2 (grup control: GC), o una dieta amb recomanacions generals per la diabetis tipus 2 enriquida amb 100g de sardina en llauna 5 cops a la setmana (grup sardina: GS) durant 6 mesos. Abans i després de la intervenció dietètica es va realitzar un registre dietètic, es van determinar l'antropometria, la pressió arterial, la freqüència cardíaca, i es va avaluar la qualitat de vida dels pacients. També es va realitzar una extracció sanguínia en dejú i es van determinar l'HbA1c, la glucosa, la insulina, l'adiponectina, la IL-6, IL-8, IL-10, la PCRu, el TNF $\alpha$  i la composició d'àcids grassos en membranes d'eritròcits. La composició de la microbiota intestinal es va determinar a partir de mostres fecals, analitzant l'abundància de *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Bacteroides-Prevotella*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Escherichia coli* i *Eubacterium rectale-Clostridium coccoides*.

**Resultats:** L'HbA1c i la glucosa en dejú van disminuir en els dos grups als 6 mesos de la intervenció dietètica (GS:  $-0,2 \pm 0,1\%$  HbA1c,  $-9,6 \pm 5,4$  mg/dL glucosa; GC:  $-0,3 \pm 0,1\%$  HbA1c,  $-5,2 \pm 5,5$  mg/dL glucosa) sent només significativa la reducció de l'HbA1c en el GC ( $p=0,01$ ) respecte els valors basals. Tan el GS com el GC van disminuir de manera significativa la insulina plasmàtica (GS:  $-6,0 \pm 1,8$  mU/L,  $p=0,01$ ; GC:  $-3,4 \pm 1,5$  mU/L,  $p=0,02$ ) i el model homeostàtic de resistència a la insulina (HOMA-IR) (GS:  $-2,3 \pm 0,7$ ,  $p=0,007$ ; CG:  $-1,1 \pm 0,7$ ,  $p=0,04$ ) als 6 mesos respecte els valors basals. Tot i això, només el GS va incrementar l'adiponectina en plasma en comparació amb l'inici de l'estudi ( $+40,7\%$ ,  $p=0,04$ ). L'índex omega-3 va augmentar significativament d'un  $5,3\%$  a un  $8\%$  al GS respecte el GC ( $p=0,001$ ).

Les dues intervencions dietètiques van disminuir les concentracions del filum *Firmicutes* (GS i GC:  $p=0,04$ ) i van incrementar les de grup *E. coli* (GS:  $p=0,01$ , CG:  $p=0,03$ ) respecte els valors basals. Només el GS va disminuir el ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* ( $p=0,04$ ) i va incrementar el grup *Bacteroides-Prevotella* ( $p=0,004$ ). Tot i que la pressió arterial i el perfil lipídic no es van modificar en resposta a la dieta enriquida amb sardina, si va disminuir la freqüència cardíaca ( $p=0,01$ ). La qualitat de vida global

dels pacients del GS va mostrar una tendència a millorar al final de l'estudi respecte els valors basals ( $p=0,06$ ). Tot i això no es van detectar diferències significatives entre els dos grups en cap dels paràmetres de qualitat de vida valorats (mobilitat, cura personal, activitats quotidianes, dolor/discomfort i ansietat/depressió).

**Conclusions:** Els resultats d'aquesta tesi suggereixen que la inclusió de 100g de sardina 5 dies a la setmana durant 6 mesos no millora el control glucèmic però podria tenir efectes beneficiosos sobre el risc cardiovascular de pacients amb DM2 aconseguint valors òptims d'índex omega-3. A més, l'increment d'adiponectina observat en el GS podria indicar beneficis en la inflamació metabòlica, i la modificació de bactèries intestinals específiques en resposta a la dieta rica en sardina revela l'estreta relació entre components dietètics i la microbiota intestinal. Igualment, els resultats mostren que tan una dieta amb recomanacions generals per la DM2 com una dieta rica en sardina poden millorar la resistència a la insulina de pacients amb DM2.

Són necessaris més estudis amb mida mostral superior i períodes d'intervenció més llargs per corroborar els resultats del nostre estudi pilot, i investigar la implicació de nutrients com la taurina i la proteïna de peix, com també els possibles mecanismes involucrats, especialment el paper de la microbiota intestinal i l'adiponectina.







# 1

## Introducció

### 1.1 Definició i classificació de la diabetis mellitus

La diabetis mellitus (DM) engloba a un grup de malalties metabòliques caracteritzades per una hiperglucèmia crònica. Segons la *American Diabetes Association* (ADA), la DM pot ser classificada en quatre categories principals: la diabetis mellitus tipus 1 (DM1), la diabetis mellitus tipus 2 (DM2), la diabetis mellitus gestacional o diabetis durant l'embaràs, i altres tipus específics de DM, que engloben síndromes de diabetis monogèniques [com la diabetis neonatal i la diabetis MODY (*Maturity Onset Diabetes of the Young*)], malalties del pàncrees exocrí com la fibrosi quística, i DM induïda per fàrmacs o substàncies químiques (com l'ús de glucocorticoides, el tractament farmacològic del virus de la immunodeficiència humana/ síndrome de la immunodeficiència adquirida, o després del trasplantament d'òrgans) (1).

El tipus més freqüent de DM és la DM2, que engloba entre el 90-95% dels casos de DM i es caracteritza per una resistència a la insulina (RI) i sovint deficiència relativa (més que absoluta) d'insulina, associades gairebé sempre a sobrepès o obesitat. Afecta majoritàriament a adults, però també pot afectar a infants i adolescents, i a diferència de la DM1, la insulina no és necessària per al seu tractament, com a mínim durant els estadis inicials

de la malaltia. La DM1 es el segon tipus més freqüent de DM (5-10% del total de casos de DM), i es caracteritza per una destrucció autoimmunitària de les cèl·lules  $\beta$  del pàncrees, que condueix a una deficiència absoluta d'insulina. Afecta majoritàriament a infants i adolescents, però pot aparèixer a qualsevol edat. Aquest tipus de DM es presenta sovint amb símptomes aguts característics de la malaltia (polifàgia, polidípsia i poliúria) i hiperglucèmia, i en alguns casos amb cetoacidosi (1).

Aquesta subdivisió tradicional de la DM en DM1 i DM2 sobreestima i descriu pobrament la gran variabilitat de rangs de DM que existeixen (2). És bastant probable que aquesta subdivisió representi els extrems d'un continuum de l'autoimmunitat, amb la deficiència d'insulina i la DM1 en un extrem i la disfunció metabòlica i la DM2 en l'altre. Això no exclou però, la possibilitat de que els dos tipus de DM puguin compartir mecanismes patogènics comuns, com la immunitat innata (inflamació), que sembla estar present en ambdós tipus de DM (3). Aquesta superposició entre la DM1 i la DM2 qüestiona l'actual classificació de la malaltia (4,5). L'autoimmunitat associada clàssicament a la DM1 també es troba present en molts pacients amb DM2 (5-7) com l'obesitat ho està en pacients amb DM1 (4,5).

D'aquesta manera, s'han descrit nous tipus de DM, com la diabetis latent autoimmunològica de l'adult (LADA), la DM2 juvenil i pediàtrica i la diabetis doble (2,4). Els pacients amb LADA presenten característiques de la DM2 però amb marcadors d'autoimmunitat. Tot i que els criteris de diagnòstic no estan clars, l'edat superior als 35 anys, l'autoimmunitat positiva i la independència del tractament insulínic durant mesos després del debut es poden considerar per diagnosticar aquest tipus de DM (7).

En referència a la DM2 pediàtrica i juvenil i la diabetis doble, els dos tipus afecten a infants i adolescents, i es troben associades a l'obesitat i/o el sobrepès. En la DM2 pediàtrica i juvenil, l'obesitat es presenta amb RI, però no amb marcadors d'autoimmunitat, com en el cas de la DM2 en adults. En canvi, la diabetis doble es caracteritza per una combinació de marcadors tan de la DM1 com de la DM2. Per tant, s'inclourien dins la diabetis doble els infants amb DM2 i presència d'autoanticossos  $\beta$  pancreàtics, com també els infants amb DM1 associada a sobrepès o obesitat (4).

| Característiques                     | DM1                                                                              | Diabetis doble                   | LADA                                         | DM2                                                         |
|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| <b>Edat de debut</b>                 | Majoritàriament de 6 mesos a l'adolescència, però pot aparèixer a qualsevol edat | Infants i adolescents            | Adults                                       | Majoritàriament adults, però pot aparèixer a qualsevol edat |
| <b>Presentació clínica</b>           | Majoritàriament aguda                                                            | Variable: desde lleu fins severa | Variable: desde lleu fins severa             | Variable: desde lleu fins severa                            |
| <b>Autoimmunitat</b>                 | Present                                                                          | Present                          | Present                                      | Absent, però s'han descrit alguns casos d'autoimmunitat     |
| <b>Cetosi</b>                        | Comú                                                                             | Poc freqüent                     | Poc freqüent                                 | Poc freqüent                                                |
| <b>Obesitat</b>                      | Poc freqüent, però increment en l'actualitat                                     | Freqüent                         | Poc freqüent, però increment en l'actualitat | Molt freqüent                                               |
| <b>Història familiar de diabetis</b> | Possible (2-4%)                                                                  | Possible                         | Present                                      | Present                                                     |
| <b>Tractament amb insulina</b>       | Si                                                                               | Possible                         | Normalment no                                | Possible                                                    |

**Taula 1.** Classificació i característiques clíniques de la DM [Adaptada de Canivell et al.(6)]. (DM1: diabetis tipus 1; LADA: diabetis latent autoimmunològica de l'adult; DM2: diabetis tipus 2)

## 1.2 Criteris de diagnòstic de diabetis mellitus

Els criteris clínics actuals per diagnosticar la DM es basen en les recomanacions de l'Organització Mundial de la Salut (OMS) i l'ADA. Tan l'ADA com l'OMS recomanen l'utilització del test de tolerància oral a la glucosa (TTOG) en absència d'hiperglucèmia franca. L'ADA fomenta l'ús de l'hemoglobina glicosilada (HbA1c)  $\geq 6,5\%$ , la glucosa plasmàtica en dejú (GPD) i la TTOG en aquest ordre, mentre que l'OMS destaca que es pot utilitzar l'HbA1c per al diagnòstic de DM si el seu valor és  $\geq 6,5\%$ , però quan els valors es trobin entre 6 i  $6,5\%$  s'ha de realitzar la determinació de la GPD per establir el diagnòstic (8). Ambdues organitzacions recomanen el punt de tall  $\geq 126$  mg/dL per la GPD i de  $\geq 200$  mg/dL per la TTOG per al diagnòstic de DM. En relació als criteris per diagnosticar la prediabetis de l'ADA i l'OMS, són similars per la intolerància a la glucosa però difereixen per la glucosa alterada en dejú. El llindar més baix de l'ADA per la glucosa alterada en dejú es de 101mg/dL mentre que l'OMS recomana el punt de tall de 110 mg/dL (8).

L'ús de l'HbA1c per diagnosticar la DM ha sigut discutit durant molts anys. En el passat, l'HbA1c no va ser acceptada per al diagnòstic de la malaltia degut en part a la falta d'estandarització en la seva determinació. Tot i això, al 2009 un Comitè Internacional d'Experts va recomanar el seu ús, argumentant que l'HbA1c és un indicador igual de robust que la glucèmia per predir l'increment de retinopatia diabètica. Seguint les recomanacions d'aquest informe, l'ADA i altres organitzacions clíniques, incloent l'OMS i l'*European Association for the Study of Diabetes* (EASD) han incorporat l'HbA1c com a criteri diagnòstic (9).

És important subratllar que perquè l'HbA1c pugui ser utilitzada com a criteri diagnòstic de DM, la seva determinació s'ha de realitzar en un laboratori clínic que utilitzi mètodes certificats pel *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP), amb traçabilitat al mètode de referència del *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) (9).

En el cas de la prediabetis i la DM2, és important diagnosticar als pacients asimptomàtics, ja que amb freqüència desconeixen que presenten la malaltia perquè els símptomes poden trigar anys en aparèixer o ser reconeguts. Per aquest motiu, sovint són diagnosticats quan apareixen les complicacions de la DM (1).

| Diagnòstic/determinació              | OMS 2006/2011                            | ADA 2016                                                                                                                 |
|--------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>HbA1c</b>                         | Es pot utilitzar                         | Es recomana                                                                                                              |
|                                      | si $\geq 6,5\%$ (48 mmol/mol)            | $\geq 6,5\%$ (48 mmol/mol)                                                                                               |
| <b>GPD</b>                           | Es recomana                              | o                                                                                                                        |
|                                      | $\geq 7,0$ mmol/mol ( $\geq 126$ mg/dL)  | $\geq 7,0$ mmol/mol ( $\geq 126$ mg/dL)                                                                                  |
| <b>2h TTOG</b>                       | o                                        | o                                                                                                                        |
|                                      | $\geq 11,1$ mmol/mol ( $\geq 200$ mg/dL) | $\geq 11,1$ mmol/mol ( $\geq 200$ mg/dL)                                                                                 |
| <b>Glucèmia plasmàtica aleatòria</b> |                                          | o                                                                                                                        |
|                                      |                                          | $\geq 11,1$ mmol/mol ( $\geq 200$ mg/dL)<br>(en pacients amb símptomes clàssics d'hiperglucèmia o crisi d'hiperglucèmia) |

**Taula 2.** Criteris de diagnòstic de DM segons l'OMS (10,11) i l'ADA (1). (HbA1c: hemoglobina glicosilada; GPD: glucosa plasmàtica en dejú; 2h TTOG: glucosa plasmàtica a les 2h del test de tolerància oral a la glucosa).

## 1.3 La transició nutricional en l'epidèmia mundial de diabetis tipus 2

En les últimes dues dècades s'ha produït un increment explosiu en la prevalença de DM2 i obesitat al món (12), que es troba estretament relacionat amb la transició nutricional, definida com els canvis profunds en la dieta i la despesa energètica, especialment en la seva estructura i composició global (13,14). La transició nutricional es caracteritza per una “occidentalització” global de la dieta, amb un augment de la densitat energètica, dels sucres afegits i els greixos. Així com també un increment de la ingesta de proteïna animal i aliments processats industrialment, i una reducció dels d'hidrats de carboni complexos, fibra dietètica, fruites i hortalisses de la dieta (15,16). Aquest canvi en els patrons dietètics és diferent en regions i països concrets. Els països d'alt nivell econòmic es caracteritzen per un increment de les porcions alimentàries, el consum d'snacks, i per realitzar àpats fora de la llar. També és important la substitució de l'aigua i la llet per begudes ensucrades, especialment als Estats Units (14), i l'increment de la ingesta d'aliments d'origen animal (ous, carn d'aus, carn de porc) en països com la Xina (14,16).

La modificació que si s'ha produït a nivell global és l'augment del consum d'olis comestibles i de sucres, que poden haver contribuït a l'augment de la densitat energètica de la dieta (14,16). Aquestes variacions de l'estructura dietètica van acompanyades tant d'una transició demogràfica, associada a un augment de l'esperança de vida i una disminució de la natalitat, com també d'una transició epidemiològica; on s'ha evolucionat d'una elevada prevalença de malalties infeccioses i desnutrició a malalties cròniques no transmissibles, com són la DM2, l'obesitat, o el càncer (13). Els canvis en la dieta es veuen agraats per factors socioeconòmics com la urbanització i el creixement econòmic, ja que faciliten l'accés a aliments processats amb alt contingut de sucres, i fomenten el consum de porcions alimentàries més grans i d'aliments preparats fora de la llar (14,16).

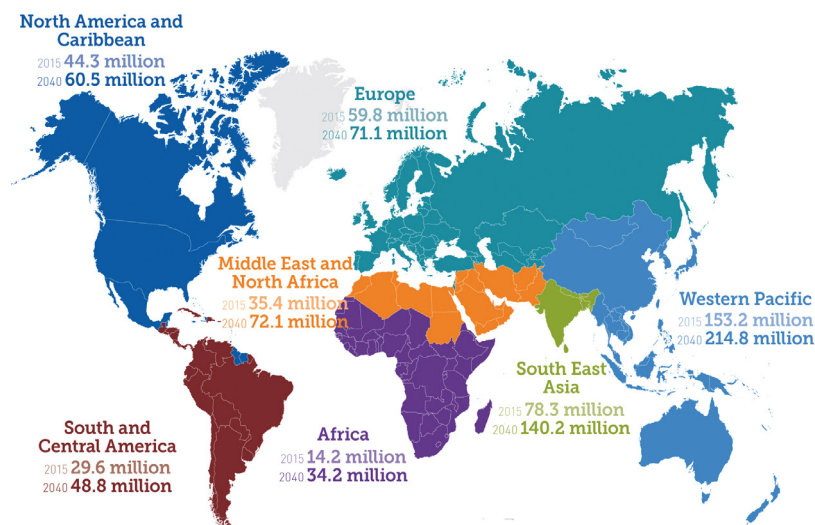
La globalització considerada com un moviment més lliure de capital, tecnologia, béns i serveis ha tingut efectes profunds en els estils de vida vinculats a la dieta i l'activitat física (14,15). Tot i que alguns investigadors han centralitzat la responsabilitat en el sectors de producció, marketing i distribució global d'aliments (incloent els refrescos, menjar ràpid i altres companyies internacionals alimentàries), hi ha altres factors que també han influït aquests canvis. Entre aquests factors s'inclouen els canvis en les innovacions tecnològiques, que afecten la despesa energètica durant el temps d'oci, transport i treball (12,14,16), la globalització dels moderns sistemes de processament, marketing i tècniques de distribució d'aliments, la gran expansió dels mitjans de comunicació, i altres modificacions resultat d'una economia mundial més oberta (14).

Desde 1994, quan es van publicar les primeres prediccions d'un augment important del nombre de persones amb DM, s'han realitzat molts esforços, tan de la *International Diabetes Federation* (IDF) com l'OMS per actualitzar aquestes xifres (12). L'última predicció de la IDF és que 415 milions de persones al món presentaven DM al 2015, és a dir un 8,8% dels adults d'entre 20 i 79 anys, dels quals el 91% era DM2. A més, la meitat de les persones desconeixien que patien la malaltia. Si aquesta tendència continua, s'estima que al 2040 uns 642 milions de persones o un de cada 10 adults tindrà DM (17). En la majoria de països, la DM suposa entre el 5% i el 20% de la despesa sanitària total i és la principal causa de mort prematura. Al voltant del 50% de les persones que moren per causes derivades de la DM tenen menys de 60 anys. Per tant, la DM és una de les emergències de salut global més importants del segle XXI (17).

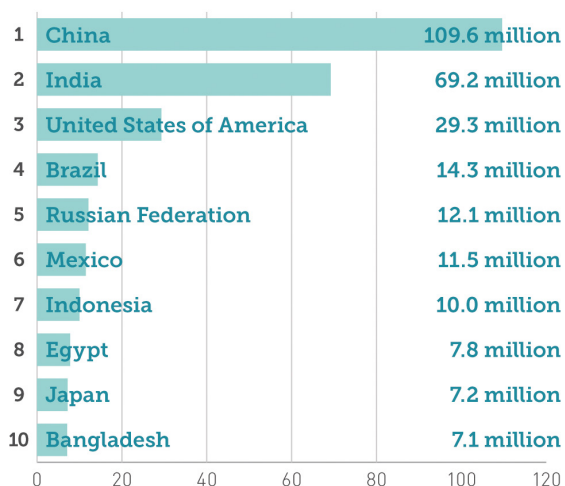
Dels 10 països del món amb més població amb DM, cinc es troben a la regió del pacífic oest (Xina, Índia, Indonèsia, Japó i Bangladesh), sent la regió que concentra el major nombre de persones amb DM, 153 milions. Tot i això, Nord Amèrica i la regió del Carib tenen la prevalença més elevada de DM per càpita, on un de cada vuit adults pateixen la malaltia. A la regió de l'Àfrica entre 9,5 i 29,3 milions de persones viuen amb DM, dels quals el 75% s'estima que no estan diagnosticats. Les comunitats indígenes representen més de 370 milions de persones en 70 països, i presenten una prevalença superior de DM que la població d'acollida (17).



Entre aquestes poblacions es troben els Maori de Nova Zelanda, els Inuit de Groenlàndia, els Indígenes Australians i els Sioux Nord-americans. En algunes comunitats que encara mantenen un estil de vida tradicional però, la prevalença és relativament baixa, com els Aymara de Xile o els Orang Asli de Malàisia (17).



**Figura 1.** Estimació del nombre de persones amb DM per regions del món l'any 2015 i predicció per l'any 2040 (17).



**Figura 2.** Països del món amb més adults amb DM per territori l'any 2015 (17).

Especialment important és l'augment de DM2 en adults joves, i també en adolescents i nens. L'aparició de DM2 a edats més joves, afectarà la futura càrrega global de la DM i la seva prevenció, com també tindrà implicacions en la classificació de la DM en nens i adolescents. El control de la DM2 en aquesta franja de població és totalment diferent al de l'adult amb DM2. Els canvis d'estil de vida i adherència al tractament farmacològic són difícils d'aconseguir en aquest grup d'edat, i l'aparició de la DM en un estadi tan primerenc de la vida significa molts anys de malaltia i tractament (12).

### 1.3.1 El cas d'Espanya

Entre els països occidentals, Espanya és un bon exemple que il·lustra l'efecte de la transició nutricional, ja que els canvis socials i econòmics han sigut molt ràpids durant el segle XX, i en particular a partir del 1975 quan comença l'etapa democràtica. L'evolució del patró de consum d'aliments a Espanya és similar al de la resta de països industrialitzats europeus (18). El primer terç del segle XX l'evolució de la dieta espanyola completa la primera fase de la transició nutricional, augmentant i/o estabilitzant-se el consum d'aliments sobre els que es fonamentava la dieta tradicional; els cereals, les patates i les llegums, a la vegada que s'observa un augment significatiu del consum de productes d'origen animal i sucres (19).

La depressió de la dècada de 1930, i sobretot la Guerra Civil i la llarga postguerra, que arriba fins al 1950, signifiquen un ampli parèntesi de dos dècades en el procés de transició nutricional i de globalització nutricional a Espanya. La dieta pateix una transformació espectacular a partir del 1950, de manera que 30 anys després s'hauria modificat completament convergint en gran mesura amb la dels altres països d'Europa occidental com França (19). En poques dècades, el consum de carn de la població es va multiplicar per cinc, duplicar el de llet i triplicar el d'ous i sucre, mentre que va disminuir molt el consum de cereals i patates. No obstant, la dieta ha conservat parcialment alguns aliments característics com la fruita, verdura, oli d'oliva, peix i marginalment llegums, en comparació amb altres països europeus (19).

En relació a la situació de la DM a Espanya, nombrosos estudis han reportat taxes d'entre el 10% i el 15%, indicant que les estimacions establertes probablement s'han sobrepassat. L'Estudi di@bet.es realitzat l'any 2010, ha sigut el primer que ha demostrat les taxes de prevalença de DM2 i prediabetis en una mostra representativa de població espanyola (20). Els resultats d'aquest estudi poblacional transversal i agrupació en 100 clusters (centres de salut o equivalents en cada regió) conclouen que s'ha subestimat la prevalença de DM2 a Espanya (20).

La prevalença total de DM2 és del 13,8%, afectant a més de 5,3 milions de persones. D'aquest percentatge, un 7,8% correspon a casos de DM2 coneguda (gairebé 3 milions de persones), mentre que un 6% de la població espanyola desconeix que pateix aquesta patologia (més de 2,3 milions de persones) (20).

|                 | Percentatge de persones de<br>≥ 18 anys afectades | Nombre estimat de persones de<br>≥ 18 anys afectades |
|-----------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| DM2 coneguda    | 7,8%                                              | ≈ 3.000.000                                          |
| DM2 no coneguda | 6,0%                                              | > 2.300.000                                          |
| DM2 total       | 13,8%                                             | > 5.300.000                                          |

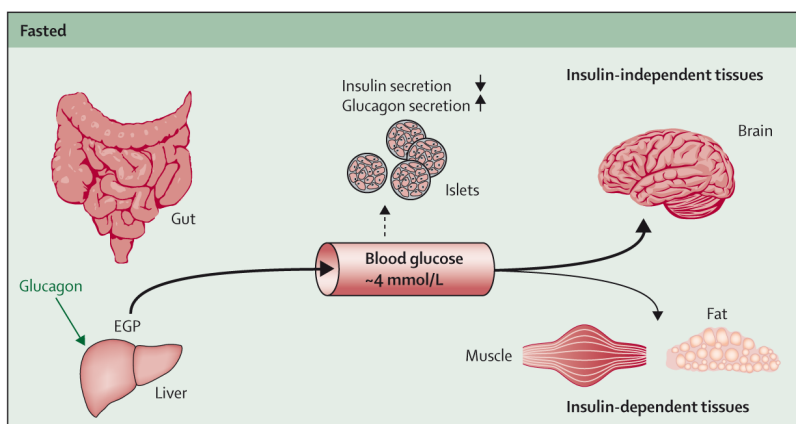
**Taula 3.** Prevalença de diabetis tipus 2 a Espanya (adaptat de Soriguer et al.)(20).

## Obesitat, resistència a la insulina i disfunció β cel·lular en la diabetis tipus 2

Per entendre la fisiopatologia de la DM2 és necessari conceptualitzar el sistema d'homeòstasi de la glucosa en condicions normals. El pàncrees endocrí és un òrgan constituït per aproximadament un milió d'illots

pancreàtics que contenen entre d'altres, cèl·lules  $\beta$ ; les encarregades de produir insulina. La insulina és l'hormona clau que intervé en la regulació de la glucèmia (21). El metabolisme de la glucosa està regulat per un mecanisme de retroalimentació que inclou les cèl·lules  $\beta$  del pàncrees i els teixits sensibles a la insulina (múscul esquelètic, fetge i teixit adipós) (22).

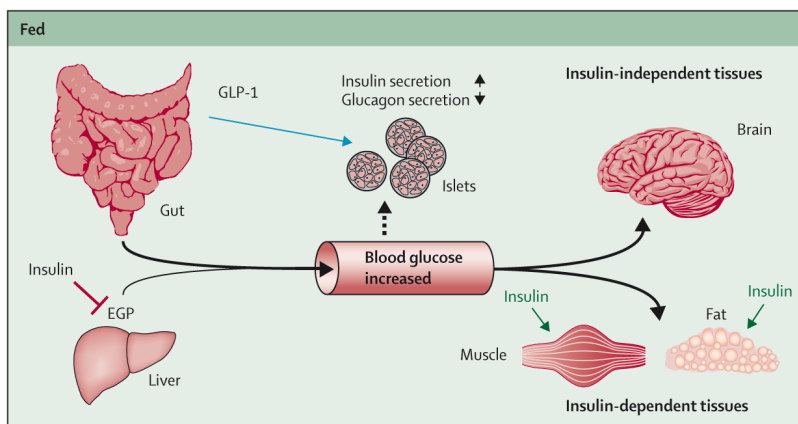
En l'estat de dejuni, la glucèmia està determinada per l'equilibri entre la producció endògena de glucosa, principalment a través de la glucogenòlisi i la gluconeogènesi hepàtica, i la seva utilització pels teixits no dependents d'insulina, com el cervell. La producció endògena de glucosa evita la hipoglucèmia i es manté per una proporció baixa d'insulina/glucagó al plasma. El cervell és dependent de glucosa, i per tant, altres teixits com el cor i el múscul esquelètic reben nutrients diferents de la glucosa (per exemple, àcids grassos (AGs) no esterificats a partir de la lipòlisi del teixit adipós) (23).



**Figura 3.** Homeòstasi de la glucosa en l'estat de dejuni (23).

En l'estat d'ingesta d'aliments (àpat contenint hidrats de carboni), la glucèmia augmenta degut a la seva absorció a l'intestí, que estimula la secreció d'insulina a les cèl·lules  $\beta$  del pàncrees i suprimeix la secreció de glucagó a les cèl·lules  $\alpha$  pancreàtiques. La producció endògena de glucosa també es suprimeix (mecanisme que ajuda a reduir l'entrada de glucosa a la sang), i s'activa l'absorció de glucosa als teixits sensibles a la insulina, que incrementa la taxa d'utilització de glucosa (23).

Els processos neurohormonals implicats inclouen l'alliberació d'hormones incretines a l'intestí, com el pèptid-1 similar al glucagó (GLP-1), que provoca l'augment de la secreció d'insulina i la supressió de l'alliberació de glucagó. Al teixit adipós es suprimeix la lipòlisi i es promou el metabolisme anabòlic. Les concentracions de glucèmia tornen a normalitzar-se com a l'estat de dejuni a les 2h post-ingesta (23).

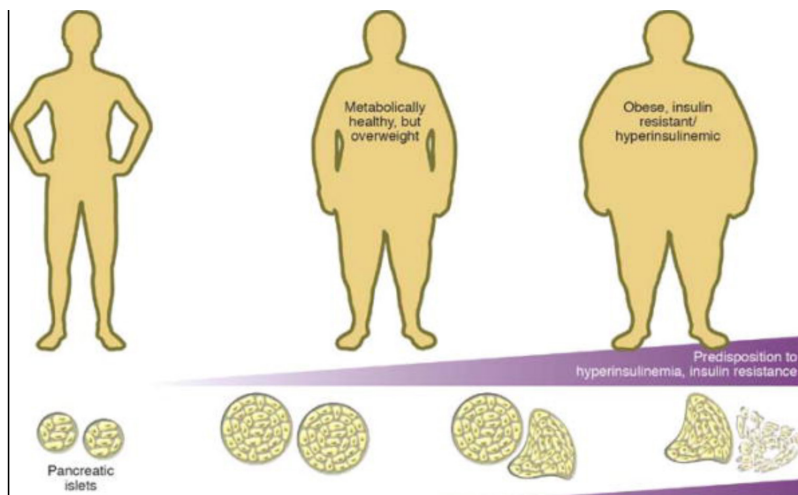


**Figura 4.** Homeòstasi de la glucosa en l'estat d'ingesta d'aliments (23).

La RI és la principal particularitat de l'obesitat i la DM2, i es defineix com una resposta inadequada dels teixits sensibles a la insulina a les concentracions normals d'insulina circulants. Els seus trets característics són la disminució de la captació de glucosa estimulada per insulina al múscul esquelètic, l'alteració de la inhibició de la producció hepàtica de glucosa, i una capacitat reduïda de la insulina per inhibir la lipòlisi al teixit adipós (24).

En les persones sanes, la secreció d'insulina per part dels illots pancreàtics permet una disponibilitat de glucosa normal als teixits sensibles a la insulina. En l'estat d'insulinorresistència, les cèl·lules  $\beta$  pancreàtiques responen augmentant la seva massa cel·lular i la secreció d'insulina (hiperinsulinèmia) per mantenir els nivells de glucèmia dins la normalitat, un procés denominat compensació  $\beta$  cel·lular (24). Quan aquest mecanisme de compensació falla, el resultat és una disminució progressiva de la capacitat secretora d'insulina de les cèl·lules  $\beta$  pancreàtiques, que es tradueix en un augment

progressiu de la glucèmia, evolucionant cap a una prediabetis i finalment a una DM2 establerta (24-28). Tot i això, aproximadament només un terç dels individus amb obesitat i RI desenvolupen DM2 (26), ja que és crucial que es produeixi la disfunció  $\beta$  cel·lular en resposta a la RI perquè apareixi la DM2, i aquesta es troba determinada genèticament (25).



**Figura 5.** Fallida  $\beta$  cel·lular i història natural de la DM2 (26).

D'aquesta manera, la DM2 és una malaltia complexa resultant de la interacció entre factors genètics i ambientals (22,27,29). Degut a la incompatibilitat del ràpid increment de la prevalença de DM2 amb canvis genètics, els factors ambientals com la transició nutricional i el sedentarisme es consideren fonamentals en l'epidèmia actual de DM2 (22,30).

L'obesitat és el principal predictor de DM2, ja que determina crucialment la sensibilitat a la insulina (25,27), i es defineix com la presència de greix corporal excessiu (31). L'índex de massa corporal (IMC), definit com el pes corporal en kg dividit entre la talla en metres al quadrat ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), s'utilitza habitualment per categoritzar una població o un individu adult en sobrepès i obès. El sobrepès es defineix amb un IMC d'entre 25-29,9  $\text{kg}/\text{m}^2$  i la obesitat amb un IMC superior a 30,0  $\text{kg}/\text{m}^2$ . La categoria d'obesitat es divideix a la vegada en subcategories de grau I (IMC 30,0-34,9  $\text{kg}/\text{m}^2$ ), grau II (IMC 35,0-39,9  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) i grau III (IMC > 40,0  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (31).

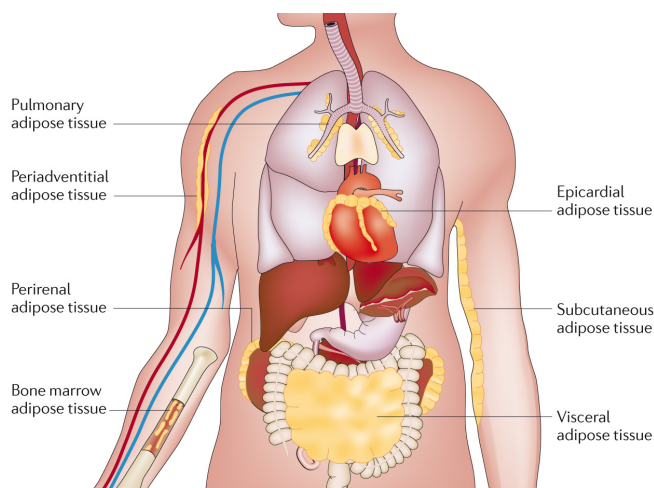
| Classificació     | IMC (kg/m <sup>2</sup> ) |
|-------------------|--------------------------|
| Baix pes          | < 18,5                   |
| Normopès          | 18,5 - 24,9              |
| Sobrepès          | 25,0 - 29,9              |
| Obesitat          | ≥ 30,0                   |
| Obesitat grau I   | 30,0 - 34,9              |
| Obesitat grau II  | 35,0 - 39,9              |
| Obesitat grau III | ≥ 40,0                   |

**Taula 4.** Classificació del sobrepès i l'obesitat d'acord amb l'índex de massa corporal (31).

Tot i això, l'IMC no és un bon indicador de l'adipositat, la qual és en realitat la que defineix l'obesitat (29). La influència de l'obesitat en el risc de DM2 es relaciona no només pel grau d'obesitat sinó també per la localització del greix acumulat (32), que és un determinant crític de la sensibilitat a la insulina (25). Mentre que l'obesitat per si mateixa s'associa típicament a RI, la sensibilitat a la insulina varia en individus amb normopès degut a les diferències en la distribució del greix corporal (25).

Els individus amb normopès i una localització més perifèrica del greix (greix subcutani) són més sensibles a la insulina que aquells individus que presenten una distribució predominant central; és a dir, a la zona abdominal (25). El greix central també anomenat greix visceral recobreix els òrgans de la cavitat abdominal (estómac, còlon, fetge i ronyons) i és metabòlicament més actiu que el greix subcutani, secretant un gran nombre de proteïnes anomenades adipoquines, la majoria de les quals s'associen al desenvolupament de RI i DM2 com també d'altres comorbiditats associades (33). S'ha definit un tipus d'obesitat anomenada "metabòlicament sana", que denota l'absència de factors de risc o comorbiditats metabòliques i cardiovasculars. Tot i això, la definició de l'obesitat metabòlicament sana és

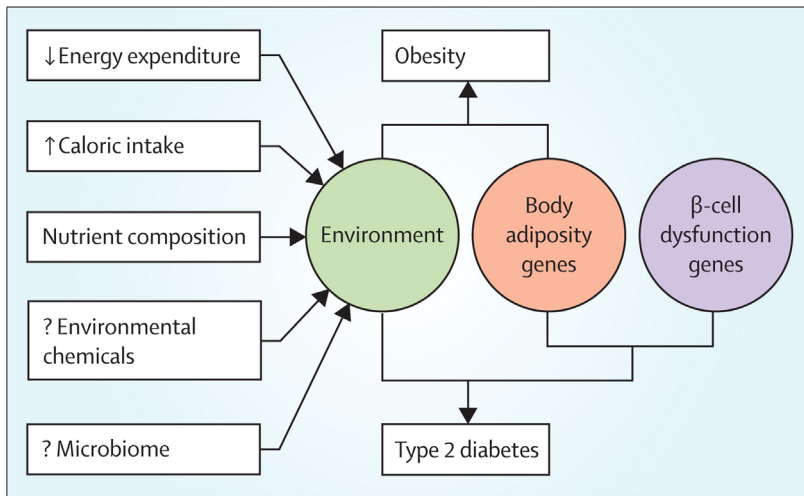
inconsistent i la majoria de pacients amb una obesitat establerta presenten factors cardiometabòlics (35). Una revisió recent suggereix que l'obesitat metabòlicament sana implica un increment del risc per la salut (36). A més, les complicacions de l'obesitat es desenvoluparien amb el pas del temps, fins i tot en individus que no han experimentat símptomes en un determinat moment (37).



**Figura 6.** Acumulació de teixit adipós en l'obesitat (34).

Com ja s'ha mencionat, els gens juntament amb l'ambient són els determinants de la RI i la disfunció  $\beta$  cel·lular. Tot i que actualment han sigut identificades més de 65 variants genètiques associades a la DM2, la majoria d'elles relacionades amb la disfunció  $\beta$  cel·lular, l'increment del risc es d'entre un 10 i 30%, de manera que la predicció genètica de la DM2 té poc valor en la pràctica clínica (38). Per tant, la interacció dels gens que afecten l'adipositat corporal amb l'increment de la ingesta calòrica, de greix saturat i el sedentarisme, condueixen a la sobrenutrició i amb el temps a l'obesitat i l'associada RI (22). Tot i això, només quan els gens que predisposen a la disfunció  $\beta$  cel·lular es troben presents juntament amb els gens que afavoreixen l'adipositat i els factors ambientals citats es desenvolupa la DM2 (22).



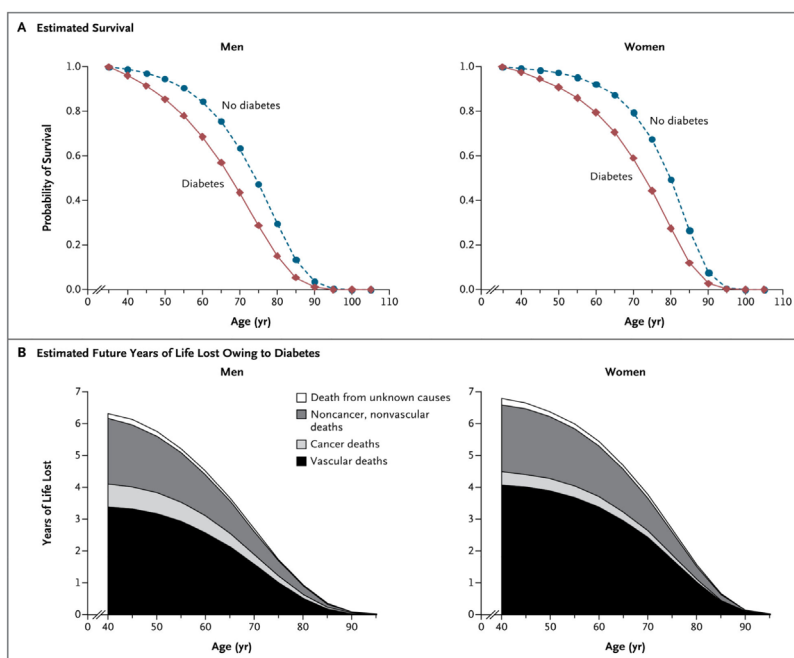


**Figura 7.** Paper del gens i l'ambient en el desenvolupament de l'obesitat i la DM2 (22).

Entre els grups de població que presenten un elevat risc de DM2 s'inclouen familiars de primer grau d'individus amb DM, dones amb DM gestacional o ovari poliquístic, individus d'edat avançada, i individus amb prediabetis (22,25). A més de la dieta i l'activitat física, actualment es consideren altres factors ambientals que podrien afectar el risc d'obesitat i DM2 (22). Tan la sobrenutrició com la desnutrició durant l'embaràs predisposen al nadó a patir obesitat i/o DM2 en l'edat adulta. El creixement intrauterí retardat es relaciona amb un increment del risc de malalties metabòliques, com també l'excés de nutrients en el període neonatal es relaciona amb una predisposició a l'obesitat (29). L'exposició a agents químics ambientals, la microbiota intestinal (MI), la depressió, i l'alteració dels patrons i la qualitat del son són altres factors suggerits per tenir una funció important en la fisiopatologia de la DM2 (22).

En la majoria de persones amb prediabetis i DM2 coexisteixen habitualment múltiples factors de risc, com la dislipèmia i la hipertensió arterial, que s'associen definint l'anomenat síndrome metabòlic. Aquest conjunt d'alteracions metabòliques confereixen un increment del risc de malaltia cardiovascular; com més components associats al síndrome metabòlic, més elevada és la prevalença de mortalitat cardiovascular (39).

Independentment d'altres factors de risc associats, la DM incrementa més de 2 vegades el risc de mort per causes vasculars (40), sent la malaltia cardiovascular la causa de mort de més del 70% de pacients amb DM2 (41). Concretament a Espanya, la malaltia cardiovascular afecta entre el 14 i 19% dels pacients amb DM2, i produeix la mort de com a mínim la meitat dels pacients (42). A més, la DM2 no només s'associa amb un risc excessiu de malaltia vascular, sinó també de mortalitat prematura per diversos tipus de càncer, malalties infeccioses i malalties degeneratives (41).



**Figura 8.** Probabilitat de supervivència de DM (A) i escurçament dels anys de vida deguts a la DM (B) en homes i dones (40).

Tan la hiperglucèmia com la RI cròniques es troben implicades en l'increment del risc cardiovascular en la DM2. L'aparició de la malaltia cardiovascular és un procés progressiu que comença amb canvis metabòlics en la prediabetis derivats principalment de la RI. Aquests canvis inclouen la disfunció endotelial, la inflamació, el desenvolupament de dislipèmia aterogènica, la supressió de la fibrinòlisi i l'increment de factors protrombòtics, que afavoririen el risc d'aterotrombosi (43).

## 1.5 La inflamació metabòlica en la diabetis tipus 2

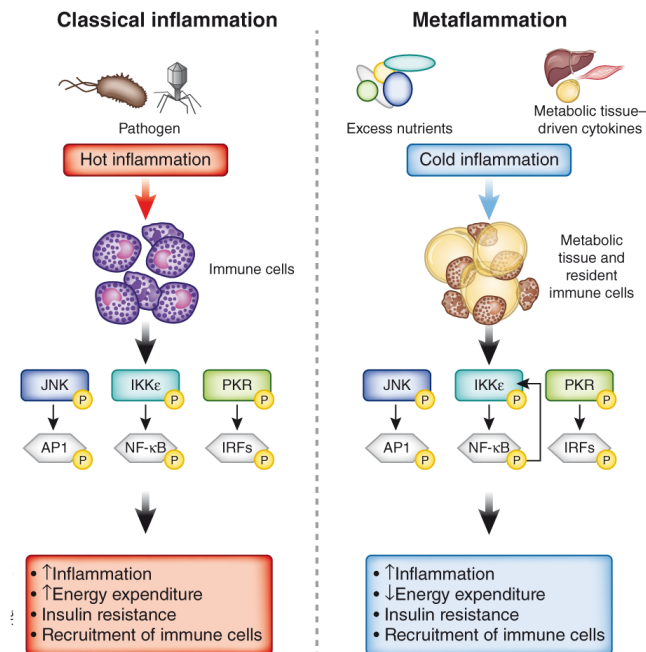
Actualment la inflamació, concretament l'anomenada inflamació crònica de baix grau es considera un mecanisme clau en el desenvolupament de la RI associada a l'obesitat i la DM2 (44-47). És important puntualitzar que aquesta inflamació crònica de baix grau, també anomenada inflamació metabòlica o metainflamació correspon a un estat independent de la definició clàssica d'inflamació (resposta inflamatòria aguda), que s'acompanya de manifestacions clíniques d'inflor, envermelliment, dolor i febre. La metainflamació podria ser definida com una subclasse d'inflamació "freda" desencadenada per nutrients o altres senyals intrínsecs (44,46) que es manté en un estat subagut de manera crònica (44,46).

El descobriment fa més de dos dècades de la presència d'elevades concentracions de la citoquina proinflamatòria factor de necrosi tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) al teixit adipós de ratolins obesos va ser la primera evidència de la inflamació crònica de baix grau en l'obesitat. Posteriorment, un gran nombre d'estudis han demostrat un increment de les concentracions circulants de molts marcadors inflamatoris, com el recompte sanguini de cèl·lules blanques, factors de coagulació [fibrinògen, inhibidor de l'activador del plasminògen 1 (PAI-1)], proteïnes de fase aguda [Proteïna C Reactiva (PCR), amiloide A sèric], citoquines proinflamatòries [TNF $\alpha$ , interleuquina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) i interleuquina 6 (IL-6)] i quimiocines en pacients amb obesitat i DM2. Com també s'ha demostrat que el teixit adipós, el fetge, el múscul i el pàncrees presenten inflamació en presència d'obesitat i DM2 (45).

Aquest nexa d'unió entre el metabolisme i la immunitat té el seu origen en la necessitat evolutiva de supervivència, que va resultar en la coevolució dels sistemes d'òrgans i vies de senyalització que intervenen en els dos processos (44,49). El teixit adipós i el fetge presenten una organització cel·lular molt similar, on els adipòcits i hepatòcits es troben molt pròxims a cèl·lules immunològiques (cèl·lules de Kupffer als hepatòcits o macròfags als adipòcits), i tenen accés directe a una gran xarxa de vasos sanguinis.

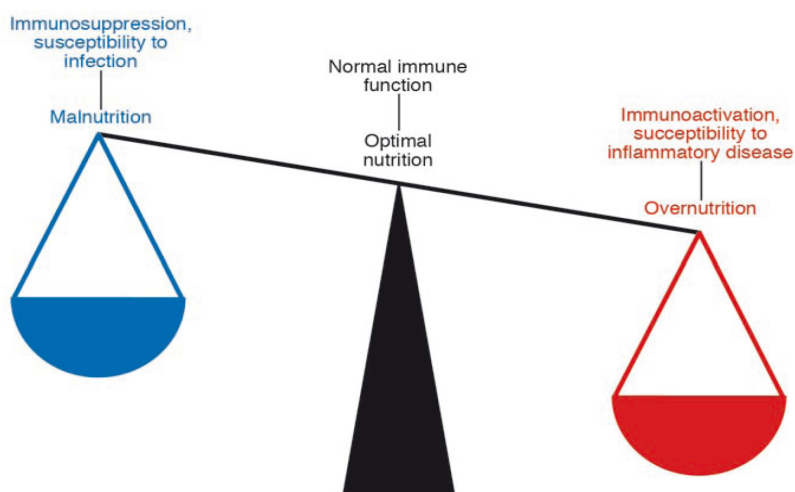
Amb aquesta configuració, ambdós teixits ofereixen un ambient adequat per les interaccions entre el sistema immunològic i les respostes metabòliques, i l'establiment de comunicació amb altres òrgans com el pàncrees o el múscul (44).

En situacions concretes com seria la lluita per la supervivència, s'afavoreix l'eficiència i redistribució energètica per generar una resposta immunològica efectiva contra els patògens (44,49). De fet, els sistemes primitius de resposta dels organismes integren les vies de detecció de patògens i nutrients, de manera que els nutrients poden induir respostes immunitàries i els patògens evocar i regular processos metabòlics. El bloqueig de la senyalització de la insulina a través d'una resposta inflamatòria seria un mecanisme d'adaptació, ja que amb la RI s'aconsegueix un estalvi d'energia metabòlica. Per tant, les vies reguladores de l'estrès i la inflamació es troben estretament vinculades a l'alteració de l'acció de la insulina (44).



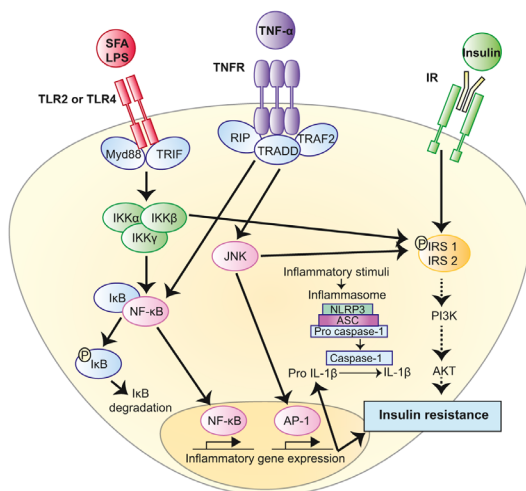
**Figura 9.** Rutes de senyalització implicades en la inflamació clàssica i la metainflamació (48).

La sobrenutrició de la societat actual causada per la transició nutricional i d'estil de vida podria alterar la resposta immunològica i reactivar l'ancestral potencial inflamatori, originant RI en òrgans metabòlics com el teixit adipós o el fetge (49). En aquest paradigma emergent de desequilibri metabòlic que condueix a un desequilibri immunològic, la malnutrició i la immunosupressió es situen en un extrem de la balança i la sobrenutrició i les malalties inflamatòries associades com l'obesitat i la DM2 a l'altre extrem (50).



**Figura 10.** Equilibri entre metabolisme i immunitat (50).

En relació a les vies inflamatòries implicades en el desenvolupament de la RI, l'activació de diferents quinases, com la proteïna quinasa c-Jun N-terminal (JNK) i la quinasa beta I-kappa B (IKK $\beta$ ) produeixen la fosforilació del substrats receptors d'insulina 1 i 2 (IRS-1 i IRS-2) inhibint la cascada de senyalització de la insulina. A més, l'activació de IKK $\beta$  condueix a la fosforilació i degradació de l'inhibidor del factor nuclear potenciador de les cadenes lleugeres kappa de les cèl·lules B activades (NF- $\kappa$ B), que permet la translocació de NF- $\kappa$ B al nucli. De manera similar, l'activació de JNK condueix a la formació del factor de transcripció AP-1. NF- $\kappa$ B i AP-1 indueixen l'expressió de gens inflamatoris, que contribueixen d'una manera paracrina a la RI (46).



**Figura 11.** Vies inflamatòries implicades en el desenvolupament de la resistència a la insulina (46).

Les vies inflamatòries citades poden ser activades per citoquines, com el  $\text{TNF}\alpha$ , per nutrients, com els àcids grassos saturats (AGS), i també per lipopolisacàrid derivat de bacteries (LPS). Els receptors de superfície cel·lular més importants en el reconeixement d'estructures bacterianes i de la dieta que intervenen en la resposta inflamatòria són els receptors de la família Toll (TLR), que s'expressen en macròfags i adipòcits. En l'obesitat existeix una sobreexpressió dels TLR4 i TLR2 al teixit adipós, i els animals deficients de TLR4 estan protegits de la inflamació i RI induïda per l'obesitat. Tan els AGS i el LPS són lligands dels receptors TLR2 i TLR4, i a més d'activar les vies JNK i  $\text{IKK}\beta$ , també poden desencadenar una resposta inflamatòria a través de la via de l'inflammasoma NLRP3 (*nucleotide-binding domain and leucine rich repeat family pyrin domain containing 3*), que es troba implicat en la maduració de pro IL-1 $\beta$  i pro interleuquina 18 (IL-18) (46).

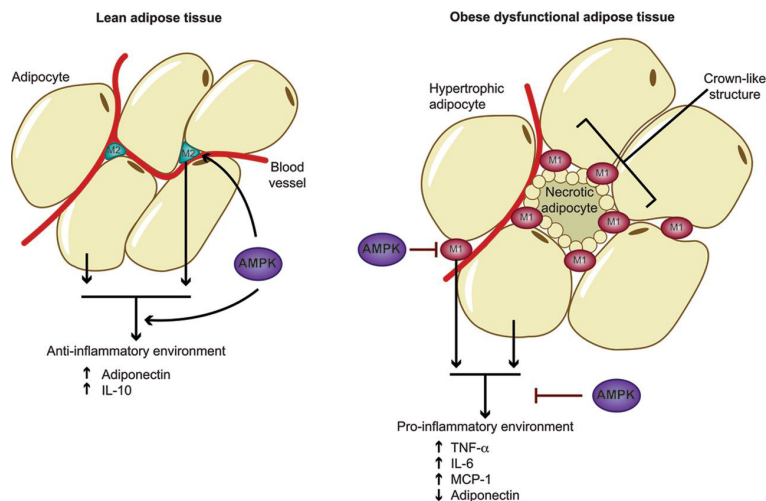
El teixit adipós té un rol important com a iniciador de la resposta inflamatòria en l'obesitat. Aquest òrgan va ser considerat durant molt temps únicament com un magatzem d'energia, però actualment es considera clau en la integració del sistema metabòlic. A més d'estar constituït per una

gran varietat de cèl·lules, incloent adipòcits, cèl·lules immunològiques (macròfags i limfòcits), preadipòcits i cèl·lules endotelials (51), la seva funció metabòlica es troba mediada en part per l'habilitat de secretar un gran nombre de proteïnes anomenades col·lectivament adipoquines o adipocitoquines que poden actuar de manera tan endocrina com paracrina (34,51).

| Adipoquina                              | Òrgan/teixit secretor                               | Funció                                                        |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| <b>Leptina</b>                          | Adipòcits                                           | Regulació de la sacietat a través del sistema nerviós central |
| <b>Adiponectina</b>                     | Adipòcits                                           | Insulinosensibilització, antiinflamació                       |
| <b>TNF<math>\alpha</math></b>           | Adipòcits i fracció vascular estromal               | Inflamació, antagonista de la senyalització de la insulina    |
| <b>IL-6</b>                             | Adipòcits, fracció vascular estromal, fetge, múscul | Varia depenent de l'òrgan/teixit secretor i els teixits diana |
| <b>Retinol Binding Protein 4 (RBP4)</b> | Adipòcits, fetge, macròfags                         | Implicació en la resistència a la insulina                    |

**Taula 5.** Principals adipoquines relacionades amb la inflamació (34).

Els macròfags del teixit adipós tenen un paper important en l'inici i manteniment del procés inflamatori, i poden abarcar desde un perfil antiinflamatori a un perfil proinflamatori. Els macròfags antiinflamatoris o macròfags M2 es consideren alternativament activats, i els macròfags proinflamatoris o macròfags M1 es consideren clàssicament activats. Les dos poblacions de macròfags són fenotípicament i funcionalment diferents. Els macròfags M2 expressen CD11b, F4/F80, CD301 i CD206, i promouen localment la sensibilitat a la insulina a través de la producció de citoquines antiinflamatòries com la interleuquina 10 (IL-10) i l'adiponectina. En contrast, els macròfags M1 expressen CD11c a més de CD11b i F4/F80 i secreten factors proinflamatoris incloent TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, leucotriè B4 i òxid nítric (46).



**Figura 12.** Polarització proinflamatòria de macròfags al teixit adipós durant l'obesitat (52).

Durant l'obesitat, es produeix una hiperplàsia i hipertròfia dels adipòcits, que contribueix a una expansió del teixit adipós. Aquesta expansió pot ocasionar hipoxia, la mort dels adipòcits, i el desenvolupament d'un estat més inflamatori, com l'increment de la secreció de potents quimiocines com la proteïna quimioattractant de monòcits (MCP-1) i el leucotriè B4. Aquests quimioattractants promouen el reclutament de monòcits al teixit adipós, que posteriorment es diferencien en macròfags M1, que s'agrupen formant estructures semblant a una corona al voltant dels adipòcits morts. A més, els propis macròfags M1 secreten quimiocines, iniciant un bucle de retroalimentació i potenciant la resposta inflamatòria (46).

L'obesitat també pot ocasionar inflamació en altres teixits metabòlics com el fetge, els illots pancreàtics i el múscul esquelètic. Al fetge es produeix un augment de la lipogènesi hepàtica i de l'expressió de gens que promouen l'activació de les cèl·lules de Kupffer i el reclutament de monòcits. Al múscul esquelètic, l'increment de lípids extramioel·lulars podria promoure el reclutament de macròfags conduint a la RI. Els macròfags M1 del fetge i el múscul, de manera similar que al teixit adipós, secreten citocines proinflamatòries que poden induir RI localment o entrar a la circulació perifèrica ocasionant inflamació i RI sistèmica (46).



## 1.6 La microbiota intestinal en la diabetis tipus 2

La microbiota intestinal (MI) es defineix com les bactèries simbiòtiques que formen part de l'organisme humà i es troben localitzades principalment a l'intestí. Aquest conjunt de bactèries conté una enorme quantitat d'informació genètica (microbioma), que supera en més de 100 vegades al genoma humà (53). A més d'estar involucrada en diverses funcions biològiques intestinals com la defensa contra patògens, la immunitat, el desenvolupament de microvellositats intestinals i la degradació dels polisacàrids no digestibles, diversos estudis han demostrat que la MI té un paper important en l'adipositat, l'alteració de l'homeòstasi energètica (54) i el desenvolupament de la inflamació de baix grau associada a la RI i la DM2 (55-57).

L'evidència d'aquesta teoria deriva de l'observació inicial on ratolins "lliures de gèrmens" van presentar una reducció del greix corporal i l'absència d'obesitat i RI quan van ser alimentats amb una dieta elevada en greixos. Tot i això, els ratolins van incrementar l'adipositat i desenvolupar RI i intolerància a la glucosa després de transferir la MI de ratolins "no estèrils". Aquest efecte es va produir fins i tot amb una reducció de la ingesta calòrica, suggerint que la MI podria regular el metabolisme energètic i la inflamació (54).

D'entre els nombrosos factors que modulen la composició de la MI, la dieta és potser el que té més influència (58). S'ha proposat que l'abundància de determinats fílums de MI humana estaria relacionada amb patrons dietètics específics. El fílum *Bacteroides* s'associaria amb una dieta elevada en greixos mentre que el fílum *Prevotella* amb una dieta elevada en hidrats de carboni (59). De manera similar, un patró de dieta occidental s'ha associat a una disminució de *Bacteroidetes* i un increment de *Firmicutes* en models animals (60). La modificació dels macronutrients de la dieta també ha demostrat tenir efectes en la MI. En un estudi, una dieta basada en proteïna animal va incrementar l'abundància de grups

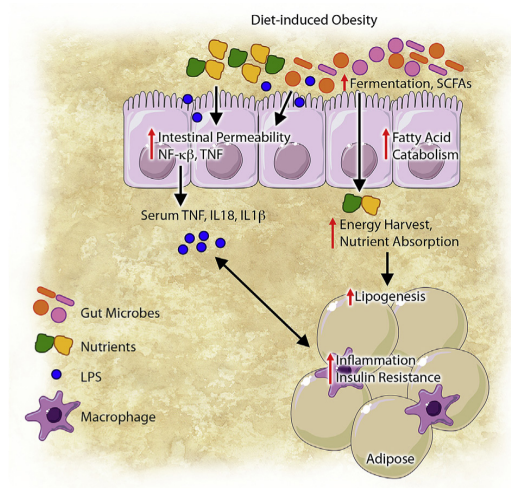
bacterians tolerants d'àcids biliars com *Alistipes*, *Bilophila* i *Bacteroides*, i va reduir els *Firmicutes*. Quan la proteïna animal va ser substituïda per aliments vegetals, es va produir un canvi de patró de MI, la composició funcional de la qual es va relacionar amb el metabolisme del aminoàcids i els polisacàrids (58).

Un dels factors que relacionen la MI i la dieta és la capacitat de les bactèries intestinals per produir un gran nombre de substàncies, que en part depèn de la disponibilitat de nutrients. Els productes microbians poden arribar a la circulació i altres teixits, i ser excretats a l'orina i l'alè. La fermentació de la fibra i la proteïna resulten en un dels productes bacterians més abundants i fisiològicament importants, els AGs de cadena curta, que poden passar a la circulació i tenir impacte en la funció immunològica i la inflamació. Les bactèries del gènere *Bifidobacterium* poden generar vitamines (K, B<sub>12</sub>, biotina, folat i tiamina), i la síntesi d'àcids biliars secundaris està mediada per bactèries com *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* (61).

En relació als productes bacterians que poden afectar negativament a l'organisme, el LPS és un lípid produït per determinades bactèries intestinals que presenta una potent acció proinflamatòria. Les concentracions elevades de LPS en plasma defineixen el concepte d'endotoxèmia metabòlica (54,55). Cani et al. va ser el primer en descriure que el tipus de dieta i nutrients que ingerim poden induir endotoxèmia metabòlica, demostrant que una dieta amb alt contingut de greix saturat incrementava els nivells plasmàtics de LPS (a nivells similars als que s'arriben en una infecció) en diferents models animals d'obesitat i DM2 (56,62). De manera important, la relació entre la ingesta de greix dietètic saturat i el LPS ha sigut confirmada en nombrosos estudis realitzats en humans (64-66), com també s'ha demostrat la implicació del LPS en l'activació dels macròfags al teixit adipós a través del receptor TLR4 en ratolins (66).

Actualment es reconeix que la diversitat, composició i funcionalitat de la MI es troben alterades en l'obesitat i la DM2 (canvis en l'abundància a nivell de fílum, gènere o espècies), configurant el concepte de disbiosi intestinal (54). Mentre que la majoria d'estudis en models de ratolins amb obesitat destaquen un increment en el fílum *Firmicutes* i una disminució

del filum *Bacteroidetes* (67-69), en humans els resultats són contradictoris en relació amb canvis en l'abundància d'aquests dos filums bacterians en l'obesitat i la DM2 (69-71). Ley et al. va trobar resultats similars als dels estudis en ratolins (69), mentre que altres estudis han trobat el contrari (70,71).



**Figura 13.** Regulació de la microbiota intestinal en el metabolisme, l'obesitat i la inflamació associada a la obesitat (67).

El que si han revelat diferents estudis és que la DM2 s'associa a canvis en determinades espècies bacterianes (72-75). L'abundància de *Bifidobacterium* (72), *Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*) (73,74), i *Roseburia* (74) sembla que es trobaven disminuïdes en la DM2, mentre que la de *Lactobacillus* (75), *Streptococcus* (75) i *Escherichia coli* (*E.coli*) estarien augmentades (74,75).

| Bactèries intestinals               | Diabetis tipus 2 |
|-------------------------------------|------------------|
| Fílum <i>Firmicutes</i>             | Increment        |
| Fílum <i>Bacteroidetes</i>          | Disminució       |
| <i>Bifidobacterium</i>              | Disminució       |
| <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> | Disminució       |
| <i>Roseburia</i>                    | Disminució       |
| <i>Lactobacillus gasseri</i>        | Increment        |
| <i>Streptococcus mutans</i>         | Increment        |
| <i>Escherichia coli</i>             | Increment        |

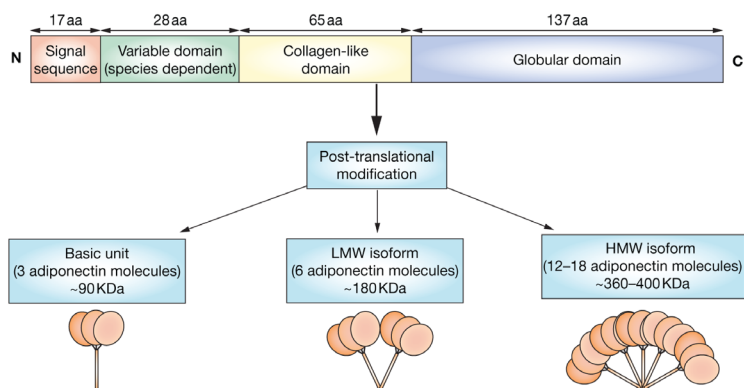
**Taula 6.** Espècies de bactèries intestinals associades a la DM2. Adaptada de Hartstra et al. (76).

## 1.7 Adiponectina, diabetis tipus 2 i malaltia cardiovascular

L'adiponectina (també anomenada Acrp30, AdipoQ, apM1 i GBP28) (77), és l'adipoquina més abundant secretada pels adipòcits (78), i la seva estructura primària inclou un domini globul·lar carboxil-terminal i un domini de col·làgen amino-terminal. El domini de col·làgen permet a l'adiponectina formar multímers (79). D'aquesta manera, l'adiponectina pot constituir 3 formes oligomèriques principals: el trímer de baix pes mol·lecular, l'hexàmer d'intermig pes mol·lecular, i l'adiponectina d'alt pes mol·lecular [de duodecàmer (12 subunitats) a octadecàmer (18 subunitats)] (79), sent l'oligòmer d'alt pes mol·lecular la forma biològica més activa (77).

Diverses observacions clíniques donen suport a l'associació entre les concentracions d'adiponectina i la disfunció metabòlica lligada a l'obesitat. Les concentracions circulants d'adiponectina són d'entre 3 i 30 µg/ml en

individus sans, i es troben influïdes per diversos factors, un dels quals és el gènere, sent superiors en les dones en comparació amb els homes (77,81).



**Figura 14.** Estructura de l'adiponectina (LMW: isoforma de baix pes mol·lecular, HMW: isoforma d'alt pes mol·lecular) (80).

Tot i això, les concentracions es troben reduïdes en pacients amb obesitat, i es correlacionen negativament amb el percentatge de greix corporal i el greix visceral (79,82,83). En la DM2 també s'observa aquesta disminució d'adiponectina circulant, i el seu increment es relaciona amb un risc menor de desenvolupar DM2 i RI (84). Per tant, l'adiponectina és l'única adipoquina l'expressió de la qual es troba disminuïda en els adipòcits disfuncionals associats a l'obesitat (77,81).

El paper de l'adiponectina en el desenvolupament de la malaltia cardíaca no està tan clar com en el cas de les malalties metabòliques (85). S'ha descrit que les concentracions plasmàtiques d'adiponectina són més baixes en pacients amb manifestacions clíniques de malaltia coronària arterial independentment d'altres factors de risc, mentre que les concentracions elevades d'aquesta adipoquina s'associen tant amb una disminució del risc d'infart de miocardi en homes, com de malaltia coronària en homes amb DM2 (86). Col·lectivament, aquest estudis suggereixen que l'hipoadiponectinèmia s'associa amb el desenvolupament de malaltia cardiovascular en l'obesitat (85).

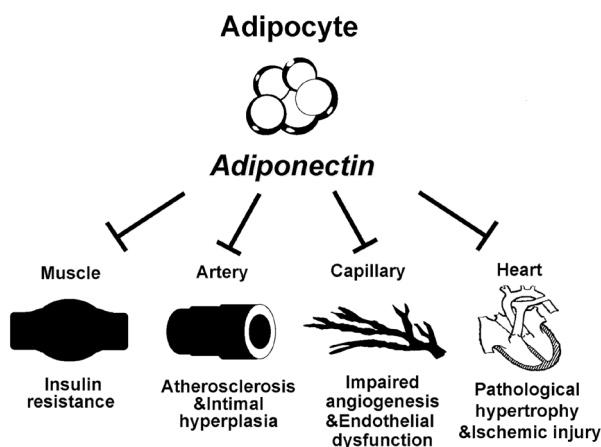
D'acord amb aquestes observacions, les concentracions d'adiponectina es correlacionen inversament amb factors de risc com la hiperlipidèmia, la pressió arterial (PA) o les concentracions de PCR. Tot i això, en diversos estudis prospectius l'associació de les concentracions d'adiponectina amb el risc de malaltia coronària arterial no ha pogut ser demostrada (85).

A més, alguns estudis suggereixen que simultàniament les concentracions elevades d'adiponectina es relacionen amb un increment del risc de mortalitat cardiovascular en individus amb insuficiència cardíaca crònica (87-89). Aquest impacte aparentment negatiu de la supervivència en els pacients amb insuficiència cardíaca crònica ha sigut anomenada "la paradoxa de l'adiponectina" (90). S'ha hipotetitzat la resistència a l'adiponectina a nivell muscular com a possible explicació, on l'elevació de l'adiponectina seria un mecanisme compensatori per contrarrestar l'estrès metabòlic i vascular en estadis primerencs de la insuficiència cardíaca, mentre que en estadis avançat de la malaltia deterioraria la funció cardíaca incrementant el risc de mortalitat (90).

Una de les principals accions de l'adiponectina és l'estimulació de la sensibilitat a la insulina al múscul, fetge i adipòcits, mediada en part per l'activació de la via de la proteïna quinasa activada per adenosina monofosfat (AMPK) (77,79), desencadenant un increment de l'oxidació d'AGs i captació de glucosa (77). L'adiponectina realitza els seus efectes a nivell cel·lular interaccionant amb els receptors d'adiponectina 1 i 2 (ADIPOR1 i ADIPOR2) (91), de manera que la disrupció d'ambdós receptors provoca l'aparició d'intolerància a la glucosa (91). Aquesta adipoquina també presenta efectes antiinflamatoris, tan locals al teixit adipós suprimint l'alliberació de citoquines proinflamatòries, com sistèmics afavorint la polarització de macròfags M1 a M2 en diferents teixits (77).

Aquesta activitat antiinflamatòria podria contribuir a l'acció protectora de l'adiponectina en el sistema cardiovascular. Al cor, l'adiponectina té efectes preventius en la hipertròfia patològica i la lesió isquèmica, en part a través de l'activació d'AMPK. A més, evita la progressió de l'aterosclerosi inhibint NF- $\kappa$ B a les cèl·lules endotelials i la polarització de macròfags M2 a les cèl·lules espumoses de la placa ateroscleròtica, com també estimulant

la producció de IL-10 als macròfags. De manera similiar, als microvasos i capil·lars, l'adiponectina millora l'angiogènesi i la funció endotelial a través de l'activació de l'òxid nítric sintasa endotelial i la promoció del creixement de nous vasos sanguinis (85).



**Figura 15.** Principals accions de l'adiponectina en el sistema cardiovascular (85).

La dieta i determinats nutrients són un dels principals factors modificables de l'expressió i secreció d'adiponectina (92,93). L'adherència a una patró de dieta Mediterrània s'ha relacionat amb un augment de les concentracions d'adiponectina (94). Les dietes hipocalòriques, aïllades o combinades amb exercici físic també poden tenir efectes estimuladors en aquesta adipoquina, tot i que l'evidència és molt limitada i són necessaris llargs períodes de restricció calòrica i pèrdues de pes importants, superiors al 7% del pes corporal, per observar efectes significatius (93). La ingesta de peix blau i de suplementes d'àcids grassos poliinsaturats  $\omega$ -3 (AGPI  $\omega$ -3) són especialment efectius en incrementar els nivells d'adiponectina (92,93). A més dels AGPI  $\omega$ -3, les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E i K) i el licopè també són precursors nutricionals de l'adiponectina (92).

## 1.8 Teràpia nutricional de la diabetis tipus 2

### 1.8.1 Evolució històrica de la teràpia nutricional de la diabetis

L'evidència més antiga de la teràpia nutricional de la DM es troba registrada al Papir D'Ebers, aproximadament l'any 1550 a.C., en el qual es recomana una dieta rica en hidrats de carboni com el blat, els cereals, el raïm, la mel i els fruits del bosc per una dolència descrita com “un excessiu flux d'orina amb debilitament del cos”. Des d'aquestes primeres evidències fins abans del descobriment de la insulina l'any 1921, el control de la ingesta d'aliments era l'únic tractament disponible per regular les concentracions de glucèmia (95). Al llarg dels anys van ser nombroses, variades i inusuals les “dietes” i recomanacions dietètiques per a les persones amb DM, que es basaven en controlar la quantitat d'aliments ingerits, principalment dels hidrats de carboni i les calories totals de la dieta. Les dietes amb alt contingut dels hidrats de carboni es va anar alternat amb les de baix contingut en hidrats de carboni, sent la majoria monòtones i nutricionalment deficients (95).

Al segle XVI es pensava que el consum d'aliments que contenien hidrats de carboni era la causa de la DM, i es prescribien dietes baixes en hidrats de carboni. Al segle XVII, les dietes amb alt contingut d'hidrats de carboni van tornar a ser recomanades, amb la creença que eren necessàries per substituir les pèrdues de sucre per l'orina (96). Al segle XVIII la referència eren les dietes amb alt contingut de proteïnes i greixos. Durant els segles XVIII i XIX va sorgir l'interès per la palatabilitat de la dietes, fent èmfasi en que no havien de ser dutes a terme si no eren ben tolerades. També durant aquest període el tema central en relació a la nutrició continuava sent l'alt contingut de greixos i baix contingut d'hidrats de carboni i calories. Tot i així, alguns continuaven recomanant les dietes amb un contingut elevat d'hidrats de carboni (llet, patates, arròs o civada) (96).



### • Període 1800-1921

Les recomanacions d'hidrats de carboni podien ser o baixes o elevades. La primera documentació és la “dieta de la fam d'Allen”, dissenyada per Frederick Allen, amb molt baix contingut en hidrats de carboni i elevat en greixos.

L'any 1916 el metge nord-americà Elliot P. Joslin, considerat el pare de l'educació diabetològica publica el llibre titulat “*The Treatment of Diabetes Mellitus*”. Aquesta obra significa l'inici de la seva teoria basada en el control de la glucèmia a través de la dieta, l'exercici i la monitorització constant per allargar la vida dels pacients amb DM i prevenir les seves complicacions. Dos anys més tard, publica el “*Diabetes Manual*”, la primera guia pràctica dirigida a pacients, fundant les bases de l'educació del pacient amb DM (97).

### • Període 1921-1950

Amb el descobriment de la insulina l'any 1921 per Frederik Banting i Charles Best, es produeix un impacte immediat en la prolongació dels anys de vida dels malalts amb DM1 (96), com també en el tractament nutricional, ja que permet l'increment progressiu dels hidrats de carboni de la dieta i una millora de l'estat nutricional. L'any 1927 Elliot P. Joslin introdueix la dieta basada en pesar els aliments, amb un 22% d'hidrats de carboni, 62% de greixos i 16% de proteïnes (98). Més tard, l'any 1939, Harold Himsworth conclou que la diabetis hauria de ser dividida en dues categories, una en la que predomina la sensibilitat a la insulina i una altra on predomina la insensibilitat a la insulina (96).

### • Període 1950-1960

L'any 1950 es desenvolupa el sistema d'intercanvi d'aliments per al tractament dietètic de la DM, amb la col·laboració de l'*American Dietetic Association*, l'ADA i el sistema de Salut Pública dels Estats Units. L'objectiu va ser desenvolupar un consens en referència al valor dels aliments i dissenyar un mètode simplificat de planificació d'àpats. També durant la dècada dels anys 50 s'introdueix el tractament amb hipoglucemians orals en la DM (96).

**• Període 1970-1980**

L'any 1971 l'ADA recomana un percentatge mínim d'hidrats de carboni del 45%. Aquest percentatge augmenta fins al 50-60% al 1979, on també s'inclou la recomanació de no sobrepassar el 10% de greixos saturats (98).

**• Període 1980-1990**

L'any 1980 David Jenkins defineix el concepte d'índex glucèmic dels aliments, basat en la resposta glucèmica individual dels aliments, que continua aplicant-se actualment (96). Al 1986 la recomanació pels hidrats de carboni augmenta fins al 55-60% i es limita la ingesta de greixos totals a < 30% (98).

**• Període 1990-actualitat**

A principis dels anys 90 el Grup per l'Atenció i Educació Pràctica de l'Associació Americana de Dietètica publica quatre articles resumint el tractament nutricional per la DM2, la DM1 en infants, adolescents i adults, i la diabetis gestacional. L'any 1993 es publiquen els resultats de l'estudi DCCT, demostrant que la millora del control glucèmic és la que condiciona el retràs i progressió de les complicacions de la DM. Aquest estudi marca l'inici de la focalització de tractament per la DM en el control glicèmic, i de la consideració de la nutrició com un component clau del tractament de la malaltia per aconseguir els objectius glucèmics en persones amb DM1 i DM2 (96).

Fins al 1994, les recomanacions nutricionals de l'ADA es basaven en una proporció definida dels percentatges d'hidrats de carboni, greixos i proteïnes. Aquesta pauta, s'aplicava per igual a tothom, i per tant, limitava la flexibilitat i individualització de la dieta. Al 1994, l'ADA modifica la seva visió de la teràpia nutricional, introduint el concepte d'avaluació dels canvis de l'estil de vida de manera individualitzada per aconseguir i mantenir els objectius terapèutics, sense incidir en els percentatges de macronutrients (96,99), com també destaca la importància del dietista-nutricionista com a part de l'equip d'atenció a les persones amb DM (96).

Vuit anys més tard, al 2002, continua la transició cap a un enfocament més flexible i realista de la teràpia nutricional, ja que les recomanacions

nutricionals es desenvolupen utilitzant els principis basats en l'evidència i el sistema de classificació dels estudis segons les recomanacions de la pràctica clínica. Desde llavors, aquest document de consens ha anat revisant-se i publicant-se anualment (99).

| Any  | Científic o organització                                                               | Recomanacions                                                                                                  |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1912 | Frederik Allen                                                                         | “Dieta de la fam d’Allen”: baix contingut d’hidrats de carboni, alt contingut de greixos, restricció calòrica. |
| 1921 | Frederik Banting i Charles Best                                                        | Descobriments de la insulina: disminueix l’interès en el tractament dietètic de la diabetis                    |
| 1927 | E.P. Joslin                                                                            | Dieta per “pesada” dels aliments<br>22% hidrats de carboni<br>62% greixos<br>16% proteïnes                     |
| 1950 | <i>American Dietetic Association, ADA,</i><br>sistema de Salut Pública<br>Estats Units | Desenvolupament del sistema d’intercanvis d’aliments per la diabetis<br><br>Introducció hipoglucemiant orals   |
| 1971 | ADA                                                                                    | Individualització del tractament dietètic com a criteri essencial                                              |
| 1979 | ADA                                                                                    | Hidrats de carboni 50-60% del total de calories,<br>< 10% greixos saturats                                     |
| 1980 | David Jenkins                                                                          | Introducció concepte d’índex glucèmic dels aliments                                                            |

continua a la pàgina següent

| Any  | Científic o organització | Recomanacions                                                                                                                                                                                 |
|------|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1986 | ADA                      | Individualització del tractament dietètic:<br>hidrats de carboni 55 al 60% del total de calories, < 30% greixos totals                                                                        |
| 1994 | ADA                      | Dietista-nutricionista com a part essencial de l'equip d'atenció a persones amb diabetis, no percentatge ideal de macronutrients, promoció de la individualització del tractament nutricional |

**Taula 7.** Evolució històrica de la teràpia nutricional de la DM (96,99,100).

## 1.8.2 Bases actuals de la teràpia nutricional de la diabetis tipus 2

La teràpia nutricional es defineix com el tractament d'una malaltia o condició a través de la modificació d'un nutrient o la ingesta d'aliments, i és un dels pilars del tractament de la DM, juntament amb l'activitat física i la farmacoteràpia (101). L'ADA considera al/la dietista-nutricionista un membre preferent de l'equip sanitari multidisciplinar d'atenció als pacients amb DM, degut a la complexitat del tractament nutricional i la seva preparació acadèmica única, entrenament, habilitats i experiència, que el fan necessari per proporcionar una teràpia nutricional efectiva en la DM (101).

Els objectius de la teràpia nutricional aplicable a adults amb DM són promoure i mantenir hàbits alimentaris saludables, emfatitzant una varietat d'aliments amb densitat nutricional elevada en porcions adequades amb l'objectiu de millorar la salut global i específicament:

- Aconseguir objectius de glucèmia, PA i lípids individualitzats. Les recomanacions generals de l'ADA per a aquests marcadors són els següents:

- o HbA1c < 7%
  - o Glucosa plasmàtica preprandial 70-130 mg/dL (4,4-7,2 mmol/L)
  - o Glucosa plasmàtica postprandial <180 mg/dL (10 mmol/L)
  - o PA < 140/80 mmHg
  - o Colesterol LDL < 100 mg/dL; triglicèrids (TG) < 150 mg/dL; colesterol HDL > 40 mg/dL en homes i > 50 mg/dL en dones
- Aconseguir i mantenir objectius de pes corporal
  - Retrasar o prevenir les complicacions de la DM

En les últimes dues dècades, l'evidència dels estudis observacionals i clínics ha donat suport a la importància individual de diferents nutrients, aliments i patrons dietètics en la prevenció i el maneig de la DM2 (102), demostrant que són efectives diverses estratègies de teràpia nutricional i patrons dietètics per millorar el control glucèmic com també altres objectius metabòlics en persones amb DM2 (101).

En relació al control glucèmic, la teràpia nutricional pot aconseguir disminucions en els valors d'HbA1c d'entre 0,5-2%, similars a les de molts fàrmacs antidiabètics. Aquestes millores del control glucèmic, com també d'altres objectius metabòlics s'observen en intervencions dietètiques a curt termini (menors de 6 mesos), però la majoria no es mantenen a llarg termini (103).

Una revisió sistemàtica i metaanàlisi recent dels efectes a llarg termini (1 any) de les intervencions dietètiques per la pèrdua de pes en el control metabòlic de pacients amb DM2, va concloure que tan la modificació dels hidrats de carboni (alt contingut/baix contingut d'hidrats de carboni), dels greixos [baix contingut de greixos/alt contingut d'àcids grassos monoinsaturats (AGM)], com també les intervencions dietètiques basades en un patró de dieta Mediterrània o en la substitució d'àpats amb batuts poden millorar els valors d'HbA1c, el perfil lipídic i la PA als 12 mesos d'intervenció. Tot i això és necessària una pèrdua de pes superior al 5% del pes corporal perquè les millores siguin significatives, i molt poques intervencions dietètiques l'aconsegueixen (104).

A més, sembla que és més difícil perdre pes per les persones amb DM2. Per tant, la pèrdua de pes per millorar el control glucèmic podria ser més beneficiosa per a persones amb prediabetis o estadis inicials de la malaltia, que per a persones amb una DM2 establerta (103).

Cal destacar la importància de l'efecte del greix total, especialment el greix saturat en la sensibilitat a la insulina de les persones amb DM. Els estudis epidemiològics i clínics han reportat que ingestes elevades de greix total a llarg termini resulten en un increment de la RI (105). Tot i que l'evidència és limitada en persones amb DM, ha sigut demostrat que la reducció dels greixos saturats millora la sensibilitat a la insulina (106,107). L'impacte de la ingesta de greixos saturats a llarg termini en la RI és de gran importància, ja que les persones amb DM2 disminueixen la ingesta d'hidrats de carboni, augmentant la de greixos, especialment la de greixos saturats (108).

En referència a les recomanacions de la teràpia nutricional de la DM entre diverses organitzacions internacionals, en general existeix consens. Tot i això, en alguns aspectes les posicions són diferents quan es consideren l'ADA o la EASD (101,109).

- **Balanç energètic**

En els pacients amb DM2 i sobrepès o obesitat, es recomana reduir la ingesta energètica per promoure la pèrdua de pes (1,101,109). L'ADA puntualitza que la reducció de la ingesta energètica vagi acompanyada d'una modificació de l'estil de vida (101).

- **Distribució de macronutrients**

L'ADA menciona que no existeix un percentatge ideal de calories procedents dels hidrats de carboni, proteïna i greix per a totes les persones amb DM (101), i que la individualització de la composició de macronutrients dependrà de l'estat metabòlic i les preferències alimentàries (101). La EASD recomana un patró de distribució de macronutrients entre rangs específics; hidrats de carboni entre el 45-60% del total de calories de la dieta, entre el 10-20% de calories procedents de les proteïnes i  $\leq 35\%$  dels greixos (109).

### • Patrons dietètics

L'ADA accepta diferents patrons dietètics per al tractament de la DM: patró de dieta Mediterrània, patró dietètic vegetarià i vegà, patró de dieta baix en hidrats de carboni o en greixos, i patró dietètic DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*) (101). En la recomanació d'un o altre tipus de patró dietètic s'han de tenir en compte les preferències alimentàries personals i els objectius metabòlics (101). La EASD no fa cap recomanació en relació als patrons dietètics (109).

### • Qualitat dels hidrats de carboni

Segons l'ADA la quantitat d'hidrats de carboni i la insulina disponible pot ser el factor més important que determina la resposta glucèmica després dels àpats i s'ha de tenir en compte quan es dissenya el pla dietètic (101). Tan l'ADA com la EASD fomenten que la dieta presenti un alt contingut de fibra (25-38g/dia segons l'ADA i més de 40g/dia segons la EASD) i minimitzar el consum d'aliments rics en sucres senzills (101,109).

L'ADA indica que s'ha de donar preferència als cereals integrals, fruita, llegums i productes lactis, i especialment a aliments amb alt contingut de fibra i baixa càrrega glucèmica. A més, puntualitza que s'han d'evitar les begudes ensucrades i els aliments amb alt contingut de sucres per aconseguir el control del pes corporal, reduir el risc de malaltia cardiovascular, i evitar el desplaçament del consum d'aliments més saludables i nutricionalment densos (101). L'ADA també reconeix l'educació en l'índex glucèmic i càrrega glucèmica dels aliments en les persones amb DM, però degut a la seva complexitat i la insuficient evidència no es recomana la seva aplicació de manera general (101).

La EASD en canvi menciona que l'índex glucèmic dels aliments podria ser un indicador addicional de l'adequada comptabilització dels hidrats de carboni de la dieta, però que no es pot utilitzar de manera aïllada i s'ha de d'interpretar juntament amb altres característiques dels aliments, contingut d'energia, macronutrients i fibra de la dieta (109).

**• Proteïna**

L'ADA i la EASD mencionen que en persones amb DM i nefropatia diabètica es desaconsella reduir la quantitat de proteïna de la dieta perquè l'evidència és insuficient (101,109). En el cas de l'ADA justifica que no altera el control glucèmic, les mesures de risc cardiovascular o el deteriorament de la taxa de filtrat glomerular (101). A més, indica que en les persones amb DM2, la ingesta de proteïna sembla incrementar la resposta insulínica (101).

**• Greixos**

Tan l'ADA com la EASD recomanen limitar la ingesta de greixos saturats i greixos rans a menys del 10% i de colesterol a menys de 300 mg/dia (101,109). Mentre que la EASD recomana que la dieta contingui entre un 10-20% de l'energia en forma d'AGM i fins un 10% d'àcids grassos poliinsaturats (AGPI) (109), l'ADA menciona que el pla dietètic ha d'emfatitzar elements del patró de dieta Mediterrània amb alt contingut d'AGM, ja que pot millorar el control glucèmic i disminuir el risc cardiovascular (101). A més tant l'ADA com la EASD recomanen el consum de peix blau per prevenir o tractar la malaltia cardiovascular però desaconsellen la utilització de suplementes d'AGPI de cadena llarga omega 3 (AGPICL  $\omega$ -3) (101,109).

**• Alcohol**

L'ADA i la EASD recomanen consumir begudes alcohòliques amb moderació sense superar una beguda al dia en dones adultes i dos begudes al dia en homes adults (101,109). També puntualitzen que el consum d'alcohol en persones amb DM pot incrementar el risc d'hipoglucèmia retardada (101, 109).

**• Sodi**

Tan l'ADA com la EASD recomanen no superar el consum de 2300 mg de sodi (101) o l'equivalent a 6g de sal al dia en persones amb DM (109). Aquesta recomanació és la mateixa que per la població general, però es pot indicar una restricció superior en el cas que la DM vagi associada a hipertensió (101,109).



### 1.8.3 Composició química i valor nutricional del peix

La denominació genèrica de peix comprèn als animals vertebrats comestibles marins o d'aigua dolça, frescos o conservats per diferents procediments (110). La classificació del peix en grans grups pot seguir diferents criteris, com el tipus d'esquelet que presenten, el medi de vida, la família a la qual pertanyen o el contingut lipídic (111).

Concretament, la sardina europea, el nom científic de la qual és *Sardina pilchardus*, és un peix teleosti (amb esquelet ossi), d'origen marí i que pertany a la família dels clupeïds (*Clupeidae*) (112). La seva àrea de distribució és molt àmplia, abarcant el Mar Mediterrani, l'Oceà Atlàntic, el Pacífic i l'Índic. La sardina és un peix gregari que forma gran bancs o cardúmens, buscant sempre les aigües més càlides i amb major grau de salinitat. De comportament pel·làgic pot arribar als 150 m de profunditat, encara que habitualment es situa entre els 25-30 m durant les hores diurnes i ascendeix als 15-30 cm durant les nocturnes (112).

En relació als components químics del peix, els principals són l'aigua, la proteïna i els greixos. Aquests components tenen màxima importància en relació al seu valor nutritiu, textura, característiques sensorials i capacitat d'emmagatzematge. Els restants components són els hidrats de carboni, les vitamines i els minerals, que tot i trobar-se en menors quantitats tenen un paper essencial en la nutrició (111).

#### • Aigua

Els músculs dels peixos invertebrats marins contenen mínim un 53% i fins un 96% d'aigua, depenent de l'espècie i l'estat nutricional. L'agotament per fam (freqüent durant el desovament) consumeix les reserves energètiques dels teixits, i com a conseqüència, s'incrementa la quantitat d'aigua present al múscul del peix. En condicions normals pot considerar-se que el contingut aquós oscil·la entre el 60 i el 80%, i es troba molt condicionat pel contingut lipídic (111).

|                           | Energia<br>(kcal/100g) | Aigua<br>(g/100g) | Proteïna<br>(g/100g) | Lípids totals<br>(g/100g) | HC <sup>1</sup><br>(g/100g) |
|---------------------------|------------------------|-------------------|----------------------|---------------------------|-----------------------------|
| <b>Sardina</b>            | 152                    | 73,7              | 17,1                 | 9,2                       | 0                           |
| <b>Sardina enllaunada</b> | 199                    | 65,2              | 22,6                 | 12,1                      | 0                           |
| <b>Verat</b>              | 191                    | 70,0              | 18,0                 | 13,2                      | 0                           |
| <b>Salmó</b>              | 175                    | 67,2              | 20,2                 | 10,4                      | 0                           |
| <b>Bacallà</b>            | 80                     | 80,8              | 18,3                 | 0,7                       | 0                           |
| <b>Lluç</b>               | 84                     | 80,3              | 17,0                 | 1,8                       | 0                           |

<sup>1</sup>HC: hidrats de carboni

**Taula 8.** Composició en energia, aigua i macronutrients de diferents peixos blaus i blancs (113).

### • Lípids

Com s'ha mencionat, el contingut lipídic del peix es troba inversament relacionat amb l'aquós, ja que els lípids actuen com a reserva energètica que s'utilitza durant els diferents estadis fisiològics que atravesa durant el seu cicle vital. Segons el contingut de greix, els peixos es clasifiquen en tres categories: peixos magres o blancs; amb un contingut de greix de fins al 2,5%, peixos semimagres o semigreixosos; que contenen entre un 2,5% i 6% de greix, i peixos greixosos o blaus; que contenen entre un 6% i 25% de greix (111). La distribució del greix en el peix difereix entre el peix blau i el peix blanc. En els peixos blaus, com la sardina, el seitó o la tonyina, els greixos es dipositen al teixit muscular formant una dispersió globul·lar. Pel contrari, en els peixos blancs com el bacallà, el lluç o el llenguado, els greixos s'acumulen majoritàriament al fetge i les gònades, una petita proporció sota la pell, i el múscul està pràcticament lliure de greix (111).

Els lípids presents en les espècies de peixos ossis poden dividir-se en dos grans grups: els fosfolípids i els TG. Els fosfolípids formen part de les membranes cel·lulars, i contenen colesterol que contribueix a la rigidesa de la membrana. Els TG són lípids que actuen com a magatzem

d'energia. La composició que presenten els lípids marins en AGs (unitats estructurals dels fosfolípids i TG) és molt més complexa que la dels animals i plantes terrestres (111). L'estructura dels AGs es basa en una cadena hidrocarbonada i un grup carboxílic terminal. Segons la longitud de la cadena hidrocarbonada els AGs es classifiquen en AGs de cadena curta; entre 4 i 6 àtoms de carboni, AGs de cadena mitja; entre 8 i 12 àtoms de carboni, AGs de cadena llarga; entre 14 i 18 àtoms de carboni, i AGs de cadena molt llarga: més de 20 àtoms de carboni (114).

Una altra classificació dels AGs és en funció del grau d'insaturació, segons la qual es divideixen en AGS; que no presenten dobles enllaços en la seva mol·lècula, o AG insaturats (AGI); que presenten un o més dobles enllaços entre els àtoms de carboni. Quan un AGI només presenta un doble enllaç és un AGM, quan en presenta més d'un és un AGPI. Existeixen un grup d'AGPI, els AGPCL que no poden ser sintetitzats per molts mamífers, inclosos l'home; són els AGs essencials, i han de ser obtinguts a través de la dieta. Hi ha dos tipus d'AGs essencials: els derivats de la sèrie  $\omega$ -6 (AGPCL  $\omega$ -6), que es formen a partir de l'àcid linoleic (C18:2), i els derivats de la sèrie  $\omega$ -3 (AGPCL  $\omega$ -3), el precursor dels quals és l'àcid  $\alpha$ -linolènic (C18:3) (114) (veure Figura 16).

|                           | AGS <sup>1</sup> (g/100g) | AGM <sup>2</sup> (g/100g) | AGPI <sup>3</sup> (g/100g) |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| <b>Sardina</b>            | 2,60                      | 2,80                      | 2,90                       |
| <b>Sardina enllaunada</b> | 1,53                      | 5,15                      | 3,87                       |
| <b>Verat</b>              | 1,83                      | 1,53                      | 1,74                       |
| <b>Salmó</b>              | 0,98                      | 2,10                      | 2,54                       |
| <b>Bacallà</b>            | 0,13                      | 0,09                      | 0,23                       |
| <b>Lluç</b>               | 0,09                      | 0,06                      | 0,17                       |

<sup>1</sup>AGS: àcids grassos saturats; <sup>2</sup>AGM: àcids grassos monoinsaturats; <sup>3</sup>AGPI: àcids grassos poliinsaturats

**Taula 9.** Comparació del contingut d'AGS, AGM i AGPI de diferents peixos (113).

|                           | AGPICL $\omega$ -3 <sup>1</sup><br>(g/100g) | EPA <sup>2</sup><br>(g/100g) | DHA <sup>3</sup><br>(g/100g) | AGPICL $\omega$ -6 <sup>4</sup><br>(g/100g) |
|---------------------------|---------------------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------------------|
| <b>Sardina</b>            | 1,32                                        | 0,59                         | 1,67                         | 0,41                                        |
| <b>Sardina enllaunada</b> | 4,51                                        | 2,03                         | 2,36                         | 0,74                                        |
| <b>Verat</b>              | 2,80                                        | 0,71                         | 1,10                         | 0,52                                        |
| <b>Salmó</b>              | 3,28                                        | 1,00                         | 1,26                         | 0,22                                        |
| <b>Bacallà</b>            | 0,28                                        | 0,08                         | 0,18                         | 0,02                                        |
| <b>Lluç</b>               | 0,34                                        | 0,11                         | 0,16                         | 0,12                                        |

<sup>1</sup>AGPICL  $\omega$ -3: àcids grassos poliinsaturats  $\omega$ -3; <sup>2</sup>EPA: àcid eicosapentaenoic;

<sup>3</sup>DHA: àcid docosahexaenoic; <sup>4</sup>AGPI  $\omega$ -6: àcids grassos poliinsaturats  $\omega$ -6

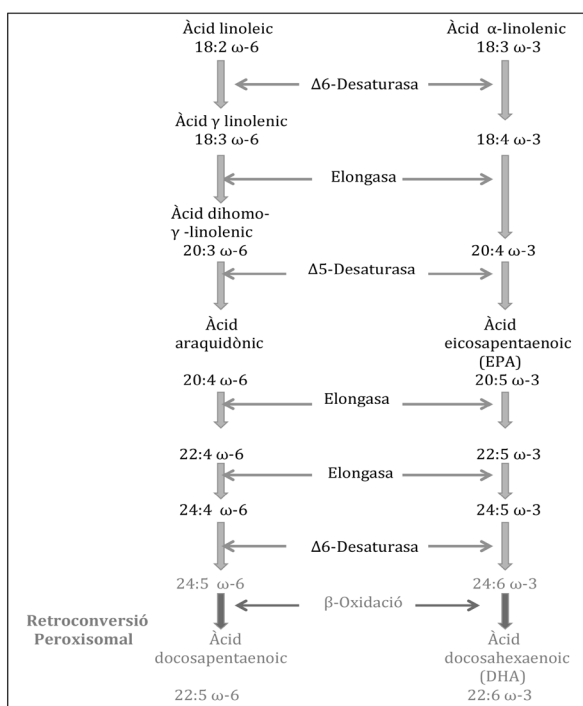
**Taula 10.** Contingut d'AGPICL  $\omega$ -3 i  $\omega$ -6 de diferents peixos (114).

El perfil lipídic del peix es caracteritza especialment per ser molt poliinsaturat, de manera que el contingut d'AGS és molt baix. De la mateixa manera, els AGMI i els AGPI  $\omega$ -6 es troben en molt poca quantitat. Però el que realment caracteritza al peix és la presència en quantitats elevades d'AGPI  $\omega$ -3, tant d'àcid linolènic com dels seus derivats, l'àcid eicosapentaenoic o EPA (C20:5  $\omega$ -3) i l'àcid docosahexaenoic o DHA (C22:6  $\omega$ -3). El peix blau conté quantitats superiors d'aquest tipus d'AGs que el peix blanc, constituint la principal font dietètica d'AGPICL  $\omega$ -3 (114).

L'alt contingut d'AGPICL  $\omega$ -3 al peix i altres animals aquàtics es deu a un fet metabòlic. Els àcids oleic, linoleic i  $\alpha$ -linolènic originen, per processos enzimàtics d'elongació i desaturació AGPICL. Les transformacions dels precursors en AGPICL són catalitzades per enzims identificats genèricament com elongases (augmenten la mida de la cadena hidrocarbonada) i desaturases (introdueixen nous dobles enllaços). El procés més crític és la desaturació (114).

Els vegetals poden desaturar AGS en les posicions  $\omega$ -9,  $\omega$ -6 i  $\omega$ -3, per la qual cosa poden biosintetitzar els àcids oleic, linoleic i  $\alpha$ -linolènic a partir d'AGS o de menor insaturació. Els animals, en particular els vertebrats

(entre ells els mamífers) només poden introduir insaturacions a partir del carboni  $\omega$ -9 i en direcció cap al grup carboxil. No poden desaturar en les posicions  $\omega$ -6 i  $\omega$ -3. Per aquesta raó, pels mamífers els àcids linoleic i  $\alpha$ -linolènic són AGs essencials, ja que al no poder sintetitzar-los a partir dels precursors de menor insaturació, han d'estar presents en la dieta en determinades quantitats i proporció entre ells. L'àcid oleic no és un AG essencial pels mamífers, ja que pot formar-se a partir de l'àcid esteàric (C18:0) (114).



**Figura 16.** Transformació metabòlica dels AGPICL  $\omega$ -6 i  $\omega$ -3. Vies de desaturació i elongació dels àcids linoleic i  $\alpha$ -linolènic (Adaptat i traduït de Gil Á. et al.) (114).

És difícil trobar valor iguals o similars en el contingut d'AGs, especialment d'AGPICL  $\omega$ -3 en els diferents peixos blaus. A les raons generals que la composició de greix i AGs varia entre els aliments, cal sumar-hi el factor de l'estacionalitat. La quantitat de greix dels peixos és més elevada a l'estiu i a principis de tardor, quan hi ha una gran disponibilitat d'aliment al mar, i és menor a l'hivern (114).

De la mateixa manera, les femelles abans del desovament presenten nivells elevats de greix. En general el peix blau presenta una considerable variació estacional en el seu contingut de greix, de manera que en èpoques de poca disponibilitat de nutrients pot tenir poc més d'un 0,5% de greix, mentre que en èpoques d'abundància de nutrients pot arribar al 30% de greix (114).

#### • Compostos nitrogenats

Els compostos nitrogenats poden ser proteics i no proteics. El contingut de les dues fraccions depèn de l'espècie de peix, sent més constant el contingut de proteïnes; que és d'entre el 12% i el 20%. Els aminoàcids (AACs) són la unitat estructural de les proteïnes, i contenen en la seva estructura un grup amino i un grup àcid, que poden estar associats al carboni  $\alpha$  ( $\alpha$  AACs) o al carboni  $\beta$  ( $\beta$  AACs). A més, poden presentar formes isomèriques L o D. Degut a aquesta variació en la posició de les cadenes, els AACs presenten grans diferències en les seves propietats bioquímiques i funcionals (115).

En relació a les necessitats dietètiques pel balanç nitrogenat o el creixement dels humans i animals, els AACs es classifiquen com a nutricionalment essencials o no essencials. Els AACs essencials són aquells dels quals els seus esqueletes carbonats no poden ser sintetitzats o sintetitzats inadequadament pel cos, i han de ser obtinguts de la dieta. Els AACs condicionalment essencials són aquells que poden ser sintetitzats normalment en quantitats adequades, però que en determinades situacions (certes malalties o estats fisiològics) les seves necessitats es troben augmentades. Els AACs no essencials són aquells els quals poden ser sintetitzats *de novo* en adequades quantitats suficients per cobrir els requeriments de l'organisme (115).

Existeix una evidència creixent que alguns AACs són reguladors clau de vies metabòliques necessàries pel manteniment del creixement, reproducció, i la immunitat de l'organisme, i són anomenats AACs funcionals. Entre aquests s'inclouen la taurina (116,117), l'arginina, la cisteïna, la glutamina, la eucina, la prolina i el triptòfan (115).

| Aminoàcids essencials | Aminoàcids no essencials | Aminoàcids funcionals |
|-----------------------|--------------------------|-----------------------|
| Arginina              | Alanina                  | Arginina              |
| Histidina             | Asparagina               | Cisteïna              |
| Isoleucina            | Aspartat                 | Glutamina             |
| Leucina               | Cisteïna                 | Leucina               |
| Lisina                | Glutamat                 | Prolina               |
| Metionina             | Glutamina                | Taurina               |
| Fenilalanina          | Glicina                  | Tirosina              |
| Treonina              | Prolina                  | Triptòfan             |
| Triptòfan             | Serina                   |                       |
| Valina                | Taurina*                 |                       |
|                       | Tirosina                 |                       |

\* aminoàcid essencial en nounats

**Taula 11.** Classificació dels aminoàcids en essencials, no essencials i funcionals (115,116).

En relació a la seva proporció d'AACs, la proteïna del peix té un elevat valor biològic, és a dir, presenta tots els AACs essencials en proporcions adequades, fins i tot superant les de la carn (118). En comparació amb el perfil d'AACs del peix blanc, específicament la proteïna de sardina en llauna destaca especialment pel seu contingut en lisina, arginina, valina, histidina, metionina i triptòfan (119). El que diferencia clarament el múscul dels animals aquàtics dels terrestres, és el seu contingut en l'AAC lliure taurina (118,120), que és més abundant en el peix blau que el blanc (120). Concretament, la sardina destaca sobre altres peixos pel seu contingut en aquest AAC sulfurat (121), sobretot quan es compara amb peixos blancs (120). A més, la sardina també és especialment rica en l'AAC tirosina (118).

| Aminoàcids (mg/100g) | Sardina en llauna | Bacallà |
|----------------------|-------------------|---------|
| Arginina             | 1473              | 1066    |
| Histidina            | 725               | 445     |
| Isoleucina           | 1134              | 821     |
| Leucina              | 2000              | 1447    |
| Lisina               | 2260              | 1635    |
| Metionina            | 729               | 527     |
| Fenilalanina         | 961               | 695     |
| Treonina             | 1079              | 781     |
| Triptòfan            | 276               | 199     |
| Valina               | 1268              | 916     |

**Taula 12.** Contingut d'aminoàcids essencials en la sardina i el bacallà (119).

| Aliments           | Taurina (mg/100g) | Tirosina (mg/100g) |
|--------------------|-------------------|--------------------|
| Sardina enllaunada | 147*              | 831                |
| Salmó              | 130               | 628                |
| Bacallà            | 38                | 601                |
| Lluç               | 33                | 588                |
| Porc               | 22                | 676                |
| Pollastre          | 23                | 810                |

\* Dades pròpies

**Taula 13.** Contingut de taurina i tirosina de diferents peixos blaus, blancs i carns (119,120).



## • Vitamines i minerals

El peix també constitueix una font important de nutrients essencials com les vitamines i els minerals. Els minerals més abundants són el potassi, el iode, el seleni, el calci, el fòsfor i el ferro. El iode i el seleni són especialment abundants en comparació amb la carn dels mamífers. De les vitamines liposolubles, destaquen la A i la D, concentrant-se en el peixos blancs gairebé exclusivament al fetge, mentre que en els peixos blaus també es troben al múscul. D'aquesta manera, el peix blau es considera la principal font de vitamina D de la dieta (118).

En relació a les vitamines hidrosolubles, el peix conté quantitats elevades de vitamines del grup B, destacant la B<sub>1</sub> (tiamina), B<sub>2</sub> (riboflavina) i B<sub>3</sub> (niacina). La vitamina B<sub>6</sub> (piridoxina) es troba especialment a la tonyina i al salmó, i la B<sub>12</sub> a la sardina i l'arengada (111).

| Aliments           | Calci<br>(mg/100g) | Ferro<br>(mg/100g) | Seleni<br>(µg/100g) | Vitamina A<br>(µg/100g) | Vitamina D<br>(µg/100g) |
|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|
| Sardina enllaunada | 314                | 2,9                | 53                  | 36                      | 8,2                     |
| Salmó              | 21                 | 0,4                | 24                  | 13                      | 8,0                     |
| Bacallà            | 9                  | 0,1                | 33                  | 2                       | tr.                     |
| Lluç               | 33                 | 1,1                | 26                  | 0                       | tr.                     |
| Porc               | 9                  | 0,9                | 33                  | tr.*                    | tr.                     |
| Pollastre          | 12                 | 1,0                | 23                  | tr.                     | tr.                     |

\* tr: traces

**Taula 14.** Contingut de calci, ferro, seleni i vitamines A i D de diferents peixos blaus, blancs i carns (113,119).

### 1.8.4 El peix com a component dietètic en la diabetis tipus 2

Al llarg dels anys la investigació nutricional ha afavorit l'enfocament reduccionista, el qual focalitza el paper dels nutrients de manera individual en la relació entre la dieta-salut i/o dieta-malaltia. Aquesta visió ha donat lloc a avenços importants, per exemple, en clarificar la influència del colesterol dietètic i la ingesta de greix en les concentracions sèriques de colesterol. Tot i això, aquest enfocament s'ha de considerar com una simplificació que facilita la comprensió de les complexes relacions entre dieta i malaltia (122).

El cas de la investigació sobre el peix blau en la DM2 és un exemple d'enfocament reduccionista, ja que la gran majoria d'estudis s'han centrat en investigar els AGPICL  $\omega$ -3 com a suplementes dietètics, més que el peix blau com a aliment. Tradicionalment, els AGPICL  $\omega$ -3 EPA i DHA han sigut considerats els únics nutrients responsables dels efectes beneficiosos del peix blau (118,123). Com a conseqüència, actualment les paraules " $\omega$ -3" i "peix" s'utilitzen com a sinònims molt sovint, fins i tot a la literatura científica (123). Sense deixar de banda la multitud d'estudis que han demostrat efectes positius dels AGPICL  $\omega$ -3 en diversos factors de risc i patologies, s'ha de destacar que les espècies marines també contenen varis nutrients i micronutrients importants a més dels AGPICL  $\omega$ -3 (123), que el diferencien dels aliments terrestres i poden proporcionar beneficis específics (118,124).

Recentment, el concepte de patró dietètic ha emergit com una alternativa i metodologia complementària per examinar la relació entre dieta i malaltia, ja que té en compte els efectes de la combinació dels aliments habitualment consumits, els quals produeixen efectes sinèrgics en la salut (125). Dos dels patrons dietètics més estudiats són el patró de dieta Mediterrània i el patró DASH (126). Aquests dos patrons dietètics inclouen la ingesta de peix entre els seus components (d'entre 2 i 3 cops a la setmana), i han demostrat beneficis en el control glucèmic i/o factors de risc cardiovascular en persones amb DM2 (101,102,126).

| Patró dietètic                  | Principals components                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Patró dieta Mediterrània</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ingesta elevada d'aliments vegetals mínimament processats</li> <li>• Oli d'oliva com a principal font de greix</li> <li>• Ingesta baixa-moderada de productes lactis, <b>peix</b> i carns magres</li> <li>• Ingesta baixa de carns vermelles</li> <li>• Ingesta baixa-moderada de vi amb els àpats</li> </ul> |
| <b>Patró DASH<sup>1</sup></b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Alt contingut de vegetals, fruita, lactis desnatats, cereals integrals, carns magres, <b>peix</b> i fruits secs</li> <li>• Baixa ingesta de carns vermelles, sucres afegits i begudes ensucrades</li> <li>• Ingesta reduïda de sodi</li> </ul>                                                                |

<sup>1</sup>DASH: *Dietary Approaches to Stop Hypertension*.

**Taula 15.** Patrons dietètics que inclouen peix i han demostrat beneficis en el tractament de la DM2 [adaptat de Ley et al.(102)].

D'aquesta manera el peix, preferentment el peix blau és considerat un dels components de patrons alimentaris relacionats amb la millora de la salut cardiometabòlica (127,128). Diverses organitzacions nacionals i internacionals recomanen un consum mínim de peix per la població general o persones amb DM (8,101,109,129-132). Les recomanacions es basen en arribar a la ingesta mínima d'EPA+DHA per prevenir la mortalitat cardiovascular (130).

Les diferents organitzacions presenten un remarcable consens en les recomanacions, que són de com a mínim de 2 racions de peix a la setmana (8,101,109,129-131), excepte les de la *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) juntament amb l'OMS, que recomana un consum més baix, de mínim 1 cop a la setmana (132). Totes les organitzacions emfatitzen que que el consum sigui preferiblement de peix blau (8,101,109,129-132). Per a dones embarassades o dones en etapa d'alletament i població infantil existeixen recomanacions específiques

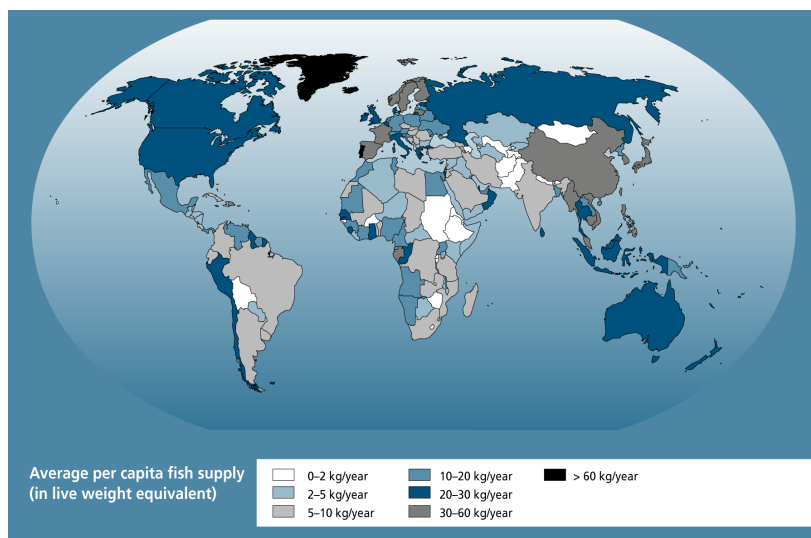
addicionals per evitar les espècies de peixos que contenen més mercuri, com també pel consum mínim de DHA necessari per optimitzar el desenvolupament cerebral dels infants (130).

| Organització                                                                                                         | Recomanacions                                                               | Objectiu                                                                                        |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Federación Española de Sociedades de Alimentación, Nutrición y Dietética FESNAD 2015 (131)</b>                    | ≥ 3 racions de peix a la setmana, dos de les quals haurien de ser peix blau | Prevenió de malaltia cardiovascular en població general                                         |
| <b>Diabetes and Nutrition Study Group of the European Association for the Study of Diabetes DNSG-EASD 2004 (109)</b> | Mínim 2 racions de peix a la setmana, preferiblement peix blau              | Prevenió del risc de mort cardiovascular i vessament cerebral en pacients amb diabetis          |
| <b>European Society of Cardiology- European Association for the Study of Diabetes ESC-EASD 2013 (8)</b>              | 2-3 racions de peix a la setmana, preferiblement peix blau                  | Prevenió de malaltia cardiovascular en pacients amb diabetis                                    |
| <b>American Diabetes Association ADA 2014 (101)</b>                                                                  | Mínim 2 racions de peix a la setmana, preferiblement peix blau              | Prevenió de malaltia cardiovascular en pacients amb diabetis                                    |
| <b>American Heart Association AHA 2010 (129)</b>                                                                     | ≥ 2 racions de peix a la setmana, preferiblement peix blau (1 ració: 99g)   | Promoció de la salut cardiovascular i prevenició de malaltia cardiovascular en població general |
| <b>United Nations Food and Agricultural Organization/ World Health Organization FAO-OMS 2003 (132)</b>               | 1-2 racions de peix a la setmana, preferiblement peix blau                  | Prevenió de malaltia cardiovascular i vessament cerebral                                        |

**Taula 16.** Recomanacions d'ingesta de peix de diferents organitzacions de nutrició, diabetis i salut cardiovascular (8,101,109,129-132).

En relació al consum de peix al món, Espanya és dels països que encapçalen les primeres posicions amb un consum de més 30-60 kg per persona i any (133). D'entre el total de peixos consumits a l'estat espanyol, la sardina es situa en la segona posició amb 1,6 kg per persona i any, representant la sardina enllaunada la conserva més consumida en les llars en una quantitat de 0,3 kg per persona i any (112).

La ingesta mitjana de peix diària era de 75g per persona l'any 2011 segons l'Enquesta Nacional d'Ingesta Dietètica Espanyola (ENIDE) (134), i a Catalunya de 65g per persona el període 1993-2003 segons l'Enquesta Nutricional de la població Catalana (ENCAT) (135). En relació a la freqüència de consum de peix, era de 3,8 racions a la setmana segons l'ENIDE (134), mentre que el 70% de la mostra de població analitzada a l'estudi ENCAT consumia igual o més de 3 racions de peix a la setmana (135).



**Figura 17.** Consum de peix per persona al món durant el període 2007-2009 (133).

L'evolució del consum de peix a l'estat espanyol ha experimentat una disminució progressiva, reduint-se gairebé 1 kg per persona i any durant el període 2010-2014. Tot i això, la tendència és diferent segons el tipus

de peix. Mentre que el consum de peix fresc manté una certa estabilitat, el de peix congelat disminueix, i el de conserves de peix augmenta (136). Concretament a Catalunya, el consum de peix va disminuir un 15% (de 80g a 64g al dia) desde el període 1992-1993 al període 2002-2003 (135). Analitzant la ingesta de peix blau però, s'observa un augment de la freqüència de consum setmanal del 53% al 65% (137).

### 1.8.5 Ingesta de peix i risc de malaltia cardiovascular, diabetis tipus 2 i depressió

La recerca sobre els beneficis del peix en la salut es va originar l'any 1978, amb la observació que la comunitat Inuit de Groenlàndia presentava una baixa incidència de malalties cardiovasculars relacionada amb ingestes elevades d'animals marins (138). Actualment, l'evidència epidemiològica de la prevenció primària de malaltia cardiovascular associada a la ingesta de peix ve donada per múltiples estudis observacionals en població general (139-142). En diversos metaanàlisis i revisions sistemàtiques, la ingesta d'entre 2 i 4 racions de peix a la setmana es va associar a un reducció d'un 4% en el risc de patir malaltia cerebrovascular (139) i d'un 18% de patir vessament cerebral (140) en comparació amb ingestes inferiors a una ració peix al mes (139,140). En un altre metaanàlisi aquelles persones amb una ingesta de peix superior a 4 cops a la setmana van reduir el risc de patir síndrome coronari agut un 21% en comparació amb aquelles que en consumien menys d'un cop al mes (142).

Altres estudis han mostrat que el consum de peix també disminueix gairebé en un 50% el risc de mort sobtada quan la ingesta és de mínim 1 cop a la setmana (143), i d'un 17% el risc de mort per malaltia coronària amb petites quantitats de peix (141). Sembla ser que la disminució de la freqüència cardíaca (FC) associada a la ingesta de peix (143-145) podria explicar en part el risc menor de patir mort sobtada (145).

A més, la ingesta de peix també s'ha associat amb una menor prevalença d'aterosclerosi subclínica (146,147), i una reducció de l'aterosclerosi arterial coronària (148).

En referència a la relació entre la ingesta de peix i el risc de DM2, una revisió i metaanàlisi recent dels estudis prospectius disponibles indica que existeixen diferències geogràfiques en l'associació del consum total de peix amb el risc de DM2; mostrant els estudis realitzats als Estats Units un increment del risc, cap associació en poblacions europees, i una disminució del risc en poblacions asiàtiques/Australianes (149). Dos revisions i metaanàlisis més, han conclòs que no existeix associació entre la ingesta de peix amb el risc de DM2, però també puntualitzen que existeix una gran heterogeneïtat geogràfica (150-151).

Concretament, la revisió de Zhang et al. va trobar un efecte protector significatiu només del peix blau en la DM2 després de realitzar un anàlisi estratificat basat en el tipus de peix (150). Dels set estudis prospectius realitzats en poblacions occidentals, tres han mostrat un efecte protector de la ingesta de peix en la DM2 (152-154), i tres més s'han relacionat amb un increment del risc de DM2 associat a la ingesta de peix (155-157). Un dels estudis, realitzat en 8 països europeus (*EPIC-InterACT Study*), va trobar una associació feble però inversa entre la ingesta de peix blau i la DM2, però la ingesta de peix total no es va relacionar amb el risc de DM2 (152). En població japonesa, en la que les ingestes de peix són més elevades que en poblacions occidentals, la ingesta de peix es va associar amb una disminució del risc de DM2 en homes però no en dones (158).

Un altre estudi realitzat en població xinesa de mitjana edat, va observar una relació inversa entre la ingesta de peix i marisc amb la DM2 només en dones (159), mentre que un estudi ecològic en 41 països, va trobar que aquells països amb ingestes més baixes de peix/marisc presentaven les prevalències més elevades de DM2 (160). L'estudi més recent, realitzat en població sueca, ha observat que no existeix associació entre la ingesta de peix blau en la DM2, però de manera interessant, si que s'ha trobat una efecte protector en la diabetis LADA (161). Entre els factors que podrien explicar la discordància entre els estudis, els autors destaquen una

considerable/elevada heterogeneïtat en els resultats observats (161,149-151,162), especialment en relació al tipus de peix consumit, com també els mètodes de preparació i cocció i els nivells de contaminants, que poden variar entre els diferents països (149).

La ingesta de peix blau també s'ha suggerit està implicada en la protecció contra el desenvolupament de desordres depressius (163), ja que tal com ha conclòs un metaanàlisi recent, es relaciona inversament amb el risc de depressió (164). La depressió es relaciona fortament amb un risc augmentat d'obesitat, síndrome metabòlic i DM2 (165-170). A més, és un potent predictor de la qualitat de la dieta i l'IMC, com més augmenta la simptomatologia depressiva més baixa la qualitat dietètica i augmenta l'IMC (163). L'impacte negatiu dels desordres depressius tan a nivell físic com mental es reflexa en una reducció de la qualitat de vida (QV) (171). A més, el dolor neuropàtic crònic és una complicació de la DM2 que també s'ha de considerar pel seu efecte negatiu en la QV dels pacients (172).

Els mecanismes biològics específics pel quals la ingesta de peix podria influir en la depressió i el dolor no es coneixen en detall. S'ha discutit que l'es podria relacionar amb una dieta més saludable i un estat nutricional més favorable, el qual podria contribuir a disminuir el risc de depressió (164). Tot i això, ingestes elevades de peix i baixes de carn s'han associat a una menor atròfia cerebral mesurada per ressonància magnètica en persones de 80 anys, suggerint una possible implicació del peix en el manteniment de l'estructura cerebral (173).

En relació als nutrients responsables dels efectes beneficiosos del peix, diversos estudis postulen que podrien estar implicats no només els AGPICL  $\omega$ -3, sinó també un gran nombre de nutrients que poden interactuar entre ells, com la vitamina D (149,152,158,160) el seleni (159), els aminoàcids com la taurina (139), la tirosina i el triptòfan (163), i la proteïna del peix (149,152,158). A més dels seus nutrients, la ingesta de peix podria implicar una reducció de la ingesta d'altres aliments proteics, com la carn vermella, i per tant, afavorir un patró alimentari més saludable (139).

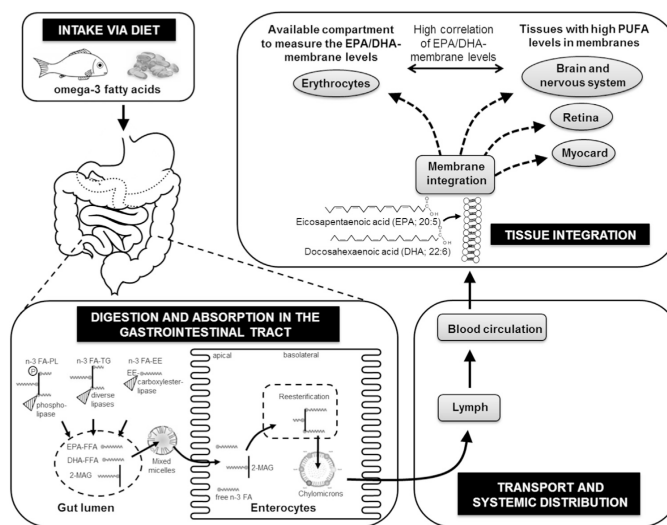


En referència al balanç entre els beneficiosos i riscos de la ingesta de peix, recentment, diversos autors han revisat l'evidència científica. Les revisions s'han basat generalment en el supòsit que la ingesta de peix ha de tenir beneficis per la salut però també certs riscos, atès que el peix, especialment el peix blau, pot contenir contaminants químics (procedents de l'activitat agrícola, industrial i altres activitats humanes) com el metilmercuri, els bifenils policlorats, les dioxines o els dibenzofurans (174). La conclusió de les revisions és que els beneficis de la ingesta de peix són majors que els riscos, i que s'hauria de limitar la seva ingesta en dones embarassades i infants. Tot i això, la majoria d'estudis de revisió inclouen només alguns tipus de contaminants i analitzen un reduït nombre de peixos, generalment grans predadors com el salmó o la tonyina, els quals presenten les concentracions més elevades de contaminants, en comparació amb peixos petits com la sardina o el seitó. A més, no existeix informació sobre la variació temporal en les concentracions de contaminants en les espècies analitzades. Per tant, el tipus de peix consumit, la freqüència de consum, com també la porció consumida són punts essencials que s'han de tenir en compte per equilibrar adequadament els beneficis i els riscos per la salut de la ingesta de peix (174).

#### 1.8.5.1 Índex Omega-3 i risc cardiovascular

L'índex omega-3 (IO3) es defineix com el contingut dels dos principals AGPICL  $\omega$ -3, l'EPA i el DHA a les membranes dels eritròcits, i s'expressa com el percentatge de la suma d'EPA+DHA (175). L'IO3 és un biomarcador robust de la ingesta de peix blau, ja que l'EPA i DHA presents en aquest aliment en grans quantitats, s'incorporen a les membranes cel·lulars un cop són ingerits (176). Després de ser emulsificats a l'estómac, els AGPICL  $\omega$ -3 arriben a l'intestí prim on són hidrolitzats en AGs lliures  $\omega$ -3 i 2-monoacilglicèrids, i s'agrupen formant miscel·les. Dins l'enteròcit els AGPICL  $\omega$ -3 són esterificats en TG, els quals són incorporats dins de quilomicrons i transferits través de la membrana basolateral a la limfa, i posteriorment a la circulació. Després, els AGPICL  $\omega$ -3 són transportats als teixits diana, on principalment són incorporats a les membranes cel·lulars (177).

Les raons per determinar els AGPICL  $\omega$ -3 en els eritròcits inclouen la baixa variabilitat biològica de la seva composició d'AGs, l'elevada estabilitat preanalítica, el fet que els lípids constituents dels eritròcits siguin gairebé exclusivament fosfolípids, i que la composició dels AGs en els eritròcits reflecteix la composició d'AGs dels teixits de manera crònica [de la mateixa manera que l'HbA1c és un millor marcador del control glucèmic que la glucosa plasmàtica] (178). Alguns estudis han observat que l'IO3 no només és un reflex de la ingesta dietètica d'AGPICL  $\omega$ -3 sinó que també serviria com a marcador representatiu dels nivells d'AGPICL  $\omega$ -3 al teixit cardíac (179,180), la retina o els nervis òptics en humans (181), i el teixit gastrointestinal en ratolins (182).



**Figura 18.** Ruta metabòlica dels AGPICL  $\omega$ -3 desde l'aliment fins als teixits (177).

L'any 2004, Harris i von Schacky van proposar l'IO3 com a un nou factor de risc de mort cardíaca sobtada, en base als resultats de diversos estudis que van reportar una reducció del 90% de risc per mort cardíaca sobtada en aquells individus amb els nivells més elevats d'EPA i DHA en sang, en comparació amb aquells amb els nivells més baixos (176). Un fonament de la definició de l'IO3 és el procediment analític específic i estandaritzat. L'estandarització del procés analític es un prerrequisit necessari per

passar d'un paràmetre de recerca a la utilització clínica rutinària. A més, és el primer criteri important per establir un nou biomarcador de risc cardiovascular segons l'*American Heart Association* (AHA) (178). Els punts de tall proposats per definir el risc cardiovascular en funció de l'IO3 s'han definit en 3 categories: < 4% risc elevat, entre el 4-8% risc intermedi, i ≥ 8% risc baix (176).

Tot i que diversos estudis epidemiològics han relacionat nivells baixos d'IO3 amb un increment del risc de mortalitat total, envelliment cel·lular, depressió i síndrome coronari agut, i nivells elevats (≥ 8%) amb protecció cardiovascular; actualment són necessaris estudis intervencionals per confirmar aquests resultats, i establir una evidència científica per poder considerar l'IO3 un factor de risc cardiovascular (183).

| Índex omega-3 | Risc cardiovascular |
|---------------|---------------------|
| < 4%          | Elevat              |
| 4-8%          | Intermedi           |
| ≥ 8%          | Baix                |

**Taula 17.** Punts de tall proposats per l'índex omega-3 en relació al risc cardiovascular (176).

## 1.8.6 Evidència dels efectes del peix blau i els seus nutrients en la diabetis tipus 2

### 1.8.6.1 Àcids grassos poliinsaturats de cadena llarga omega 3

Els potencials efectes terapèutics dels AGPICL  $\omega$ -3 EPA i DHA en la DM2 han estat extensament estudiats, existint una important inconsistència entre els estudis en animals i humans (184-187). Mentre que els estudis en rosegadors suggereixen un efecte favorable dels AGPICL  $\omega$ -3 en el metabolisme de la glucosa i la sensibilitat a la insulina (187), la majoria d'estudis en humans no han pogut corroborar les troballes en els estudis en animals (184-186). Tres metaanàlisis incloent 18, 20 i 23 estudis randomitzats i controlats respectivament, amb un gran nombre de pacients amb DM2, coincideixen en els objectius estudiats descrivint una disminució dels TG i cap efecte en el control glucèmic i la sensibilitat a la insulina amb la suplementació d'AGPICL  $\omega$ -3 (184-186).

Tot i que alguns estudis amb suplementes d'AGPICL  $\omega$ -3 realitzats en infants i adolescents amb obesitat i RI han demostrat una disminució de la glucèmia, insulina, TG, HOMA-IR (188-190), els estudis en adults amb obesitat associada o no a RI/síndrome metabòlic han trobat una corcondància amb els estudis en pacients amb DM2, concloent dos revisions sistemàtiques que la ingesta de suplementes d'AGPICL  $\omega$ -3 no afecta la sensibilitat a la insulina (191), pot incrementar el colesterol LDL i disminuir els TG i la PA (192). Els efectes dels AGPICL  $\omega$ -3 també s'han estudiat en la composició corporal, mostrant resultats contradictoris. Tot i que alguns estudis han trobat una disminució del greix corporal quan els AGPICL  $\omega$ -3 es van combinar amb exercici físic (193), altres estudis no han observat efectes en l'adipositat (194), o no s'han acompanyat d'una millora en la RI (195).

En relació a la inflamació, els AGPICL  $\omega$ -3 han demostrat efectes tan positius (193,196-198) com neutres (199-201) en diferents paràmetres inflamatoris de pacients amb obesitat i/o síndrome metabòlic. En la DM2, l'evidència és de 8 estudis que mostren disminucions significatives en la PCR, mentre que l'efecte en la IL-6 i el TNF $\alpha$  no és concloent, degut als pocs estudis que s'han centrat en aquests dos marcadors inflamatoris (202). Pel que fa als efectes dels AGPICL  $\omega$ -3 en l'adiponectina, una revisió sistemàtica recent va concloure que poden incrementar moderadament les concentracions circulants d'aquesta adipoquina (203). Tot i això en l'únic estudi que ha inclòs pacients amb DM2, els efectes dels AGPICL

ω-3 van ser neutres (195). En la malaltia cardiovascular, tot i les dades favorables d'estudis clínics randomitzats antics en la prevenció secundària (204), la majoria d'estudis recents amb dissenys similars no han trobat una reducció significativa de la morbiditat i mortalitat cardiovascular en resposta a la suplementació amb AGPICKL ω-3 (205-207), incloent l'estudi ORIGIN, realitzat en 12.536 pacients amb IG, ADG i DM2 (208).

|                           | Dosi suplementació                  | Efectes                                                                                             |
|---------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Pes corporal              | 1-6g/dia EPA+DHA                    | ↓ (193,197), ↓ greix corporal (193)<br>↔ (194,209)                                                  |
| Perfil lipídic            | 3-7,5g/dia EPA+DHA                  | ↔ (196,209) ↑ HDL (193)<br>↓ TG (190,193,194)                                                       |
| Pressió arterial          | 5g/dia EPA+DHA                      | ↔ (209)                                                                                             |
| Freqüència cardíaca       | 0,8-15g/dia EPA+DHA                 | ↓ (210)                                                                                             |
| Glucèmia                  | 1,3g-5g/dia EPA+DHA                 | ↓ (190,192), ↔ (209)                                                                                |
| Resistència a la insulina | 0,9-1,8g/dia EPA+DHA                | ↓ (190–192, 196)                                                                                    |
| Adiponectina              | 0,9-1,8g/dia EPA+DHA                | ↑ (194), ↔ (192)                                                                                    |
| Inflamació                | 0,9-3,5g/dia EPA+DHA<br>2g DHA/dia* | TNFα ↓ (191) ↔ (199,200)<br>PCR ↓ (196,198,199) ↔(200)<br>IL-6 ↓(196) ↔ (199–201)<br>↑ IL-10 (200)* |

**Taula 18.** Efectes de la suplementació d’AGPICKL ω-3 en pacients amb obesitat i/o síndrome metabòlic.

|              | Dosi suplementació | Efectes                |
|--------------|--------------------|------------------------|
| Pes corporal | 1,8g/dia EPA+DHA   | ↓ greix corporal (195) |

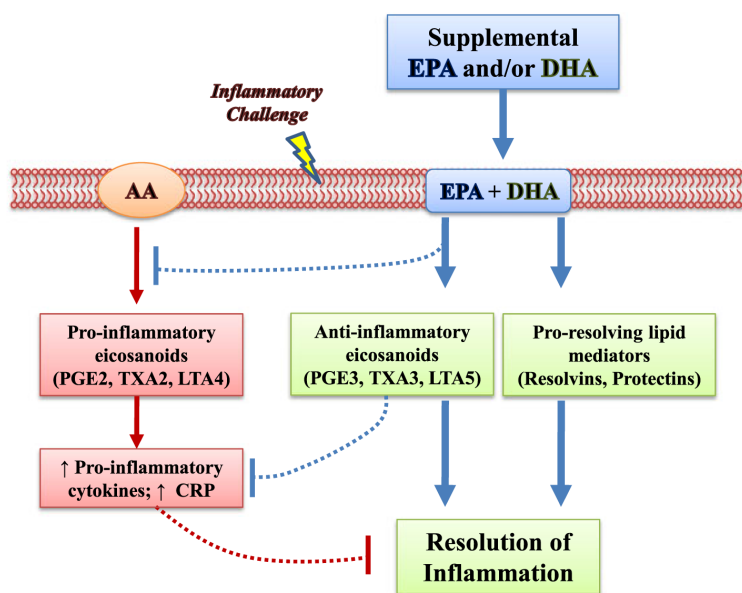
continua a la pàgina següent

|                                  |                      |                                               |
|----------------------------------|----------------------|-----------------------------------------------|
| <b>Perfil lipídic</b>            | 1-3,1g/dia EPA+DHA   | ↓TG (211-216)<br>↑ HDL (212,215)              |
| <b>Pressió arterial</b>          | 2,5g/dia EPA+DHA     | ↓ PAS (211)                                   |
| <b>Freqüència cardíaca</b>       | 1-6,6g/dia EPA+DHA   | ↓ (210)                                       |
| <b>Glucèmia</b>                  | 0,9-6g/dia EPA+DHA   | ↔(208,211,212,214,215,217,218)<br>↑ (216,219) |
| <b>HbA1c</b>                     | 0,9-2,5g/dia EPA+DHA | ↔ (208, 211,213,217)                          |
| <b>Resistència a la insulina</b> | 0,9-6g/dia EPA+DHA   | ↔ (195,208,211-214, 218)<br>↑ (219)           |
| <b>Adiponectina</b>              | 1,8g/dia EPA+DHA     | ↔ (195)                                       |
| <b>Inflamació</b>                | 1-6g/dia EPA+DHA     | PCR ↓ (202)                                   |

**Taula 19.** Efectes de la suplementació d'AGPICKL  $\omega$ -3 en pacients amb DM2.

Pel que fa a l'efecte dels AGPICKL  $\omega$ -3 en la MI, estudis recents suggereixen que podrien influenciar la composició de les bactèries intestinals (220-223). Un estudi en ratolins va observar que la proporció d'espècies del filum *Bacteroidetes* s'alterava depenent de si els ratolins eren alimentats amb una dieta rica en AGS, AGPICKL  $\omega$ -3 o AGPICKL  $\omega$ -6 durant 14 setmanes. La proporció de *Bacteroidetes* es va reduir significativament més amb la dieta rica en AGS (-28%) que en la dieta rica en AGPICKL  $\omega$ -3 (-10%) o AGPICKL  $\omega$ -6 (-12%) (222). Els grups bacterians *Firmicutes*, *Clostridiales bacterium*, *Sphingomonadales bacterium* i *Pseudomonas* també van disminuir la seva concentració després de suplementar la dieta de ratolins amb olis de peix durant dos setmanes en un altre estudi (223). En humans, la suplementació d'olis de peix en infants entre 9 i 18 mesos va demostrar que pot influenciar el canvi en l'abundància de bactèries del grup *Bacteroidetes* que es produeix amb la interrupció de la lactància materna (220).

En relació als diversos efectes dels AGPICL  $\omega$ -3, s'ha de considerar principalment la seva acció antiinflamatòria, la qual té importància per la seva implicació en la inflamació crònica de baix grau associada a l'obesitat, la RI i la DM2 (185). La incorporació dels AGPICL  $\omega$ -3 a les membranes cel·lulars, substituint als AGPI  $\omega$ -6 i alterant la seva composició en AGs es considera un dels seus mecanismes antiinflamatoris fonamentals (224). Aquests canvis en la composició de les membranes poden modificar la seva estructura i el patró de producció de mediadors lipídics.



**Figura 19.** Incorporació de l'EPA i l'DHA a les membranes cel·lulars produint mediadors lipídics amb activitat antiinflamatòria (226).

La ingesta d'EPA i DHA es tradueix en un increment als fosfolípids de membrana d'aquests dos AGs  $\omega$ -3 a expenses de l'àcid araquidònic (AA). L'EPA i el DHA competeixen amb l'AA com a lligands de la ciclooxigenasa (COX) i la lipooxigenasa (LOX), els enzims responsables de la producció d'eicosanoids, que són els mediadors lipídics biològicament actius, i inclouen prostaglandines, tromboxans i leucotriens. Mentre que els eicosanoids derivats de l'EPA i el DHA presenten activitat antiinflamatòria, els derivats de l'AA promouen la inflamació (225).

D'aquesta manera, l'EPA i l'DHA exerceixen els seus efectes antiinflamatoris per la substitució parcial a les membranes cel·lulars dels eicosanoids derivats de l'AA, com també a través de la producció de mediadors lipídics amb propietats antiinflamatòries anomenats resolvines, protectines i maresines, que regulen l'expressió de gens involucrats en diverses vies supressores de la inflamació (225).

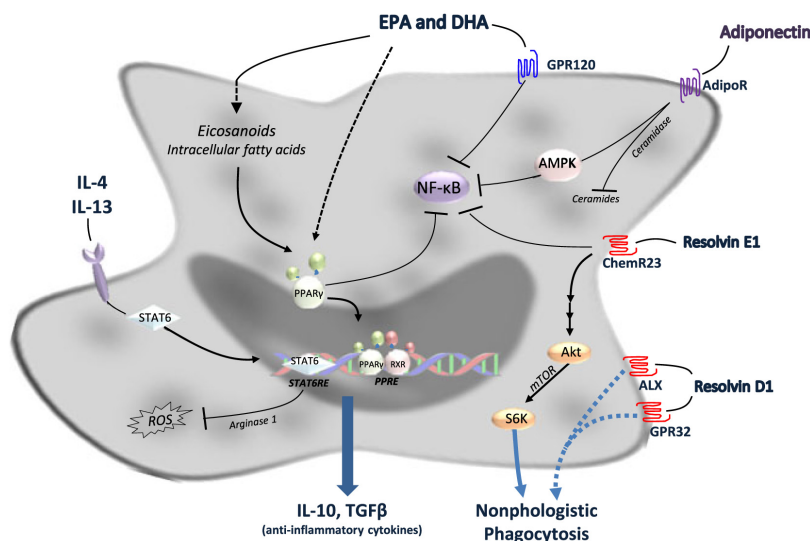
La incorporació de l'EPA i DHA a les membranes cel·lulars també pot alterar la composició dels lípids rafts, que són dominis de les membranes que contenen típicament elevades quantitats d'AGS. Els AGPICL  $\omega$ -3 actuarien alterant la producció i el reclutament dels receptors TLR4 (receptors d'AGS i LPS) als lípids rafts, i per tant, inhibint la via de senyalització inflamatòria NF- $\kappa$ B (226). A més, les resolvines, específicament la resolvina E1 i la D1 promouen l'activació de macròfags M2 a través de la seva interacció amb els receptors de membrana Chem23, lipoxina A4 i receptor acoplat a proteïnes G 32 (GPR32) (226).

Tan l'EPA, el DHA com els seus metabòlits derivats són agonistes de receptors hormonals nuclears, com el receptor gamma activat per proliferadors peroxisomals (PPAR $\gamma$ ), que s'expressa als adipòcits i macròfags, i el receptor alfa activat pel factor proliferador de peroxisomes (PPAR $\alpha$ ), que s'expressa principalment al fetge. L'activació de PPAR $\gamma$  inhibeix la transcripció d'NF- $\kappa$ B, estimula l'oxidació lipídica i la sensibilitat a la insulina. Igualment, l'activació dual de PPAR $\gamma$  i PPAR $\alpha$  pot promoure la sensibilitat a la insulina augmentant tan les concentracions d'adiponectina com l'expressió dels seus receptors (226). Recentment, s'ha descrit un nou mecanisme que mediarà les accions antiinflamatòries i insulinosensibilitzadores dels AGPICL  $\omega$ -3 (226).

La unió de l'EPA i l'DHA al receptor/sensor lipídic GPR120 localitzat a la superfície cel·lular d'adipòcits i macròfags, inhibeix l'estimulació d'agonistes del TLR2, TLR4 i TNF $\alpha$ , i en conseqüència l'activació de vies proinflamatòries (226). Els efectes insulinosensibilitzadors estan mediat per la inhibició de la via NF- $\kappa$ B als macròfags (226). A més, el receptor GPR120 també s'expressa a l'hipotàlem, demostrant ratolins alimentats amb una dieta rica en AGPICL  $\omega$ -3 una disminució de la inflamació



hipotalàmica acompanyada d'una reducció de la ingesta dietètica i del pes corporal. Aquestes observacions suggereixen la implicació dels AGPICL  $\omega$ -3 en la modul·lació de la inflamació hipotalàmica (227).



**Figura 20.** Vies de senyalització, receptors i mecanismes antiinflamatoris de l'EPA i l'DHA als adipòcits i macròfags (226).

De manera interessant, recentment ha sigut descrit un possible mecanisme que implica la MI en els efectes antiinflamatoris dels AGPICL  $\omega$ -3 (221). En un model de ratolí transgènic amb capacitat de produir AGPICL  $\omega$ -3 a partir d'AGPICL  $\omega$ -6 sense necessitat de suplementació dietètica, la ingesta d'AGPICL  $\omega$ -6 va reduir dràsticament l'endotoxèmia i l'estat inflamatori, mentre que els ratolins control van mostrar un increment de l'endotoxèmia i la inflamació crònica de baix grau. Quan es va suplementar els ratolins control amb AGPICL  $\omega$ -3 els resultats van ser similars als dels ratolins transgènics (221).

L'eliminació de la MI amb antibiòtics va ocasionar la pèrdua dels efectes observats suggerint la participació de les bacteries intestinals. El grup de ratolins transgènics va presentar concentracions menors de bacteries proinflamatòries, com *Proteobacteria* o *Fusobacterium* que el grup control, mentre que les concentracions de grups bacterians antiinflamatoris

com *Bifidobacterium*, *Akkermansia muciniphila* o *Lactobacillus* van ser superiors a les del grup control. L'anàlisi del teixit intestinal va revelar una elevada concentració d'AGPICL  $\omega$ -3, que va estimular la síntesi i secreció de fosfatasa alcalina intestinal, induïnt canvis en la MI i resultant en una disminució de la producció de LPS i la permeabilitat intestinal, que en últim terme va reduir l'endotoxèmia i la inflamació (221).

### 1.8.6.2 Proteïna de peix

L'evidència dels efectes de la proteïna de peix en la DM ve donada principalment per estudis en models animals, que han trobat efectes beneficiosos en diferents paràmetres associats a la DM, majoritàriament de la proteïna de peix blau, i alguns estudis també de la proteïna de peix blanc (228-237).

Concretament, la proteïna de sardina ha demostrat millores en la intolerància a la glucosa, la sensibilitat a la insulina i la inflamació, com també una disminució de l'adipositat en models de rates i ratolins amb DM1 i síndrome metabòlic (228,229, 233). En un altre estudi on es va investigar l'efecte de diferents proteïnes de peix blau (salmó, bonítol, caball i arengada), la proteïna de salmó va millorar la sensibilitat a la insulina i la inflamació al teixit adipós de rates alimentades amb una dieta amb alt contingut de greixos i sucres. Tot i això, cap de les proteïnes de peix va tenir efectes en el metabolisme de la glucosa (232). S'han proposat diversos mecanismes a través dels quals la proteïna de sardina exerciria els seus efectes beneficiosos. Un d'ells seria la seva particular composició en AACs, especialment pel seu alt contingut en taurina, que tindria un efecte hipoglucemiant. D'altres mecanismes descrits són l'estimulació de la sensibilitat a la insulina al múscul, a través de l'increment de la translocació de GLUT4 als túbuls T, com també la disminució de la peroxidació lipídica al teixit adipós marró (228,229).

Els efectes de la proteïna de peix purificada també han sigut estudiats en models de rates amb hipertensió espontània, demostrant una disminució de PA (234,235). Quan la hipertensió es va associar a DM1, el colesterol

total i els TG van disminuir significativament amb la ingesta de proteïna de peix purificada, però no es van observar efectes sobre la glucèmia (236). Sembla ser que els efectes beneficiosos en la PA podrien estar relacionats amb la inhibició de l'activitat de l'enzim convertidor d'angiotensinògen I al teixit vascular (237). En relació a la proteïna de peix blanc, la única estudiada ha sigut la proteïna de bacallà, on dos estudis van observar millora la intolerància a la glucosa, la sensibilitat a la insulina i la prevenció de RI al múscul en rates alimentades amb una dieta amb alt contingut de sucres (230,231).

L'evidència dels efectes de la proteïna de peix en humans es basa en un estudi en pacients amb sobrepès. Vuit setmanes després de suplementar la dieta amb comprimits de proteïna de bacallà (3g/dia durant les primeres 4 setmanes i 6g/dia durant les 4 següents), es va observar una disminució de la glucèmia en dejú i a les 2h d'un TTOG, però un augment de l'HbA1c. Tot i així, la insulinèmia en dejú, a les 2h de la TTOG, el HOMA-IR, el colesterol HDL i els TG no es van modificar (238).

### 1.8.6.3 Pèptids de peix

En els últims anys, una part considerable de la investigació nutricional s'ha centrat en els pèptids bioactius i la seva utilització com a ingredients d'aliments funcionals. Els pèptids bioactius han sigut definits com components derivats dels aliments, que a més del seu valor nutricional presenten efectes fisiològics en l'organisme. De manera interessant, els pèptids són inactius dins la seqüència matriu de la proteïna, i per tant, han de ser alliberats per exercir els seus efectes. Aquests pèptids bioactius estan constituïts generalment per residus de 2 a 20 aminoàcids, i poden actuar localment al sistema digestiu o ser absorbits a través de l'intestí arribant al sistema circulatori intactes per realitzar els seus efectes (239).

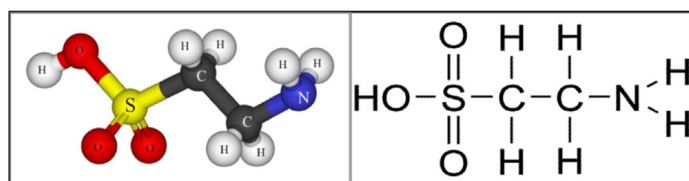
En referència als pèptids de proteïna de peix, el pèptid de sardina Valina-Tirosina (Val-Tir) és un dels més estudiats, demostrant efectes hipotensors en models d'hipertensió de rata i ratolí (240,241), i efectes vasodilatadors en rates amb hipertensió espontànea (242). A més, l'administració del pèptid

Val-Tyr també ha demostrat millores en la resposta glucèmica després de realitzar un TTOG, sense modificació de la glucèmia o insulinèmia en dejú en rates amb hipertensió (240). L'efecte antihipertensiu del pèptid de sardina Val-Tyr també ha sigut demostrat en humans normotensos o amb hipertensió essencial lleu, a través de la inhibició de l'enzim convertidor d'angiotensina I (243).

Altres pèptids, com els de la proteïna salmó, també ha sigut investigat en un model d'aterosclerosi en ratolins. En aquest estudi, es va observar una reducció de la placa ateroscleròtica a l'aorta dels animals després de 12 setmanes d'incloure un 5% de proteïna hidrolitzada de salmó a la dieta, acompanyada d'una disminució de les concentracions plasmàtiques d'IL1- $\beta$ , IL-6 i TNF $\alpha$ . De manera interessant, la millora en l'aterosclerosi i la inflamació no es va relacionar amb canvis en el perfil lipídic (244).

#### 1.8.6.4 Taurina

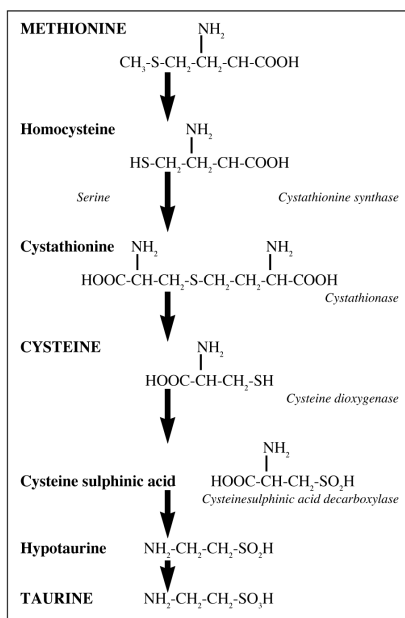
La taurina (àcid 2-aminoetasulfònic) és un  $\beta$ -aminòacid que es troba majoritàriament de manera lliure o formant pèptids simples a l'organisme. La biosíntesi i la ingesta dietètica són les úniques fonts de taurina en els humans (245), i degut a que la seva síntesi endògena és limitada, la dieta es considera la principal font (118,246), sent el peix i el marisc els aliments amb més contingut de taurina (245,247,248). La resta d'aliments on es pot trobar la taurina són la carn i els lactis, però en quantitats molts menors, mentre que les concentracions en aliments d'origen vegetal és indetectable (120). A més, la taurina també es troba com a constituent d'alguns productes alimentaris que s'han promocionat com a beneficiosos pel rendiment esportiu, com les begudes Lipovitan i Red Bull (249). La ingesta de taurina diària s'estima que oscil·la entre 40 i 400 mg (246).



**Figura 21.** Estructura tridimensional de la taurina (245).

En els humans, la taurina es troba present en la majoria de teixits, amb particular abundància en els teixits elèctricament estimulables i amb facilitat de generar radicals lliures com el cor, el cervell, la retina, les plaquetes (245), els leucòcits, el múscul esquelètic i el fetge. També es concentra en grans quantitats en els àcids biliars, la llet materna i la saliva (117).

La síntesi endògena de taurina es produeix principalment al fetge i al cervell, tot i que també pot ser biosintetitzada de manera indirecta al fetge (249,250). El procés metabòlic de biosíntesi requereix diversos passos directament a partir de la cisteïna o indirectament amb la conversió de la metionina en cisteïna. El primer pas és l'oxidació de la cisteïna en àcid sulfínic cisteïna per acció de l'enzim cisteïna dioxigenasa. Després, l'àcid sulfínic cisteïna passa a hipotaurina per acció de l'àcid sulfínic decarboxilasa. Finalment la hipotaurina és oxidada a taurina (117).



**Figura 22.** Ruta metabòlica de biosíntesi de la taurina (117).

Tot i que va ser descoberta fa dos segles, ha sigut en les últimes quatre dècades quan la seva importància nutricional i clínica ha sigut examinada i reconeguda (245). A més d'intervenir en la conjugació dels àcids

biliars, la taurina participa en l'osmoregulació, l'immunomodul·lació, la inflamació, l'estabilització de membrana, l'oxidació i la modul·lació de la neurotransmissió (251). En els últims anys, la taurina ha sigut focus d'investigació en relació als seus beneficis en la DM. Diversos estudis han mostrat que les concentracions de taurina en plasma i plaquetes es troben disminuïdes en pacients amb DM1 i DM2, suggerint que la DM pugui ser considerada com un condició deficient d'aquest aminoàcid (245,246,252-254). A més, s'ha trobat una relació inversa entre les concentracions de taurina en orina i la mortalitat per malaltia coronària, proposant que la taurina continguda en el peix podria estar involucrada en els seus efectes cardioprotectors (255,256).

En humans, els estudis de suplementació amb taurina en la DM són limitats, i dels tres disponibles a la literatura només un fa referència a la DM2 (253,257,258). En pacients amb DM1 la suplementació d'1g de taurina durant 1 mes va disminuir els valors de glucèmia i glucosúria (258). En un altre estudi, tot i que no es va observar una millora de l'HbA1c després de suplementar la dieta amb 1,5g de taurina durant 3 mesos, es va aconseguir revertir la deplecció de taurina plasmàtica i plaquetària en pacients amb DM1 i bon control metabòlic (253). Els efectes en les plaquetes podrien ser importants en la prevenció de l'infart de miocardi, ja que la deplecció plaquetària es relaciona amb una hiperagregabilitat en la DM (253).

Els resultats en la DM2 són menys encoratjadors, ja que la suplementació durant 4 mesos amb taurina en pacients amb DM2 tot i augmentar les concentracions plasmàtiques d'aquest aminoàcid no va modificar el perfil lipídic, la glucosa, insulina, HbA1c o la peroxidació lipídica (257). En pacients amb obesitat sense DM2 en canvi, si s'ha observat una millora de la sensibilitat a la insulina després de suplementar amb 3g de taurina durant 2 i 8 setmanes respectivament en dos estudis (257,259), com també un increment de l'adiponectina en un d'ells (260). En contrast, l'estudi de Brøns et al. va observar que la suplementació amb la meitat de dosi de taurina, va tenir efectes neutres en la insulinèmia, sensibilitat a la insulina, lípids plasmàtics i agregació plaquetària de pacients amb sobrepès i història familiar de DM2 (261).

| Any i referència de l'estudi         | Característiques pacients | Dosi i duració de la suplementació             | Resultats                                                                                                                            |
|--------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1995<br>Franconi et al. (253)        | DM1<br>39 pacients        | 1,5g/dia durant 90 dies                        | ↔ Glucèmia                                                                                                                           |
| 1996<br>Elizarova i Nedosugova (258) | DM1<br>10 pacients        | 1g/dia durant 30 dies                          | ↓ Glucèmia, glucosúria<br>↓ TG                                                                                                       |
| 2003<br>Chauncey et al. (257)        | DM2<br>32 pacients        | 3g/dia durant 4 mesos                          | ↔ HbA1c                                                                                                                              |
| 2004<br>Brøns et al. (261)           | Sobrepès<br>20 pacients   | 1,5g/dia durant 8 setmanes                     | ↔ Insulina, SI i lípids plasmàtics                                                                                                   |
| 2008<br>Xiao et al. (259)            | Sobrepès<br>6 pacients    | 3g/dia durant 2 setmanes                       | ↑ SI (postinfusió intravenosa lípids durant 48h)<br>↓ Productes peroxidació lipídica                                                 |
| 2014<br>Rosa et al. (260)            | Obesitat<br>16 pacients   | 3g/dia durant 8 setmanes randomitzat doble cec | ↓ Pes corporal (ambdós grups)<br>↓ glucèmia, insulina (grup taurina, no significatiu)<br>↑ SI (grup taurina)<br>↑ ADP (grup taurina) |

**Taula 20.** Estudis clínics de suplementació amb taurina (253, 257-261).

A diferència dels estudis en humans, en models animals l'evidència dels efectes beneficiosos de la taurina en la DM i l'obesitat és més sòlida (246,248,251,262,263). Diversos estudis han demostrat els efectes hipoglucemians de la taurina tan en models de rates, ratolins i conills amb DM1 com amb obesitat i DM2 (264-270). S'han descrit diversos mecanismes a través dels quals la taurina disminuiria les concentracions de

glucosa. Entre aquests es troben l'estimulació de la secreció d'insulina a les cèl·lules  $\beta$  pancreàtiques, la millora de la sensibilitat a la insulina modulant la fosforilació dels receptors de la insulina o vies insulinosensibilitzadores en teixits perifèrics i/o interactuant directament amb el receptor de la insulina. Altres mecanismes proposats són la supressió de citokines proinflamàtores i l'estimulació de la producció de macròfags M2 al teixit adipós, la disminució de l'oxidació i l'estimulació de la producció d'àcids biliars (246,248,251,262,263). A més, els estudis animals han revelat que la taurina presenta efectes beneficiosos en l'adipositat a través de la combinació de diferents mecanismes, incloent l'estimulació de la despesa energètica, la supressió de la gana a nivell de sistema nerviós central, la inhibició de l'estrès oxidatiu i la millora de la inflamació estimulants la producció de citokines antiinflamàtores i l'adiponectina (263). Igualment, la taurina té efectes hipolipídics i hipotensors (246,248,251,262,263), i recentment un estudi en ratolins ha evidenciat que tindria efectes directes sobre la MI, inhibint bacteries considerades perjudicials i reduïnt les concentracions circulants de LPS (271).

És important destacar el concepte de sinèrgia alimentària en els estudis on s'investiga la taurina o els AGPI  $\omega$ -3 aïlladament, ja que els nutrients del peix, poden presentar efectes superior o diferents en la matriu de l'aliment que quan s'ingereixen de manera aïllada. La sinèrgia alimentària ha sigut demostrada en dos estudis, un en ratolins i l'altre en humans (272,273). Després de 4 setmanes, els ratolins amb DM2 que van seguir una dieta suplementada amb olis de peix en combinació amb un 4% de taurina van ser els que més van disminuir els valors de glucèmia i insulina, en comparació amb aquells que van rebre olis de peix o oli de soja amb o sense taurina (273).

En l'estudi en humans, 80 homes i done sans van incloure en la dieta durant 7 setmanes un paté enriquit amb AGPI  $\omega$ -3 o AGPI  $\omega$ -3 i taurina. El colesterol total i LDL i l'Apo B van disminuir més en el grup que va rebre el paté amb AGPI  $\omega$ -3 i taurina que només l'enriquit amb AGPI  $\omega$ -3 (273). Aquests estudis posen de manifest la necessitat de considerar la sinèrgia alimentària en els estudis amb nutrients del peix, sobretot en la seva translació als humans.



### 1.8.6.5 **Efectes de la ingesta de peix blau en el control glucèmic i la sensibilitat a la insulina de pacients amb diabetis tipus 2 i elevat risc cardiovascular**

Existeixen molts pocs estudis (3 estudis) d'intervenció dietètica amb peix blau en persones amb DM2 (274-276), fet que limita l'evidència existent en relació als seus efectes en aquesta patologia, i especialment en paràmetres clau del seu control com són l'HbA1c, la glucèmia i la sensibilitat a la insulina. En un estudi recent amb disseny creuat, la ingesta d'una ració diària de peix blau (150-160g) en una dieta isocalòrica durant  $\approx$  4 setmanes va incrementar la glucèmia, insulinèmia en dejú i HOMA-IR de dones postmenopàusiques amb DM2 (276). En canvi, en un altre estudi amb un disseny similar, no es va observar cap efecte en la glucèmia en dejú, però sí una reducció de la insulina en dejú i la RI, que va ser semblant a una dieta rica en AGPICL  $\omega$ -6 (275). En els dos estudis els valors d'HbA1c no es va modificar (275,276).

Quan es va incloure diàriament el peix blau en una dieta baixa en greix en combinació amb un programa d'exercici físic durant 8 setmanes, no es van observar efectes en la insulina. Tot i això, sí es va observar un augment de les concentracions de glucosa capil·lar i HbA1c i una disminució de la insulina quan la ingesta de peix blau es va combinar amb exercici físic lleuger, mentre que es va trobar una disminució de la glucèmia i cap efecte sobre l'HbA1c quan l'exercici físic va ser moderat (274).

D'altra banda, en pacients amb prediabetis, una dieta incloent 100-150g de peix blau 3 cops per setmana juntament amb la ingesta de 300g de nadius al dia i cereals integrals no va modificar la glucèmia i la insulinèmia. Tot i això, sí es va observar una millora en la resposta al TTOG, com també una tendència a augmentar la sensibilitat a la insulina mesurada a través de l'índex de disposició i l'índex insulinogènic (277). Els estudis d'intervenció dietètica amb peix blau realitzats en pacients sense DM2 però altres patologies relacionades mostren majoritàriament efectes beneficiosos o

neutres en relació al metabolisme de la glucosa i la insulina. Sis estudis que van incloure pacients amb sobrepès i/o obesitat associada a infart de miocardi, dislipèmia o hipertensió en tres d'ells, van mostrar que la ingesta de peix blau diària o entre 2 i 5 cops per setmana durant períodes d'entre 6 setmanes i 6 mesos, no modificar de manera significativa la glucèmia o insulinèmia en dejú (278-283), ni després d'una TTOG (283), com tampoc l'HbA1c (278) o el HOMA-IR (278,279).

En un altre estudi en pacients amb sobrepès i obesitat, la inclusió de peix blau 4 cops per setmana juntament amb la ingesta de 15 ml d'oli de sardina i suplementos vitamínics, no va tenir efectes significatius en la glucosa i la insulina en dejú. Tot i que la sensibilitat a la insulina, mesurada amb el test d'octreòtide, va millorar significativament després de 8 setmanes d'intervenció dietètica (284). L'estudi de Tapsell et al. ha sigut el que ha avaluat els efectes de la inclusió de peix blau durant més temps, 12 mesos. En aquest estudi dut a terme en pacients obesos, una dieta hipocalòrica incloent peix blau 2 cops per setmana i suplementada amb càpsules d'oli d'oliva diàriament va reduir el HOMA-IR, la glucosa i la insulina en dejú, però de manera similar que la mateixa dieta suplementada amb EPA i DHA i la dieta control (285). La restricció calòrica associada a la ingesta de peix blau va mostrar resultats similars que els de Tapsell et al. en un altre estudi en pacients amb sobrepès. Tot i això, el grup de suplementació amb EPA i DHA va mostrar una disminució significativament superior en la insulina i el HOMA-IR que el grup control. En el grup de peix blau, la disminució va tendir a ser superior a la del grup control però inferior a la del grup suplementat amb olia de peix (286).

Contrastant amb aquests resultats, dos estudis van trobar una reducció de la glucèmia, la insulinèmia i el HOMA-IR en pacients amb sobrepès i/o obesitat associada a hipertensió arterial en un d'ells, després de seguir durant 8 setmanes i 4 mesos respectivament, una dieta de restricció calòrica incloent diàriament 3 cops per setmana peix blau (287,288). Només en l'estudi d'Abete et al. la ingesta de peix blau va tenir un efecte independent de la pèrdua de pes (287), tot i que Mori et. al va trobar que el grup de restricció calòrica suplementat amb olis de peix va mostrar la disminució més gran en els paràmetres citats (288).

| <b>País, any i referència de l'estudi</b>                                        | <b>Pacients (n)</b> | <b>Característiques pacients</b>                              | <b>Disseny de l'estudi</b>                              |
|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------|---------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| <b>Japó, 2014</b><br><b>Kondo et al. (276)</b>                                   | 23 (dones)          | Normopès i sobrepès<br>Postmenopàusia<br>DM2<br>HO: 56,5%     | Disseny creuat<br>2 grups intervenció                   |
| <b>Suècia, 2011</b><br><b>Kalström et al. (275)</b>                              | 16 (homes i dones)  | Sobrepès i obesitat<br>DM2<br>HO: 81,3%                       | Disseny creuat<br>2 grups intervenció                   |
| <b>Austràlia, 1997</b><br><b>Dunstan et al. (274)</b>                            | 55 (homes i dones)  | Sobrepès i obesitat<br>Dislipèmia<br>DM2<br>HO: 63,6%         | Randomitzat<br>Disseny paral·lel<br>4 grups intervenció |
| <b>Finlàndia, 2011</b><br><b>Lankinen et al. (277)</b><br><b>Estudi Sysdimet</b> | 131 (homes i dones) | Sobrepès i obesitat<br>Dislipèmia, hipertensió<br>prediabetis | Randomitzat<br>Disseny paral·lel<br>3 grups intervenció |

**Taula 21.** Efectes de la ingesta de peix blau en el metabolisme de la glucosa i la insulina en pacients amb prediabetis i DM2

| Intervenció dietètica                                                                                                                                                                                                                                                              | Temps d'intervenció | Resultats                                                                                                  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dieta peix: 120-160g peix blau/dia</li> <li>- Dieta control: eliminar peix dieta</li> </ul>                                                                                                                                               | 4 setmanes x 2      | ↔ Pes, HbA1c<br>↑ Glucosa, insulina<br>↓ SI                                                                |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dieta alt contingut en AGPICL ω-3</li> <li>- Dieta alt contingut en AGPICL ω-6</li> </ul>                                                                                                                                                 | 3,5 setmanes x 2    | ↔ HbA1c, glucosa<br>↑ SI<br>↓ Pes, insulina (=)                                                            |
| Tots els grups: dieta baixa en greix<br>1: exercici lleuger sense peix blau<br>2: exercici moderat sense peix blau<br>3: exercici lleuger amb peix blau<br>4: exercici moderat amb peix blau                                                                                       | 8 setmanes          | ↔ Insulina<br>↑ HbA1c (grup 3)<br>Glucosa (↑ grup 3, ↓ grup 4)<br>↓ Pes<br>↑ (peix + exercici físic lleu.) |
| 1. Dieta saludable: peix blau 3 cops/setmana + 300g nabius/dia + 50% cereals dieta integrals<br>2. Dieta integral: substitució 50% cereals integrals sense canvis ingesta peix blau i nabius<br>3. Dieta control: cereals integrals i nabius no permesos, peix blau =1 cop/setmana | 12 setmanes         | ↔ Pes, insulina, glucosa<br>↑ SI (tendència)<br>↓ Glucosa 2h TTOG i AUC (Grup 1)                           |

HO: Hipoglucemiants orals; SI: sensibilitat a la insulina; TTOG: Test de Tolerància Oral a la Glucosa; AUC: Àrea sota la corba; (=): diferències significatives dins de cada grup però iguals en comparació amb altres grups

| País, any i referència de l'estudi                                           | Pacients (n)           | Característiques pacients                   | Disseny de l'estudi                                                |
|------------------------------------------------------------------------------|------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| <b>Austràlia, 2013</b><br><b>Tapsell et al. (285)</b>                        | 131<br>(homes i dones) | Obesitat                                    | Randomitzat<br>Placebo-control<br>Paral·lel<br>3 grups intervenció |
| <b>Austràlia, 2013</b><br><b>Neale et al. (282)</b>                          | 29<br>(homes i dones)  | Sobrepès i obesitat                         | Randomitzat<br>Paral·lel<br>2 grups intervenció                    |
| <b>Xina, 2012</b><br><b>Zhang et al. (279)</b>                               | 131<br>(dones)         | Sobrepès i obesitat<br>Hipertrigliceridèmia | Randomitzat<br>Paral·lel<br>4 grups intervenció                    |
| <b>Finlàndia, 2009</b><br><b>Lankinen et al. (278)</b><br><b>Estudi Fish</b> | 35<br>(homes i dones)  | Sobrepès/Obesitat<br>Infart de miocardi     | Randomitzat<br>Disseny paral·lel<br>2 grups intervenció            |

**Taula 22.** Efectes de la ingesta de peix blau en el metabolisme de la glucosa i la insulina en pacients sense DM2

| Intervenció dietètica                                                                                                                                                                              | Temps d'intervenció                                      | Resultats                                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| 1. Dieta hipocalòrica + peix blau 2 cops/set. + placebo (oli d'oliva)<br>2. Dieta hipocalòrica + peix blau 2 cops/set. + supl. EPA i DHA<br>3. Dieta control: hipocalòrica + placebo (oli d'oliva) | 12 mesos                                                 | ↓ Glucosa, insulina, pes (=)<br>↑ SI (=) |
| Dieta isocalòrica<br>1. Grup peix: 5 racions peix blau/set.<br>2. Grup suplement: 3 càpsules EPA+ DHA/dia                                                                                          | 2 setmanes dieta habitual + 6 setmanes dieta intervenció | ↔ Glucosa, insulina, pes                 |
| 1. Grup salmó: 80g 5 cops/set.<br>2. Grup arengada: 80g 5 cops/set.<br>3. Grup palometa: : 80g 5 cops/set.<br>4. Grup control: 80g porc/pollastre/bou/peix blanc                                   | 8 setmanes                                               | ↔ Glucosa, insulina, SI                  |
| 1. Grup peix blau: 100-150g mínim 4 cops/setmana<br>2. Grup peix blanc: 100-150g mínim 4 cops/setmana                                                                                              | 8 setmanes                                               | ↔ Glucosa, insulina, SI, pes             |

SI: sensibilitat a la insulina, (=):diferències significatives dins de cada grup però iguals en comparació amb altres grups

| País, any i referència de l'estudi                                                                                                               | Pacients (n)           | Característiques pacients                                | Disseny de l'estudi                   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|----------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| <b>Espanya, 2008</b><br><b>Abete et al. (287)</b>                                                                                                | 32<br>(homes i dones)  | Sobrepès i obesitat                                      | Randomitzat<br>2 grups intervenció    |
| <b>Finlàndia, 2008</b><br><b>Erkkilä et al. (280)</b>                                                                                            | 35<br>(homes i dones)  | Sobrepès i obesitat<br>Hipertensió<br>Infart de miocardi | Randomitzat<br>2 grups intervenció    |
| <b>EUA, 2008</b><br><b>Tsitouras et al. (284)</b>                                                                                                | 12<br>(homes i dones)  | Sobrepès                                                 | Disseny creuat<br>2 grups intervenció |
| <b>Islàndia, Irlanda, Espanya,</b><br><b>2007 Thorsdottir et al. (289)</b><br><b>2008 Ramel et al. (286)</b><br><b>Estudi Seafood Plus Young</b> | 324<br>(homes i dones) | Sobrepès                                                 | Randomitzat<br>4 grups intervenció    |

**Taula 22.1.** Efectes de la ingesta de peix blau en el metabolisme de la glucosa i la insulina en pacients sense DM2

| Intervenció dietètica                                                                                                                                                                             | Temps d'intervenció                              | Resultats                                                                                             |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Restricció calòrica 30% AET<br><br>1. Grup peix blau: 3 cops/set.<br>2. Grup control: no ingesta de peix blau                                                                                     | 8 setmanes                                       | ↓ Glucosa, insulina, pes (=)<br>↑ SI                                                                  |
| 1. Grup peix blau: 4 cops/set.<br>2. Grup peix blanc: 4 cops/set.<br>3. Grup control: porc/pollastre/bou peix ≤ 1 cop/set.                                                                        | 8 setmanes                                       | ↔ HbA1c, glucosa, insulina, SI, pes                                                                   |
| 1. Grup peix blau: 180g 4 cops/set. + 15 ml oli de sardina + supl. vitamínic<br><br>2. Grup control: 180g peix blanc 4 cops/set. + 15 ml oli placebo (oliva+blat de moro) + supl. vitamínic       | 6 setmanes dieta control + 8 setmanes dieta peix | ↓ Glucosa, insulina<br>↑ SI<br>↔ pes                                                                  |
| Restricció calòrica 600kcal/dia<br><br>1. Grup bacallà: 150g 3 cops/set.<br>2. Grup salmó: 150g 3 cops/set.<br>3. Grup oli de peix: 6 càpsules/dia<br>4. Grup control: 6 càpsules oli girasol/dia | 8 setmanes                                       | ↓ Glucosa (=)<br>↓ Insulina (grup 3 vs 4)<br>↓ Pes (superior grups 1, 2 3 vs 4)<br>↑ SI (grup 3 vs 4) |

SI: sensibilitat a la insulina; AET: aport energètic total; (=):diferències significatives dins de cada grup però iguals en comparació amb altres grups



| <b>País, any i referència de l'estudi</b>            | <b>Pacients (n)</b>    | <b>Característiques pacients</b>   | <b>Disseny de l'estudi</b>                              |
|------------------------------------------------------|------------------------|------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| <b>Regne Unit, 2006</b><br><b>Moore et al. (283)</b> | 157<br>(homes i dones) | Obesitat                           | Randomitzat<br>Disseny paral·lel<br>5 grups intervenció |
| <b>Austràlia, 1999</b><br><b>Mori et al. (288)</b>   | 69<br>(homes i dones)  | Sobrepès i obesitat<br>Hipertensió | Randomitzat<br>Disseny paral·lel<br>4 grups intervenció |
| <b>EUA, 1993</b><br><b>Vandongen et al. (281)</b>    | 180 (homes)            | Sobrepès<br>Hipertensió            | Randomitzat<br>Disseny paral·lel<br>7 grup intervenció  |

**Taula 22.2.** Efectes de la ingesta de peix blau en el metabolisme de la glucosa i la insulina en pacients sense DM2

| Intervenció dietètica                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Temps d'intervenció | Resultats                                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------|
| 1. Dieta peix blanc: 2cops/setmana + oli de colza (substitució greix habitual per cuinar)<br>2. Dieta peix blanc: 2cops/setmana + oli de girasol (substitució greix habitual per cuinar)<br>3. Dieta peix blau: 2cops/setmana + oli de colza (substitució greix habitual per cuinar)<br>4. Dieta peix blau: 2cops/setmana + oli de girasol (substitució greix habitual per cuinar)<br>5. Dieta control: cap tipus d'intervenció                                                                                          | 6 mesos             | ↓ Pes grup2<br>↑ Pes grup 4<br>↔ Glucosa, insulina, |
| 1. Dieta manteniment pes hiposòdica + 1 ració peix blau/dia<br>2. Dieta restricció calòrica hiposòdica + 1 ració peix blau/dia<br>3. Dieta restricció calòrica hiposòdica sense suplementació peix blau<br>4. Dieta control: manteniment pes hiposòdica sense suplementació peix blau                                                                                                                                                                                                                                    | 4 mesos             | ↓ Glucosa, insulina, pes (grups 2 i 3)              |
| Braç 1: Dieta alta en greix hiposòdica (40% AET)<br>1. Grup peix: 90-160g peix blau/dia + sup. placebo<br>2. Grup supl. oli de peix baixa dosi: 1,3g/dia<br>3. Grup supl. oli de peix alta dosi: 2,6g/dia<br>4. Grup peix + supl. oli de peix: 90-160g peix blau/dia +1,3g oli de peix/dia<br>5. Grup control: supl. placebo oliva, palma i càrtam)<br>Braç 2: Dieta baixa en greix hiposòdica (30% AET)<br>1. Grup peix: 90-160g peix blau/dia + sup. placebo<br>2. Grup control: supl. placebo (oliva, palma i càrtam) | 3 mesos             | ↔ Glucosa, insulina<br>↓ Pes (=)                    |

AET: aport energètic total; (=):diferències significatives dins de cada grup però iguals en comparació amb altres grups

### 1.8.6.6 Efectes de la ingesta de peix blau en la inflamació

Existeix poca evidència en humans sobre la inclusió de peix blau en la dieta en els seus efectes en la inflamació, tant en pacients amb DM com en altres patologies.

Mentre que en dones amb DM2 la ingesta d'una ració diària de peix blau (150-160g) durant  $\approx$  4 setmanes no va tenir efectes sobre cap dels paràmetres inflamatoris estudiats (PCR, MCP-1 i adiponectina) (276), en pacients amb prediabetis si es va observar una disminució tant de la PCRu com de la E-selectina després de seguir una dieta incloent 100-150g de peix blau 3 cops per setmana, juntament amb la ingesta de 300g al dia de nabius i la ingesta de cereals integrals. Tot i això, els valors de TNF $\alpha$  i IL-6 es van mantenir estables en resposta a la intervenció dietètica (290).

En un altre estudi on es va investigar l'efecte de la ingesta d'un entrepà amb sardina enllaunada o formatge/pernil dolç 3 cops a la setmana durant 8 setmanes en les sessions d'hemodiàlisi, només en aquells pacients en el tercil més elevat de PCR o pacients sense DM es va observar una disminució significativa en aquest marcador inflamatori (291).

En pacients amb sobrepès i/o obesitat sense DM2, la PCR va disminuir en un estudi (292) o va tendir a disminuir en dos altres (284,293), sense modificar-se en un quart estudi (294). Mentre que la IL-6 no es va modificar amb la inclusió d'una ració d'arengada 5 cops a la setmana (294). La ingesta de peix blau en el marc d'una dieta hipocalòrica (292), com també amb la combinació de suplementos d'oli de sardina i vitamines durant 4 setmanes (294), si va trobar efectes beneficiosos en aquesta citoquina proinflamatòria (284,292).

En dos estudis on es van incloure pacients amb hipertrigliceridèmia, sobrepès i/o obesitat i que van incloure entre 80 i 100g de salmó 5 cops a la setmana durant 2 mesos, es va observar una reducció significativa de les concentracions circulants de IL-6 (279,295) i de TNF $\alpha$  només en

un d'ells (279), però no van tenir cap efecte en la PCR (279,295). En un altre estudi, la recomanació de consumir 8 racions de peix blau cada dues setmanes durant 2 mesos va mostrar efectes neutres en la PCR, IL-6 i IL-1 $\beta$  (296).

En referència a l'efecte en la leptina i adiponectina, el peix blau va disminuir la leptina en 3 estudis quan es va consumir en el marc d'una dieta hipocalòrica, relacionant-se en tots els casos amb la pèrdua de pes o greix corporal (285,287,297), i en un dels estudis mostrant la mateixa reducció que la dieta control (285).

En relació a l'adiponectina, la ingesta de peix ha demostrat un efecte estimulador d'aquesta adipoquina en 4 (279,282,298,299) dels 7 estudis dels on ha sigut determinada (276,279,282,284,286,298,299). L'efecte del peix blau en la grelina ha sigut investigat només en un estudi, mostrant un augment no significatiu en comparació amb el grup control. Tot i que el grup de suplementes d'olis de peix també va augmentar els nivells de l'adipoquina, l'efecte només va ser significatiu en dones (297).

| <b>País, any i referència de l'estudi</b>                                        | <b>Pacients (n)</b>    | <b>Característiques pacients</b>                              | <b>Disseny de l'estudi</b>                              |
|----------------------------------------------------------------------------------|------------------------|---------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| <b>Japó, 2014</b><br><b>Kondo et al. (276)</b>                                   | 23 (dones)             | Normopès i sobrepès<br>Postmenopàusia<br>DM2<br>HO: 56,5%     | Disseny creuat<br>2 grups intervenció                   |
| <b>Finlàndia, 2011</b><br><b>de Mello et al. (290)</b><br><i>Estudi Sysdimet</i> | 131<br>(homes i dones) | Sobrepès i obesitat<br>Dislipèmia, hipertensió<br>prediabetis | Randomitzat<br>Disseny paral·lel<br>3 grups intervenció |
| <b>Portugal, 2007</b><br><b>Moreira et al. (291)</b>                             | 65<br>(homes i dones)  | Insuficiència renal<br>DM (subgrup)                           | Randomitzat<br>2 grups intervenció                      |

**Taula 23.** Efectes de la ingesta de peix blau en la inflamació en pacients amb prediabetis i DM2

| Intervenció dietètica                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Temps d'intervenció                             | Resultats                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dieta peix: 120-160g peix blau/dia</li> <li>- Dieta control: eliminar peix dieta</li> </ul>                                                                                                                                                                                                             | 4 setmanes x 2                                  | ↔ PCR, MCP-1, ADP                   |
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Dieta saludable: peix blau 3 cops/ setmana + 300g nabius/ dia + 50% cereals dieta integrals</li> <li>2. Dieta integral: substitució 50% cereals integrals, no canvis ingesta peix blau i nabius</li> <li>3. Dieta control: cereals integrals i nabius no permesos, peix blau =1 cop/setmana</li> </ol> | 12 setmanes                                     | ↓ PCRu, E-selectina<br>↔ TNFα, IL-6 |
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Grup suplement peix: entrepà sardina en llauna 3 cops/setmana</li> <li>2. Grup control: entrepà formatge/ pernil dolç 3 cops/setmana</li> </ol>                                                                                                                                                        | 4 setmanes wash-out +<br>8 setmanes intervenció | ↓ PCRu                              |

HO: hipoglucemiants orals; PCRu: Proteïna C reactiva ultrasensible; MCP-1: Proteïna quimioatracent de monòcits 1; ADP: Adiponectina; TNFα: Factor de Necrosi Tumoral α

| País, any i referència de l'estudi                    | Pacients (n)           | Característiques pacients        | Disseny de l'estudi                                                |
|-------------------------------------------------------|------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| <b>Austràlia, 2013</b><br><b>Tapsell et al. (285)</b> | 131<br>(homes i dones) | Obesitat                         | Randomitzat<br>Placebo-control<br>Paral·lel<br>3 grups intervenció |
| <b>Xina, 2012</b><br><b>Zhang et al. (279)</b>        | 131<br>(dones)         | Sobrepès<br>Hipertrigliceridèmia | Randomitzat<br>Paral·lel<br>4 grups intervenció                    |
| <b>Suècia, 2009</b><br><b>Lindqvist et al. (294)</b>  | 40 (homes)             | Sobrepès<br>Hipertrigliceridèmia | Disseny creuat<br>+ washout<br>2 grups intervenció                 |
| <b>Austràlia, 2014</b><br><b>Grieger et al. (296)</b> | 126<br>(homes i dones) | Sobrepès                         | Randomitzat<br>Paral·lel<br>2 grups intervenció                    |
| <b>Austràlia, 2013</b><br><b>Neale et al. (282)</b>   | 29<br>(homes i dones)  | Sobrepès i obesitat              | Randomitzat<br>Paral·lel<br>2 grups intervenció                    |

**Taula 24.** Efectes de la ingesta de peix blau en la inflamació en pacients sense DM2

| Intervenció dietètica                                                                                                                                                                              | Temps d'intervenció                                                      | Resultats                                           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 1. Dieta hipocalòrica + peix blau 2 cops/set. + placebo (oli d'oliva)<br>2. Dieta hipocalòrica + peix blau 2 cops/set. + supl. EPA i DHA<br>3. Dieta control: hipocalòrica + placebo (oli d'oliva) | 12 mesos                                                                 | ↓ leptina (=)                                       |
| 1. Grup salmó: 80g 5 cops/set.<br>2. Grup arengada: 80g 5 cops/set.<br>3. Grup palometa: : 80g 5 cops/set.<br>4. Grup control: 80g porc/pollastre/bou/peix blanc                                   | 8 setmanes                                                               | ↔ PCR<br>↓ TNFα, IL-6<br>↑ ADP                      |
| 1. Grup peix: 150g arengada al forn 5 cops/setmana<br>2. Grup control: 150g porc magre/pollastre forn 5 cops/setmana                                                                               | 6 setmanes intervenció<br>+ 12 setmanes washout + 6 setmanes intervenció | ↔ PCR, IL-6, IL-8                                   |
| 1. Grup peix: 8 racions peix blau i blanc en 2 setmanes<br>2. Grup control: 8 racions vedella/porc/xai en 2 setmanes                                                                               | 8 setmanes                                                               | ↔ PCR, IL-6                                         |
| Dieta isocalòrica<br>1. Grup peix: 5 racions peix blau/set.<br>2. Grup suplement: 3 càpsules EPA+ DHA/dia                                                                                          | 2 setmanes dieta habitual + 6 setmanes intervenció                       | ↑ Adiponectina total<br>↓ adiponectina APM (grup 2) |

PCRu: Proteïna C reactiva ultrasensible; MCP-1: Proteïna quimioatracent de monòcits 1; ADP: Adiponectina; APM: adiponectina alt pes molecular TNFα: Factor de Necrosi Tumoral α



| <b>País, any i referència de l'estudi</b>                                                                                                                                            | <b>Pacients (n)</b>    | <b>Característiques pacients</b> | <b>Disseny de l'estudi</b>                         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------------|
| <b>Espanya, 2008</b><br><b>Abete et al. (287)</b>                                                                                                                                    | 32<br>(homes i dones)  | Sobrepès i obesitat              | Randomitzat<br>2 grups intervenció                 |
| <b>Xina, 2010</b><br><b>Zhang et al. (295)</b>                                                                                                                                       | 100 (homes)            | Sobrepès<br>hipertrigliceridèmia | Randomitzat,<br>3 grups intervenció                |
| <b>Suècia, 2007</b><br><b>Lindqvist et al. (293)</b>                                                                                                                                 | 15<br>(homes i dones)  | Sobrepès i obesitat              | Disseny creuat<br>+ washout<br>2 grups intervenció |
| <b>EUA, 2008</b><br><b>Tsitouras et al. (294)</b>                                                                                                                                    | 12<br>(homes i dones)  | Sobrepès                         | Disseny creuat<br>2 grups intervenció              |
| <b>Islàndia, Irlanda, Espanya (286,292,297)</b><br><b>2008, Ramel et al.</b><br><b>2009, Ramel et al.</b><br><b>2010, Ramel et al.</b><br><b>Estudi Seafood Plus</b><br><b>Young</b> | 324<br>(homes i dones) | Sobrepès                         | Randomitzat<br>4 grups intervenció                 |

**Taula 24.1.** Efectes de la ingesta de peix blau en la inflamació en pacients sense DM2

| Intervenció dietètica                                                                                                                                                                         | Temps d'intervenció                                              | Resultats                                                                                                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Restricció calòrica 30% AET<br>1. Grup peix blau: 3 cops/set.<br>2. Grup control: no ingesta de peix blau                                                                                     | 8 setmanes                                                       | ↓ leptina                                                                                                            |
| 1. Dieta peix blanc: 100g peix blanc 5 cops/setmana<br>2. Dieta peix blau: 100g salmó 5 cops/setmana<br>3. Dieta control: 100 porc/vedella/ pollastre 5 cops/setmana                          | 4 setmanes introducció +<br>8 setmanes intervenció               | ↔ PCR<br>↓ IL-6                                                                                                      |
| 1. Grup peix: 1 ració arengada 5 cops/setmana<br>2. Grup control: 1 ració porc/pollastre 5 cops/setmana                                                                                       | 1 mes intervenció +<br>2 setmanes washout +<br>1 mes intervenció | ↓ PCR (tendència)                                                                                                    |
| 1. Grup peix blau: 180g 4 cops/set. + 15 ml oli de sardina + supl. vitamínic<br>2. Grup control: 180g peix blanc 4 cops/set. + 15 ml oli placebo (oliva+blat de moro) + supl. vitamínic       | 6 setmanes dieta control + 8 setmanes dieta peix                 | ↓ PCR<br>↓ IL-6 (tendència)<br>↑ ADP (no significatiu)                                                               |
| Restricció calòrica 600kcal/dia<br>1. Grup bacallà: 150g 3 cops/set.<br>2. Grup salmó: 150g 3 cops/set.<br>3. Grup oli de peix: 6 càpsules/dia<br>4. Grup control: 6 càpsules oli girasol/dia | 8 setmanes                                                       | ↓ PCR, IL-6 (grup salmó i bacallà)<br>↓ leptina (només homes)<br>↓ ADP (=)<br>↑ Grelina (només dones, grup oli peix) |

PCRu: Proteïna C reactiva ultrasensible; IL-6: interleuquina 6; ADP: Adiponectina

### 1.8.6.7 Efectes de la ingesta de peix blau en factors de risc cardiovascular

El perfil lipídic, la composició d'AGs en plasma o membranes cel·lulars i la PA són els paràmetres de risc cardiovascular més investigats en la gran majoria d'estudis d'intervenció dietètica amb peix blau.

En pacients amb DM2, el colesterol total i LDL van disminuir o va mostrar una tendència a la disminució en dos estudis on van incloure diàriament peix blau en la dieta durant  $\approx$  1 mes (275,276). La combinació de la ingesta de peix blau amb l'exercici físic en canvi, va augmentar el colesterol LDL i no va tenir cap efecte en les concentracions de colesterol total (274).

En relació al colesterol HDL, es va mantenir estable en 5 estudis en pacients amb sobrepès/obesitat (279,283,285,287,296), mentre que va augmentar en 7 altres estudis (276,280,284,293-295,300). Només un estudi va observar una disminució del colesterol HDL al finalitzar la intervenció dietètica amb peix blau en pacients amb DM2 (275). Quan es van determinar diferents subfraccions de colesterol HDL, els resultats van ser homogenis en tots els estudis, incrementant-se les concentracions d'HDL<sub>2</sub> (293,294,300) i disminuint les d'HDL<sub>3</sub> (274,288).

En relació als TG, gairebé tots els estudis mostren una reducció en resposta a la ingesta de peix blau (274,276,279,283-285,288,293-295,300,301) acompanyada en alguns casos d'una reducció en el colesterol total (276,285,287). Tot i així, alguns estudis que no han trobat un efecte significatiu del peix blau en les concentracions de colesterol total (279,280,283,288,296,301) o TG (280,283,296). Cal destacar que tots els estudis realitzats en pacients amb DM2 han mostrat efectes beneficiosos en els TG (274-276).

Independentment dels efectes en el perfil lipídic, la ingesta de peix blau s'ha relacionat en tots els casos, amb un increment de l'IO3 (285) o dels AGPICL  $\omega$ -3 en plasma o sèrum (274-276,279,280,283,287,288,293-296,300,301). En relació a la PA, 5 estudis han trobat una reducció de

la pressió arterial sistòlica (PAS) (280,281,287,302,303) i 6 en la pressió arterial diastòlica (TAD). Contrastant amb aquests estudis, dos altres han reportat efectes neutres en la PA (283,296). Els efectes del peix blau en la FC només han estat investigats en dos estudis, i ambdós troben un efecte reductor (281,288).

| <b>País, any i referència de l'estudi</b>                                        | <b>Pacients (n)</b>    | <b>Característiques pacients</b>                              | <b>Disseny de l'estudi</b>                              |
|----------------------------------------------------------------------------------|------------------------|---------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| <b>Japó, 2014</b><br><b>Kondo et al. (276)</b>                                   | 23 (dones)             | Normopès i sobrepès<br>Postmenopàusia<br>DM2<br>HO: 56,5%     | Disseny creuat<br>2 grups intervenció                   |
| <b>Suècia, 2011</b><br><b>Kalström et al. (275)</b>                              | 16 (homes i dones)     | Sobrepès i obesitat<br>DM2<br>HO: 81,3%                       | Disseny creuat<br>2 grups intervenció                   |
| <b>Finlàndia, 2011</b><br><b>de Mello et al. (290)</b><br><b>Estudi Sysdimet</b> | 131<br>(homes i dones) | Sobrepès i obesitat<br>Dislipèmia, hipertensió<br>prediabetis | Randomitzat<br>Disseny paral·lel<br>3 grups intervenció |
| <b>Austràlia, 1997</b><br><b>Dunstan et al. (274)</b>                            | 55 (homes i dones)     | Sobrepès i obesitat<br>Dislipèmia<br>DM2<br>HO: 63,6%         | Randomitzat<br>Disseny paral·lel<br>4 grups intervenció |

**Taula 25.** Efectes de la ingesta de peix blau en factors de risc cardiovascular en pacients amb prediabetis i DM2

| Intervenció dietètica                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Temps d'intervenció | Resultats                                                                                                                                                                                                   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dieta peix: 120-160g peix blau/dia</li> <li>- Dieta control: eliminar peix dieta</li> </ul>                                                                                                                                                                                                             | 4 setmanes x 2      | <ul style="list-style-type: none"> <li>↓ colesterol total, TG, LDLc (tendència)</li> <li>↑ HDLc</li> <li>↑ àcids grassos ω-3 (sèrum)</li> <li>↓ àcids grassos ω-6 (sèrum)</li> </ul>                        |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dieta alt contingut en AGPICL ω-3</li> <li>- Dieta alt contingut en AGPICL ω-6</li> </ul>                                                                                                                                                                                                               | 3,5 setmanes x 2    | <ul style="list-style-type: none"> <li>↓ colesterol total (tendència)</li> <li>LDLc (=), HDLc (=)</li> <li>↓ (VLDL TG)</li> <li>↑ àcids grassos ω-3 (sèrum)</li> <li>↓ àcids grassos ω-6 (sèrum)</li> </ul> |
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Dieta saludable: peix blau 3 cops/ setmana + 300g nabius/ dia + 50% cereals dieta integrals</li> <li>2. Dieta integral: substitució 50% cereals integrals, no canvis ingesta peix blau i nabius</li> <li>3. Dieta control: cereals integrals i nabius no permesos, peix blau =1 cop/setmana</li> </ol> | 12 setmanes         | <ul style="list-style-type: none"> <li>↑ àcids grassos ω-3 (plasma)</li> <li>↓ àcids grassos ω-6 (plasma)</li> </ul>                                                                                        |
| <p>Tots els grups: dieta baixa en greix</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1: exercici lleuger sense peix blau</li> <li>2: exercici moderat sense peix blau</li> <li>3: exercici lleuger amb peix blau</li> <li>4: exercici moderat amb peix blau</li> </ol>                                                                             | 8 setmanes          | <ul style="list-style-type: none"> <li>↔ colesterol total</li> <li>↑ LDLc, HDL2</li> <li>↓ HDL3, TG</li> <li>↑ àcids grassos ω-3 (plasma)</li> <li>↓ àcids grassos ω-6 (plasma)</li> </ul>                  |

HO: hipoglucemiants orals; LDLc: colesterol LDL; HDLc: colesterol HDL; TG: triglicèrids

| <b>País, any i referència de l'estudi</b>             | <b>Pacients (n)</b>    | <b>Característiques pacients</b> | <b>Disseny de l'estudi</b>                                         |
|-------------------------------------------------------|------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| <b>Austràlia, 2014</b><br><b>Grieger et al. (296)</b> | 126<br>(homes i dones) | Sobrepès                         | Randomitzat<br>Paral·lel<br>2 grups intervenció                    |
| <b>Austràlia, 2013</b><br><b>Tapsell et al. (285)</b> | 131<br>(homes i dones) | Obesitat                         | Randomitzat<br>Placebo-control<br>Paral·lel<br>3 grups intervenció |
| <b>Austràlia, 2013</b><br><b>Neale et al. (282)</b>   | 29<br>(homes i dones)  | Sobrepès i obesitat              | Randomitzat<br>Paral·lel<br>2 grups intervenció                    |
| <b>Xina, 2012</b><br><b>Zhang et al. (279)</b>        | 131<br>(dones)         | Sobrepès<br>Hipertrigliceridèmia | Randomitzat<br>Paral·lel<br>4 grups intervenció                    |

**Taula 26.** Efectes de la ingesta de peix blau en factors de risc cardiovascular en pacients sense DM2

| Intervenció dietètica                                                                                                                                                                              | Temps d'intervenció                                      | Resultats                                                                                                                                 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Grup peix: 8 racions peix blau i blanc en 2 setmanes<br>2. Grup control: 8 racions vedella/porc/xai en 2 setmanes                                                                               | 8 setmanes                                               | ↔ colesterol total, LDLc, HDLc<br>↔ PAS, PAD, FC<br>↑ àcids grassos ω-3 (eritròcits)<br>↓ àcids grassos ω-6 (eritròcits)                  |
| 1. Dieta hipocalòrica + peix blau 2 cops/set. + placebo (oli d'oliva)<br>2. Dieta hipocalòrica + peix blau 2 cops/set. + supl. EPA i DHA<br>3. Dieta control: hipocalòrica + placebo (oli d'oliva) | 12 mesos                                                 | ↔ LDLc, HDLc, TAD<br>↓ colesterol total (=), TG (=)<br>PAS (=)<br>↑ IO3                                                                   |
| Dieta isocalòrica<br>1. Grup peix: 5 racions peix blau/set.<br>2. Grup suplement: 3 càpsules EPA+ DHA/dia                                                                                          | 2 setmanes<br>dieta habitual<br>+ 6 setmanes intervenció | ↑ àcids grassos ω-3 (plasma)<br>(=)                                                                                                       |
| 1. Grup salmó: 80g 5 cops/set.<br>2. Grup arengada: 80g 5 cops/set.<br>3. Grup palometa: : 80g 5 cops/set.<br>4. Grup control: 80g porc/pollastre/bou/peix blanc                                   | 8 setmanes                                               | ↔ colesterol total, DLc, HDLc<br>↓ TG<br>↑ àcids grassos ω-3 (plasma) (grups peix blau)<br>↓ àcids grassos ω-6 (plasma) (grups peix blau) |

LDLc: colesterol LDL; HDLc: colesterol HDL; TG: triglicèrids; PAS: pressió arterial sistòlica; PAD: pressió arterial diastòlica; FC: freqüència cardíaca



| <b>País, any i referència de l'estudi</b>                                                                                                                    | <b>Pacients (n)</b>       | <b>Característiques pacients</b>                         | <b>Disseny de l'estudi</b>                         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| <b>Xina, 2010</b><br><b>Zhang et al. (295)</b>                                                                                                               | 100 (homes)               | Sobrepès<br>hipertrigliceridèmia                         | Randomitzat,<br>3 grups intervenció                |
| <b>Islàndia, Irlanda, Espanya,</b><br><b>2010 Ramel et al. (303)</b><br><b>2008 Gunnarsdottir et al. (301)</b><br><i>Estudi Seafood Plus</i><br><i>Young</i> | 324<br>(homes i<br>dones) | Sobrepès                                                 | Randomitzat<br>4 grups intervenció                 |
| <b>Finlàndia,</b><br><b>2009 Lankinen et al. (278)</b><br><b>2008 Erkkilä et al. (280)</b><br><i>Estudi Fish</i>                                             | 35<br>(homes i<br>dones)  | Sobrepès i obesitat<br>Hipertensió<br>Infart de miocardi | Randomitzat<br>2 grups intervenció                 |
| <b>Suècia, 2009</b><br><b>Lindqvist et al. (294)</b>                                                                                                         | 40 (homes)                | Sobrepès<br>Hipertrigliceridèmia                         | Disseny creuat<br>+ washout<br>2 grups intervenció |

**Taula 26.1.** Efectes de la ingesta de peix blau en factors de risc cardiovascular en pacients sense DM2

| Intervenció dietètica                                                                                                                                                                         | Temps d'intervenció                                                         | Resultats                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Dieta peix blanc: 100g peix blanc 5 cops/setmana<br>2. Dieta peix blau: 100g salmó 5 cops/setmana<br>3. Dieta control: 100 porc/vedella/pollastre 5 cops/setmana                           | 4 setmanes introducció +<br>8 setmanes intervenció                          | ↑ HDLc (grup peix blau)<br>↓ TG (grup peix blau)<br>↑ àcids grassos ω-3 (plasma) (grups peix blau)<br>↓ àcids grassos ω-6 (plasma) (grups peix blau)                                                                                            |
| Restricció calòrica 600kcal/dia<br>1. Grup bacallà: 150g 3 cops/set.<br>2. Grup salmó: 150g 3 cops/set.<br>3. Grup oli de peix: 6 càpsules/dia<br>4. Grup control: 6 càpsules oli girasol/dia | 8 setmanes                                                                  | ↔ LDLc, colesterol total<br>↓ TG, HDL (grup bacallà)<br>PAS, PAD (=)<br>↑ àcids grassos ω-3 (eritròcits)                                                                                                                                        |
| 1. Grup peix blau: 4 cops/set.<br>2. Grup peix blanc: 4 cops/set.<br>3. Grup control: porc/pollastre/bou peix ≤ 1 cop/set.                                                                    | 8 setmanes                                                                  | ↔ colesterol total, LDLc, TG<br>↑ HDLc (grup peix blau)<br>↓ PAS/PAD (grup peix blanc)<br>↑ àcids grassos ω-3 (plasma)<br>↓ àcids grassos ω-6 (plasma)<br>↓ CM, lisoPC, lisoPEA, DGs, PC (grup peix blau)<br>↑ àcid cis-vaccènic (Grup control) |
| 1. Grup peix: 150g arengada al forn 5 cops/setmana<br>2. Grup control: 150g porc magre/pollastre forn 5 cops/setmana                                                                          | 6 setmanes intervenció +<br>12 setmanes washout +<br>6 setmanes intervenció | ↑ HDLc i HDL2 (grup peix blau)<br>↓ TG (=)<br>↑ àcids grassos ω-3 (sang total)                                                                                                                                                                  |

LDLc: colesterol LDL; HDLc: colesterol HDL; TG: triglicèrids; PAS: pressió arterial sistòlica; PAD: pressió arterial diastòlica; FC: freqüència cardíaca

| País, any i referència de l'estudi     | Pacients (n)           | Característiques pacients | Disseny de l'estudi                                     |
|----------------------------------------|------------------------|---------------------------|---------------------------------------------------------|
| Espanya, 2008<br>Abete et al. (287)    | 32<br>(homes i dones)  | Sobrepès i obesitat       | Randomitzat<br>2 grups intervenció                      |
| EUA, 2008<br>Tsitouras et al. (284)    | 12<br>(homes i dones)  | Sobrepès                  | Disseny creuat<br>2 grups intervenció                   |
| Suècia, 2007<br>Lindqvist et al. (293) | 15<br>(homes i dones)  | Sobrepès i obesitat       | Disseny creuat<br>+ washout<br>2 grups intervenció      |
| Regne Unit, 2006<br>Moore et al. (283) | 157<br>(homes i dones) | Obesitat                  | Randomitzat<br>Disseny paral·lel<br>5 grups intervenció |

**Taula 26.2.** Efectes de la ingesta de peix blau en factors de risc cardiovascular en pacients sense DM2

| Intervenció dietètica                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Temps d'intervenció                                                 | Resultats                                                                                       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Restricció calòrica 30% AET 1.<br>Grup peix blau: 3 cops/set. 2. Grup<br>control: no ingesta de peix blau                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 8 setmanes                                                          | ↔ HDLc<br>↓ colesterol total, LDLc<br>(grup peix blau), TG (=)<br>↓ PAS, PAD (=)                |
| 1. Grup peix blau: 180g 4 cops/set. +<br>15 ml oli de sardina + supl. vitamínic<br>2. Grup control: 180g peix blanc 4 cops/<br>set. + 15 ml oli placebo (oliva+blat de moro)<br>+ supl. vitamínic                                                                                                                                                                                                                                           | 6 setmanes<br>dieta control + 8<br>setmanes dieta<br>peix           | ↔ LDLc<br>↑ HDLc (=) ↑ HDLc<br>(grup peix blau)<br>↓ TG (dones)<br>↓ ratio ω-6/ω-3 (eritròcits) |
| 1. Grup peix: 1 ració arengada 5 cops/<br>setmana 2. Grup<br>control: 1 ració porc/pollastre 5 cops/<br>setmana                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 1 mes intervenció<br>+ 2 setmanes<br>washout + 1<br>mes intervenció | ↑ HDL <sub>2</sub><br>↓ TG (tendència)<br>↑ àcids grassos ω-3<br>(plasma)                       |
| 1. Dieta peix blanc: 2cops/setmana + oli de<br>colza (substitució greix habitual per cuinar)<br>2. Dieta peix blanc: 2cops/setmana + oli de<br>girasol (substitució greix habitual per cuinar)<br>3. Dieta peix blau: 2cops/setmana + oli de<br>colza (substitució greix habitual per cuinar)<br>4. Dieta peix blau: 2cops/setmana + oli de<br>girasol (substitució greix habitual per cuinar)<br>5. Dieta control: cap tipus d'intervenció | 6 mesos                                                             | ↔ colesterol<br>total, LDLc, HDLc<br>↓ TG<br>↔ PAS, PAD<br>↑ àcids grassos ω-3<br>(plasma)      |

LDLc: colesterol LDL; HDLc: colesterol HDL; TG: triglicèrids; PAS: pressió arterial sistòlica; PAD: pressió arterial diastòlica; FC: freqüència cardíaca

| País, any i referència de l'estudi                              | Pacients (n)          | Característiques pacients          | Disseny de l'estudi                                     |
|-----------------------------------------------------------------|-----------------------|------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Austràlia,<br>1998, Bao et al. (302)<br>1999, Mori et al. (288) | 69<br>(homes i dones) | Sobrepès i obesitat<br>Hipertensió | Randomitzat<br>Disseny paral·lel<br>4 grups intervenció |
| EUA, 1993,<br>Vandongen et al. (281)<br>1994, Mori et al. (300) | 180 (homes)           | Sobrepès<br>Hipertensió            | Randomitzat<br>Disseny paral·lel<br>7 grup intervenció  |

**Taula 26.3.** Efectes de la ingesta de peix blau en factors de risc cardiovascular en pacients sense DM2

| Intervenció dietètica                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Temps d'intervenció | Resultats                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Dieta manteniment pes hiposòdica + 1 ració peix blau/dia<br>2. Dieta restricció calòrica hiposòdica + 1 ració peix blau/dia<br>3. Dieta restricció calòrica hiposòdica sense suplementació peix blau<br>4. Dieta control: manteniment pes hiposòdica sense suplementació peix blau                                                                                                                                                                                                                            | 4 mesos             | ↔ colesterol total, LDLc<br>↑ HDL2 (grups peix blau)<br>↓ HDL3 (grups peix blau), TG (grups peix blau i pèrdua pes)<br>↓ PAS, PAD (grups pèrdua pes) i pèrdua de pes + peix), FC<br>↑ àcids gras. ω-3 (plaquetes)                                                                                  |
| Braç 1: Dieta alta en greix hiposòdica (40% AET)<br>1. Grup peix: 90-160g peix blau/dia + supl. placebo<br>2. Grup supl. oli peix baixa dosi: 1,3g/dia<br>3. Grup supl. oli peix alta dosi: 2,6g/dia<br>4. Grup peix + supl. oli peix: 90-160g peix blau/dia + 1,3g oli de peix/dia<br>5. Grup control: supl. placebo oliva, palma i càrtam<br>Braç 2: Dieta baixa en greix hiposòdica (30% AET)<br>1. Grup peix: 90-160g peix blau/dia + sup. placebo<br>2. Grup control: supl. placebo (oliva, palma i càrtam) | 3 mesos             | ↑ HDLc, HDL2<br>↓ LDL (30% greix AET), ↑ LDL (40% AET), ↓ TG<br>↓ PAS, PAD (superior en grups de peix o olis de peix)<br>↓ FC (només grups de peix o olis de peix, efecte independent pèrdua de pes)<br>↑ àcids grassos ω-3 (fosfolípids plaquetes)<br>↓ àcids grassos ω-6 (fosfolípids plaquetes) |

LDLc: colesterol LDL; HDLc: colesterol HDL; TG: triglicèrids; PAS: pressió arterial sistòlica; PAD: pressió arterial diastòlica; FC: freqüència cardíaca



# Justificació

## 2

Actualment la DM2 es considerada l'epidèmia del segle XXI i representa un problema de salut pública global, en la qual la transformació de l'estructura de la dieta i l'estil de vida són els principals mediadors. La recerca científica ha demostrat clarament que la dieta és un dels pilars tan per prevenir com per tractar la malaltia. Tot i això, la seva prevalença continua augmentant i fins al moment existex una evidència feble de l'eficàcia del tractament nutricional de la DM2, en part degut als nombrosos factors que influeixen la relació entre la nutrició i la salut, com també pel fet que la investigació clínica nutricional és una ciència jove si es compara amb altres disciplines mèdiques. Ja que la DM2 és una malaltia crònica, és necessari investigar estratègies nutricionals de fàcil implementació pels pacients que condueixin a modificacions dietètiques que es puguin mantenir al llarg de tota la vida.

Centrant l'atenció en el peix blau, els seus beneficis en la salut, especialment en la protecció de la malaltia cardiovascular, han estat àmpliament demostrats en estudis observacionals. Aquesta evidència es reflexa en les recomanacions d'ingesta de peix blau de les diverses organitzacions internacionals sanitàries, que en la DM2 són de com a mínim dos racions de peix blau dos cops a la setmana, la quantitat que aporta la dosi d'AGPCL  $\omega$ -3 que s'ha demostrat per prevenir la mortalitat cardiovascular.



Sovint s'assumeix que els AGPICL  $\omega$ -3 són els principals mediadors dels beneficis observats del consum de peix, subestimant la importància del peix com a aliment complet. Contrastant amb la recomanació d'ingesta de peix, es desaconsella la ingesta de suplementes d'AGPICL  $\omega$ -3 en individus amb DM2, atès que la majoria d'estudis clínics amb suplementes d'AGPICL  $\omega$ -3 han observat efectes neutres o deleteris en la glucèmia i una manca d'impacte en la sensibilitat a la insulina. D'acord amb aquests resultats, altres components del peix blau, com la proteïna de peix i la taurina, s'han proposat com a participants dels seus beneficis en la salut. De fet, diversos estudis en models animals han demostrat que la proteïna de peix, especialment la proteïna de sardina, millora la hiperglicèmia, la RI i la inflamació associades a la DM2.

Donada l'evidència del concepte de sinèrgia alimentària, és plausible que la combinació dels diferents nutrients del peix blau sigui clau per mediar els seus efectes. Tot i això, existeixen molt pocs estudis que hagin investigat els seus efectes com a aliment complet en el control glucèmic i la sensibilitat a la insulina en pacients amb DM2. En realitat, sovint la DM2 és un criteri d'exclusió en aquest d'estudis.

Ja que la DM2 s'associa a inflamació metabòlica i mortalitat cardiovascular elevada, la inclusió de peix blau en la dieta podria ser una opció de tractament dietètic eficaç. Per tant, és essencial confirmar els beneficis en el sistema cardiovascular i la inflamació, i examinar el paper del peix blau en la hiperglucèmia i la RI, que són les principals característiques fisiopatològiques de la DM2.

Tenint en compte que la sardina és el segon peix més consumit i un dels més valorats a Espanya i Catalunya, i conté concentracions baixes de mercuri ens plantejem investigar els beneficis en el control metabòlic de la seva inclusió en la dieta habitual de pacients amb DM2.





# Hipòtesi



3

Una dieta rica en sardina millora el control metabòlic de pacients amb diabetis tipus 2 sense tractament antidiabètic



# 4

## Objectius

### Objectiu principal

Investigar l'efecte d'una dieta rica en sardina sobre els valors d'hemoglobina glicosilada de pacients amb diabetis tipus 2

### Objectius secundaris

Investigar els efectes de la intervenció dietètica en:

1. La resistència a la insulina
2. L'adiponectina i marcadors d'inflamació
3. La composició de la microbiota intestinal
4. La pressió arterial, freqüència cardíaca i perfil lipídic
5. La composició d'àcids grassos en membranes d'eritròcits
6. La qualitat de vida



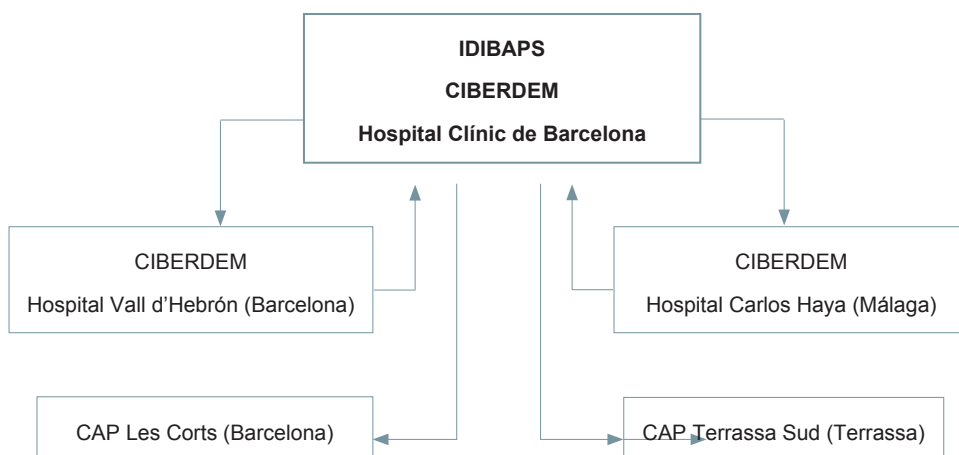
# Metodologia

## 5

### 5.1 Reclutament i randomització dels pacients

L'estudi Pilchardus, que fa referència al nom científic de la sardina europea, *Sardina pilchardus*, va ser un estudi multicèntric randomitzat d'intervenció dietètica. L'Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), juntament amb l'Hospital Clínic i el CIBERDEM van ser els seus impulsors. A més, en aquest estudi pilot hi van col·laborar dos hospitals associats al CIBERDEM, l'Hospital Vall d'Hebrón de Barcelona i l'Hospital Carlos Haya de Málaga, i dos Centres d'Atenció Primària (CAP), el CAP Les Corts de Barcelona, i el CAP Terrassa Sud, de Terrassa (Figura 23). L'estudi Pilchardus es va dur a terme entre l'octubre del 2012 i el novembre del 2013. Tots els procediments del protocol de l'estudi van ser aprovats pels comitès ètics dels centres que van formar part de l'estudi, i es va realitzar una monitorització externa de les dades recollides. El reclutament de pacients es va realitzar a través dels serveis de consultes externes dels diferents centres participants, i es van obtenir els consentiments informats de tots els pacients abans de l'inici de l'estudi (Annex II).





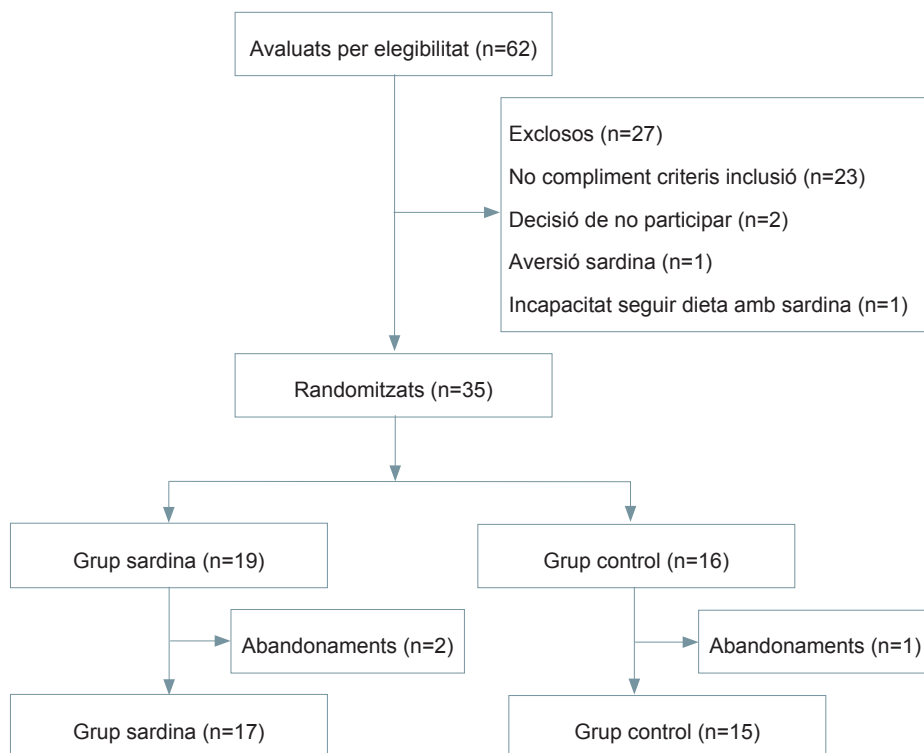
**Figura 23.** Unitats clíniques participants en l'Estudi Pilchardus.

En la visita d'*screening* es va explicar als pacients l'estudi amb detall i es van avaluar els criteris d'inclusió i d'exclusió. Quan el pacient complia tots els criteris d'inclusió i cap d'exclusió, se li entregava el document de consentiment informat i decidia si participava o no a l'estudi. En cas de voler participar, firmava en presència de l'investigador el consentiment informat. Tot seguit es trucava al telèfon indicat al Qüestionari de Recollida de Dades (QRD) per realitzar la randomització, i s'anotava el número i grup d'intervenció assignat al QRD. La randomització es va fer utilitzant una assignació aleatòria creada per un programa informàtic d'aleatorització.

Els pacients inclosos en l'estudi van ser randomitzats en dos grups, el grup sardina (GS) i el grup control (GC). Durant el període de reclutament, 62 pacients van ser avaluats per entrar a l'estudi, dels quals 27 van ser exclosos; 23 per incompliment d'un o més criteris d'exclusió, 2 per decisió de no participar a l'estudi, 1 per intolerància a la sardina, i un altre per considerar-se incapaç de seguir la dieta amb sardines durant 6 mesos. Finalment 35 pacients van ser randomitzats, 19 al GS i 16 al GC.

Durant l'estudi es va produir 2 abandonaments en el GS i 1 abandonament en el GC. Les causes d'abandonament en el GS van ser l'incompliment de la ingesta de sardina (es va considerar incompliment una ingesta menor de 300g de sardina/semana durant un mes). En el cas del GC,

l'abandonament es va produir per diagnòstic de càncer. Finalment van ser analitzats 17 pacients del GS i 15 del GC.



**Figura 24.** Diagrama de flux del reclutament, participació i abandonaments de l'estudi Pilchardus.

## 5.2 Criteris d'inclusió i d'exclusió

Els criteris d'inclusió van ser:

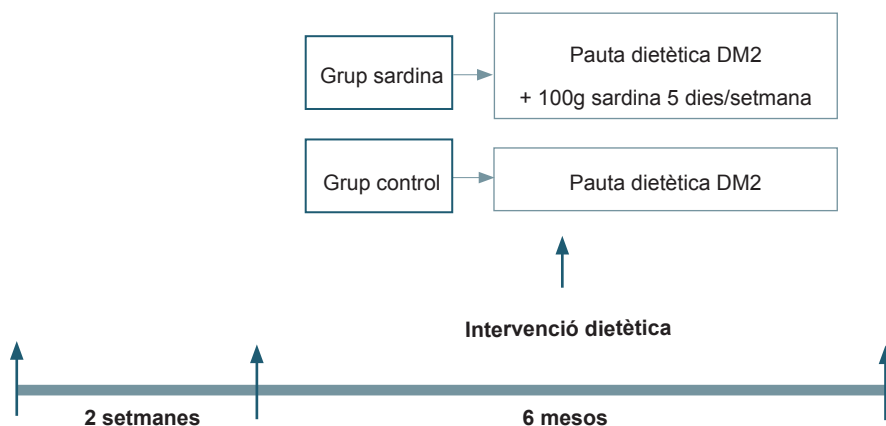
- Diagnòstic de DM2 d'acord amb els criteris de l'ADA (1), i si els valors d'HbA1c eren d'entre 6,0% i 8,0% en aquells pacients que segueixen recomanacions dietètiques per la DM.
- Edat entre els 40 i 70 anys
- IMC entre 26 i 35 kg/m<sup>2</sup>
- Ingesta de peix < 3 racions a la setmana

Els criteris d'exclusió van ser:

- Seguir tractament farmacològic amb insulina o hipoglucemiants orals
- Events cardiovasculars o cerebrovasculars diagnosticats durant els 2 mesos previs a la randomització.
- Canvis en el tractament farmacològic crònic durant els 3 mesos previs a la randomització.
- Tractament amb fàrmacs antiinflamatoris esteroidals i no-esteroidals durant >5 dies el mes anterior a la randomització.
- Ingesta de suplementes d'AGPICL- $\omega$ 3
- Al·lèrgia al peix o la proteïna de peix

## 5.3 Disseny de l'estudi

L'estudi Pilchardus va consistir en 2 setmanes d'educació dietètica seguides de 6 mesos d'intervenció dietètica. En el GS, els pacients havien de seguir una pauta dietètica amb consells generals per la DM2 enriquida amb 100g de sardina en llauna 5 dies a la setmana durant 6 mesos. En el GC, els pacients van seguir la pauta dietètica amb els consells generals per la DM2 sense consumir la sardina durant 6 mesos. Els dos grups van seguir en paral·lel les intervencions dietètiques.



**Figura 25.** Disseny de l'estudi Pilchardus

### 5.3.1 Disseny de l'educació dietètica

Durant les dues setmanes prèvies a l'inici de la intervenció dietètica, tots els pacients van realitzar dues sessions d'educació dietètica d'una hora. Les sessions dels pacients de l'Hospital Clínic, l'Hospital Vall d'Hebrón, CAP Les Corts i CAP Terrassa Sud van ser implementades per l'autora d'aquesta tesi. Les dels pacients de l'Hospital Carlos Haya de Màlaga van ser implementades per una altra dietista-nutricionista clínica de Màlaga.

La primera sessió d'educació dietètica es va focalitzar en explicar conceptes bàsics sobre DM i alimentació equilibrada. En la segona sessió es van repassar tots els conceptes i es va explicar la dieta a seguir amb detall, amb el suport de material visual (làmines d'aliments de diferents grups en tamany DIN A3). A tots els pacients se'ls va entregar la pauta dietètica, un pack de làmines d'aliments utilitzades en l'educació en tamany DIN A4, i un receptari de cuina. En el cas del GC, el receptari va incloure plats equilibrats d'aliments variats. I en el cas del GS, les receptes van incloure plats amb sardina (Annex VI), com també se'ls va entregar un document explicatiu d'intercanvi de gramatges i porcions entre els diferents aliments a base de sardina.

### 5.3.2 Disseny de les intervencions dietètiques

Les intervencions dietètiques tan en el GS com en el GC van tenir l'objectiu d'adaptar la ingesta d'hidrats de carboni de manera individualitzada sense una restricció calòrica específica, és a dir, realitzar una modificació qualitativa de macronutrients que implicaria indirectament una disminució de la ingesta calòrica. A més, el GS va substituir 100g de la seva ingesta proteica habitual per 100g de sardina en llauna 5 cops a la setmana durant 6 mesos. La ingesta d'energia i nutrients va ser calculada a partir d'un registre dietètic de 3 dies (incloent un dia festiu) a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica. Els resultats van ser analitzats amb el software online DIAL 1.0. El consum d'aliments, focalitzat en registrar la modificació

en el consum de sardina, va ser avaluat cada mes durant la intervenció dietètica, amb un qüestionari de freqüència de consum d'aliments (QFCA) qualitatiu de 53 ítems (Annex III). L'adherència a la dieta enriquida amb sardina es va determinar a través de l'IO3 en membranes d'eritròcits, ja que és un indicador robust de la ingesta de peix blau (175).

### 5.3.2.1 **Distribució dels hidrats de carboni de la dieta**

A partir de l'edat, el sexe, el pes, l'altura i l'activitat física de cada pacient es van dissenyar pautes personalitzades amb el sistema de racions d'hidrats de carboni i es van distribuir en 5 àpats al dia. En tots els casos es va adaptar la pauta de racions a la ingesta espontània de cada pacient. Amb l'ajuda de les làmines d'aliments, en les quals es mostraven les equivalències en hidrats de carboni entre diferents grups d'aliments, els pacients podien dissenyar cada àpat segons les seves preferències.

### 5.3.2.2 **Dieta enriquida amb sardina**

La sardina inclosa en la dieta dels pacients del GS va ser sardina enllaunada en oli d'oliva com també aliments a base de sardina en llauna desenvolupats per la Fundació Àlicia especialment per a l'estudi Pilchardus, i opcionalment sardina fresca. Les llaunes de sardina per tot l'estudi van ser donades gratuïtament per la Conservera Cerqueira de Vigo. Els aliments a base de sardina es van enviar congelats al domicili de cada pacient a l'inici i als 3 mesos de la intervenció dietètica, i les llaunes de sardina van ser entregades en les visites de seguiment. La llauna de sardina havia de ser consumida mínim 3 dies a la setmana, i els dos dies restants, els pacients podien consumir els productes de sardina.

La Fundació Àlicia va desenvolupar 30 aliments a base de sardina tenint en compte tan la composició nutricional evitant un aport elevat de greixos i hidrats de carboni, com la palatabilitat i aspecte exterior. Després d'un

període llarg de proves, dels 30 aliments es van escollir 3: l'hamburguesa de sardina, les croquetes de sardina i el paté de sardina. Cada aliment es va dissenyar per contenir 50 o 100g de sardina enllaunada, permetent als pacients comptabilitzar fàcilment els grams de sardina que havien de consumir diàriament, i poder adaptar-los als àpats del llarg del dia.



Hamburguesa de sardina  
(50g de sardina)



Sushi de sardina  
(50g de sardina)



Croquetes de sardina  
(25g de sardina)



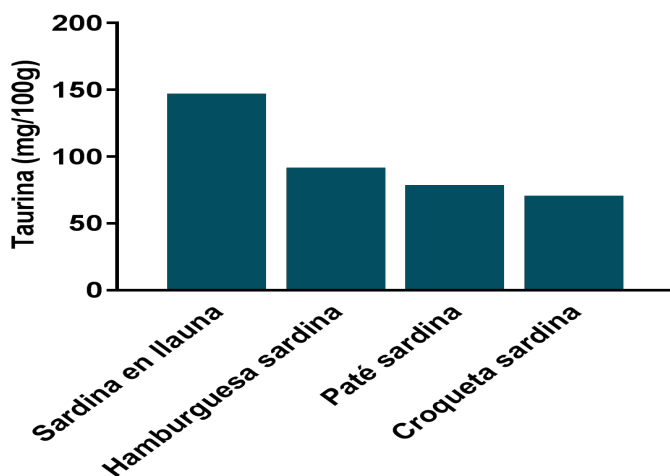
Farcell de sardina  
(25g de sardina)

**Figura 26.** Exemples d'aliments a base de sardina durant el procés de desenvolupament a la Fundació Alcía.

A més, la Fundació Alícia també va desenvolupar un receptari amb plats de sardina fresca i enllaunada per donar idees de receptes i evitar la monotonia diària amb la ingesta de sardina. De la mateixa manera que amb els productes, les receptes van tenir en compte tan la composició nutricional com el contingut de sardina (50 o 100g de sardina).

Abans de començar l'estudi es va determinar en un laboratori extern validat el contingut de taurina de la sardina en llauna i els aliments a base de sardina. L'objectiu era conèixer la concentració d'aquest aminoàcid en els aliments per poder estimar la ingesta de taurina dels pacients a través dels aliments amb sardina, ja que el contingut de taurina dels aliments no es troba en programes de càlcul nutricional habitual, i les referències bibliogràfiques són escasses.

L'anàlisi dels aliments va revelar que la sardina enllaunada presentava el contingut més elevat de taurina amb 147,1 mg/100g, seguida de l'hamburguesa de sardina amb 91,5 mg/100g. El paté de sardina i la croqueta de sardina van presentar els valors més baixos de taurina amb 78,6 mg/100g i 70,5 mg/100g respectivament.



**Gràfic 1.** Contingut de taurina de la sardina en llauna i els aliments a base de sardina utilitzats en l'estudi Pilchardus.

## 5.4 Mesures, avaluacions clíniques i determinacions bioquímiques

### 5.4.1 Mesures antropomètriques

El pes, l'alçada, el perímetre de cintura i de cadera es van determinar durant les primeres hores del matí després d'un període de dejuni mínim de 8 hores, a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica. La mesura del pes es va realitzar en balanços amb una precisió mínima de 100g, sense sabates ni objectes dins de les butxaques. L'alçada es va mesurar amb els peus junts, i els talons, glutis i la part superior de l'esquena en contacte amb el tallímetre.

Per a la medició dels perímetres de cintura i cadera es va fer servir una cinta antropomètrica d'acer flexible, de longitud de 3 m de llarg calibrada en centímetres amb gradació mil·limètrica. La posició del pacient va ser de peu amb els braços creuats al tòrax. La mesura es va realitzar a nivell del límit superior de les crestes ilíiaques rodejant la cintura i passant pel melic. El perímetre de cadera es va mesurar al nivell màxim de la protuberància dels glutis.

### 5.4.2 Mesura de la pressió arterial i la freqüència cardíaca

La PA i la FC es va determinar per duplicat mitjançant un oscil·lòmetre semiautomàtic (Omron MU-I) a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica.

### 5.4.3 Avaluació de la qualitat de vida

La QV dels pacients es va avaluar utilitzant el qüestionari Internacional EuroQol-5D (EQ-5D) (Annex IV), que ha sigut adaptat i validat pel seu



ús a Espanya. L'EQ-5D és un instrument genèric de medició de la QV relacionada amb la salut que pot utilitzar-se tant en individus relativament sans (població general) com en grups de pacients amb diferents patologies.

El propi individu valora el seu estat de salut en tres categories (cap problema, alguns problemes i molts problemes) de paràmetres concrets de salut (movilitat, cura personal, activitats quotidianes, dolor/malestar i ansietat/depressió). Després l'individu també valora el seu estat de salut amb una escala visual analògica (EVA) de 20 cm, mil·límetrada, que va desde 0 (pitjor estat de salut imaginable) a 100 (millor estat de salut imaginable). L'individu ha de marcar el punt en la línia vertical que millor reflecti la valoració del seu estat de salut global al dia d'avui.

#### 5.4.4 **Determinacions en sang total i plasma**

Es van recollir mostres de sang per venopunció de tots els pacients en condicions basals i al finalitzar la intervenció dietètica. Les extraccions sanguínies es van dur a terme durant les primeres hores del matí després d'un període de dejuni mínim de 8 hores. Totes les mostres van ser alíquotades i congelades a -80°C fins al seu anàlisi, excepte les mostres de sang total per a la determinació d' HbA1c, que es van conservar refrigerades i es van analitzar com a màxim en les 48h posteriors a la seva extracció.

La glucosa, la insulina, el perfil lipídic (colesterol total colesterol HDL, colesterol LDL i triglicèrids), la PCRu, el TNF $\alpha$ , les citoquines (IL-6, IL-8, IL-10) i l'adiponectina van ser determinades en plasma. La composició d'àcids grassos en membranes d'eritròcits (CAGME) va ser determinada en sang total. El HOMA-IR es va calcular de la següent manera:  $\text{HOMA-IR} = \text{insulina (mU/ml)} \times \text{glucosa plasmàtica en dejú (mmol/l)} / 22,5$ .

L'anàlisi de les mostres es va centralitzar a l'Hospital Clínic i l'IDIBAPS, concretament al Centre de Diagnòstic Biomèdic de l'Hospital Clínic (CDB) i al Laboratori de Recerca en Diabetis i Obesitat de l'IDIBAPS. Les determinacions de l'HbA1c, la glucosa, la insulina, el perfil lipídic, la

PCRu, el TNF $\alpha$  i l'adiponectina es van dur a terme al CDB de l'Hospital Clínic. Les citokines IL-6, IL-8 i IL-10 van ser determinades al laboratori de Recerca en Diabetis i Obesitat de l'IDIBAPS, i la CAGME a la Unitat de Lípids de l'Hospital Clínic. Les alíquotes de mostres dels pacients de l'Hospital Carlos Haya de Màlaga i la Vall d'Hebrón de Barcelona es van enviar congelades a l'inici i al final de l'estudi, quan es van recollir totes les mostres dels pacients. En el cas de la mostra de sang total per la determinació d'HbA1c, es van anar enviant refrigerades el mateix dia de l'extracció a l'IDIBAPS, i es van portar al CDB de l'Hospital Clínic.

Les concentracions d'adiponectina van ser determinades mitjançant ELISA (*Enzym-linked ImmunoSorbent Assay*) (kit comercial Mercodia AB, Uppsala, Suècia), i les de IL-6 i IL-10 mitjançant citometria (kit comercial BD™, New Jersey, USA). La CAGME es va determinar per cromatografia de gasos (Cromatògraf de Gasos Agilent HP 6890 amb columna capil·lar, automostrejador i detector d'ionització de flama). Cada àcid gras es va expressar com a percentatge del total d'AGs identificats en la mostra de sang total. L'IO3 es va calcular amb la suma dels percentatges d'EPA + DHA.

## 5.4.5 Composició de la microbiota intestinal

L'àcid desoxiribonucleic (ADN) genòmic es va extreure de les mostres fecals utilitzant el kit PSP® Spin Stool DNA Plus (Strattec, Berlín, Alemanya). La quantitat i puresa de l'ADN es va avaluar amb l'espectrofotòmetre NanoDrop ND-100. Els canvis en la MI es van determinar amb la quantificació per *polymerase chain reaction* (PCR) de l'abundància de grups bacterians específics prèviament associats amb la DM2. Concretament es va comparar l'abundància de *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Bacteroides-Prevotella*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Escherichia coli* i *Eubacterium rectale-Clostridium coccoides* (els primers, les proves, els estàndards de quantificació i les condicions de la PCR es detallen a l'Annex V).

## 5.5 Protocol de visites

L'estudi es va estructurar en 10 visites, la visita d'*screening*, dues sessions d'educació dietètica, la visita basal i 6 visites de seguiment mensuals. En la visita basal es van realitzar la història clínica i dietètica, medició de les mesures antropomètriques, mesura de la PA i FC, i es van extreure mostres de sang per venopunció. En aquesta visita el pacient també havia d'entregar una mostra fecal amb PSP® Spin Stool DNA Plus, seguint les instruccions que se li havien donat prèviament. A més també es van realitzar el QFCA, i el de qualitat de vida EQ5D. Totes les dades i l'entrega del registre dietètic i de les mostres de femta es van registrar al QRD. En el cas dels pacients del GS, es van entregar les llaunes de sardina per 1 mes.

|                                     | Educació dietètica | Visita Basal | Visita 1 | Visita 2 | Visita 3 | Visita 4 | Visita 5 | Visita 6 |
|-------------------------------------|--------------------|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Història clínica i dietètica        | X                  |              |          |          |          |          |          |          |
| Registre dietètic                   |                    | X            |          |          |          |          |          | X        |
| QFCA                                |                    | X            |          |          |          |          |          | X        |
| EQ5D                                |                    | X            |          |          |          |          |          | X        |
| Mesures antro.                      |                    | X            |          |          | X        |          |          | X        |
| Pressió arterial                    |                    | X            |          |          | X        |          |          | X        |
| Mostra sang                         |                    | X            |          |          |          |          |          | X        |
| Mostra femta                        |                    | X            |          |          |          |          |          | X        |
| Adherència dieta i efectes adversos |                    | X            | X        | X        | X        | X        | X        | X        |

**Figura 30.** Esquema del protocol de visites de l'Estudi Pilchardus

En les visites 1, 2, 3, 4 i 5 es van registrar els possibles events adversos i es va valorar l'adherència a la dieta de tots els pacients. A la visita 3, a més en va realitzar la medició de les mesures antropomètriques i de la PA. En l'última visita (visita 6) es van realitzar els mateixos procediments que a la visita basal.

## 5.6 Anàlisi estadístic

El càlcul de la mida mostral es va realitzar assegurant un poder estadístic del 80% i un objectiu de variació de com a mínim el 0,7% en la mitjana d'HbA1c entre el GS i el GC. D'aquesta manera, utilitzant una desviació estàndard en l'HbA1c estimada del 0,5 a un nivell de significància del 0,05 eren necessaris 16 pacients per grup, i 18 pacients per grup considerant un índex d'abandonaments del 10%.

Les dades descriptives es presenten com a mitjana i error estàndard (ES) per les variables contínues, o nombres per les variables categòriques. Les comparacions de les dades aparellades es van realitzar amb la prova no paramètrica de Wilcoxon. La prova no paramètrica de U-Mann Withney o la prova de chi quadrat ( $X^2$ ) es van utilitzar per comparar les dades no aparellades a l'inici de l'estudi. Els objectius primaris i secundaris als 6 mesos es van avaluar utilitzant l'anàlisi de la covariança (ANCOVA) ajustant pels valors basals. L'anàlisi estadístic es va dur a terme amb el software informàtic SPSS 18 per Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, EUA). Els valors p menors de 0,05 es van considerar estadísticament significatius.



# Resultats

## 6.1 Característiques basals dels pacients

Els resultats de l'estudi Pilchardus han sigut publicats a la revista *Lipids in Health and Disease* l'abril del 2016 (Annex I).

A l'inici de l'estudi no es van trobar diferències significatives en la distribució de sexes, l'edat, temps d'evolució de la DM2 i l'hàbit tabàquic entre els dos grups. L'11,4% dels pacients eren fumadors i el 40% exfumadors. Tan els pacients del GS com els del GC presentaven un component hereditari important associat a la DM2, ja que més del 50% en ambós grups tenien un o més familiars de primer grau (pare, mare o germans) afectats per DM2 (Taula 27). En relació a la patologia cardiovascular i el tractament farmacològic, les diferències basals entre el GS i el GC van ser no significatives. Al GS 4 pacients (21%) i al GC 1 pacient (6,3%) presentaven història clínica d'infart de miocardi. Les estatines i els betabloquejants van ser els fàrmacs concomitants. En els dos grups, entre el 56 i 58% dels pacients van presentar sobrepès i entre el 42 i 44% obesitat sense observar diferències significatives. El grau d'obesitat va diferir entre els dos grups, només al GS es va observar obesitat de grau II ( $p=0,05$ ), mentre que tots els pacients del GC van presentar obesitat grau I ( $p=0,08$ ) (Taula 27).

|                                              | Grup sardina<br>(n=19) | Grup control<br>(n=16) | Tots els pacients<br>(n=35) | Valor p*    |
|----------------------------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------|
| Homes/dones (n)                              | 8/11                   | 8/8                    | 16/19                       | 0,64        |
| Edat <sup>1</sup> (anys)                     | 60,0 ± 1,7             | 61,4 ± 2,4             | 60,6 ± 1,4                  | 0,83        |
| Temps evolució <sup>1</sup>                  | 4,2 ± 2,7              | 2,8 ± 0,8              | 3,6 ± 1,2                   | 0,63        |
| Antecedents familiars<br>primer grau DM2 (%) | 63,2                   | 56,3                   | 60,0                        | 0,68        |
| Fumadors (%)                                 | 10,5                   | 12,5                   | 11,4                        | 0,86        |
| Exfumadors (%)                               | 36,5                   | 43,8                   | 40,0                        | 0,68        |
| Sobrepès (%)                                 | 57,9                   | 56,3                   | 57,0                        | 0,76        |
| Obesitat (%)                                 | 42,1                   | 43,7                   | 43,0                        | 0,76        |
| Obesitat grau I (%)                          | 21,0                   | 43,7                   | 31,4                        | 0,08        |
| Obesitat grau II (%)                         | 21,0                   | 0,0                    | 11,4                        | <b>0,05</b> |
| Patologia<br>cardiovascular (%)              | 21,0                   | 6,3                    | 14,3                        | 0,21        |
| Tractament amb<br>estatines (%)              | 10,5                   | 15,7                   | 14,3                        | 0,88        |
| Tractament amb<br>betabloquejants (%)        | 6,3                    | 18,8                   | 11,4                        | 0,82        |

\*Diferències entre el grup sardina i el grup control, test de U de Mann-Whitney  
o  $\chi^2$

<sup>1</sup> Dades expressades en mitjana ± ES

**Taula 27.** Característiques basals dels pacients

6.2 Antropometria

Després de 6 mesos d'intervenció dietètica els pacients del GS van disminuir  $1,2 \pm 0,6$  kg en relació al pes basal ( $p=0,08$ ), mentre que la pèrdua de pes del GC va ser de  $0,6 \pm 0,7$  kg ( $p=0,36$ ).

|              |                        |                        | Valors p               |                |      |
|--------------|------------------------|------------------------|------------------------|----------------|------|
|              | Grup sardina<br>(n=17) | Grup control<br>(n=15) | Entre grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†) |      |
|              |                        |                        |                        | GS²            | GC³  |
| Pes (kg)     |                        |                        |                        |                |      |
| Basal        | 81,7 ± 3,7             | 75,8 ± 2,9             | 0,25                   | 0,08           | 0,35 |
| 6 mesos      | 80,5 ± 3,7             | 75,1 ± 2,8             | 0,71                   |                |      |
| IMC¹ (kg/m²) |                        |                        |                        |                |      |
| Basal        | 30,5 ± 1,0             | 28,8 ± 0,8             | 0,39                   | 0,08           | 0,44 |
| 6 mesos      | 30,0 ± 1,0             | 28,5 ± 0,8             | 0,70                   |                |      |

Dades expressades en mitjana ± ES

<sup>1</sup>IMC: Índex de massa corporal; <sup>2</sup>GS: grup sardina; <sup>3</sup>GC: grup control

\*Diferències basals, test de U de Mann-Whitney

‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA

† test de Wilcoxon

Taula 28. Pes i IMC a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica

El perímetre de cintura i de cadera es van reduir en el GS sense arribar a ser significatiu (Taula 29). En el GC en canvi, aquests dos paràmetres antropomètrics van augmentar, sent significatiu l'increment en el perímetre de cintura respecte l'inici de l'estudi. Quan es van comparar els dos grups, no es van trobar diferències significatives en el pes, el perímetre de cintura o de cadera al final de l'estudi després de realitzar l'ajustament pels valors basals (Taules 28 i 29).



|                             |                        |                        | Valors p               |                 |                 |
|-----------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------|-----------------|
|                             | Grup sardina<br>(n=17) | Grup control<br>(n=15) | Entre grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                             |                        |                        |                        | GS <sup>3</sup> | GC <sup>4</sup> |
| P cintura <sup>1</sup> (cm) |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                       | 99,7 ± 2,9             | 93,5 ± 1,8             | 0,62                   | 0,51            | 0,03            |
| 6 mesos                     | 97,6 ± 2,6             | 95,6 ± 1,9             | 0,22                   |                 |                 |
| P cadera <sup>2</sup> (cm)  |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                       | 106,5 ± 2,9            | 102,3 ± 1,5            | 0,62                   | 0,62            | 0,53            |
| 6 mesos                     | 106,2 ± 3,1            | 102,4 ± 1,5            | 0,55                   |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES

<sup>1</sup>P cintura: perímetre de cintura; <sup>2</sup>P cadera: perímetre de cadera; <sup>3</sup>GS: grup sardina; <sup>4</sup>GC: grup control

\* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney; ‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA; † test de Wilcoxon

**Taula 29.** Perímetre de cintura i cadera a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica

### 6.3 Control glucèmic

A l'inici de l'estudi els pacients del GS i el GC van presentar valors de glucosa en dejú entre 134 i 138 mg/dL de mitjana i d'HbA1c entre 6,7% i 6,8%, sense observar-se diferències significatives entre ambdós grups (Taula 30). L'HbA1c i la glucosa en dejú van disminuir en els dos grups als 6 mesos de la intervenció dietètica (GS: -9,6 ± 5,4 mg/dL glucosa, -0,2 ± 0,1 % HbA1c; GC: -5,2 ± 5,5 mg/dL glucosa, -0,3 ± 0,1 % HbA1c) sent només significativa la reducció de l'HbA1c en el GC (p=0,01) respecte els valors basals. Tot i així, la comparació entre el GS i el GC no va mostrar diferències significatives al final de l'estudi en la glucosa en dejú ni l'HbA1c.

|                         |                        |                        | Valors p               |                 |                 |
|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------|-----------------|
|                         | Grup sardina<br>(n=17) | Grup control<br>(n=15) | Entre grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                         |                        |                        |                        | GS <sup>2</sup> | GC <sup>3</sup> |
| Glucosa en dejú (mg/dL) |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                   | 138,2 ± 6,5            | 134,3 ± 5,1            | 0,99                   | 0,18            | 0,36            |
| 6 mesos                 | 128,6 ± 4,4            | 129,1 ± 5,4            | 0,74                   |                 |                 |
| HbA1c <sup>1</sup> (%)  |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                   | 6,8 ± 0,1              | 6,7 ± 0,1              | 0,59                   | 0,08            | 0,01            |
| 6 mesos                 | 6,6 ± 0,1              | 6,4 ± 0,1              | 0,57                   |                 |                 |

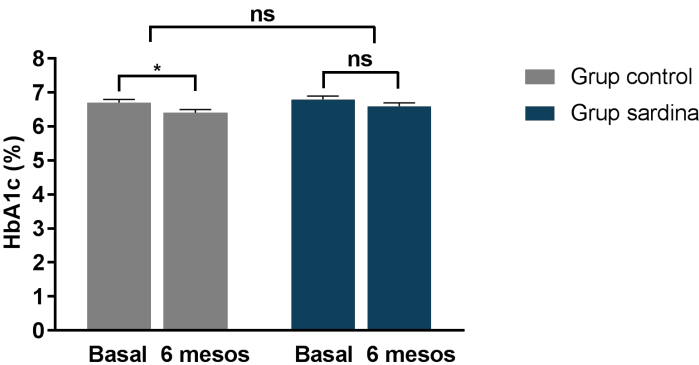
<sup>1</sup>HbA1c: hemoglobina glicosilada; <sup>2</sup>GS: grup sardina; <sup>3</sup>GC: grup control

\* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney

‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA

† test de Wilcoxon

Taula 30. Glucosa en dejú i HbA1c a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica



ns: no significatiu, \* p<0,05

Gràfic 2. Modificació de l'HbA1c entre l'inici i el final de l'estudi

## 6.4 Insulina en dejú i resistència a la insulina

Tan el GS com el GC van disminuir significativament els valors d’insulina en dejú i el HOMA-IR respecte l’inici de l’estudi (GS:  $-6,0 \pm 1,8$  mU/L insulina,  $p=0,01$ ,  $-2,3 \pm 0,7$  HOMA-IR,  $p=0,007$ , GC:  $-3,4 \pm 1,5$  mU/L insulina,  $p=0,02$ ,  $-1,1 \pm 0,7$  HOMA-IR,  $p=0,04$ ) (Gràfics 3a i 3b). En la comparació dels valors als 6 mesos entre els grups però, no es van observar diferències significatives en la insulina en dejú ni el HOMA-IR (Taula 31).

|                         |                        |                        | Valors p               |                 |                 |
|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------|-----------------|
|                         | Grup sardina<br>(n=17) | Grup control<br>(n=15) | Entre grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                         |                        |                        |                        | GS <sup>2</sup> | GC <sup>3</sup> |
| Insulina en dejú (mU/L) |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                   | 17,2 ± 1,7             | 15,1 ± 1,8             | 0,45                   | 0,01            | 0,02            |
| 6 mesos                 | 11,1 ± 1,8             | 11,7 ± 2,4             | 0,37                   |                 |                 |
| HOMA-IR <sup>1</sup>    |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                   | 5,9 ± 0,7              | 5,0 ± 0,6              | 0,46                   | 0,007           | 0,04            |
| 6 mesos                 | 3,6 ± 0,6              | 3,9 ± 0,9              | 0,34                   |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES

<sup>1</sup>HOMA-IR: Model homeostàtic d’avaluació de la resistència a la insulina

<sup>2</sup>GS: grup sardina; <sup>3</sup>GC: grup control

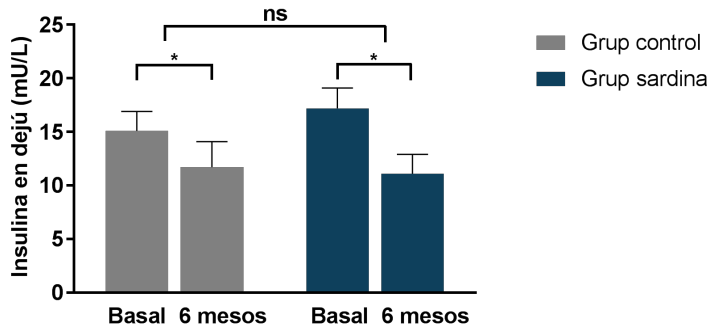
\* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney

‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA

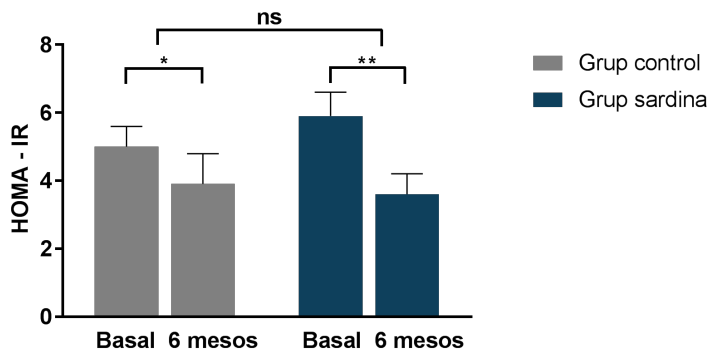
† test de Wilcoxon

**Taula 31.** Insulina en dejú i HOMA-IR a l’inici i els 6 mesos de la intervenció dietètica

a)



b)

ns: no significatiu, \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ 

**Gràfics 3 a i 3b.** Disminució de la insulina en dejú i el HOMA-IR entre l'inici i el final de la intervenció dietètica

## 6.5 Adiponectina i marcadors d'inflamació

A l'inici de l'estudi les concentracions de tots els paràmetres inflamatoris i de l'adiponectina van ser similars (Taules 32 i 33). Al finalitzar la intervenció dietètica, les concentracions d'adiponectina es van veure afectades

significativament per la dieta enriquida amb sardina, incrementant-se desde  $2,1 \pm 0,3 \mu\text{g/mL}$  a l'inici de l'estudi fins a  $3,0 \pm 0,3 \mu\text{g/mL}$  als 6 mesos,  $p=0,04$  (Gràfic 4). La PCRu, IL-6, IL-8 i IL-10 no es van modificar en cap dels grups, excepte el TNF $\alpha$  que va augmentar fins al llindar de la significància en el GC (Taula 32). Quan es van comparar ambdós grups al final de l'estudi, cap dels paràmetres citats van ser significativament diferents (Taules 32 i 33).

|                           |                        |                        | Valors p               |                 |                 |
|---------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------|-----------------|
|                           | Grup sardina<br>(n=17) | Grup control<br>(n=15) | Entre grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                           |                        |                        |                        | GS <sup>3</sup> | GC <sup>4</sup> |
| Adiponectina (µg/mL)      |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                     | 2,1 ± 0,3              | 2,0 ± 0,4              | 0,37                   | 0,04            | 0,16            |
| 6 mesos                   | 3,0 ± 0,3              | 2,5 ± 0,4              | 0,26                   |                 |                 |
| PCRu <sup>1</sup> (mg/dL) |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                     | 0,2 ± 0,03             | 0,2 ± 0,04             | 0,88                   | 0,89            | 0,53            |
| 6 mesos                   | 0,2 ± 0,04             | 0,2 ± 0,04             | 0,73                   |                 |                 |
| TNFα <sup>2</sup> (pg/mL) |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                     | 5,6 ± 0,2              | 4,9 ± 0,3              | 0,44                   | 0,71            | 0,05            |
| 6 mesos                   | 5,6 ± 0,4              | 6,1 ± 0,5              | 0,33                   |                 |                 |

Dades expressades en mitjana  $\pm$  ES  
<sup>1</sup>PCRu: Proteïna C Reactiva ultrasensible; <sup>2</sup>TNF $\alpha$ : Factor de necrosi tumoral  $\alpha$ ;  
<sup>3</sup>GS: grup sardina; <sup>4</sup>GC: grup control;  
\*Diferències basals, test de U de Mann-Whitney  
‡ Diferències als 6 mesos  
ANCOVA; † test de Wilcoxon

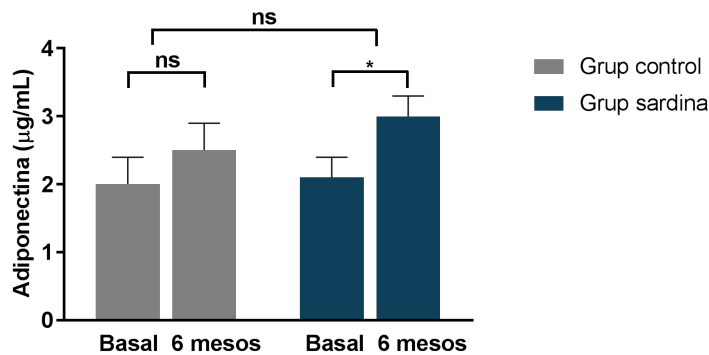
**Taula 32.** Concentracions d'adiponectina, PCRu i TNF $\alpha$  a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica

|                          |                        |                        | Valors p               |                 |                 |
|--------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------|-----------------|
|                          | Grup sardina<br>(n=17) | Grup control<br>(n=15) | Entre grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                          |                        |                        |                        | GS <sup>1</sup> | GC <sup>2</sup> |
| Interleuquina 10 (pg/mL) |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                    | 1,3 ± 0,1              | 1,2 ± 0,02             | 0,28                   | 0,09            | 0,12            |
| 6 mesos                  | 1,5 ± 0,1              | 1,3 ± 0,1              | 0,09                   |                 |                 |
| Interleuquina 6 (pg/mL)  |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                    | 3,5 ± 0,3              | 3,0 ± 0,3              | 0,66                   | 0,68            | 0,58            |
| 6 mesos                  | 3,6 ± 0,4              | 3,3 ± 0,4              | 0,91                   |                 |                 |
| Interleuquina 8 (pg/mL)  |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                    | 23,3 ± 3,3             | 18,7 ± 3,0             | 0,97                   | 0,88            | 0,91            |
| 6 mesos                  | 25,3 ± 5,3             | 18,9 ± 1,3             | 0,88                   |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES

<sup>1</sup>GS: grup sardina; <sup>2</sup>GC: grup control; \*Diferències basals, test de U de Mann-Whitney; ‡ Diferències als 6 mesos; ANCOVA; † test de Wilcoxon

Taula 33. IL-10, IL-6 i IL-8 a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica



ns: no significatiu, \* p<0,05

Gràfic 4. Increment de l'adiponectina entre l'inici i el final de la intervenció dietètica

6.6 Perfil lipídic

Les concentracions de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL i TG van ser similars entre els dos grups a l’inici de l’estudi. Al final de la intervenció dietètica els lipíds plasmàtics no es van modificar significativament en cap dels dos grups (Taula 34).

|                          |                        |                        | Valors p               |                 |                 |
|--------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------|-----------------|
|                          | Grup sardina<br>(n=17) | Grup control<br>(n=15) | Entre grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                          |                        |                        |                        | GS <sup>1</sup> | GC <sup>2</sup> |
| Colesterol total (mg/dL) |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                    | 198,1 ± 6,3            | 204,3 ± 8,5            | 0,82                   | 0,47            | 0,17            |
| 6 mesos                  | 199,5 ± 7,1            | 199,9 ± 6,7            | 0,10                   |                 |                 |
| Colesterol LDL (mg/dL)   |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                    | 122,8 ± 6,1            | 121,2 ± 6,4            | 0,80                   | 0,49            | 0,33            |
| 6 mesos                  | 121,2 ± 5,1            | 114,1 ± 4,5            | 0,32                   |                 |                 |
| Colesterol HDL (mg/dL)   |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                    | 50,9 ± 2,6             | 51,0 ± 1,8             | 0,97                   | 0,69            | 0,22            |
| 6 mesos                  | 51,0 ± 3,1             | 49,4 ± 2,8             | 0,27                   |                 |                 |
| Triglicèrids (mg/dL)     |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                    | 121,5 ± 10,5           | 127,0 ± 10,8           | 0,31                   | 0,38            | 0,86            |
| 6 mesos                  | 139,1± 11,1            | 139,8 ± 4,1            | 0,92                   |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES

<sup>1</sup>GS: grup sardina; <sup>2</sup>GC: grup control

\* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney; ‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA; † test de Wilcoxon

Taula 34. Perfil lipídic a l’inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica

## 6.7 Pressió arterial

Els dos grups van presentar valor similars de PA i FC a l'inici de l'estudi. Al finalitzar la intervenció dietètica, la PAS i la PAD no es van modificar significativament. Només en els pacients del GS es va observar un disminució significativa de la FC respecte els valors basals (Gràfic 5). Tot i això les diferències observades van ser no significatives quan es van comparar els dos grups (Taula 35).

|                                    |                        |                        | Valors p               |                 |                 |
|------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------|-----------------|
|                                    | Grup sardina<br>(n=17) | Grup control<br>(n=15) | Entre grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                                    |                        |                        |                        | GS <sup>4</sup> | GC <sup>5</sup> |
| PAS <sup>1</sup> (mm Hg)           |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                              | 133,5 ± 2,4            | 134,1 ± 6,3            | 0,60                   | 0,33            | 0,62            |
| 6 mesos                            | 132,4 ± 2,9            | 126,8 ± 4,1            | 0,46                   |                 |                 |
| PAD <sup>2</sup> (mm Hg)           |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                              | 81,9 ± 2,1             | 77,1 ± 2,8             | 0,20                   | 0,45            | 0,88            |
| 6 mesos                            | 80,4 ± 1,7             | 74,9 ± 1,9             | 0,18                   |                 |                 |
| FC <sup>3</sup> (pulsacions/minut) |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                              | 71,3 ± 1,4             | 69,8 ± 3,3             | 0,68                   | 0,01            | 0,17            |
| 6 mesos                            | 66,8 ± 1,5             | 65,7 ± 2,7             | 0,82                   |                 |                 |

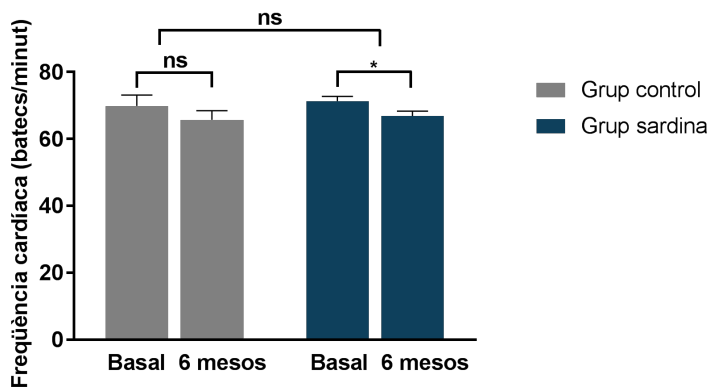
Dades expressades en mitjana ± ES

<sup>1</sup> PAS: Pressió arterial sistòlica; <sup>2</sup> PAD: Pressió arterial diastòlica; <sup>3</sup> FC: Freqüència cardíaca; <sup>4</sup>GS: grup sardina; <sup>5</sup>GC: grup control

\* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney; ‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA; † test de Wilcoxon

**Taula 35.** Pressió arterial i freqüència cardíaca a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica





ns: no significatiu, \*  $p < 0,05$

**Gràfic 5.** Disminució de la freqüència cardíaca entre l'inici i el final de la intervenció dietètica

## 6.8 Ingesta dietètica

### 6.8.1 Ingesta energètica, de macronutrients, fibra dietètica i etanol

A l'inici de l'estudi no es van trobar diferències significatives en la ingesta energètica, de macronutrients, fibra dietètica o etanol entre els dos grups (Taules 36 i 37). L'aport energètic total (AET) de mitjana a partir dels hidrats de carboni, proteïna i greixos va ser d'entre el 34%, 20% i 44% respectivament (Taula 36). Tan el GS com el GC van reportar una ingesta baixa de fibra ( $< 25\text{g}/\text{dia}$ ) (Taula 37).

Al final de la intervenció dietètica la ingesta de fibra dietètica va augmentar de manera significativa en el GS en comparació amb el GC (GS:  $+1,8 \pm 1,0 \text{ g}/\text{dia}$ , GC:  $-3,8 \pm 1,9 \text{ g}/\text{dia}$ ,  $p=0,03$ ) (Taula 37). Quan es van comparar les diferències dins de cada grup, els pacients que van seguir la dieta enriquecida amb sardina van reduir significativament la ingesta energètica

203,3 ± 82,0 kcal/dia (p=0,02), i els greixos totals 9,1 ± 2,7 g/dia (p=0,01) (Taules 36 i 37).

|                                          |                        |                        | Valors p                  |                 |                 |
|------------------------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|
|                                          | Grup sardina<br>(n=12) | Grup control<br>(n=11) | Entre<br>grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                                          |                        |                        |                           | GS <sup>2</sup> | GC <sup>3</sup> |
| Energia (kcal/dia)                       |                        |                        |                           |                 |                 |
| Basal                                    | 1829,5 ± 129,9         | 1758,5 ± 150,7         | 0,74                      | 0,02            | 0,53            |
| 6 mesos                                  | 1626,2 ± 89,2          | 1687,2 ± 128,6         | 0,30                      |                 |                 |
| Hidrats de carboni (% AET <sup>1</sup> ) |                        |                        |                           |                 |                 |
| Basal                                    | 34,6 ± 2,5             | 34,0 ± 1,6             | 0,98                      | 0,94            | 0,37            |
| 6 mesos                                  | 34,7 ± 1,5             | 32,1 ± 1,6             | 0,23                      |                 |                 |
| Proteïna (% AET)                         |                        |                        |                           |                 |                 |
| Basal                                    | 20,4 ± 1,1             | 20,0 ± 1,1             | 0,70                      | 0,50            | 0,86            |
| 6 mesos                                  | 20,1 ± 0,9             | 20,2 ± 1,0             | 0,53                      |                 |                 |
| Greixos (% AET)                          |                        |                        |                           |                 |                 |
| Basal                                    | 44,4 ± 1,9             | 43,1 ± 1,6             | 0,53                      | 0,58            | 0,25            |
| 6 mesos                                  | 43,8 ± 0,8             | 44,9 ± 0,9             | 0,60                      |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES

<sup>1</sup>AET: Aport energètic total; <sup>2</sup>GS: grup sardina; <sup>3</sup>GC: grup control

\*Diferències basals, test de U de Mann-Whitney

‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA

† test de Wilcoxon

**Taula 36.** Ingesta energètica i percentatge d'aport energètic de macronutrients a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica

|                            |                        |                        | Valors p                      |                 |                 |
|----------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|
|                            | Grup sardina<br>(n=12) | Grup control<br>(n=11) | E n t r e<br>grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                            |                        |                        |                               | GS <sup>1</sup> | GC <sup>2</sup> |
| Hidrats de carboni (g/dia) |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                      | 163,8 ± 13,9           | 146,8 ± 11,7           | 0,83                          | 0,18            | 0,18            |
| 6 mesos                    | 141,6 ± 10,8           | 136,3 ± 14,1           | 0,82                          |                 |                 |
| Proteïna (g/dia)           |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                      | 92,0 ± 6,7             | 87,3 ± 7,9             | 0,83                          | 0,24            | 0,42            |
| 6 mesos                    | 83,9 ± 4,8             | 83,5 ± 5,0             | 0,85                          |                 |                 |
| Greix (g/dia)              |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                      | 88,3 ± 4,8             | 84,4 ± 8,1             | 0,49                          | 0,01            | 0,86            |
| 6 mesos                    | 79,2 ± 4,5             | 83,7 ± 5,8             | 0,27                          |                 |                 |
| Fibra dietètica (g/dia)    |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                      | 15,5 ± 1,3             | 18,8 ± 2,5             | 0,41                          | 0,08            | 0,08            |
| 6 mesos                    | 17,3 ± 1,2             | 15,1 ± 1,5             | 0,03                          |                 |                 |
| Etanol (g/dia)             |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                      | 1,2 ± 0,8              | 8,7 ± 5,3              | 0,74                          | 0,59            | 0,47            |
| 6 mesos                    | 1,3 ± 1,0              | 7,7 ± 4,1              | 0,49                          |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES

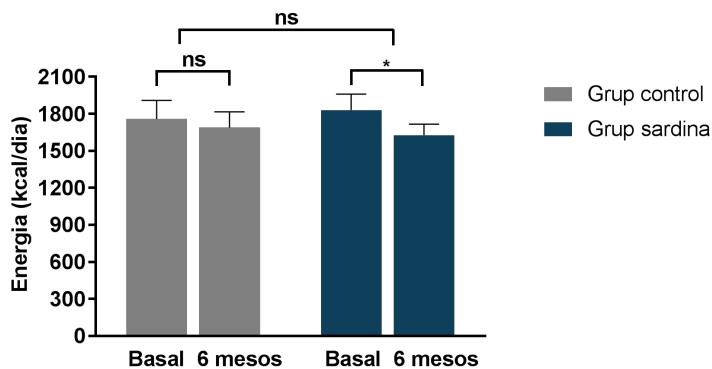
<sup>1</sup>GS: grup sardina; <sup>2</sup>GC: grup control

\* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney

‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA

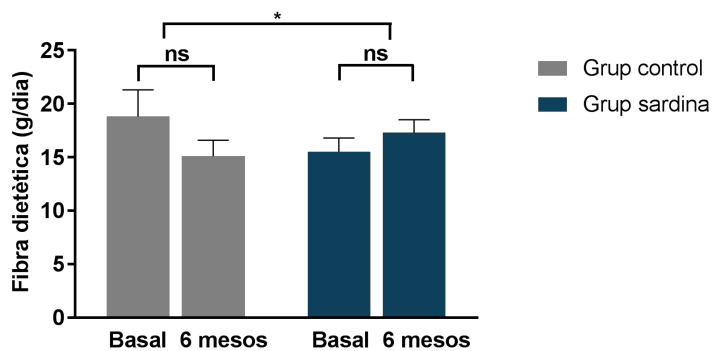
† test de Wilcoxon

**Taula 37.** Ingesta de macronutrients, fibra dietètica i etanol a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica.



ns: no significatiu, \*  $p < 0,05$

**Gràfic 6.** Modificació de la ingesta energètica entre l'inici i el final de la intervenció dietètica.



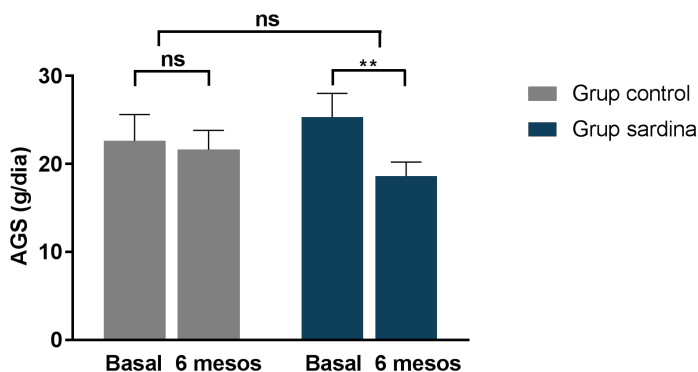
ns: no significatiu, \*  $p < 0,05$

**Gràfic 7.** Modificació de la ingesta de fibra dietètica entre l'inici i el final de la intervenció dietètica.

## 6.8.2 Ingesta de greixos

Els registres dietètics de 3 dies van revelar ingestes similars d'AGS, AGM, AGPI, AGPICL  $\omega$ -3 i d'EPA+DHA en els dos grups a l'inici de l'estudi (Taules 38 i 39). Al final de la intervenció dietètica, les ingestes dietètiques d'AGPICL  $\omega$ -3 i d'EPA+DHA van augmentar de manera significativa en el GS, tan en comparació amb el GC ( $3,1 \pm 0,2$  g/dia AGPICL  $\omega$ -3;  $2,8 \pm 0,2$  g/dia EPA+DHA,  $p < 0,001$ ) com en relació a les ingestes basals ( $p = 0,002$ ) (Taula 39, gràfics 9 i 10). L'addició de sardina a la dieta es va traduir en ingestes de  $3,5 \pm 0,2$  g/dia d'AGPICL  $\omega$ -3 i  $3,0 \pm 0,2$  g/dia d'EPA+DHA (Taula 39).

En relació a la ingesta d'AGS, va disminuir significativament en el GS, tant en percentatge d'aport energètic ( $-2,2 \pm 0,8$  % AET/dia,  $p = 0,03$ ) com en grams ( $-6,7 \pm 2,0$  g/dia,  $p = 0,003$ ), mentre que la de AGPI va augmentar un  $1,3 \pm 0,5\%$  de l'AET ( $p = 0,04$ ) (Taula 38). El GC no va modificar de manera significativa la ingesta de greixos (Taula 38 i 39).



ns: no significatiu; \*\*  $p < 0,01$

**Gràfic 8.** Disminució de la ingesta d'àcids grassos saturats entre l'inici i el final de la intervenció dietètica.

|                                        |                        |                        | Valors p               |                 |                 |
|----------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------|-----------------|
|                                        | Grup sardina<br>(n=12) | Grup control<br>(n=11) | Entre grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                                        |                        |                        |                        | GS <sup>5</sup> | GC <sup>6</sup> |
| AGS <sup>1</sup> (% AET <sup>2</sup> ) |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                                  | 12,3 ± 0,8             | 11,3 ± 0,8             | 0,49                   | 0,03            | 0,97            |
| 6 mesos                                | 10,2 ± 0,4             | 11,3 ± 0,5             | 0,06                   |                 |                 |
| AGMI <sup>3</sup> (% AET)              |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                                  | 22,8 ± 1,4             | 21,9 ± 1,0             | 0,65                   | 0,58            | 0,13            |
| 6 mesos                                | 22,7 ± 0,8             | 23,8 ± 1,2             | 0,45                   |                 |                 |
| AGPI <sup>4</sup> (% AET)              |                        |                        |                        |                 |                 |
| Basal                                  | 5,8 ± 0,4              | 6,2 ± 0,4              | 0,75                   | 0,04            | 0,72            |
| 6 mesos                                | 7,1 ± 0,5              | 6,3 ± 0,4              | 0,01                   |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES

\* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney

‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA

† test de Wilcoxon

<sup>1</sup> AGS: àcids grassos saturats; <sup>2</sup> AET: aport energètic total; <sup>3</sup> AGMI: àcids grassos monoinsaturats; <sup>4</sup> AGPI: àcids grassos poliinsaturats; <sup>5</sup> GS: grup sardina; <sup>6</sup> GC: grup control

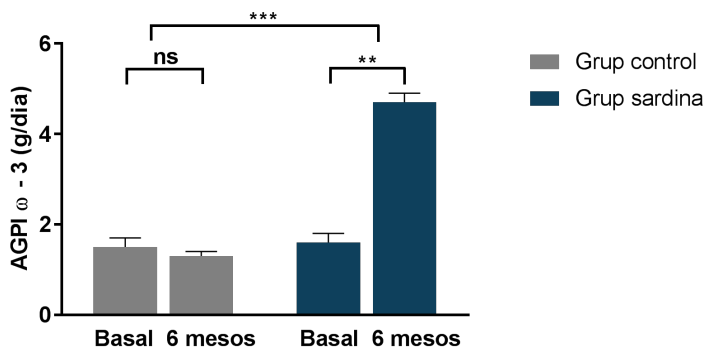
**Taula 38.** Ingesta de greixos en percentatge d'aport energètic total a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica.

|                                 |                        |                        | Valors p                      |                 |                 |
|---------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|
|                                 | Grup sardina<br>(n=12) | Grup control<br>(n=11) | E n t r e<br>grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                                 |                        |                        |                               | GS <sup>6</sup> | GC <sup>7</sup> |
| AGS <sup>1</sup> (g/dia)        |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                           | 25,3 ± 2,7             | 22,6 ± 3,0             | 0,41                          | 0,003           | 0,72            |
| 6 mesos                         | 18,6 ± 1,6             | 21,6 ± 2,2             | 0,11                          |                 |                 |
| AGMI <sup>2</sup> (g/dia)       |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                           | 44,8 ± 2,3             | 42,0 ± 3,3             | 0,26                          | 0,07            | 0,66            |
| 6 mesos                         | 40,6 ± 1,9             | 40,6 ± 1,9             | 0,25                          |                 |                 |
| AGPI <sup>3</sup> (g/dia)       |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                           | 11,4 ± 0,6             | 12,7 ± 1,6             | 0,93                          | 0,21            | 0,79            |
| 6 mesos                         | 13,0 ± 1,2             | 12,0 ± 1,5             | 0,21                          |                 |                 |
| AGPICL ω-3 <sup>4</sup> (g/dia) |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                           | 1,6 ± 0,2              | 1,5 ± 0,2              | 0,15                          | 0,002           | 0,16            |
| 6 mesos                         | 4,7 ± 0,2              | 1,3 ± 0,1              | <0,001                        |                 |                 |
| EPA+DHA <sup>5</sup> (g/dia)    |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                           | 0,4 ± 0,1              | 0,2 ± 0,02             | 0,60                          | 0,002           | 0,12            |
| 6 mesos                         | 3,2 ± 0,2              | 0,4 ± 0,1              | <0,001                        |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES; \* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney; ‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA; † test de Wilcoxon

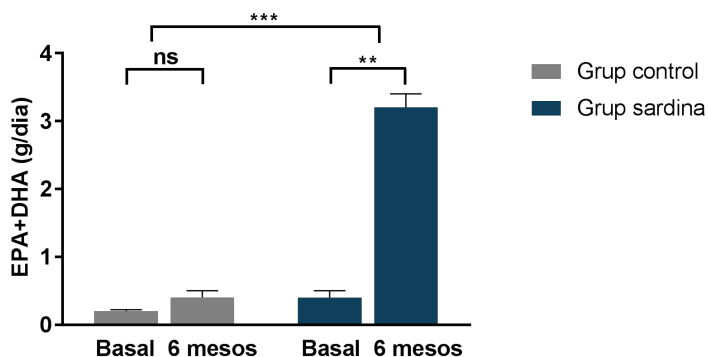
<sup>1</sup>AGS: àcids grassos saturats; <sup>2</sup>AGMI: àcids grassos monoinsaturats; <sup>3</sup>AGPI: àcids grassos poliinsaturats; <sup>4</sup>AGPICL ω-3: àcids grassos poliinsaturats de cadena llarga ω-3; <sup>5</sup>EPA+DHA: àcid eicosapentanoic+àcid docosahexanoic; <sup>6</sup>GS: grup sardina; <sup>7</sup>GC: grup control

**Taula 39.** Ingesta de greixos en g/dia a l'inici i als 6 mesos de l'estudi.



ns: no significatiu; \*\*  $p < 0,01$

**Gràfic 9.** Augment de la ingesta d'AGPICL  $\omega$ -3 entre l'inici i el final de la intervenció dietètica.



ns: no significatiu; \*\*  $p < 0,01$  ; \*\*\*  $p < 0,001$

**Gràfic 10.** Augment de la ingesta d'EPA+DHA entre l'inici i el final de la intervenció dietètica.



6.8.3 Ingesta d'aminoàcids

A l'inici de l'estudi les ingestes d'AACs van ser similars entre els dos grups (Taules 40-42). La ingesta de taurina abans de la intervenció dietètica va ser d'entre 54 i 60 mg/dia de mitjana. La dieta enriquida en sardina va traduir-se en un augment significatiu de la ingesta de taurina (+107,2 ± 10,4 mg/dia, Taula 40) en comparació tan amb la ingesta basal (p<0,001) com també amb la dieta control (p=0,002) (Taula 40, Gràfic 11). Les ingestes de leucina i metionina també van incrementar-se al final de la intervenció dietètica en el GS respecte el grup control fins al llindar de la significància (p=0,05) (Taules 41 i 42).

|                         |                        |                        | Valors p                      |                 |                 |
|-------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|
|                         | Grup sardina<br>(n=12) | Grup control<br>(n=11) | E n t r e<br>grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                         |                        |                        |                               | GS <sup>1</sup> | GC <sup>2</sup> |
| Taurina (mg/dia)        |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                   | 60,1 ± 10,9            | 53,6 ± 7,6             | 0,98                          | 0,002           | 0,53            |
| 6 mesos                 | 168,2 ± 9,4            | 58,7 ± 6,3             | <0,001                        |                 |                 |
| Tirosina (g/dia)        |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                   | 2,4 ± 0,2              | 2,4 ± 0,2              | 0,93                          | 0,24            | 0,37            |
| 6 mesos                 | 2,6 ± 0,1              | 2,2 ± 0,1              | 0,09                          |                 |                 |
| Valina+Tirosina (g/dia) |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                   | 6,0 ± 0,4              | 6,1 ± 0,5              | 0,98                          | 0,27            | 0,33            |
| 6 mesos                 | 6,6 ± 0,3              | 5,7 ± 0,4              | 0,10                          |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES; \* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney; ‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA; † test de Wilcoxon

<sup>1</sup>GS: grup sardina; <sup>2</sup>GC: grup control

Taula 40. Ingesta d'aminoàcids a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica

|                      |                        |                        | Valors p                      |                 |                 |
|----------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|
|                      | Grup sardina<br>(n=12) | Grup control<br>(n=11) | E n t r e<br>grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                      |                        |                        |                               | GS <sup>1</sup> | GC <sup>2</sup> |
| Lisina (g/dia)       |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                | 4,7 ± 0,3              | 4,8 ± 0,4              | 0,83                          | 0,10            | 0,40            |
| 6 mesos              | 5,5 ± 0,3              | 4,6 ± 0,4              | 0,06                          |                 |                 |
| Metionina (g/dia)    |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                | 1,6 ± 0,1              | 1,5 ± 0,1              | 0,98                          | 0,08            | 0,66            |
| 6 mesos              | 1,8 ± 0,1              | 1,5 ± 0,1              | 0,05                          |                 |                 |
| Fenilalanina (g/dia) |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                | 3,0 ± 0,2              | 3,0 ± 0,2              | 0,98                          | 0,31            | 0,11            |
| 6 mesos              | 3,2 ± 0,2              | 2,7 ± 0,2              | 0,15                          |                 |                 |
| Treonina (g/dia)     |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                | 2,8 ± 0,2              | 2,8 ± 0,2              | 0,98                          | 0,18            | 0,33            |
| 6 mesos              | 3,1 ± 0,1              | 2,6 ± 0,2              | 0,07                          |                 |                 |
| Triptòfan (mg/dia)   |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                | 854,3 ± 47,9           | 847,5 ± 65,8           | 0,93                          | 0,81            | 0,21            |
| 6 mesos              | 875,9 ± 42,2           | 793,8 ± 34,1           | 0,13                          |                 |                 |
| Valina (g/dia)       |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                | 3,7 ± 0,2              | 3,7 ± 0,3              | 0,98                          | 0,16            | 0,25            |
| 6 mesos              | 4,0 ± 0,2              | 3,4 ± 0,2              | 0,10                          |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES; \* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney; ‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA; † test de Wilcoxon

**Taula 41.** Ingesta d'aminoàcids a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica

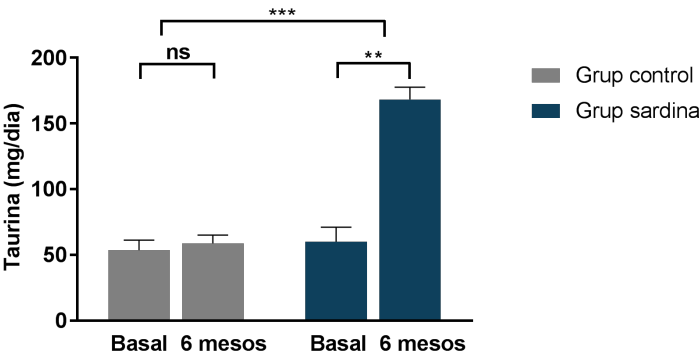
|                    |                        |                        | Valors p                      |                 |                 |
|--------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|
|                    | Grup sardina<br>(n=12) | Grup control<br>(n=11) | E n t r e<br>grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                    |                        |                        |                               | GS <sup>1</sup> | GC <sup>2</sup> |
| Arginina (g/dia)   |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal              | 3,7 ± 0,3              | 3,8 ± 0,3              | 0,74                          | 0,27            | 0,29            |
| 6 mesos            | 4,1 ± 0,2              | 3,5 ± 0,3              | 0,29                          |                 |                 |
| Histidina (g/dia)  |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal              | 1,8 ± 0,1              | 1,9 ± 0,1              | 0,65                          | 0,18            | 0,18            |
| 6 mesos            | 2,0 ± 0,1              | 1,7 ± 0,1              | 0,06                          |                 |                 |
| Isoleucina (g/dia) |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal              | 3,4 ± 0,2              | 3,5 ± 0,3              | 0,81                          | 0,35            | 0,37            |
| 6 mesos            | 3,7 ± 0,2              | 3,2 ± 0,2              | 0,26                          |                 |                 |
| Leucina (g/dia)    |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal              | 5,3 ± 0,4              | 5,3 ± 0,4              | 0,83                          | 0,18            | 0,25            |
| 6 mesos            | 5,8 ± 0,3              | 4,9 ± 0,3              | 0,05                          |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES

<sup>1</sup>GS: grup sardina; <sup>2</sup>GC: grup control

\* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney; ‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA; † test de Wilcoxon

**Taula 42.** Ingesta d'aminoàcids a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica



ns: no significatiu; \*\*p<0,01; \*\*\* p<0,001

**Gràfic 11.** Modificació de la ingesta de taurina entre l'inici i el final de la intervenció dietètica

6.8.4 **Ingesta de vitamines i minerals**

A l'inici de l'estudi no es van trobar diferències significatives en les ingestes de vitamines i minerals entre els GS i el GC (Taules 43 i 44). Al finalitzar la intervenció dietètica, les ingestes de vitamina D i vitamina B<sub>12</sub> van augmentar significativament en els pacients que van seguir la dieta enriquida en sardina en comparació amb els que van seguir la dieta control (Gràfics 12 i 13).

|                          |                        |                        | Valors p                      |                 |                 |
|--------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|
|                          | Grup sardina<br>(n=12) | Grup control<br>(n=11) | E n t r e<br>grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                          |                        |                        |                               | GS <sup>1</sup> | GC <sup>2</sup> |
| Vitamina A (µg E.R./dia) |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                    | 603,3 ± 94,7           | 378,1 ± 64,4           | 0,08                          | 0,20            | 0,13            |
| 6 mesos                  | 540,0 ± 71,1           | 520,0 ± 81,0           | 0,97                          |                 |                 |

continua a la següent pàgina

|                                   |                        |                        | Valors p                      |                 |                 |
|-----------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|
|                                   | Grup sardina<br>(n=12) | Grup control<br>(n=11) | E n t r e<br>grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                                   |                        |                        |                               | GS <sup>1</sup> | GC <sup>2</sup> |
| Vitamina D (µg/dia)               |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                             | 5,8 ± 0,4              | 2,7 ± 0,8              | 0,74                          | 0,005           | 0,24            |
| 6 mesos                           | 7,1 ± 0,5              | 2,8 ± 0,7              | 0,002                         |                 |                 |
| Vitamina E (µg/dia)               |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                             | 9,3 ± 0,8              | 9,1 ± 0,8              | 0,85                          | 0,11            | 0,50            |
| 6 mesos                           | 11,0 ± 0,8             | 10,2 ± 0,8             | 0,44                          |                 |                 |
| Vitamina B <sub>9</sub> (mg/dia)  |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                             | 224,1 ± 23,8           | 254,9 ± 36,5           | 1,00                          | 0,80            | 0,66            |
| 6 mesos                           | 237,8 ± 19,2           | 252,1 ± 43,6           | 0,80                          |                 |                 |
| Vitamina B <sub>12</sub> (mg/dia) |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                             | 8,6 ± 2,5              | 6,5 ± 0,8              | 0,74                          | 0,24            | 0,29            |
| 6 mesos                           | 12,0 ± 1,3             | 9,2 ± 4,3              | 0,004                         |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES

<sup>1</sup>GS: grup sardina; <sup>2</sup>GC: grup control

\* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney

‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA

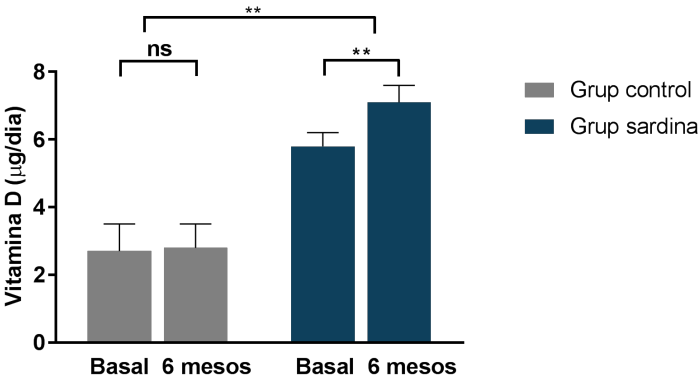
† test de Wilcoxon

**Taula 43.** Ingesta de vitamines a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica

|                  | Grup sardina<br>(n=12) | Grup control<br>(n=11) | E n t r e<br>grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|
|                  |                        |                        |                               | GS <sup>1</sup> | GC <sup>2</sup> |
| Sodi (mg/dia)    |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal            | 2235,2 ± 306,3         | 2181,0 ± 306,5         | 0,97                          | 0,14            | 0,08            |
| 6 mesos          | 1711,5 ± 186,3         | 1760,2 ± 222,2         | 0,74                          |                 |                 |
| Calci (mg/dia)   |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal            | 718,4 ± 104,2          | 639,3 ± 66,9           | 0,74                          | 0,17            | 0,66            |
| 6 mesos          | 782,2 ± 61,3           | 651,8 ± 62,8           | 0,19                          |                 |                 |
| Ferro (mg/dia)   |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal            | 10,3 ± 1,0             | 11,2 ± 0,7             | 0,48                          | 0,33            | 0,42            |
| 6 mesos          | 10,9 ± 0,8             | 9,8 ± 0,8              | 0,39                          |                 |                 |
| Magnesi (mg/dia) |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal            | 239,1 ± 25,5           | 251,2 ± 22,3           | 0,32                          | 0,17            | 0,93            |
| 6 mesos          | 258,6 ± 13,06          | 248,6 ± 15,6           | 0,63                          |                 |                 |

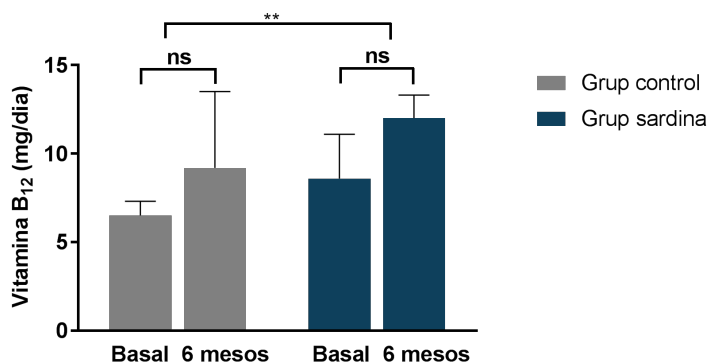
Dades expressades en mitjana ± ES; \* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney; ‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA; † test de Wilcoxon

Taula 44. Ingesta de minerals a l'inici i als 6 mesos de l'estudi



ns: no significatiu  
\*\* p<0,01

Gràfic 12. Increment de la ingesta de vitamina D entre l'inici i el final de l'estudi



ns: no significatiu; \*\*  $p < 0,01$

**Gràfic 13.** Increment de la ingesta de vitamina B<sub>12</sub> entre l'inici i el final de la intervenció dietètica

## 6.9 Composició d'àcids grassos en membranes d'eritròcits

A l'inici de l'estudi, els dos grups van presentar una CAGME similar (Taules 45 i 46). Al final de la intervenció dietètica, els pacients del GS van incrementar significativament les concentracions d'EPA ( $+0,9 \pm 0,2\%$ ,  $p=0,001$ ) i d'DHA ( $+1,7 \pm 0,2\%$ ,  $p<0,001$ ), traduint-se en un increment significatiu de l'IO3 a les membranes d'eritròcits de fins al 8% de mitjana ( $+2,6 \pm 0,4\%$ ,  $p<0,001$ ). L'única modificació en la CAGME del GC va ser l'increment significatiu de l'DHGLA ( $p=0,03$ ) (Taula 46). L'AA va disminuir significativament en el GS (AA:  $-0,9 \pm 0,3\%$ ,  $p=0,02$ ) (Taula 46, Gràfic 16), tot i això, es va observar un increment net del total AGPCL ( $\omega-3 + \omega-6$ ) a les membranes dels eritròcits (Taula 46).

Quan es van comparar els dos grups, el GS va mostrar un augment significatiu de l'EPA ( $p=0,008$ ), l'DHA ( $p=0,001$ ), l'IO3 ( $p=0,001$ ) (Gràfic 14), els AGPCL  $\omega-3$  ( $p<0,001$ ) i els AGPCL totals ( $\omega-3 + \omega-6$ ) ( $p=0,02$ ) a

les membranes d'eritròcits; com també una disminució de l'AA ( $p=0,04$ ) i l' DHGLA ( $p=0,04$ ) en comparació amb el GC (Taula 46, Gràfic 16).

|                             |                        |                        | Valors p                      |                 |                 |
|-----------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|
|                             | Grup sardina<br>(n=17) | Grup control<br>(n=15) | E n t r e<br>grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                             |                        |                        |                               | GS <sup>5</sup> | GC <sup>6</sup> |
| EPA <sup>1</sup> (%)        |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                       | 0,6 ± 0,1              | 0,7 ± 0,1              | 0,26                          | 0,001           | 0,51            |
| 6 mesos                     | 1,5 ± 0,2              | 0,9 ± 0,1              | 0,008                         |                 |                 |
| DHA <sup>2</sup> (%)        |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                       | 4,7 ± 0,2              | 5,1 ± 0,2              | 0,35                          | <0,001          | 0,11            |
| 6 mesos                     | 6,4 ± 0,3              | 5,5 ± 0,3              | 0,001                         |                 |                 |
| AGPICL ω-3 <sup>3</sup> (%) |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                       | 6,8 ± 0,3              | 7,5 ± 0,3              | 0,19                          | <0,001          | 0,11            |
| 6 mesos                     | 11,6 ± 0,4             | 8,2 ± 0,5              | <0,001                        |                 |                 |
| IO3 <sup>4</sup> (%)        |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                       | 5,3 ± 0,3              | 5,8 ± 0,3              | 0,26                          | <0,001          | 0,20            |
| 6 mesos                     | 8,0 ± 0,4              | 6,4 ± 0,5              | 0,001                         |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES

<sup>1</sup>EPA: àcid eicosapentanoic; <sup>2</sup>DHA: àcid docosahexanoic; <sup>3</sup>AGPICL ω-3: àcids grassos poliinsaturats de cadena llarga ω-3; <sup>4</sup>IO3: índex omega-3; <sup>5</sup>GS: grup sardina; <sup>6</sup>GC: grup control

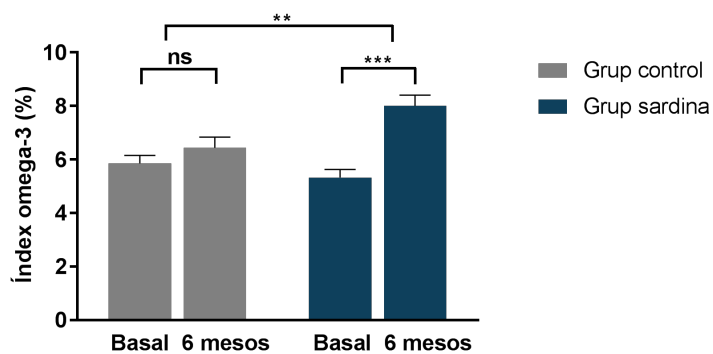
\* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney

‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA

† test de Wilcoxon

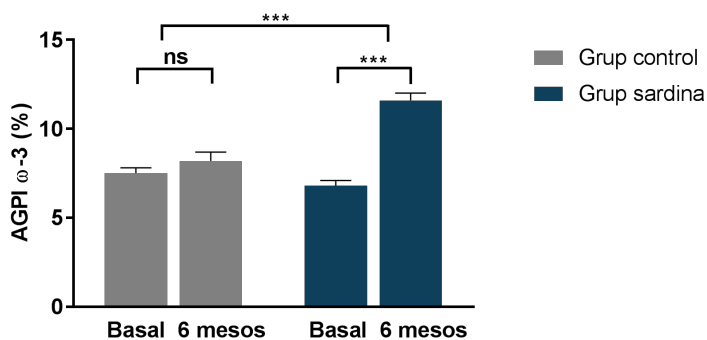
**Taula 45.** Composició dels àcids grassos en membranes d'eritròcits a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica





ns: no significatiu; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$

**Gràfic 14.** Increment de l'IO3 entre l'inici i al final de la intervenció dietètica



ns: no significatiu; \*\*\*  $p < 0,001$

**Gràfic 15.** Increment dels AGPICL  $\omega-3$  en membranes d'eritròcits a l'inci i al final de la intervenció dietètica

|                                         |                        |                        | Valors p                      |                 |                 |
|-----------------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|
|                                         | Grup sardina<br>(n=17) | Grup control<br>(n=15) | E n t r e<br>grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                                         |                        |                        |                               | GS <sup>5</sup> | GC <sup>6</sup> |
| AA <sup>1</sup> (%)                     |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                                   | 16,4 ± 0,5             | 17,2 ± 0,7             | 0,28                          | 0,02            | 0,39            |
| 6 mesos                                 | 15,4 ± 0,5             | 17,1 ± 0,6             | 0,04                          |                 |                 |
| DHGLA <sup>2</sup> (%)                  |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                                   | 1,7 ± 0,1              | 1,7 ± 0,1              | 0,63                          | 0,34            | 0,03            |
| 6 mesos                                 | 1,7 ± 0,1              | 1,7 ± 0,1              | 0,04                          |                 |                 |
| AGPICL ω-6 <sup>3</sup> (%)             |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                                   | 34,1 ± 0,9             | 34,8 ± 1,0             | 0,44                          | 0,05            | 0,30            |
| 6 mesos                                 | 32,8 ± 0,9             | 34,6 ± 0,8             | 0,12                          |                 |                 |
| AGPICLω-3 <sup>4</sup> + AGPICL ω-6 (%) |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                                   | 40,9 ± 0,8             | 42,2 ± 1,1             | 0,17                          | <0,001          | 0,95            |
| 6 mesos                                 | 44,4 ± 0,8             | 42,8 ± 0,7             | 0,02                          |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES

<sup>1</sup>AA: àcid araquidònic

<sup>2</sup>DHGLA: àcid dihomio-γ-linolenic

<sup>3</sup>AGPCL ω-6: àcids grassos poliinsaturats de cadena llarga ω-6

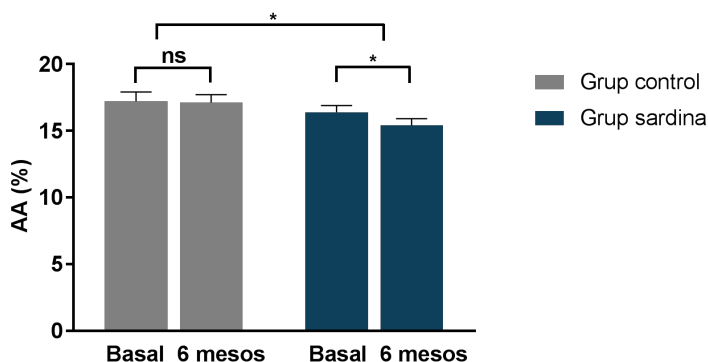
<sup>4</sup>AGPCL ω-3: àcids grassos poliinsaturats de cadena llarga ω-3

<sup>5</sup>GS: grup sardina

<sup>6</sup>GC: grup control

\* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney; ‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA; † test de Wilcoxon

**Taula 46.** Composició dels àcids grassos en membranes d'eritròcits a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica



ns: no significatiu; \*  $p < 0,05$

**Gràfic 16.** Disminució de l'àcid araquidònic en membranes d'eritròcits entre l'inici i el final de la intervenció dietètica

## 6.10 Composició de la microbiota intestinal

Les concentracions dels grups bacterians analitzats comparant el GS i el GC als 6 mesos no van modificar-se significativament (Taules 47 i 48). Tot i això si que es van observar modificacions significatives en els bacteris del filum *Firmicutes*, el ratio *Firmicutes/Bacteroidetes*, l'*E.coli* i el grup *Bacteroides-Prevotella* al final de l'estudi respecte els valors basals (Taules 47 i 48). Mentre que el filum *Firmicutes* va disminuir en els dos grups (Gràfic 17), el ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* només va disminuir en el GS ( $p=0,04$ ), (Gràfic 18) i va mostrar una tendència disminuir en el GC (Taula 47). Les concentracions d'*E. coli* en canvi, van augmentar significativament en els dos grups al final de l'estudi ( $p=0,04$ ), (Gràfic 19). A més, les proporcions del grup *Bacteroides-Prevotella* van incrementar-se especialment en el GS ( $p=0,004$ ), (Gràfic 20).

|                                                    |                        |                        | Valors p                      |                 |                 |
|----------------------------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|
|                                                    | Grup sardina<br>(n=17) | Grup control<br>(n=15) | E n t r e<br>grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                                                    |                        |                        |                               | GS <sup>3</sup> | GC <sup>4</sup> |
| Fílum <i>Firmicutes</i> <sup>1</sup>               |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                                              | 0,22 ± 0,002           | 0,22 ± 0,03            | 0,56                          | 0,01            | 0,03            |
| 6 mesos                                            | 0,16 ± 0,02            | 0,15 ± 0,01            | 0,11                          |                 |                 |
| Fílum <i>Bacteroidetes</i> <sup>1</sup>            |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                                              | 0,19 ± 0,03            | 0,12 ± 0,02            | 0,19                          | 1,00            | 0,08            |
| 6 mesos                                            | 0,17 ± 0,01            | 0,18 ± 0,01            | 0,63                          |                 |                 |
| Ratio <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> <sup>2</sup> |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                                              | 2,59 ± 0,7             | 1,99 ± 0,5             | 1,00                          | 0,04            | 0,06            |
| 6 mesos                                            | 1,19 ± 0,1             | 0,92 ± 0,1             | 0,75                          |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES

<sup>1</sup>còpies del gen 16S rRNA del grup bacteria / còpies del gen 16S rRNA de les bactèries totals

<sup>2</sup>còpies del gen 16S rRNA de Firmicutes/ còpies del gen 16S rRNA gen de Bacteroidetes

<sup>3</sup>GS: grup sardina

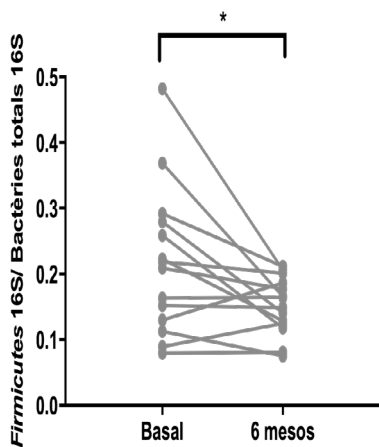
<sup>4</sup>GC: grup control

\* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney

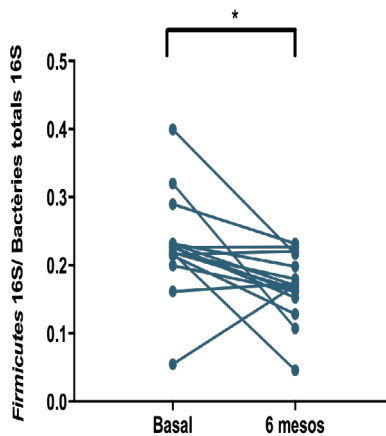
‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA

† test de Wilcoxon

**Taula 47.** Composició de la microbiota intestinal a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica



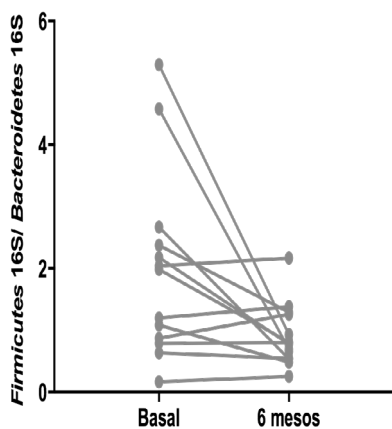
a)



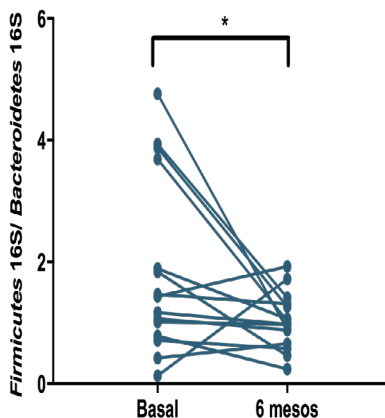
b)

\*  $p < 0,05$

**Gràfic 17.** Modificació de les concentracions de bacteries del fílum *Firmicutes* al grup control (a) i al grup sardina (b) entre l'inici i el final de la intervenció dietètica



a)



b)

\*  $p < 0,05$

**Gràfic 18.** Modificació del ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* al grup control (a) i al grup sardina (b) entre l'inici i el final de la intervenció dietètica

|                                                   |                        |                        | Valors p                      |                 |                 |
|---------------------------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|
|                                                   | Grup sardina<br>(n=17) | Grup control<br>(n=15) | E n t r e<br>grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                                                   |                        |                        |                               | GS <sup>5</sup> | GC <sup>6</sup> |
| Grup <i>Bacteroides-Prevotella</i> <sup>1</sup>   |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                                             | 0,04 ± 0,006           | 0,05 ± 0,008           | 0,56                          | 0,004           | 0,12            |
| 6 mesos                                           | 0,06 ± 0,008           | 0,06 ± 0,01            | 0,85                          |                 |                 |
| Grup <i>E.rectale-C.coccoides</i> <sup>1, 2</sup> |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                                             | 0,09 ± 0,02            | 0,09 ± 0,02            | 0,75                          | 0,65            | 0,78            |
| 6 mesos                                           | 0,08 ± 0,02            | 0,09 ± 0,02            | 0,97                          |                 |                 |
| <i>F. prausnitzii</i> <sup>1, 3</sup>             |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                                             | 0,02 ± 0,003           | 0,02 ± 0,004           | 0,73                          | 0,11            | 0,73            |
| 6 mesos                                           | 0,03 ± 0,005           | 0,02 ± 0,006           | 0,54                          |                 |                 |
| <i>E. coli</i> <sup>1, 4</sup>                    |                        |                        |                               |                 |                 |
| Basal                                             | 0,0008 ± 0,0002        | 0,02 ± 0,02            | 0,93                          | 0,04            | 0,04            |
| 6 mesos                                           | 0,005 ± 0,002          | 0,08 ± 0,08            | 0,35                          |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES

<sup>1</sup>còpies del gen 16S rRNA del grup bacteria / còpies del gen16S rRNA de les bactèries totals

<sup>2</sup>*E.rectale-C.coccoides*: *Eubacterium rectale-Clostridium coccoides*

<sup>3</sup>*F. Prausnitzii*: *Faecalibacterium prausnitzii*

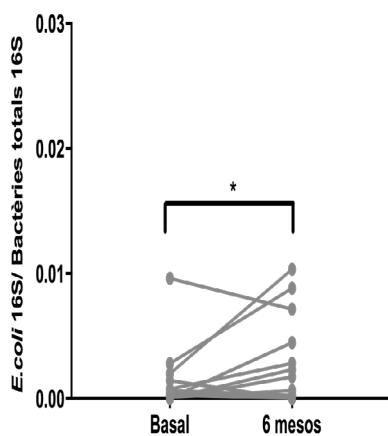
<sup>4</sup>*E.coli*: *Escherichia coli*

<sup>5</sup>GS: grup sardina

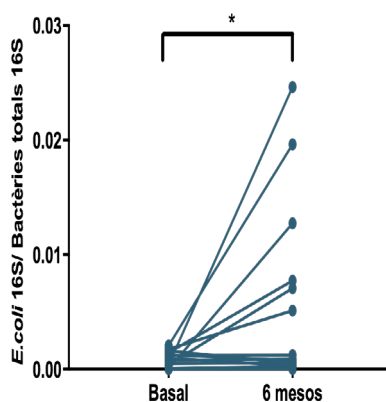
<sup>6</sup>GC: grup control

\* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney; ‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA; † test de Wilcoxon

**Taula 48.** Composició de la microbiota intestinal a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica



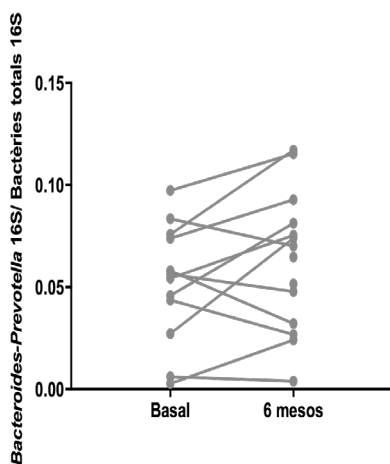
a)



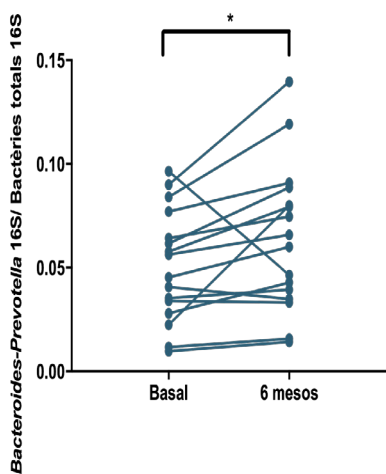
b)

\*p<0,05

**Gràfic 19.** Modificació de les concentracions de bàcteries del grup *E. coli* al grup control (a) i al grup sardina (b) entre l'inici i el final de la intervenció dietètica



a)



b)

\*p<0,05

**Gràfic 20.** Modificació de les concentracions de bàcteries del grup *Bacteroides-Prevotella* al grup control (a) i al grup sardina (b) entre l'inici i el final de la intervenció dietètica

6.11 Qualitat de vida

Abans d’iniciar la intervenció dietètica ambdós grups de pacients van obtenir puntuacions d’entre 0,8 i 0,9 punts sobre 1 en l’avaluació de la QV global, sense observar-se diferències significatives entre ells (Taula 49). En relació a l’EVA, els pacients tan del GS com del GC van valorar el seu estat de salut amb valors de notable alt, entre 77 i 79 sobre 100. Al finalitzar la intervenció dietètica, es va observar una tendència en els pacients del GS a augmentar la seva puntuació global de la QV, mentre que en els pacients del GC no es va modificar (Taula 49).

|                  |                        |                        | Valors p                  |                 |                 |
|------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|
|                  | Grup sardina<br>(n=16) | Grup control<br>(n=14) | Entre<br>grups<br>(* / ‡) | Intra-grup (†)  |                 |
|                  |                        |                        |                           | GS <sup>2</sup> | GC <sup>3</sup> |
| Euroqol EQ5D     |                        |                        |                           |                 |                 |
| Basal            | 0,8 ± 0,2              | 0,9 ± 0,1              | 0,56                      | 0,06            | 0,72            |
| 6 mesos          | 0,9 ± 0,1              | 0,9 ± 0,2              | 0,60                      |                 |                 |
| EVA <sup>1</sup> |                        |                        |                           |                 |                 |
| Basal            | 77 ± 1,9               | 79 ± 1,8               | 0,79                      | 0,32            | 0,24            |
| 6 mesos          | 79 ± 1,4               | 83 ± 1,6               | 0,32                      |                 |                 |

Dades expressades en mitjana ± ES  
<sup>1</sup>EVA: Escala Visual Analògica; <sup>2</sup>GS: grup sardina; <sup>3</sup>GC: grup control  
\* Diferències basals, test de U de Mann-Whitney; ‡ Diferències als 6 mesos, ANCOVA; † test de Wilcoxon

Taula 49. Avaluació de la qualitat de vida global a l’inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica

Pel que fa als diferents paràmetres considerats en la QV global, entre el 69 i el 100% dels pacients dels dos grups van reportar no tenir problemes de



mobilitat, cura personal, activitats quotidianes, dolor/discomfort o ansietat/depressió a l'inici de l'estudi, i no es van detectar diferències significatives entre els dos grups en cap dels paràmetres valorats (Taules 50 i 51).

|                       | Grup sardina<br>(n=16) | Grup control<br>(n=14) | Valor p * |
|-----------------------|------------------------|------------------------|-----------|
| Mobilitat basal       |                        |                        |           |
| Cap problema          | 13 (81,3%)             | 11 (78,6%)             | 0,85      |
| Alguns problemes      | 3 (18,7%)              | 3 (21,4%)              |           |
| Mobilitat 6 mesos     |                        |                        |           |
| Cap problema          | 15 (93,7%)             | 12 (85,7%)             | 0,46      |
| Alguns problemes      | 1 (6,3%)               | 2 (14,3%)              |           |
| Cura personal basal   |                        |                        |           |
| Cap problema          | 15 (93,7%)             | 14 (100%)              | 0,34      |
| Alguns problemes      | 1 (6,3%)               | 0 (0%)                 |           |
| Cura personal 6 mesos |                        |                        |           |
| Cap problema          | 15 (93,7%)             | 14 (100%)              | 0,34      |
| Alguns problemes      | 1 (6,3%)               | 0 (0%)                 |           |

\* Prova de X<sup>2</sup>

**Taula 50.** Avaluació dels paràmetres de mobilitat i cura personal a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica

Al finalitzar la intervenció dietètica, els pacients tant del GS com del GC van reportar menys problemes en la mobilitat, la cura personal i les activitats quotidianes, sense ser significatius aquests canvis (Taules 50 i 51). En el paràmetre de dolor/discomfort, el GS va disminuir el nombre de pacients que van reportar tenir alguns problemes de 5 a l'inici a 1 al final ( $p=0,08$ ); mentre que en el GC va augmentar de 3 pacients a l'inici que van reportar dolor/discomfort a 4 pacients al final. En cap cas les modificacions en els

paràmetres de QV van ser significatives (Taula 50 i 51).

|                                | Grup sardina<br>(n=16) | Grup control<br>(n=14) | Valor p * |
|--------------------------------|------------------------|------------------------|-----------|
| Activitats quotidianes basal   |                        |                        |           |
| Cap problema                   | 14 (87,5%)             | 13 (92,9%)             | 0,62      |
| Molts problemes                | 2 (12,5%)              | 1 (7,1%)               |           |
| Activitats quotidianes 6 mesos |                        |                        |           |
| Cap problema                   | 15 (93,7%)             | 14 (100%)              | 0,34      |
| Molts problemes                | 1 (6,3%)               | 0 (0%)                 |           |
| Dolor/discomfort basal         |                        |                        |           |
| Cap problema                   | 11 (68,8%)             | 10 (76,9%)             | 0,62      |
| Molts problemes                | 5 (31,3%)              | 3 (21,4%)              |           |
| Dolor/discomfort 6 mesos       |                        |                        |           |
| Cap problema                   | 15 (93,7%)             | 9 (69,2%)              | 0,08      |
| Molts problemes                | 1 (6,3%)               | 4 (28,5%)              |           |
| Ansietat/depressió basal       |                        |                        |           |
| Cap problema                   | 11 (68,8%)             | 12 (85,7%)             | 0,27      |
| Molts problemes                | 5 (31,2%)              | 2 (14,3%)              |           |
| Ansietat/depressió 6 mesos     |                        |                        |           |
| Cap problema                   | 13 (81,3%)             | 10 (76,9%)             | 0,53      |
| Molts problemes                | 3 (18,7%)              | 4 (28,5%)              |           |

\* Prova de X<sup>2</sup>

**Taula 51.** Avaluació dels paràmetres d'activitats quotidianes, dolor/discomfort i ansietat/depressió a l'inici i als 6 mesos de la intervenció dietètica



## Discussió

Segons el nostre coneixement, l'estudi Pilchardus és el primer estudi dut a terme en pacients amb DM2 sense tractament antidiabètic per investigar els efectes d'una dieta enriquida en sardiny en el control glucèmic i la MI. En aquest sentit, el nostre estudi aporta resultats novedosos en el camp de la recerca nutricional en la DM2.

### 7.1 Disminució de la insulinèmia i el HOMA-IR sense modificació del control glucèmic

L'Estudi Pilchardus va trobar una millora de la insulinèmia i la RI en els pacients dels dos grups, que es va traduir en disminucions marginals i similars del control glucèmic en resposta a les dues intervencions dietètiques. Tot i que el GS va presentar les reduccions més grans respecte el valors basals d'insulina i HOMA-IR; el GC també va millorar aquests paràmetres.

Estudis anteriors en pacients amb DM2 van mostrar que la ingesta diària de peix blau durant 2-8 setmanes no modificava (275) o augmentava lleugerament les concentracions de glucosa en sang (274,276). Contrastant amb aquests estudis (274,276), el nostre estudi suggereix que una dieta enriquida amb sardina, incorporant únicament un tipus de peix blau, no té efectes deleteris sobre el control glucèmic de pacients amb DM2 sense tractament amb antidiabètics orals; i durant un període d'intervenció suficientment llarg per observar aquests canvis. Aquests tres estudis són els únics disponibles fins al moment dels efectes del peix blau en la DM2, i degut a que els pacients seguien tractament amb antidiabètics orals i les intervencions dietètiques van ser menors de 3 mesos (274-276), el període mínim per poder observar canvis en l'HbA1c, la comparació que es pot fer amb el nostre estudi és limitada.

En pacients amb prediabetis, un estudi que va investigar els efectes de la ingesta de peix blau 3 cops a la setmana juntament amb la ingesta de cereals integrals i nabius, tot i no trobar una reducció de les concentracions de glucosa i insulina en dejú, només el grup de peix blau + nabius + cereals integrals va disminuir els valors de glucèmia després d'una TTOG, en comparació amb el grup que només va incloure cereals integrals a la dieta i el grup control. Els pacients d'aquest estudi no seguien tractament amb antidiabètics i el temps d'intervenció va ser de 3 mesos, però en aquest cas no es pot separar l'efecte aïllat del peix blau i s'ha de considerar l'efecte global del patró dietètic (277).

En el nostre estudi, els dos grups van disminuir els valors d'HbA1c al final de la intervenció dietètica respecte els valors basals, sent només significativa la reducció en el GC. Tot i això la diferència respecte el basal va ser similar en els dos grups (GS:  $-0,2\% \pm 0,1$ ; GC:  $-0,3\% \pm 0,1$ ). Un punt important a destacar és que ambdós grups van aconseguir un bon control glucèmic al final de l'estudi (HbA1c entre 6,6 i 6,4% de mitjana). Un dels factors que pot haver interferit en els resultats respecte el control glucèmic, és la dificultat per establir en quin estadi de la DM2 es trobava cada pacient, i per tant la influència del propi deteriorament de la malaltia en observar canvis més significatius en els valors de glucèmia.

En relació a la insulina i el HOMA-IR, tan el GS com el GC van presentar una disminució, que es va associar amb una baixa pèrdua de pes corporal no significativa. Aquests resultats difereixen de la majoria d'estudis, on la reducció de la insulina i/o HOMA-IR va anar acompanyada d'una pèrdua de pes moderada o elevada d'entre 4 i 6 kg (285-288), i en alguns casos va ser el principal factor o un predictor de la millora de la RI (286,288). Un dels factors principals que s'ha de tenir en compte en els estudis d'intervenció dietètica és la dificultat per separar els efectes deguts a la pèrdua de pes associada a la restricció calòrica, que s'aplica en la majoria d'estudis, dels relacionats amb els nutrients/aliments concrets de la intervenció dietètica. De manera interessant, hi ha estudis que han descrit efectes beneficiosos de la ingesta de peix blau en la glucèmia i la insulinèmia independents de la pèrdua de pes (287) i en la RI mantenint el pes corporal (304). Tot i això diversos estudis en pacients amb sobrepès/obesitat han trobat efectes neutres en el metabolisme de la glucosa i la insulina en resposta a la ingesta de peix blau, amb o sense pèrdua de pes (278,279,281-283,298).

En el nostre estudi, el GS va disminuir la ingesta energètica respecte els valors inicials, sense afectar significativament el pes corporal. Degut a que s'ha descrit una subestimació de la ingesta energètica en pacients obesos amb DM2 (305), aquesta podria ser una explicació plausible d'aquesta observació. També podria especular-se que s'hagués produït una reducció de la ingesta dietètica real, i que estigués relacionada amb un increment de la sacietat associada a la ingesta de sardina. De fet s'ha demostrat un efecte saciant postprandrial superior amb la ingesta de peix en comparació amb la ingesta de carn relacionat amb un increment de les concentracions plasmàtiques de taurina (306).

Tampoc es pot descartar que en el nostre estudi la pèrdua de pes del GS, encara que hagi sigut baixa, pugui estar relacionada amb una disminució del greix corporal derivat dels nutrients presents en la sardina, ja que tan la ingesta dietètica de taurina (associada lògicament a la ingesta de proteïna de sardina) com els AGPICL  $\omega$ -3 van augmentar significativament en el GS en comparació amb el GC. Els efectes beneficiosos de la proteïna de sardina, taurina i AGPICL  $\omega$ -3 en el pes corporal, concretament la seva associació amb una disminució del greix corporal ha estat demostrat

en models animals (228,307,308). Els mecanismes implicats serien l'estimulació la despesa energètica (309) i la  $\beta$ -oxidació al teixit adipós (308), com també els efectes anorexigènics a l'hipotàlem (310). En humans, només un estudi ha demostrat que la pèrdua de pes associada a la ingesta de peix blau, i també de peix blanc va ser superior que la dieta control, i es va associar a una disminució del greix corporal determinat per densiometria òssia (289). En el nostre estudi no podem corroborar aquesta especulació, ja que no es va determinar el percentatge de greix corporal.

El fet que la disminució respecte el basal dels valors d'insulina i el HOMA-IR va ser superior en el GS que en el GC, pot conduir a la hipòtesi d'una implicació de la sardina en aquesta millora observada. Mentre que els suplementes AGPICL  $\omega$ -3 tenen efectes neutres en la sensibilitat a la insulina de pacients amb DM2 (184,186,208), diversos estudis en models animals han demostrat una millora de la RI amb la ingesta de proteïna de sardina (228,229,233) i taurina (264,268,311). En humans però, la suplementació amb taurina no sempre ha demostrat efectes beneficiosos en la glucèmia i la sensibilitat a la insulina (257,261).

Una possible explicació seria la sinèrgia alimentària entre els diferents nutrients presents en el peix blau. En ratolins s'ha descrit que la taurina té efectes reductors en la glucèmia i insulinèmia només en presència d'AGPICL  $\omega$ -3 (273). En humans, la ingesta de paté de proteïna de salmó enriquit amb AGPICL  $\omega$ -3 i taurina en dosis molt més baixes que en els estudis de suplementació, i per tant, més properes a les que es poden aconseguir amb dietes amb alt contingut de peix blau (1g EPA+DHA i 425 mg taurina), ha demostrat efectes hipolipemiants sinèrgics entre els AGPICL  $\omega$ -3 i taurina (272). D'aquesta manera seria necessària la presència d'AGPICL  $\omega$ -3 perquè la taurina pogués tenir efectes actius. Per tant, es podria especular un efecte sinèrgic entre els AGPICL  $\omega$ -3 i la taurina presents en la sardina en la millora del HOMA-IR en el nostre estudi.

Tot i això, nosaltres no hem trobat un efecte específic de la ingesta de sardina en la RI, ja que els resultats no va ser significativament diferents de la dieta control. Aquests resultats difereixen amb els d'altres estudis

que si han reportat efectes independents de la ingesta de peix blau en la RI (287,304). El tret diferencial és que els pacients inclosos presentaven normopès, sobrepès o obesitat però no DM2 (287,304). Seria possible que els efectes del peix blau en la DM2 fossin dependents del grau de RI i deteriorament glucèmic, o de la interrelació amb varis factors com la polimedicació, la genètica o el balanç de macronutrients de la dieta.

A més de la ingesta de sardina, no es poden excloure les possibles contribucions de l'oli d'oliva procedent de les llaunes de sardina, i la disminució dels AGS de la dieta associada a la substitució de fonts proteiques amb alt contingut d'AGS per la sardina en la millora de la sensibilitat a la insulina del GS, ja que tan l'oli d'oliva (312) com la modificació de la qualitat del greix dietètic tenen efectes favorables en la sensibilitat a la insulina (313). També s'ha de considerar l'increment de la ingesta de fibra dietètica observat en el GS en comparació amb el GC. L'evidència indica que una dieta rica en cereals integrals pot millorar la sensibilitat a la insulina de pacients amb hiperinsulinèmia (314). Tot i que l'augment de fibra dietètica va ser 2 g/dia, és possible la seva influència en la reducció del HOMA-IR.

Entre les raons per trobar també una millora dels valors d'insulina i HOMA-IR en el GC, es podrien mencionar que la dieta control ja és per si mateixa una intervenció dietètica, i que els pacients del GC també van rebre educació nutricional. Ja que diferents estratègies nutricionals han demostrat ser efectives en la millora de la RI (315) i l'educació dietètica pot millorar el control metabòlic induïnt modificacions en l'estil de vida (316), podrien ser vàlides aquestes suposicions. Considerant els dos grups d'intervenció, l'increment de l'activitat física seria un dels factors d'interferència a considerar, degut als seus beneficis demostrats en la resistència a la insulina (317). Tot i això, durant l'estudi es van controlar els canvis en l'activitat física i no es van detectar modificacions.



## 7.2 Increment de l'adiponectina i disminució de la insulinèmia i resistència a la insulina

De manera interessant, tot i que els canvis en les concentracions d'adiponectina no van ser significativament diferents entre els grups, es va observar un increment d'un 41% en les concentracions d'aquesta adipoquina respecte els valors basals en els pacients que van seguir la dieta enriquida en sardina, el doble de l'increment observat en el GC (21%). Degut al paper crucial de l'adiponectina en la sensibilitat a la insulina (78), podria estar implicada en la millora de la RI en el GS.

Quatre estudis basats en intervencions dietètiques amb peix blau han trobat efectes similars als del nostre estudi en relació a l'adiponectina (279,282,298,299). Tot i que en cap d'ells l'adiponectina es va acompanyar d'un efecte beneficiós en la RI, tots van incloure pacients sense DM2 i la durada de les intervencions dietètiques va ser molt menor que la de l'estudi Pilchardus (4-10 setmanes). És possible que siguin necessaris estats d'insulinoresistència elevats associats a hipoadiponectinèmia, com caracteritza als pacients amb DM2 (318,319) perquè puguin detectar-se efectes de l'adiponectina en la RI. Dos estudis realitzats en pacients sans sense RI donarien suport a aquesta possibilitat, ja que observen un augment de l'adiponectina sense modificacions de la sensibilitat a la insulina (298,299).

Contrastant amb aquests resultats, dos altres estudis que han investigat els efectes del peix blau en l'adiponectina en pacients amb DM2 (276) i sobrepès (286) van trobar efectes neutres, i un tercer va observar un augment no significatiu (284). Una possible explicació seria que en aquests estudis es va determinar l'adiponectina total i no l'adiponectina d'alt pes molecular, que és la forma d'adiponectina més activa fisiològicament, i prediu millor la sensibilitat a la insulina (320). Basant-nos en aquest supòsit, és possible que la determinació de l'adiponectina d'alt pes molecular hagués resultat

en una diferència significativa més gran entre en GS i el GC en el nostre estudi. En l'estudi de Neale et al. el peix blau va incrementar l'adiponectina d'alt pes molecular en pacients amb sobrepès i obesitat, mentre que els suplementes d'olis de peix van tenir efectes neutres en aquesta adipoproteïna (282).

L'autora especula que altres components del peix, com la proteïna de peix podrien ser els responsables dels efectes observats (282). Tan en animals com humans, la suplementació amb AGPICL  $\omega$ -3 (208,321) i taurina (260,322) tenen efectes estimuladors sobre l'adiponectina. Tot i que les dosis de taurina en els estudis de suplementació són molt més elevades que les presents en la sardina, un estudi en rates alimentades amb sardina en llauna, l'únic on s'ha investigat l'efecte de la sardina com a aliment en animals, va observar un increment de l'adiponectina (323). D'acord amb aquestes observacions, tan la proteïna de sardina com un possible efecte sinèrgic dels AGPICL  $\omega$ -3 amb la taurina podrien ser responsables de l'increment d'adiponectina del GS en el present estudi.

## 7.3 Increment paral·lel en la IL-10 i l'adiponectina sense canvis en altres marcadors d'inflamació

Els resultats de l'Estudi Pilchardus mostren que la dieta suplementada amb sardina durant 6 mesos no va afectar de manera significativa la PCRu, el TNF $\alpha$ , la IL-6 o la IL-8. Tot i això, si es va observar un augment, tot i que no significatiu, en la citoquina antiinflamatòria IL-10 en resposta a la ingesta de sardina. No s'ha realitzat cap estudi en humans en relació als efectes del peix blau en la IL-10, per tant, l'Estudi Pilchardus és especialment novedós en el possible efecte antit inflamatori de la inclusió de sardina en la dieta de pacients amb DM2. Ja que s'ha demostrat que l'adiponectina indueix l'expressió de la IL-10 en diferents tipus de cèl·lules mieloides humanes (324), es pot especular que l'augment d'adiponectina

podria estar relacionat amb l'increment de les concentracions circulants d'aquesta citoquina en el present estudi. La ingesta de sardina podria tenir un rol en aquest canvi observat en la IL-10, ja que tan l'EPA (325) com la taurina (326) són capaços de produir un increment de la IL-10. Aquesta citoquina antiinflamatòria també es relaciona amb efectes positius en la sensibilitat a la insulina (327,328) com l'adiponectina.

La manca d'efectes en la PCRu, TNF- $\alpha$ , IL-6 o IL-8 en el nostre estudi concorda amb els de l'únic estudi realitzat sobre els efectes del peix blau en marcadors inflamatoris en pacients amb DM2, que va observar efectes neutres en la PCR (276). Aquesta baixa evidència no permet extreure conclusions clares en la relació entre la ingesta de peix blau i la inflamació en la DM2. Tot i que el paper antiinflamatori dels AGPICL  $\omega$ -3 ha estat àmpliament estudiat, un metanaàlisi recent va concloure que els AGPICL  $\omega$ -3 disminueixen les concentracions de PCR en pacients amb DM2, però l'evidència és molt reduïda i són necessaris més estudis per confirmar aquests resultats i estudiar l'efecte sobre altres marcadors inflamatoris (207).

Un dels possibles factors involucrats en la manca d'efectes sobre marcadors proinflamatoris en el nostre estudi seria que la determinació dels paràmetres estudiats es va realitzar en plasma. El fet de que les concentracions circulants de marcadors inflamatoris no reflexen totalment les dels òrgans o teixits (45), pot fer pensar que si s'hagués realitzat la mesura en cèl·lules del sistema immunitari o del teixit adipós els resultats haguéssin sigut més consistents.

La pèrdua de pes i d'adipositat són factors clau en els beneficis sobre marcadors inflamatoris, independentment de la dieta, sent més evidents els efectes amb pèrdues de pes elevades (329). Aquest fonament estaria en concordança amb la reducció en la IL-6 i la PCR observades en l'estudi de Ramel et al. on els pacients van perdre al voltant de 5 kg de pes en resposta a una dieta hipocalòrica incloent peix blau durant 8 setmanes (292). El nostre estudi va trobar una disminució d'1,2 kg de pes en el GS, pel que la baixa pèrdua de pes corporal podria ser un factor que en part expliqués els resultats en el perfil de citoquines proinflamatòries i PCRu.

Tot i això, en la majoria d'estudis on es va mantenir el pes corporal o la pèrdua de pes va ser baixa, la inclusió de peix blau va mostrar tenir efectes beneficioses en la PCRu, TNF- $\alpha$  o la IL-6 (279,284,291,293,295).

La possibilitat del rol d'altres nutrients del peix blau, a més dels AGPICL  $\omega$ -3 en la inflamació, ve donada per la observació que intervencions dietètiques relativament curtes (8 setmanes) hagin trobat efectes reductors superiors del peix blau en la PCR i/o la IL-6 que els suplementes d' AGPICL  $\omega$ -3 (292). A més, tan una intervenció dietètica amb bacallà en humans (330), com la ingesta de proteïna de sardina en rates poden disminuir les concentracions de TNF $\alpha$  (228). El nostre estudi però, no permet especular sobre aquest punt, ja que no es van trobar efectes significatius en cap dels marcadors inflamatoris.

## 7.4 Efectes neutres en el perfil lipídic

L'Estudi Pilchardus va trobar que una dieta suplementada amb 100g de sardina durant 6 mesos no va tenir efectes en les concentracions plasmàtiques de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL o TG. Aquests resultats són contradictoris amb els estudis realitzats en pacients amb DM2, on si s'han trobat efectes en el perfil lipídic en resposta a la ingesta de peix blau (274-276). Sembla que el peix blau afectaria més als TG i/o el colesterol HDL que altres lípids circulants (274-276,279,280,283-287,293,295,300,301). Aquesta observació seria certa tant per pacients amb DM2 (274-276) com amb sobrepès/obesitat i/o elevat risc cardiovascular (279,280,283,285-287,293,295,300,301).

L'efecte beneficiós dels suplementes d'AGPICL  $\omega$ -3 en els TG i el colesterol HDL ha sigut demostrat en pacients amb DM2 en dosis diàries d'entre 0,5 i 4g d'EPA i DHA (184,186,208). En el nostre estudi, la dosi diària d'AGPICL  $\omega$ -3 va ser de 3g d' EPA+DHA, pel que es trobaria dins la dosi administrada en forma de suplementes, com també de peix blau; on estudis amb dosis inferiors o similars d'AGPICL  $\omega$ -3 a les del nostre estudi han trobat efectes en el perfil lipídic (274-276,279,283-287,293-295,300,301).

Alguns estudis discuteixen la possibilitat de la contribució de la proteïna del peix o la taurina en els efectes hipolipemiants del peix (295,301), d'acord amb l'observació repetida d'efectes beneficiosos tan del peix blau com el peix blanc en els lípids circulants en un mateix estudi (275,286,301). Diversos estudis en animals donarien suport a aquesta hipòtesi, tan en relació a la proteïna de sardina (229) com a la taurina (311). Tot i que un estudi en humans va demostrar efectes sinèrgics hipolipemiants dels AGPICL  $\omega$ -3 amb la taurina (272), el nostre estudi està en desacord amb aquests resultats.

La ingesta de peix blau ha mostrat tenir efectes més evidents quan el sobrepès o la obesitat s'associa amb una dislipèmia més acusada (274-276,279,284,293) amb valors de TG basals  $\geq 175$  mg/dL (275,276,279,284,293) o d'HDL  $\leq 35$  mg/dL (274). Els pacients del nostre estudi presentaven concentracions basals més baixes de TG (122-127 mg/dL), i més elevades d'HDL (51 mg/dL) en comparació amb els estudis citats. Per tant, seria possible que la manca d'efecte estigués relacionada amb el bon control lipídic dels pacients a l'inici de l'estudi. Tot i això, estudis en pacients amb normopès i normolipidèmia han trobat un efecte beneficiós de la ingesta de peix blau en el perfil lipídic (298,331). Una diferència important entre aquests estudis en pacients sans i el present estudi, com també amb altres estudis realitzats en pacients amb patologies relacionades amb l'obesitat i la DM2, és el tractament farmacològic múltiple de la majoria de pacients. Només dos pacients del GS seguia tractament amb estatinas, pel que es podria descartar en principi la seva interferència en el perfil lipídic.

Si es consideren els estudis realitzats en pacients amb DM2, tots ells troben efectes beneficiosos en el perfil lipídic (274-276). En un dels estudis, la cointervenció de dieta amb exercici físic va tenir influència en els resultats (274), i ja que els antidiabètics orals presenten efectes beneficiosos en les concentracions de TG i colesterol LDL (332), el tractament amb metformina dels pacients d'aquests estudis podria estar implicat en els resultats observats (274-276). La ingesta calòrica és un dels principals determinants de les concentracions plasmàtiques dels lípids circulants. D'acord amb aquesta afirmació, en la meitat del estudis on s'observa un

efecte beneficiós en els TG, la pèrdua de pes en resposta a la restricció calòrica va ser la principal medidora de l'efecte en els TG i en la resta de lípids circulants (274,285,286,288,301).

La restricció de greix dietètic sense modificar la ingesta energètica (275,276,295) com també la manipulació de les proporcions d'AGPICL  $\omega$ -3 i d'AGPICL  $\omega$ -6 a través de l'addició de peix blau a la dieta poden tenir efectes reductors en les concentracions de TG (283,284). En el nostre estudi no es va realitzar una restricció calòrica de base i el pes va disminuir lleugerament, però l'aport de greix dietètic total va disminuir 9 g/dia en el GS. Tot i això, nosaltres no hem pogut observar cap efecte en els TG. El fet d'haver inclòs homes i dones en l'estudi podria ser un factor implicat en aquest resultat, ja que el sexe influeix en la resposta dietètica als lípids plasmàtics, com mostren diversos estudis, en els quals s'observen efectes quan només s'inclouen homes (295,300) o dones (276,279), o un efecte diferent entre homes i dones en un mateix estudi (284).

En relació a la manca d'efectes en el colesterol HDL del present estudi, és possible que la determinació de les seves diferents subfraccions hagués trobat variacions significatives, tal com mostren alguns estudis on es va trobar un augment de l'HDL<sub>2</sub> i una disminució de l'HDL<sub>3</sub> sense modificacions en les concentracions del colesterol HDL total (274,300).

## 7.5 Modificació de la composició d'àcids grassos en membranes d'eritròcits relacionada amb la protecció cardiovascular

Atès que l'IO3 és el principal determinant de la ingesta d' AGPICL  $\omega$ -3 (175), l'increment significatiu observat en el GS avala l'adherència òptima a la intervenció dietètica. La modificació de la CAGME observada en el present estudi en resposta a la ingesta de sardina reflexa la incorporació

de l'EPA i el DHA a les membranes dels eritròcits, desplaçant la síntesi d'DHGLA (20:3 ω6) del seu precursor, l'AA (20:4 ω6). De manera important, els pacients del GS van arribar a valors del 8% d'IO3 al final de l'estudi, situant-se en el punt de tall suggerit de protecció de patir malaltia isquèmica coronària, particularment de mort cardíaca sobtada (175).

Aquest resultat és especialment important tenint en compte que la malaltia cardiovascular és la causa de mort de més del 50% de pacients amb DM2 a Espanya (42). Cal destacar per tant, que tot i no trobar modificacions del risc cardiovascular associat als lípids plasmàtics, si s'ha produït en membranes cel·lulars. Una altra troballa remarcable relacionada amb la CAGME és l'increment dels AGPI totals en eritròcits al GS. Un dels paràmetres reològics alterats en la DM2 és la deformabilitat dels eritròcits, que s'ha trobat que està reduïda en comparació amb persones sanes (333). Aquesta rigidesa probablement reduiria el flux microcirculatori, deteriorant la patologia microvascular a la retina i al glomèrul renal associada a la DM. D'acord amb aquesta observació, la modificació cap a un patró d'insaturació a les membranes d'eritròcits resultaria en un increment de la deformabilitat cel·lular, suggerint un contrarestament de la microangiopatia en la DM2 (334). Per tant, la ingesta de sardina podria contribuir a limitar les comorbiditats associades a la DM2.

## 7.6 Disminució de la freqüència cardíaca sense efecte en la pressió arterial

L'estudi Pilchardus va trobar una disminució significativa de la FC només en el GS, mentre que cap de les intervencions dietètiques va afectar significativament els valors de PAS o PAD. Aquests resultats estarien en concordància amb els de l'estudi de Vandongen et al. que va observar una disminució de la FC sense modificacions de la pressió arterial quan pacients amb risc cardiovascular augmentat van incorporar una ració diària

de peix blau a la dieta durant 12 setmanes (281). El fet d'un possible efecte emmascarador dels betabloquejants en el nostre estudi és poc probable, ja que pocs pacients seguien tractament amb aquest fàrmac i la disminució de les xifres de PAS i PAD al GS no va ser molt elevada. A més, en l'estudi de Vandongen et al. els pacients no van rebre tractament antihipertensiu durant la intervenció dietètica (281).

En contrast amb el present estudi i el de Vandongen et al. gairebé tots els estudis basats en intervencions dietètiques amb peix blau mostren beneficis en la PA (283,285,287,298,302,303), tan en pacients amb normotensió (283,285,287,298,303) com amb hipertensió (302). La baixa pèrdua de pes en el nostre estudi no es pot descartar com a possible factor en la manca d'efectes en la PA, ja que en dos estudis la PA es va associar a la pèrdua de pes (285,287), i la inclusió de peix en el grup de pèrdua de pes va tenir efectes additius en la PA en un altre estudi (302). Tot i això, en aquest últim estudi, el grup de peix blau amb manteniment de pes corporal també va reduir la PA, i en dos estudis més els efectes es van observar amb estabilitat del pes corporal (283,298).

La restricció de sodi de la dieta té influència en la PA, com mostra l'estudi de Bao et al. (302). En l'Estudi Pilchardus no es va restringir el sodi dietètic, fet que sumat al sodi aportat per la sardina en llauna i els aliments a base de sardina (fabricats a partir de sardina en llauna), que és més elevat que al peix fresc o congelat, pot haver actuat com a factor d'interferència en els efectes sobre la PA. La ingesta de sodi al final de l'estudi Pilchardus va disminuir en els dos grups intervenció, tot i que s'ha de considerar la dificultat inherent de comptabilitzar el sodi d'addicció de la dieta a través d'un registre dietètic.

La hipòtesi de la restricció de sodi podria ser vàlida, tenint en compte que l'estudi de Bao et al. i el de Vandongen et al. tenien un disseny similar (els dos van incloure sardina en llauna com a part de la intervenció dietètica, a més d'altres tipus de peix blau) (281,302) i només es van observar efectes en la PA quan es va restringir el sodi de la dieta (302). A més, la resta d'estudis que han trobat una reducció de la PA sense modificar el contingut de sodi dietètic no han inclòs peix blau enllaunat en el seu disseny (283,298,302).



Tot i que la majoria d'estudis que han trobat beneficis de la ingesta de peix blau en la PA han utilitzat el mateix mètode de medició de la PA que el nostre estudi (tensiòmetre) (283,298,303), l'estudi de Vandongen et al. va trobar una disminució més gran sobre la PA en posició erecta i supina en el grup de peix blau utilitzant un monitor ambulatori de pressió arterial (MAPA), sense observar canvis significatius en la PAD i PAS. Per tant, la utilització d'un MAPA en l'Estudi Pilchardus hagués pogut registrar petits canvis en la PA no detectables amb el tensiòmetre utilitzat (281,302).

En relació a la FC, els dos únics estudis que l'han determinat han trobat efectes antiarrítmics del peix blau, com en el nostre estudi (281,302). Els estudis epidemiològics, que han demostrat una relació inversa entre la ingesta de peix blau i la FC, la prolongació de l'interval QT i el risc de mort per arrítmies donen suport a un component autonòmic cardíac del peix blau (143). La majoria de vegades s'atribueix als AGPICL  $\omega$ -3 els beneficis en la FC, com també en la PA. Estudis in vitro i en animals han demostrat efectes antiarrítmics directe dels AGPICL  $\omega$ -3 a través de la seva incorporació a les cèl·lules miocàrdiques (130). En humans, els suplements d'olis de peix també redueixen la FC en dosis  $\approx$  d'1g/dia, menors a les de l'Estudi Pilchardus (216), per tant és plausible que els AGPICL  $\omega$ -3 puguin haver influït en els resultats referents a la FC.

Un estudi on només la ingesta de peix blanc, i no la de de peix blau va reduir la PA després de 8 setmanes (280), indica que la proteïna de peix acompanyada d'un contingut baix d'AGPICL  $\omega$ -3 també tindria efectes beneficiosos en la PA. Tot i això, en aquest estudi els pacients seguien tractament amb múltiples fàrmacs antihipertensius, que molt probablement van actuar com a factor d'interferència (280). Aquest estudi juntament amb el de Ramel et al. (303) que va trobar una reducció de la PA tant amb la ingesta de salmó com de bacallà, reforçen la hipòtesi que la proteïna de peix presenta efectes antihipertensius.

De fet, està demostrat tan en models animals d'hipertensió com en humans que la ingesta del pèptid de sardina Val-Tir (240-243) i la taurina (335-337) són capaços de reduir la PA. Tot i aquesta evidència, l'Estudi Pilchardus no ha pogut detectar modificacions en la PA. El fet d'incloure pacients

amb hipertensió i normotensos seria un possible factor d'influència en els resultats, ja que tant els estudis amb peix blau (302), AGPICKL  $\omega$ -3 (338) i taurina (336), mostren que els efectes en la PA són més evidents o limitats a pacients amb hipertensió (302,336,338). Altres factors a considerar serien l'edat i la pròpia DM2, donat que els estudis que han trobat beneficis en la PA van incloure pacients més joves que els del nostre estudi (283,298,302,303), i no s'ha realitzat cap estudi que s'hagi centrat en pacients amb DM2, per tant es desconeix fins a quin punt l'estat metabòlic específic de la DM2 pot interferir en els efectes de la ingesta de peix blau en la PA.

## 7.7 Modificació del patró de microbiota intestinal

El nostre estudi és el primer segons el nostre coneixement en investigar l'impacte d'una intervenció dietètica enriquida en sardina en la MI de pacients amb DM2 sense tractament antidiabètic. Al final de l'estudi es va trobar una disminució del fílum *Firmicutes* en ambdós grups i del ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* al GS. Tot i que el GC també va presentar una tendència a disminuir el ratio *Firmicutes/Bacteroidetes*, aquest canvi no va arribar a ser significatiu. Aquests resultats concorden amb els d'un estudi en pacients amb obesitat, el qual va mostrar modificacions d'aquests fílums bacterians en la línia del nostre estudi després de seguir diferents intervencions dietètiques de pèrdua de pes (69).

L'augment del pes corporal s'ha associat amb un increment del ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* tan en ratolins com en humans (69,339,340), com també amb una disminució del fílum *Firmicutes* en pacients amb DM2 (341). La disminució del ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* en el nostre estudi concordaria amb els estudis relacionats amb el pes corporal (69,339,340), mentre que la disminució del fílum *Firmicutes* estaria en desacord amb l'estudi citat en pacients amb DM2 (341). És difícil poder extreure conclusions clares en aquest punt, ja que altres estudis han trobat una

relació oposada o cap associació del ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* amb l'IMC (71,342) o consideren l'increment del fílum *Firmicutes* un predictor de DM2 (341).

Pel que fa a la relació entre el ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* i la inflamació metabòlica, s'ha descrit que un augment d'aquest ratio de grup bacterians es correlaciona de manera positiva amb marcadors proinflamatoris en individus amb obesitat, mentre que s'observa el contrari en individus amb normopès (343). En el nostre estudi no hem trobat un efecte significatiu en la inflamació però sí una modificació de la MI i una disminució de la RI. Aquests resultats estarien d'acord amb un estudi recent en ratolins, en el qual la millora de la hiperglucèmia, hiperinsulinèmia i RI es van relacionar amb una disminució del ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* (344).

Un dels grup bacterians relacionats especialment amb la inflamació és *F. prausnitzii*, una bactèria dominant en la MI de persones sanes i que presenta efectes antiinflamatoris a través de la producció de butirats i la inducció de la síntesi de IL-10 (345). En el present estudi, tot i que *F. prausnitzii* va augmentar tan en el GS com en el GC de manera no significativa, considerem que és important destacar aquesta modificació. Les concentracions de *F. prausnitzii* es troben disminuïdes en persones amb DM2 (73,341), i s'ha trobat que s'incrementen després de cirurgia bariàtrica, correlacionant-se negativament amb paràmetres inflamatoris (73).

La MI és sensible i ràpidament modificable a la variació en la ingesta de macronutrients (346,347). En el present estudi, el GS va disminuir significativament el greix total i saturat de la dieta, com també va augmentar el contingut de fibra dietètica. La ingesta d'àcids grassos en funció del grau d'insaturació s'ha relacionat amb diferents patrons de MI en models animals (72,221) i la inflamació metabòlica (221). Segons aquest estudi, els AGPICL  $\omega$ -3 estimularien la síntesi i secreció de fosfatasa alcalina intestinal (IAP), induïnt canvis en la MI, i resultant en una reducció de l'endotoxèmia i la inflamació (221). El que sí s'ha pogut relacionar és un patró dietètic amb alt contingut de fibra amb proporcions elevades de *Bacteroidetes* i *Bacteroides-Prevotella*, i baixes de *Firmicutes*, en comparació amb un

patró dietètic “occidental”, amb alt contingut de greixos i proteïna animal (348). Mentre que una dieta rica en greix saturat s’ha trobat que indueix inflamació metabòlica i RI associada a una disminució de *Bacteroides-Prevotella* en ratolins (55), intervencions nutricionals per la pèrdua de pes (340,349) i el tractament quirúrgic de l’obesitat (73) incrementen les seves concentracions en individus amb obesitat i/o DM2 (73,340,349). Per tant, es podria especular una possible relació entre l’augment de fibra i la tendència a disminuir el pes corporal dl GS amb l’augment de *Bacteroides-Prevotella* observat al final de la intervenció dietètica.

En relació a l’increment de concentracions d’*E.coli* en ambdós grups, els estudis observacionals mostren que els pacients amb DM2 presenten proporcions superiors d’*E.coli* en la MI en comparació amb pacients sense DM2 (74,75). Contrastant amb aquests resultats, en l’estudi de Furet et al. pacients sotmesos a cirurgia bariàtrica (incloent pacients amb DM2), van augmentar les proporcions d’*E.coli* de manera significativa després de la cirurgia i es van relacionar negativament amb les concentracions de greix corporal i leptina (73). En el nostre estudi, l’increment d’*E.coli* s’ha acompanyat d’una millora dels valors d’HbA1c, glucèmia, insulinèmia i HOMA-IR, pel que aquest augment contradiu les observacions dels estudis epidemiològics i concorda amb els de Furet et al.

A més, és difícil comparar els resultats d’un estudi d’intervenció dietètica amb estudis observacionals, ja que l’increment de les proporcions d’*E.coli* en la DM2 podrien atribuir-se a un perfil dietètic poc saludable o a diferències en l’edat dels pacients, factors que influeixen la MI, i no han sigut tinguts en compte en els estudis citats (74,75). El que si s’ha demostrat és que existeixen diferents soques d’*E.coli* a l’intestí humà, algunes d’elles amb activitat probiòtica, com l’*E.coli* Nissle 1917, que presenta efectes beneficiosos en la inflamació intestinal (350-352). Ja que en el present estudi es va determinar l’*E.coli* total, no és possible saber si l’augment observat ha estat en determinades soques d’*E.coli*.

## 7.8 **Influència de la intervenció dietètica en la qualitat de vida dels pacients**

Els resultats respecte la QV van mostrar que els pacients del GS van presentar una tendència a augmentar la valoració de la QV global respecte el GC. En la DM2, una baixa QV relacionada amb la salut s'ha associat amb una deteriorament de la progressió de la malaltia (353,354) i un augment de la mortalitat (354). Diversos estudis han trobat una millora de la QV associada a una major adherència a patrons de dieta Mediterrània en població espanyola (355,356), com també després d'una intervenció dietètica basada en un patró Mediterrani en pacients amb DM2 (35), els quals inclouen peix blau en la seva definició.

La dieta enriquida en sardina no va modificar de manera significativa els paràmetres de mobilitat, cuidat personal o activitats quotidianes, però si és interessant destacar que 4 pacients dels GS van passar de tenir alguns o molts problemes de dolor/discomfort a cap problema. Al GC en canvi, només van ser 2 pacients els que van millorar respecte el dolor/discomfort. A més, en tots dos grups 2 pacients van passar de tenir alguns o molts problemes d'ansietat/depressió a cap problema.

Tots aquests canvis observats en el GS no van ser significatius, però no es pot descartar un possible efecte del peix blau, ja que conté diversos nutrients com els AGPICL  $\omega$ -3, la taurina, la tirosina, el triptòfan o la vitamina D, que tenen influència en la funció cerebral i s'han suggerit estar implicats en la protecció contra el desenvolupament i manteniment de desordres depressius (163), com també en la millora del dolor associat a la neuropatia diabètica (358). En el GS, les ingestes tan AGPICL  $\omega$ -3 com de taurina i vitamina D van augmentar significativament respecte el GC, pel que aquesta hipòtesi seria possible. Entre els factors que poden haver influït en no trobar diferències significatives entre els dos grups podrien trobar-se el bon control glucèmic dels pacients inclosos en l'estudi, com també l'absència de complicacions associades a la DM2. Aquest fet quedaria reflexat en la valoració que fan els pacients en la QV global,

---

que va ser de notable alt en els dos grups. La utilització d'un qüestionari específic per valorar el dolor, ansietat o depressió hagués pogut donar lloc a resultats significatius, ja que l'EQ5D valora de manera general la QV. En qualsevol cas, els resultats respecte la QV indiquen una millora, i per tant, demostren la influència positiva de la intervenció dietètica en la QV.



# Conclusions

## 8

- Una dieta rica en sardina durant 6 mesos no millora el control metabòlic de pacients amb diabetis tipus 2 sense tractament antidiabètic.
- Una dieta rica en sardina i una dieta amb recomanacions generals per la diabetis tipus 2 durant 6 mesos redueixen les concentracions d'insulina i la resistència a la insulina de pacients amb diabetis tipus 2 sense tractament antidiabètic.
- Una dieta rica en sardina durant 6 mesos incrementa les concentracions circulants d'adiponectina de pacients amb diabetis tipus 2 sense tractament antidiabètic.
- Una dieta rica en sardina durant 6 mesos disminueix la freqüència cardíaca de pacients amb diabetis tipus 2 sense tractament antidiabètic.
- Una dieta rica en sardina durant 6 mesos no modifica el perfil lipídic de pacients amb diabetis tipus 2 sense tractament antidiabètic.
- Una dieta rica en sardina incrementa l'índex omega-3 de pacients amb diabetis tipus 2 sense tractament antidiabètic.



- Una dieta rica en sardina durant 6 mesos modifica la concentració de bactèries intestinals específiques de pacients amb diabetis tipus 2 sense tractament antidiabètic.
- Una dieta rica en sardina no empitjora la qualitat de vida de pacients amb diabetis tipus 2 sense tractament antidiabètic.

Com a conclusions generals els resultats d'aquesta tesi suggereixen que la inclusió de 100g de sardina 5 dies a la setmana durant 6 mesos no millora el control glucèmic però podria tenir efectes beneficiosos sobre el risc cardiovascular de pacients amb DM2 aconseguint valors òptims d'IO3. A més, l'increment d'adiponectina observat en el grup sardina podria indicar beneficis en la inflamació metabòlica, i la modificació de bactèries intestinals específiques en resposta a la dieta rica en sardina revela l'estreta relació entre els components dietètics i la microbiota intestinal. Igualment, els resultats mostren que tan una dieta amb recomanacions generals per la DM2 com una dieta rica en sardina poden millorar la resistència a la insulina de pacients amb DM2.

Són necessaris més estudis amb mida mostral superior i períodes d'intervenció més llargs per corroborar els resultats del nostre estudi pilot, i investigar la implicació de nutrients com la taurina i la proteïna de peix, com també els possibles mecanismes involucrats, específicament el paper de la microbiota intestinal i l'adiponectina.





# Bibliografia

## 9

1. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. Sec. 2. In: Standards of Medical Care in Diabetes. Diabetes Care. 2016;39(Suppl 1):S13-22.
2. Tuomi T, Santoro N, Caprio S, Cai M, Weng J, Groop L. The many faces of diabetes: a disease with increasing heterogeneity. Lancet. 2014;383(9922):1084-94.
3. Groop L, Pociot F. Genetics of diabetes – Are we missing the genes or the disease? Mol Cell Endocrinol. 2014;382(1):726-39.
4. Pozzilli P, Guglielmi C, Caprio S, Buzzetti R. Obesity, autoimmunity, and double diabetes in youth. Diabetes Care. 2011;34(Suppl 2):S166-70.
5. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. Nat Rev Immunol. 2011;11(2):98-107.
6. Canivell S, Gomis R. Diagnosis and classification of autoimmune diabetes mellitus. Autoimmun Rev. 2014;13(4–5):403-7.
7. Laugesen E, Østergaard JA, Leslie RDG. Latent autoimmune diabetes of the adult: current knowledge and uncertainty. Diabet Med. 2015;32(7):843-52.
8. Rydén L, Grant PJ, Anker SD, Berne C, Cosentino F, Danchin N, et

- al. ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: the Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and developed in collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Eur Heart J*. 2013;34(39):3035-87.
9. Little RR, Rohlfing CL. The long and winding road to optimal HbA1c measurement. *Clin Chim Acta*. 2013;418:63-71.
  10. WHO/IDF Consultation. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2006 [consulta: diciembre 2015]. Disponible a: [https://www.idf.org/webdata/docs/WHO\\_IDF\\_definition\\_diagnosis\\_of\\_diabetes.pdf](https://www.idf.org/webdata/docs/WHO_IDF_definition_diagnosis_of_diabetes.pdf).
  11. WHO Consultation. Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in the diagnosis of diabetes mellitus [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2011 [consulta: diciembre 2014]. Disponible a: <http://www.who.int/diabetes/publications/en>.
  12. Zimmet PZ, Magliano DJ, Herman WH, Shaw JE. Diabetes: a 21st century challenge. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014;2(1):56-64.
  13. Drewnowski A, Popkin BM. The nutrition transition: new trends in the global diet. *Nutr Rev*. 1997;55(2):31-43.
  14. Popkin BM. Global nutrition dynamics: the world is shifting rapidly toward a diet linked with noncommunicable diseases. *Am J Clin Nutr*. 2006;84(2):289-98.
  15. Hu FB. Globalization of diabetes: the role of diet, lifestyle, and genes. *Diabetes Care*. 2011;34(6):1249-57.
  16. Hill JO, Galloway JM, Goley A, Marrero DG, Minners R, Montgomery B, et al. Scientific statement: Socioecological determinants of prediabetes and type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2013;36(8):2430-9.
  17. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas [Internet]. 7th ed. Brussels: International Diabetes Federation; 2015 [consulta: diciembre 2014]. Disponible a: <http://www.diabetesatlas.org/>.
  18. Marrodán MD, Montero P CM. Transición Nutricional en España durante la historia reciente. *Nutr Clin Diet Hosp*. 2012;32(Supl 2):55-64.
  19. Cussó X, Garrabou R. La globalización de la dieta en España en el siglo XX. X Congreso Español de Sociología. Pamplona; 2010.

20. Soriguer F, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiú E, Calle-Pascual A, Carmena R, et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Di@bet.es Study. *Diabetologia*. 2012;55(1):88–93.
21. Ferrannini E, Mari A.  $\beta$ -Cell function in type 2 diabetes. *Metabolism*. 2014;63(10):1217-27.
22. Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *Lancet*. 2014;383(9922):1068-83.
23. Nolan CJ, Damm P, Prentki M. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *Lancet*. 2011;378(9786):169-81.
24. Schenk S, Saberi M, Olefsky JM. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. *J Clin Invest*. 2008;118(9):2992-3002.
25. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2006;444(7121):840–6.
26. Prentki M, Nolan CJ. Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *J Clin Invest*. 2006;116(7):1802-12.
27. Alejandro EU, Gregg B, Blandino-Rosano M, Cras-Méneur C, Bernal-Mizrachi E. Natural history of  $\beta$ -cell adaptation and failure in type 2 diabetes. *Mol Aspects Med*. 2015;42:19-41.
28. Kasuga M. Insulin resistance and pancreatic beta cell failure. *J Clin Invest*. 2006;116(7):1756-60.
29. Bouret S, Levin BE, Ozanne SE. Gene-environment interactions controlling energy and glucose homeostasis and the developmental origins of obesity. *Physiol Rev*. 2015;95(1):47-82.
30. Franks PW, Pearson E, Florez JC. Gene-environment and gene-treatment interactions in type 2 diabetes: progress, pitfalls, and prospects. *Diabetes Care*. 2013;36(5):1413-21.
31. World Health Organization. Obesity and overweight. Fact sheet N°311. [Internet]. 2006 [consulta: febreb 2014]. Disponible a: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
32. Eckel RH, Kahn SE, Ferrannini E, Goldfine AB, Nathan DM, Schwartz MW, et al. Obesity and type 2 diabetes: what can be unified and what needs to be individualized? *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(6):1654-63.
33. Blüher M. Are metabolically healthy obese individuals really healthy? *Eur J Endocrinol*. 2014;171(6):R209-19.

34. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(2):85-97.
35. Blüher S, Schwarz P. Metabolically healthy obesity from childhood to adulthood-Does weight status alone matter? *Metabolism.* 2014;63(9):1084-92.
36. Kramer CK, Zinman B, Retnakaran R. Are metabolically healthy overweight and obesity benign conditions?: A systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2013;159(11):758-69.
37. Hamer M, Bell JA, Sabia S, Batty GD, Kivimäki M. Stability of metabolically healthy obesity over 8 years: the English Longitudinal Study of Ageing. *Eur J Endocrinol.* 2015;173(5):703-8.
38. Lyssenko V, Laakso M. Genetic screening for the risk of type 2 diabetes: worthless or valuable? *Diabetes Care.* 2013;36(Suppl 2):S120-6.
39. International Diabetes Federation. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome [Internet]. Brussels: International Diabetes Federation; 2006 [consulta: desembre 2014]. Disponible a: <https://www.idf.org/webdata/docs/>.
40. Emerging Risk Factors Collaboration, Seshasai SRK, Kaptoge S, Thompson A, Di Angelantonio E, Gao P, et al. Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. *N Engl J Med.* 2011;364(9):829-41.
41. Laakso M. Cardiovascular disease in type 2 diabetes from population to man to mechanisms: the Kelly West Award Lecture 2008. *Diabetes Care.* 2010;33(2):442-9.
42. Bueno H, Hernáez R, Hernández A V, Bueno H. Type 2 Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease in Spain: A Narrative Review. *Rev Esp Cardiol.* 2008;8(Supl C):50-8.
43. Hanzu FA, Palomo M, Kalko SG, Parrizas M, Garaulet M, Escolar G, et al. Translational evidence of endothelial damage in obese individuals: inflammatory and prothrombotic responses. *J Thromb Haemost.* 2011;9(6):1236-45.
44. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 2006;444(7121):860-7.
45. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;105(2):141-50.

46. McNelis JC, Olefsky JM. Macrophages, immunity, and metabolic disease. *Immunity*. 2014;41(1):36-48.
47. Lackey DE, Olefsky JM. Regulation of metabolism by the innate immune system. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;12(1):15-28.
48. Calay ES, Hotamisligil GS. Turning off the inflammatory, but not the metabolic, flames. *Nat Med*. 2013;19(3):265-7.
49. Hotamisligil GS, Erbay E. Nutrient sensing and inflammation in metabolic diseases. *Nat Rev Immunol*. 2008;(12):923-34.
50. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest*. 2005;115(5):1111-9.
51. Kalupahana NS, Moustaid-Moussa N, Claycombe KJ. Immunity as a link between obesity and insulin resistance. *Mol Aspects Med*. 2012;33(1):26-34.
52. Bijland S, Mancini SJ, Salt IP. Role of AMP-activated protein kinase in adipose tissue metabolism and inflammation. *Clin Sci*. 2013;124(8):491-507.
53. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. Defining the human microbiome. *Nutr Rev*. 2012;70(Suppl 1):S38-44.
54. Everard A, Cani PD. Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2013;27(1):73-83.
55. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007;56(7):1761-72.
56. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*. 2008;57(6):1470-81.
57. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*. 2007;50(11):2374-83.
58. Peterson CT, Sharma V, Elmén L, Peterson SN. Immune homeostasis, dysbiosis and therapeutic modulation of the gut microbiota. *Clin Exp Immunol*. 2015;179(3):363-77.
59. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y-Y, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes.



- Science. 2011;334(6052):105-8.
60. Hildebrandt MA, Hoffmann C, Sherrill-Mix SA, Keilbaugh SA, Hamady M, Chen Y-Y, et al. High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. *Gastroenterology*. 2009;137(5):1716-24-2.
  61. Conlon MA, Bird AR. The impact of diet and lifestyle on gut microbiota and human health. *Nutrients*. 2015;7(1):17-44.
  62. Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, Guiot Y, Everard A, Rottier O, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut*. 2009;58(8):1091-103.
  63. Amar J, Burcelin R, Ruidavets JB, Cani PD, Fauvel J, Alessi MC, et al. Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(5):1219-23.
  64. Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM, Fisher M, Da Silva NF, Khanolkar M, et al. Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;292(3):E740-7.
  65. Erridge C, Attina T, Spickett CM, Webb DJ. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. *Am J Clin Nutr*. 2007;86(5):1286-92.
  66. Greer RL, Morgun A, Shulzhenko N. Bridging immunity and lipid metabolism by gut microbiota. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(2):253-62.
  67. Murphy EF, Cotter PD, Healy S, Marques TM, O'Sullivan O, Fouhy F, et al. Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota: relationship to diet, obesity and time in mouse models. *Gut*. 2010;59(12):1635-42.
  68. Turnbaugh PJ, Bäckhed F, Fulton L, Gordon JI. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host Microbe*. 2008;3(4):213-23.
  69. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(31):11070-5.
  70. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011;473(7346):174-80.

71. Schwartz A, Taras D, Schäfer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, et al. Microbiota and SCFA in Lean and Overweight Healthy Subjects. *Obesity*. 2010;18(1):190-5.
72. Wu X, Ma C, Han L, Nawaz M, Gao F, Zhang X, et al. Molecular characterisation of the faecal microbiota in patients with type II diabetes. *Curr Microbiol*. 2010;61(1):69-78.
73. Furet J-P, Kong L-C, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouillot J-L, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes*. 2010;59(12):3049-57.
74. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012;490(7418):55-60.
75. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström G, Behre CJ, Fagerberg B, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013;498(7452):99-103.
76. Hartstra A V., Bouter KEC, Backhed F, Nieuwdorp M. Insights Into the Role of the Microbiome in Obesity and Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2014;(1):159-65.
77. Turer AT, Scherer PE. Adiponectin: mechanistic insights and clinical implications. *Diabetologia*. 2012;55(9):2319-26.
78. Fisman EZ, Tenenbaum A. Adiponectin: a manifold therapeutic target for metabolic syndrome, diabetes, and coronary disease? *Cardiovasc Diabetol*. 2014;13:103.
79. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2006;116(7):1784-92.
80. Goldstein BJ, Scalia RG, Ma XL. Protective vascular and myocardial effects of adiponectin. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2009;6(1):27-35.
81. Andreasson AN, Undén A-L, Elofsson S, Brismar K. Leptin and adiponectin: distribution and associations with cardiovascular risk factors in men and women of the general population. *Am J Hum Biol*. 24(5):595-601.
82. Jensen MK, Bertoia ML, Cahill LE, Agarwal I, Rimm EB, Mukamal KJ. Novel metabolic biomarkers of cardiovascular disease. *Nat Rev*

- Endocrinol. 2014;10(11):659-72.
83. Ziemke F, Mantzoros CS. Adiponectin in insulin resistance: lessons from translational research. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(1):258S-261S.
  84. Li S, Shin HJ, Ding EL, van Dam RM. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2009;302(2):179-88.
  85. Hopkins TA, Ouchi N, Shibata R, Walsh K. Adiponectin actions in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res.* 2007;74(1):11-8.
  86. Lindberg S, Jensen JS, Pedersen SH, Galatius S, Frystyk J, Flyvbjerg A, et al. Low adiponectin levels and increased risk of type 2 diabetes in patients with myocardial infarction. 2014;37(11):3003-8.
  87. Baldasseroni S, Mannucci E, Orso F, Di Serio C, Pratesi A, Bartoli N, et al. Adiponectin in outpatients with coronary artery disease: independent predictors and relationship with heart failure. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012;22(3):292-9.
  88. Wannamethee SG, Whincup PH, Lennon L, Sattar N. Circulating adiponectin levels and mortality in elderly men with and without cardiovascular disease and heart failure. *Arch Intern Med.* 2007;167(14):1510-7.
  89. Kizer JR, Benkeser D, Arnold AM, Mukamal KJ, Ix JH, Zieman SJ, et al. Associations of total and high-molecular-weight adiponectin with all-cause and cardiovascular mortality in older persons: the Cardiovascular Health Study. *Circulation.* 2012;126(25):2951-61.
  90. Sente T, Van Berendoncks AM, Hoymans VY, Vrints CJ. Adiponectin resistance in skeletal muscle: pathophysiological implications in chronic heart failure. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2016;7(3):261-74.
  91. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev.* 2005;26(3):439-51.
  92. Rühl R, Landrier JF. Dietary regulation of adiponectin by direct and indirect lipid activators of nuclear hormone receptors. *Mol Nutr Food Res.* 2016;60(1):175-84.
  93. Silva FM, de Almeida JC, Feoli AM. Effect of diet on adiponectin levels in blood. *Nutr Rev.* 2011;69(10):599-612.
  94. Schwingshackl L, Hoffmann G. Mediterranean dietary pattern, inflammation and endothelial function: a systematic review and meta-analysis of intervention trials. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.*

- 2014;24(9):929-39.
95. Franz MJ. The history of diabetes nutrition therapy: from starvation to evidence-based recommendations. *Diabetes Voice*. 2004;49:30-3.
  96. Powers AM. Handbook of diabetes medical nutrition therapy. 2nd ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc.; 1996.
  97. Joslin Diabetes Center. Joslin Legacy [Internet]. [consulta: 30 abril 2015]. Disponible a: <http://www.joslin.org>.
  98. Wheeler ML. Cycles: Diabetes Nutrition Recommendations-Past, Present, and Future. *Diabetes Spectrum*. 2000;13(3):116.
  99. Franz MJ, Warshaw H, Daly AE, Green-Pastors J, Arnold MS, Bantle J. Evolution of diabetes medical nutrition therapy. *Postgrad Med J*. 2003;79(927):30-5.
  100. Zajac J, Shrestha A, Patel P PL. The main events in the history of diabetes mellitus. Poretsky L, editor. *Principles of Diabetes Mellitus*. 2n ed. New York: Springer; 2009. p. 3-18.
  101. Evert AB, Boucher JL, Cypress M, Dunbar SA, Franz MJ, Mayer-Davis EJ, et al. Nutrition therapy recommendations for the management of adults with diabetes. *Diabetes Care*. 2014;37(Suppl 1):S120-43.
  102. Ley SH, Hamdy O, Mohan V, Hu FB. Prevention and management of type 2 diabetes: dietary components and nutritional strategies. *Lancet*. 2014;383(9933):1999-2007.
  103. Franz MJ, Boucher JL, Evert AB. Evidence-based diabetes nutrition therapy recommendations are effective: the key is individualization. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2014;24(7):65-72.
  104. Franz MJ, Boucher JL, Rutten-Ramos S, VanWormer JJ. Lifestyle weight-loss intervention outcomes in overweight and obese adults with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *J Acad Nutr Diet*. 2015;115(9):1447-63.
  105. Risérus U. Fatty acids and insulin sensitivity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2008;11(2):100-5.
  106. Rosenfalck AM, Almdal T, Viggers L, Madsbad S, Hilsted J. A low-fat diet improves peripheral insulin sensitivity in patients with Type 1 diabetes. *Diabet Med*. 2006;23(4):384-92.
  107. Lee JS, Pinnamaneni SK, Eo SJ, Cho IH, Pyo JH, Kim CK, et al. Saturated, but not n-6 polyunsaturated, fatty acids induce insulin resistance: role of intramuscular accumulation of lipid metabolites. *J*

- Appl Physiol (1985). 2006;100(5):1467-74.
108. Davis NJ, Tomuta N, Schechter C, Isasi CR, Segal-Isaacson CJ, Stein D, et al. Comparative study of the effects of a 1-year dietary intervention of a low-carbohydrate diet versus a low-fat diet on weight and glycemic control in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2009;32(7):1147-52.
  109. Mann JI, De Leeuw I, Hermansen K, Karamanos B, Karlström B, Katsilambros N, et al. Evidence-based nutritional approaches to the treatment and prevention of diabetes mellitus. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2004;14(6):373-94.
  110. OMS/FAO. Codex alimentarius: Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros [Internet]. 1a ed. Roma: 2009 [consulta: diciembre 2014]. Disponible a: [ftp://ftp.fao.org/codex/publications/Booklets/Practice\\_code\\_fish/Practice\\_code\\_fish\\_2009\\_ES.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/publications/Booklets/Practice_code_fish/Practice_code_fish_2009_ES.pdf).
  111. Gil Á. Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos. Volumen 2. 2a ed. Madrid: Médica Panamericana; 2010.
  112. Ministerio de agricultura, alimentación y medio ambiente. El mercado de la sardina [Internet]. 2013 [consulta: noviembre 2014]. Disponible a: <http://www.mapama.gob.es/es/pesca/temas/mercados-economia-pesquera>.
  113. Cervera P. Taules de composició d'aliments. Barcelona: Edicions Universitat de Barcelona; 2002.
  114. Gil Á, Serra Majem L. Libro Blanco de los omega 3. 2a ed. Madrid: Médica Panamericana; 2013.
  115. Wu G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids*. 2009;37(1):1-17.
  116. Bouckennooghe T, Remacle C, Reusens B. Is taurine a functional nutrient? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2006;9(6):728-33.
  117. Lourenço R, Camilo ME. Taurine: a conditionally essential amino acid in humans? An overview in health and disease. *Nutr Hosp*. 2002;17(6):262-70.
  118. Larsen R, Eilertsen K-E, Elvevoll EO. Health benefits of marine foods and ingredients. *Biotechnol Adv*. 2011;29(5):508-18.
  119. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 28 [Internet]. [consulta: noviembre 2015].

- Disponible a: <http://www.ndb.nal.usda.gov>.
120. Spitze AR, Wong DL, Rogers QR, Fascetti AJ. Taurine concentrations in animal feed ingredients; cooking influences taurine content. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2003;87(7-8):251-62.
  121. Shirai N, Terayama M, Takeda H. Effect of season on the fatty acid composition and free amino acid content of the sardine *Sardinops melanostictus*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2002;131(3):387-93.
  122. Jacobs, David R J, Steffen LM. Nutrients, foods, and dietary patterns as exposures in research: a framework for food synergy. *Am J Clin Nutr*. 2003;78(3):508S-513.
  123. Luten J, Marine M. The Nordic Network on Marine Functional Food (MARIFUNC). Tromsø: Wageningen Academic Publishers; 2009.
  124. Lund EK. Health benefits of seafood; is it just the fatty acids? *Food Chem*. 2013;140(3):413-20.
  125. Hu FB. Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology. *Curr Opin Lipidol*. 2002;13(1):3-9.
  126. Mozaffarian D. Dietary and Policy Priorities for Cardiovascular Disease, Diabetes, and Obesity: A Comprehensive Review. *Circulation*. 2016;133(2):187-225.
  127. Sala-Vila A, Estruch R, Ros E. New insights into the role of nutrition in CVD prevention. *Curr Cardiol Rep*. 2015;17(5):26.
  128. Mozaffarian D, Appel LJ, Van Horn L. Components of a cardioprotective diet: new insights. *Circulation*. 2011;123(24):2870-91.
  129. Lloyd-Jones DM, Hong Y, Labarthe D, Mozaffarian D, Appel LJ, Van Horn L, et al. Defining and setting national goals for cardiovascular health promotion and disease reduction: the American Heart Association's strategic Impact Goal through 2020 and beyond. *Circulation*. 2010;121(4):586-613.
  130. Mozaffarian D, Wu JHY. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58(20):2047-67.
  131. Ros E, López-Miranda J, Picó C, Rubio MÁ, Babio N, Sala-Vila A, et al. Consenso sobre las grasas y aceites en la alimentación de la población española adulta; postura de la Federación Española de Sociedades de Alimentación, Nutrición y Dietética (FESNAD). *Nutr*

- Hosp. 2015;32(2):435-77.
132. WHO/FAO Expert Consultation. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. WHO Technical Report Series no. 916 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2003 [Consulta: noviembre 2014]. Disponible a: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/trs916/en/>.
  133. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Fisheries and Aquaculture Department. The state of world fisheries and aquaculture [Internet]. Rome; 2012 [Consulta: noviembre 2014]. Disponible a: <http://www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e.pdf>.
  134. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Encuesta Nacional de Ingesta Dietética Española. Madrid; 2011.
  135. Serra-Majem L, Ribas-Barba L, Salvador G, Serra J, Castell C, Cabezas C, et al. Compliance with dietary guidelines in the Catalan population: basis for a nutrition policy at the regional level (the PAAS strategy). *Public Health Nutr.* 2007;10(11A):1406-14.
  136. Martín VJ. Distribución y consumo de productos pesqueros. Evolución de la demanda y cambios en la cadena comercial [Internet]. Universidad Complutense de Madrid; 2015 [Consulta: diciembre 2014]. Disponible a: <http://www.mercasa.es/files/multimedios>.
  137. Ribas-Barba L, Serra-Majem L, Salvador G, Castell C, Cabezas C, Salleras L, et al. Trends in dietary habits and food consumption in Catalonia, Spain (1992-2003). *Public Health Nutr.* 2007;10(11A):1340-53.
  138. Bang HO, Dyerberg J, Sinclair HM. The composition of the Eskimo food in north western Greenland. *Am J Clin Nutr.* 1980;33(12):2657-61.
  139. Chowdhury R, Stevens S, Gorman D, Pan A, Warnakula S, Chowdhury S, et al. Association between fish consumption, long chain omega 3 fatty acids, and risk of cerebrovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2012;345:e6698.
  140. He K, Song Y, Daviglus ML, Liu K, Van Horn L, Dyer AR, et al. Fish consumption and incidence of stroke: a meta-analysis of cohort studies. *Stroke.* 2004;35(7):1538-42.
  141. König A, Bouzan C, Cohen JT, Connor WE, Kris-Etherton PM, Gray GM, et al. A quantitative analysis of fish consumption and coronary



- heart disease mortality. *Am J Prev Med.* 2005;29(4):335-46.
142. Leung Yinko SSL, Stark KD, Thanassoulis G, Pilote L. Fish consumption and acute coronary syndrome: a meta-analysis. *Am J Med.* 2014;127(9):848-57.
  143. Mozaffarian D, Prineas RJ, Stein PK, Siscovick DS. Dietary Fish and n-3 Fatty Acid Intake and Cardiac Electrocardiographic Parameters in Humans. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48(3):478-84.
  144. Chrysoshoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Skoumas J, Krinos X, Chloutsios Y, et al. Long-term fish consumption is associated with protection against arrhythmia in healthy persons in a Mediterranean region--the ATTICA study. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(5):1385-91.
  145. Dallongeville J, Yarnell J, Ducimetière P, Arveiler D, Ferrières J, Montaye M, et al. Fish consumption is associated with lower heart rates. *Circulation.* 2003;108(7):820-5.
  146. Buscemi S, Nicolucci A, Lucisano G, Galvano F, Grosso G, Belmonte S, et al. Habitual fish intake and clinically silent carotid atherosclerosis. *Nutr J.* 2014;13:2.
  147. He K, Liu K, Daviglus ML, Mayer-Davis E, Jenny NS, Jiang R, et al. Intakes of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and fish in relation to measurements of subclinical atherosclerosis. *Am J Clin Nutr.* 2008;88(4):1111-8.
  148. Erkkilä AT, Lichtenstein AH, Mozaffarian D, Herrington DM. Fish intake is associated with a reduced progression of coronary artery atherosclerosis in postmenopausal women with coronary artery disease. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(3):626-32.
  149. Wallin A, Di Giuseppe D, Orsini N, Patel PS, Forouhi NG, Wolk A. Fish consumption, dietary long-chain n-3 fatty acids, and risk of type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Diabetes Care.* 2012;35(4):918-29.
  150. Zhang M, Picard-Deland E, Marette A. Fish and marine omega-3 polyunsaturated Fatty Acid consumption and incidence of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Int J Endocrinol.* 2013;2013:501015.
  151. Wu JHY, Micha R, Imamura F, Pan A, Biggs ML, Ajaz O, et al. Omega-3 fatty acids and incident type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr.* 2012;107(S2):S214-27.



152. Patel PS, Forouhi NG, Kuijsten A, Schulze MB, van Woudenberg GJ, Ardanaz E, et al. The prospective association between total and type of fish intake and type 2 diabetes in 8 European countries: EPIC-InterAct Study. *Am J Clin Nutr.* 2012;95(6):1445-53.
153. Feskens EJ, Bowles CH, Kromhout D. Inverse association between fish intake and risk of glucose intolerance in normoglycemic elderly men and women. *Diabetes Care.* 1991;14(11):935-41.
154. Rylander C, Sandanger TM, Engeset D, Lund E. Consumption of lean fish reduces the risk of type 2 diabetes mellitus: a prospective population based cohort study of Norwegian women. *PLoS One.* 2014;9(2):e89845.
155. Djoussé L, Gaziano JM, Buring JE, Lee I-M. Dietary omega-3 fatty acids and fish consumption and risk of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2011;93(1):143-50.
156. Kaushik M, Mozaffarian D, Spiegelman D, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Long-chain omega-3 fatty acids, fish intake, and the risk of type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr.* 2009;90(3):613-20.
157. van Woudenberg GJ, van Ballegooijen AJ, Kuijsten A, Sijbrands EJG, van Rooij FJA, Geleijnse JM, et al. Eating Fish and Risk of Type 2 Diabetes: A population-based, prospective follow-up study. *Diabetes Care.* 2009;32(11):2021-6.
158. Nanri A, Mizoue T, Noda M, Takahashi Y, Matsushita Y, Poudel-Tandukar K, et al. Fish intake and type 2 diabetes in Japanese men and women: the Japan Public Health Center-based Prospective Study. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(3):884-91.
159. Villegas R, Xiang Y-B, Elasy T, Li H-L, Yang G, Cai H, et al. Fish, shellfish, and long-chain n-3 fatty acid consumption and risk of incident type 2 diabetes in middle-aged Chinese men and women. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(2):543-51.
160. Nkondjock A, Receveur O. Fish-seafood consumption, obesity, and risk of type 2 diabetes: an ecological study. *Diabetes Metab.* 2003;29(6):635-42.
161. Löfvenborg JE, Andersson T, Carlsson P-O, Dorkhan M, Groop L, Martinell M, et al. Fatty fish consumption and risk of latent autoimmune diabetes in adults. *Nutr Diabetes.* 2014;4:e139.
162. Zheng J-S, Huang T, Yang J, Fu Y-Q, Li D. Marine N-3 polyunsaturated

- fatty acids are inversely associated with risk of type 2 diabetes in Asians: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(9):e44525.
163. Lang UE, Beglinger C, Schweinfurth N, Walter M, Borgwardt S. Nutritional Aspects of Depression. *Cell Physiol Biochem*. 2015;37(3):1029-43.
  164. Li F, Liu X, Zhang D. Fish consumption and risk of depression: a meta-analysis. *J Epidemiol Community Health*. 2016;70(3):299-304.
  165. Bartoli F, Carrà G, Crocamo C, Carretta D, La Tegola D, Tabacchi T, et al. Association between depression and neuropathy in people with type 2 diabetes: a meta-analysis. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2016;31(8):829-36.
  166. Kan C, Silva N, Golden SH, Rajala U, Timonen M, Stahl D, et al. A systematic review and meta-analysis of the association between depression and insulin resistance. *Diabetes Care*. 2013;36(2):480-9.
  167. Luppino FS, de Wit LM, Bouvy PF, Stijnen T, Cuijpers P, Penninx BWJH, et al. Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Arch Gen Psychiatry*. 2010;67(3):220-9.
  168. Mansur RB, Brietzke E, McIntyre RS. Is there a "metabolic-mood syndrome"? A review of the relationship between obesity and mood disorders. *Neurosci Biobehav Rev*. 2015;52:89-104.
  169. Nouwen A, Winkley K, Twisk J, Lloyd CE, Peyrot M, Ismail K, et al. Type 2 diabetes mellitus as a risk factor for the onset of depression: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia*. 2010;53(12):2480-6.
  170. Yu M, Zhang X, Lu F, Fang L. Depression and Risk for Diabetes: A Meta-Analysis. *Can J diabetes*. 2015;39(4):266-72.
  171. Rodríguez MR, Nuevo R, Chatterji S, Ayuso-Mateos JL. Definitions and factors associated with subthreshold depressive conditions: a systematic review. *BMC Psychiatry*. 2012;12:181.
  172. Polonsky, WH. Understanding and Assessing Diabetes-Specific Quality of Life. *Diabetes Spectrum*. 2000;13:36.
  173. Virtanen JK, Siscovick DS, Longstreth WT, Kuller LH, Mozaffarian D. Fish consumption and risk of subclinical brain abnormalities on MRI in older adults. *Neurology*. 2008;71(6):439-46.

174. Domingo JL. Nutrients and Chemical Pollutants in Fish and Shellfish. Balancing Health Benefits and Risks of Regular Fish Consumption. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2016;56(6):979-88.
175. Harris WS. The omega-3 index: clinical utility for therapeutic intervention. *Curr Cardiol Rep*. 2010;12(6):503-8.
176. Harris WS. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: a case for omega-3 index as a new risk factor. *Pharmacol Res*. 2007;55(3):217-23.
177. Schuchardt JP, Hahn A. Bioavailability of long-chain omega-3 fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2013;89(1):1-8.
178. von Schacky C. Omega-3 index and cardiovascular health. *Nutrients*. 2014;6(2):799-814.
179. Harris WS, Sands SA, Windsor SL, Ali HA, Stevens TL, Magalski A, et al. Omega-3 fatty acids in cardiac biopsies from heart transplantation patients: correlation with erythrocytes and response to supplementation. *Circulation*. 2004;110(12):1645-9.
180. Metcalf RG, Cleland LG, Gibson RA, Roberts-Thomson KC, Edwards JR, Sanders P, et al. Relation between blood and atrial fatty acids in patients undergoing cardiac bypass surgery. *Am J Clin Nutr*. 2010;91(3):528-34.
181. Acar N, Berdeaux O, Grégoire S, Cabaret S, Martine L, Gain P, et al. Lipid composition of the human eye: are red blood cells a good mirror of retinal and optic nerve fatty acids? *PLoS One*. 2012;7(4):e35102.
182. Gurzell EA, Wiesinger JA, Morkam C, Hemmrich S, Harris WS FJ. Is the omega-3 index a valid marker of intestinal membrane phospholipid EPA+DHA content? *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids*. 2014;91(3):87-96.
183. von Schacky C. Omega-3 fatty acids in cardiovascular disease--an uphill battle. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2015;92:41-7.
184. Hartweg J, Perera R, Montori V, Dinneen S, Neil HAW, Farmer A. Omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane database Syst Rev*. 2008;(1):CD003205.
185. Montori VM, Farmer A, Wollan PC, Dinneen SF. Fish oil supplementation in type 2 diabetes: a quantitative systematic review. *Diabetes Care*. 2000; 23(9):1407-15.

186. Chen C, Yu X, Shao S. Effects of Omega-3 Fatty Acid Supplementation on Glucose Control and Lipid Levels in Type 2 Diabetes: A Meta-Analysis PLoS One. 2015;10(10):e0139565.
187. Flachs P, Rossmeisl M, Kopecky J. The effect of n-3 fatty acids on glucose homeostasis and insulin sensitivity. *Physiol Res*. 2014;63 (Suppl 1):S93-118.
188. Juárez-López C, Klünder-Klünder M, Madrigal-Azcárate A, Flores-Huerta S. Omega-3 polyunsaturated fatty acids reduce insulin resistance and triglycerides in obese children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2013;14(5):377-83.
189. López-Alarcón M, Martínez-Coronado A, Velarde-Castro O, Rendón-Macías E, Fernández J. Supplementation of n3 long-chain polyunsaturated fatty acid synergistically decreases insulin resistance with weight loss of obese prepubertal and pubertal children. *Arch Med Res*. 2011;42(6):502-8.
190. Dangardt F, Chen Y, Gronowitz E, Dahlgren J, Friberg P, Strandvik B. High physiological omega-3 Fatty Acid supplementation affects muscle Fatty Acid composition and glucose and insulin homeostasis in obese adolescents. *J Nutr Metab*. 2012;2012:395757.
191. Akinkuolie AO, Ngwa JS, Meigs JB, Djoussé J. Omega-3 polyunsaturated fatty acid and insulin sensitivity: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Nutr*. 2011;30(6):702-7.
192. Lopez-Huertas E. The effect of EPA and DHA on metabolic syndrome patients: a systematic review of randomised controlled trials. *Br J Nutr*. 2012;107(Suppl 2):S185-94.
193. Hill AM, Buckley JD, Murphy KJ, Howe PRC. Combining fish-oil supplements with regular aerobic exercise improves body composition and cardiovascular disease risk factors. *Am J Clin Nutr*. 2007;85(5):1267-74.
194. Krebs JD, Browning LM, McLean NK, Rothwell JL, Mishra GD, Moore CS, et al. Additive benefits of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and weight-loss in the management of cardiovascular disease risk in overweight hyperinsulinaemic women. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30(10):1535-44.
195. Kabir M, Skurnik G, Naour N, Pechtner V, Meugnier E, Rome S, et al. Treatment for 2 mo with n 3 polyunsaturated fatty acids reduces

- adiposity and some atherogenic factors but does not improve insulin sensitivity in women with type 2 diabetes: a randomized controlled study. *Am J Clin Nutr.* 2007;86(6):1670-9.
196. Browning LM, Krebs JD, Moore CS, Mishra GD, O'Connell MA, Jebb SA. The impact of long chain n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on inflammation, insulin sensitivity and CVD risk in a group of overweight women with an inflammatory phenotype. *Diabetes Obes Metab.* 2007;9(1):70-80.
  197. Kunesová M, Braunerová R, Hlavatý P, Tvrzická E, Stanková B, Skrha J, et al. The influence of n-3 polyunsaturated fatty acids and very low calorie diet during a short-term weight reducing regimen on weight loss and serum fatty acid composition in severely obese women. *Physiol Res.* 2006;55(1):63-72.
  198. Satoh N, Shimatsu A, Kotani K, Himeno A, Majima T, Yamada K, et al. Highly purified eicosapentaenoic acid reduces cardio-ankle vascular index in association with decreased serum amyloid A-LDL in metabolic syndrome. *Hypertens Res.* 2009;32(11):1004-8.
  199. Trøseid M, Seljeflot I, Hjerkin EM, Arnesen H. Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular events in elderly men with the metabolic syndrome: synergistic effect of inflammation and hyperglycemia. *Diabetes Care.* 2009;32(3):486-92.
  200. Neff LM, Culiner J, Cunningham-Rundles S, Seidman C, Meehan D, Maturi J, et al. Algal docosahexaenoic acid affects plasma lipoprotein particle size distribution in overweight and obese adults. *J Nutr.* 2011;141(2):207-13.
  201. Dwell A, Marvasti FF, Harris WS, Tsao P, Gardner CD. Low- and high-dose plant and marine (n-3) fatty acids do not affect plasma inflammatory markers in adults with metabolic syndrome. *J Nutr.* 2011;141(12):2166-71.
  202. Lin N, Shi JJ, Li YM, Zhang XY, Chen Y, Calder PC, et al. What is the impact of n-3 PUFAs on inflammation markers in Type 2 diabetic mellitus populations?: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Lipids Health Dis.* 2016;15:133.
  203. Wu JHY, Cahill LE, Mozaffarian D. Effect of fish oil on circulating adiponectin: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(6):2451-9.

204. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico. *Lancet*. 1999;354(9177):447-55.
205. Kromhout D, Giltay EJ, Geleijnse JM. n-3 fatty acids and cardiovascular events after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2010;363(21):2015-26.
206. Roncaglioni MC, Tombesi M, Silletta MG. n-3 fatty acids in patients with cardiac risk factors. *N Engl J Med*. 2013;369(8):781-2.
207. Rauch B, Schiele R, Schneider S, Diller F, Victor N, Gohlke H, et al. OMEGA, a randomized, placebo-controlled trial to test the effect of highly purified omega-3 fatty acids on top of modern guideline-adjusted therapy after myocardial infarction. *Circulation*. 2010;122(21):2152-9.
208. ORIGIN Trial Investigators. n-3 Fatty Acids and Cardiovascular Outcomes in Patients with Dysglycemia. *N Engl J Med*. 2012;367(4):309-18.
209. DeFina LF, Marcoux LG, Devers SM, Cleaver JP, Willis BL. Effects of omega-3 supplementation in combination with diet and exercise on weight loss and body composition. *Am J Clin Nutr*. 2011;93(2):455-62.
210. Mozaffarian D, Geelen A, Brouwer IA, Geleijnse JM, Zock PL, Katan MB. Effect of fish oil on heart rate in humans: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Circulation*. 2005;112(13):1945-52.
211. Axelrod L, Camuso J, Williams E, Kleinman K, Briones E, Schoenfeld D. Effects of a small quantity of omega-3 fatty acids on cardiovascular risk factors in NIDDM. A randomized, prospective, double-blind, controlled study. *Diabetes Care*. 1994;17(1):37-44.
212. Kesavulu MM, Kameswararao B, Apparao C, Kumar EGT V, Harinarayan C V. Effect of omega-3 fatty acids on lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab*. 2002;28(1):20-6.
213. McManus RM, Jumpson J, Finegood DT, Clandinin MT, Ryan EA. A comparison of the effects of n-3 fatty acids from linseed oil and fish oil in well-controlled type II diabetes. *Diabetes Care*. 1996;19(5):463-7.
214. Rivellese AA, Maffettone A, Iovine C, Di Marino L, Annuzzi G, Mancini M, et al. Long-term effects of fish oil on insulin resistance and plasma

- lipoproteins in NIDDM patients with hypertriglyceridemia. *Diabetes Care*. 1996;19(11):1207-13.
215. Sirtori CR, Crepaldi G, Manzato E, Mancini M, Rivellesse A, Paoletti R, et al. One-year treatment with ethyl esters of n-3 fatty acids in patients with hypertriglyceridemia and glucose intolerance: reduced triglyceridemia, total cholesterol and increased HDL-C without glycemic alterations. *Atherosclerosis*. 1998;137(2):419-27.
  216. Woodman RJ, Mori TA, Burke V, Puddey IB, Watts GF, Beilin LJ. Effects of purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on glycemic control, blood pressure, and serum lipids in type 2 diabetic patients with treated hypertension. *Am J Clin Nutr*. 2002;76(5):1007-15.
  217. McGrath LT, Brennan GM, Donnelly JP, Johnston GD, Hayes JR, McVeigh GE. Effect of dietary fish oil supplementation on peroxidation of serum lipids in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 1996;121(2):275-83.
  218. Pelikánová T, Kohout M, Válek J, Kazdová L, Base J. Metabolic effects of omega-3 fatty acids in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Ann N Y Acad Sci*. 1993;683:272-8.
  219. Mostad IL, Bjerve KS, Bjorgaas MR, Lydersen S, Grill V. Effects of n-3 fatty acids in subjects with type 2 diabetes: reduction of insulin sensitivity and time-dependent alteration from carbohydrate to fat oxidation. *Am J Clin Nutr*. 2006;84(3):540-50.
  220. Andersen AD, Mølbak L, Michaelsen KF, Lauritzen L. Molecular fingerprints of the human fecal microbiota from 9 to 18 months old and the effect of fish oil supplementation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011;53(3):303-9.
  221. Kaliannan K, Wang B, Li X-Y, Kim K-J, Kang JX. A host-microbiome interaction mediates the opposing effects of omega-6 and omega-3 fatty acids on metabolic endotoxemia. *Sci Rep*. 2015;5:11276.
  222. Liu T, Hougen H, Vollmer AC, Hiebert SM. Gut bacteria profiles of *Mus musculus* at the phylum and family levels are influenced by saturation of dietary fatty acids. *Anaerobe*. 2012;18(3):331-7.
  223. Yu H-N, Zhu J, Pan W, Shen S-R, Shan W-G, Das UN. Effects of fish oil with a high content of n-3 polyunsaturated fatty acids on mouse gut microbiota. *Arch Med Res*. 2014;45(3):195-202.



- 
224. Calder PC. Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. *J Nutr.* 2012;142(3):592S-599S.
  225. Calder PC. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1851(4):469-84.
  226. Flock MR, Rogers CJ, Prabhu KS, Kris-Etherton PM. Immunometabolic role of long-chain omega-3 fatty acids in obesity-induced inflammation. *Diabetes Metab Res Rev.* 2013;29(6):431-45.
  227. Oh DY, Olefsky JM. Omega 3 fatty acids and GPR120. *Cell Metab.* 2012;15(5):564-5.
  228. Madani Z, Louchami K, Sener A, Malaisse WJ, Ait Yahia D. Dietary sardine protein lowers insulin resistance, leptin and TNF- $\alpha$  and beneficially affects adipose tissue oxidative stress in rats with fructose-induced metabolic syndrome. *Int J Mol Med.* 2012;29(2):311-8.
  229. Mellouk Z. Dietary sardine protein attenuates hyperglycemia and hyperlipidemia and ameliorates tissue morphology changes in streptozotocin induced diabetic rats. *Met Funct Res Diab* 2009;2:45-54.
  230. Lavigne C, Marette A, Jacques H. Cod and soy proteins compared with casein improve glucose tolerance and insulin sensitivity in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;278(3):E491-500.
  231. Lavigne C, Tremblay F, Asselin G, Jacques H, Marette A. Prevention of skeletal muscle insulin resistance by dietary cod protein in high fat-fed rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;281(1):E62-71.
  232. Pilon G, Ruzzin J, Rioux L-E, Lavigne C, White PJ, Frøyland L, et al. Differential effects of various fish proteins in altering body weight, adiposity, inflammatory status, and insulin sensitivity in high-fat-fed rats. *Metabolism.* 2011;60(8):1122-30.
  233. Benaicheta N, Labbaci FZ, Bouchenak M, Boukortt FO. Effect of sardine proteins on hyperglycaemia, hyperlipidaemia and lecithin:cholesterol acyltransferase activity, in high-fat diet-induced type 2 diabetic rats. *Br J Nutr.* 2016;115(1):6-13.
  234. Ait-Yahia D, Madani S, Savelli J-L, Prost J, Bouchenak M, Belleville J. Dietary fish protein lowers blood pressure and alters tissue polyunsaturated fatty acid composition in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition.* 2003;19(4):342-6.



235. Boukourt FO, Girard A, Prost JL, Ait-Yahia D, Bouchenak M, Belleville J. Fish protein improves the total antioxidant status of streptozotocin-induced diabetes in spontaneously hypertensive rat. *Med Sci Monit.* 2004;10(11):BR397-404.
236. Boukourt FO, Girard A, Prost J, Bouchenak M, Belleville J. Effect of fish protein on blood pressure, glycemia and plasma and urinary parameters in spontaneously hypertensive rats (SHR) and diabetic SHR. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 2004;97(7-8):734-8.
237. Murakami T, Soga M, Mitsunaga T, Yoshizumi H, Ito H. The vascular tissue angiotensin I-converting enzyme activity and aortic elastin content in stroke-prone spontaneously hypertensive rats fed fish diet. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1994;21(6):453-61.
238. Vikøren LA, Nygård OK, Lied E, Rostrup E, Gudbrandsen OA. A randomised study on the effects of fish protein supplement on glucose tolerance, lipids and body composition in overweight adults. *Br J Nutr.* 2013;109(4):648-57.
239. Ryan JT, Ross RP, Bolton D, Fitzgerald GF, Stanton C. Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish. *Nutrients.* 2011;3(9):765-91.
240. Otani L, Ninomiya T, Murakami M, Osajima K, Kato H, Murakami T. Sardine peptide with angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity improves glucose tolerance in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2009;73(10):2203-9.
241. Matsui T, Hayashi A, Tamaya K, Matsumoto K, Kawasaki T, Murakami K, et al. Depressor effect induced by dipeptide, Val-Tyr, in hypertensive transgenic mice is due, in part, to the suppression of human circulating renin-angiotensin system. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2003;30(4):262-5.
242. Tanaka M, Matsui T, Ushida Y, Matsumoto K. Vasodilating effect of di-peptides in thoracic aortas from spontaneously hypertensive rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2006;70(9):2292-5.
243. Kawasaki T, Seki E, Osajima K, Yoshida M, Asada K, Matsui T, et al. Antihypertensive effect of valyl-tyrosine, a short chain peptide derived from sardine muscle hydrolyzate, on mild hypertensive subjects. *J Hum Hypertens.* 2000;14(8):519-23.
244. Parolini C, Vik R, Busnelli M, Bjørndal B, Holm S, Brattelid T,

- et al. A salmon protein hydrolysate exerts lipid-independent anti-atherosclerotic activity in ApoE-deficient mice. *PLoS One*. 2014;9(5):e97598.
245. Sirdah MM. Protective and therapeutic effectiveness of taurine in diabetes mellitus: a rationale for antioxidant supplementation. *Diabetes Metab Syndr*. 2015;9(1):55-64.
  246. Imae M, Asano T, Murakami S. Potential role of taurine in the prevention of diabetes and metabolic syndrome. *Amino Acids*. 2014;46(1):81-8.
  247. Yamori Y, Murakami S, Ikeda K, Nara Y. Fish and lifestyle-related disease prevention: experimental and epidemiological evidence for anti-atherogenic potential of taurine. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2004;31(Suppl 2):S20-3.
  248. Ito T, Schaffer SW, Azuma J. The potential usefulness of taurine on diabetes mellitus and its complications. *Amino Acids*. 2012;42(5):1529-39.
  249. Divakaran S. Taurine: an amino acid rich in fish meal. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. Monterrey; Universidad Autónoma de Nuevo León; 2006.
  250. De la Puerta C, Arrieta FJ, Balsa JA, Botella-Carretero JI, Zamarrón I, Vázquez C. Taurine and glucose metabolism: a review. *Nutr Hosp*. 2010;25(6):910-9.
  251. Chen W, Guo J, Zhang Y, Zhang J. The beneficial effects of taurine in preventing metabolic syndrome. *Food Funct*. 2016;7(4):1849-63.
  252. De Luca G, Calpona PR, Caponetti A, Romano G, Di Benedetto A, Cucinotta D, et al. Taurine and osmoregulation: platelet taurine content, uptake, and release in type 2 diabetic patients. *Metabolism*. 2001;50(1):60-4.
  253. Franconi F, Bennardini F, Mattana A, Miceli M, Ciuti M, Mian M, et al. Plasma and platelet taurine are reduced in subjects with insulin-dependent diabetes mellitus: effects of taurine supplementation. *Am J Clin Nutr*. 1995;61(5):1115-9.
  254. Mårtensson J, Hermansson G. Sulfur amino acid metabolism in juvenile-onset nonketotic and ketotic diabetic patients. *Metabolism*. 1984;33(5):425-8.
  255. Yamori Y, Taguchi T, Hamada A, Kunimasa K, Mori H, Mori M. Taurine in health and diseases: consistent evidence from experimental and

- epidemiological studies. *J Biomed Sci.* 2010;17 (Suppl 1):S6.
256. Yamori Y, Liu L, Ikeda K, Miura A, Mizushima S, Miki T, et al. Distribution of twenty-four hour urinary taurine excretion and association with ischemic heart disease mortality in 24 populations of 16 countries: results from the WHO-CARDIAC study. *Hypertens Res.* 2001;24(4):453-7.
257. Chauncey KB, Tenner TE, Lombardini JB, Jones BG, Brooks ML, Warner RD, et al. The effect of taurine supplementation on patients with type 2 diabetes mellitus. *Adv Exp Med Biol.* 2003;526:91-6.
258. Elizarova EP, Nedosugova L V. First experiments in taurine administration for diabetes mellitus. The effect on erythrocyte membranes. *Adv Exp Med Biol.* 1996;403:583-8.
259. Xiao C, Giacca A, Lewis GF. Oral taurine but not N-acetylcysteine ameliorates NEFA-induced impairment in insulin sensitivity and beta cell function in obese and overweight, non-diabetic men. *Diabetologia.* 2008;51(1):139-46.
260. Rosa FT, Freitas EC, Deminice R, Jordão AA, Marchini JS. Oxidative stress and inflammation in obesity after taurine supplementation: a double-blind, placebo-controlled study. *Eur J Nutr.* 2014;53(3):823-30.
261. Brøns C, Spohr C, Storgaard H, Dyerberg J, Vaag A. Effect of taurine treatment on insulin secretion and action, and on serum lipid levels in overweight men with a genetic predisposition for type II diabetes mellitus. *Eur J Clin Nutr.* 2004;58(9):1239-47.
262. Franconi F, Loizzo A. Taurine supplementation and diabetes mellitus. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2006;9(1):32-6.
263. Murakami S. Role of taurine in the pathogenesis of obesity. *Mol Nutr Food Res.* 2015;59(7):1353-63.
264. El Mesallamy HO, El-Demerdash E, Hammad LN, El Magdoub HM. Effect of taurine supplementation on hyperhomocysteinemia and markers of oxidative stress in high fructose diet induced insulin resistance. *Diabetol Metab Syndr.* 2010;2:46.
265. El-Batch M, Hassan AM, Mahmoud HA. Taurine is more effective than melatonin on cytochrome P450 2E1 and some oxidative stress markers in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Agric Food Chem.* 2011;59(9):4995-5000.

266. Gavrovskaya LK, Ryzhova O V, Safonova AF, Matveev AK, Sapronov NS. Protective effect of taurine on rats with experimental insulin-dependent diabetes mellitus. *Bull Exp Biol Med.* 2008;146(2):226-8.
267. Chang KJ, Kwon W. Immunohistochemical localization of insulin in pancreatic beta-cells of taurine-supplemented or taurine-depleted diabetic rats. *Adv Exp Med Biol.* 2000;483:579-87.
268. Nakaya Y, Minami A, Harada N, Sakamoto S, Niwa Y, Ohnaka M. Taurine improves insulin sensitivity in the Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rat, a model of spontaneous type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(1):54-8.
269. Tenner TE, Zhang XJ, Lombardini JB. Hypoglycemic effects of taurine in the alloxan-treated rabbit, a model for type 1 diabetes. *Adv Exp Med Biol.* 2003;526:97-104.
270. Winiarska K, Szymanski K, Gorniak P, Dudziak M, Bryla J. Hypoglycaemic, antioxidative and nephroprotective effects of taurine in alloxan diabetic rabbits. *Biochimie.* 2009;91(2):261-70.
271. Yu H, Guo Z, Shen S, Shan W. Effects of taurine on gut microbiota and metabolism in mice. *Amino Acids.* 2016;48(7):1601-17.
272. Elvevoll EO, Eilertsen K-E, Brox J, Dragnes BT, Falkenberg P, Olsen JO, et al. Seafood diets: hypolipidemic and antiatherogenic effects of taurine and n-3 fatty acids. *Atherosclerosis.* 2008;200(2):396-402.
273. Mikami N, Hosokawa M, Miyashita K. Dietary combination of fish oil and taurine decreases fat accumulation and ameliorates blood glucose levels in type 2 diabetic/obese KK-A(y) mice. *J Food Sci.* 2012;77(6):H114-20.
274. Dunstan DW, Mori TA, Puddey IB, Beilin LJ, Burke V, Morton AR, et al. The independent and combined effects of aerobic exercise and dietary fish intake on serum lipids and glycemic control in NIDDM. A randomized controlled study. *Diabetes Care.* 1997;20(6):913-21.
275. Karlström BE, Järvi AE, Byberg L, Berglund LG, Vessby BOH. Fatty fish in the diet of patients with type 2 diabetes: comparison of the metabolic effects of foods rich in n-3 and n-6 fatty acids. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(1):26-33.
276. Kondo K, Morino K, Nishio Y, Kondo M, Nakao K, Nakagawa F, et al. A fish-based diet intervention improves endothelial function in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus: a randomized

- crossover trial. *Metabolism*. 2014;63(7):930-40.
277. Lankinen M, Schwab U, Kolehmainen M, Paananen J, Poutanen K, Mykkänen H, et al. Whole grain products, fish and bilberries alter glucose and lipid metabolism in a randomized, controlled trial: the Sysdimet study. *PLoS One*. 2011;6(8):e22646.
  278. Lankinen M, Schwab U, Erkkilä A, Seppänen-Laakso T, Hannila M-L, Mussalo H, et al. Fatty fish intake decreases lipids related to inflammation and insulin signaling--a lipidomics approach. *PLoS One*. 2009;4(4):e5258.
  279. Zhang J, Wang C, Li L, Man Q, Meng L, Song P, et al. Dietary inclusion of salmon, herring and pompano as oily fish reduces CVD risk markers in dyslipidaemic middle-aged and elderly Chinese women. *Br J Nutr*. 2012;108(8):1455-65.
  280. Erkkilä AT, Schwab US, de Mello VDF, Lappalainen T, Mussalo H, Lehto S, et al. Effects of fatty and lean fish intake on blood pressure in subjects with coronary heart disease using multiple medications. *Eur J Nutr*. 2008;47(6):319-28.
  281. Vandongen R, Mori TA, Burke V, Beilin LJ, Morris J, Ritchie J. Effects on blood pressure of omega 3 fats in subjects at increased risk of cardiovascular disease. *Hypertension*. 1993;22(3):371-9.
  282. Neale EP, Muhlhausler B, Probst YC, Batterham MJ, Fernandez F, Tapsell LC. Short-term effects of fish and fish oil consumption on total and high molecular weight adiponectin levels in overweight and obese adults. *Metabolism*. 2013;62(5):651-60.
  283. Moore CS, Bryant SP, Mishra GD, Krebs JD, Browning LM, Miller GJ, et al. Oily fish reduces plasma triacylglycerols: a primary prevention study in overweight men and women. *Nutrition*. 2006;22(10):1012-24.
  284. Tsitouras PD, Gucciardo F, Salbe AD, Heward C, Harman SM. High omega-3 fat intake improves insulin sensitivity and reduces CRP and IL6, but does not affect other endocrine axes in healthy older adults. *Horm Metab Res*. 2008;40(3):199-205.
  285. Tapsell LC, Batterham MJ, Charlton KE, Neale EP, Probst YC, O'Shea JE, et al. Foods, nutrients or whole diets: effects of targeting fish and LCn3PUFA consumption in a 12mo weight loss trial. *BMC Public Health*. 2013;13:1231.
  286. Ramel A, Martínéz A, Kiely M, Morais G, Bandarra NM, Thorsdottir I.

- Beneficial effects of long-chain n-3 fatty acids included in an energy-restricted diet on insulin resistance in overweight and obese European young adults. *Diabetologia*. 2008;51(7):1261-8.
287. Abete I, Parra D, Crujeiras AB, Goyenechea E, Martinez JA. Specific insulin sensitivity and leptin responses to a nutritional treatment of obesity via a combination of energy restriction and fatty fish intake. *J Hum Nutr Diet*. 2008;21(6):591-600.
288. Mori TA, Bao DQ, Burke V, Puddey IB, Watts GF, Beilin LJ. Dietary fish as a major component of a weight-loss diet: effect on serum lipids, glucose, and insulin metabolism in overweight hypertensive subjects. *Am J Clin Nutr*. 1999;70(5):817-25.
289. Thorsdottir I, Tomasson H, Gunnarsdottir I, Gisladdottir E, Kiely M, Parra MD, et al. Randomized trial of weight-loss-diets for young adults varying in fish and fish oil content. *Int J Obes (Lond)*. 2007;31(10):1560-6.
290. de Mello VDF, Schwab U, Kolehmainen M, Koenig W, Siloaho M, Poutanen K, et al. A diet high in fatty fish, bilberries and wholegrain products improves markers of endothelial function and inflammation in individuals with impaired glucose metabolism in a randomised controlled trial: the Sysdimet study. *Diabetologia*. 2011;54(11):2755-67.
291. Moreira AC, Gaspar A, Serra MA, Simões J, Lopes da Cruz J, Amaral TF do. Effect of a sardine supplement on C-reactive protein in patients receiving hemodialysis. *J Ren Nutr*. 2007;17(3):205-13.
292. Ramel A, Martinez JA, Kiely M, Bandarra NM, Thorsdottir I. Effects of weight loss and seafood consumption on inflammation parameters in young, overweight and obese European men and women during 8 weeks of energy restriction. *Eur J Clin Nutr*. 2010;64(9):987-93.
293. Lindqvist H, Langkilde AM, Undeland I, Rådendal T, Sandberg AS. Herring (*Clupea harengus*) supplemented diet influences risk factors for CVD in overweight subjects. *Eur J Clin Nutr*. 2007;61(9):1106-13.
294. Lindqvist HM, Langkilde AM, Undeland I, Sandberg A-S. Herring (*Clupea harengus*) intake influences lipoproteins but not inflammatory and oxidation markers in overweight men. *Br J Nutr*. 2009;101(3):383-90.
295. Zhang J, Wang C, Li L, Man Q, Song P, Meng L, et al. Inclusion of

- Atlantic salmon in the Chinese diet reduces cardiovascular disease risk markers in dyslipidemic adult men. *Nutr Res.* 2010;30(7):447-54.
296. Grieger JA, Miller MD, Cobiac L. Investigation of the effects of a high fish diet on inflammatory cytokines, blood pressure, and lipids in healthy older Australians. *Food Nutr Res.* 2014;58.
  297. Ramel A, Parra D, Martínéz JA, Kiely M, Thorsdottir I. Effects of seafood consumption and weight loss on fasting leptin and ghrelin concentrations in overweight and obese European young adults. *Eur J Nutr.* 2009;48(2):107-14.
  298. Lara JJ, Economou M, Wallace AM, Rumley A, Lowe G, Slater C, et al. Benefits of salmon eating on traditional and novel vascular risk factors in young, non-obese healthy subjects. *Atherosclerosis.* 2007;193(1):213-21.
  299. Guebre-Egziabher F, Rabasa-Lhoret R, Bonnet F, Bastard J-P, Desage M, Skilton MR, et al. Nutritional intervention to reduce the n-6/n-3 fatty acid ratio increases adiponectin concentration and fatty acid oxidation in healthy subjects. *Eur J Clin Nutr.* 2008;62(11):1287-93.
  300. Mori TA, Vandongen R, Beilin LJ, Burke V, Morris J, Ritchie J. Effects of varying dietary fat, fish, and fish oils on blood lipids in a randomized controlled trial in men at risk of heart disease. *Am J Clin Nutr.* 1994;59(5):1060-8.
  301. Gunnarsdottir I, Tomasson H, Kiely M, Martínéz JA, Bandarra NM, Morais MG, et al. Inclusion of fish or fish oil in weight-loss diets for young adults: effects on blood lipids. *Int J Obes (Lond).* 2008;32(7):1105-12.
  302. Bao DQ, Mori TA, Burke V, Puddey IB, Beilin LJ. Effects of dietary fish and weight reduction on ambulatory blood pressure in overweight hypertensives. *Hypertension.* 1998;32(4):710-7.
  303. Ramel A, Martinez JA, Kiely M, Bandarra NM, Thorsdottir I. Moderate consumption of fatty fish reduces diastolic blood pressure in overweight and obese European young adults during energy restriction. *Nutrition.* 2010;26(2):168-74.
  304. Navas-Carretero S, Pérez-Granados AM, Schoppen S, Vaquero MP. An oily fish diet increases insulin sensitivity compared to a red meat diet in young iron-deficient women. *Br J Nutr.* 2009;102(4):546-53.
  305. Sallé A, Ryan M, Ritz P. Underreporting of food intake in obese



- diabetic and nondiabetic patients. *Diabetes Care*. 2006;29(12):2726-7.
306. Uhe AM, Collier GR, O'Dea K. A comparison of the effects of beef, chicken and fish protein on satiety and amino acid profiles in lean male subjects. *J Nutr*. 1992;122(3):467-72.
  307. Nardelli TR, Ribeiro RA, Balbo SL, Vanzela EC, Carneiro EM, Boschero AC, et al. Taurine prevents fat deposition and ameliorates plasma lipid profile in monosodium glutamate-obese rats. *Amino Acids*. 2011;41(4):901-8.
  308. Flachs P, Horakova O, Brauner P, Rossmeisl M, Pecina P, Franssen-van Hal N, et al. Polyunsaturated fatty acids of marine origin upregulate mitochondrial biogenesis and induce beta-oxidation in white fat. *Diabetologia*. 2005;48(11):2365-75.
  309. Camargo RL, Batista TM, Ribeiro RA, Velloso LA, Boschero AC, Carneiro EM. Effects of taurine supplementation upon food intake and central insulin signaling in malnourished mice fed on a high-fat diet. *Adv Exp Med Biol*. 2013;776:93-103.
  310. Solon CS, Franci D, Ignacio-Souza LM, Romanatto T, Roman EA, Arruda AP, et al. Taurine enhances the anorexigenic effects of insulin in the hypothalamus of rats. *Amino Acids*. 2012;42(6):2403-10.
  311. Kim KS, Oh DH, Kim JY, Lee BG, You JS, Chang KJ, et al. Taurine ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia by reducing insulin resistance and leptin level in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLETF) rats with long-term diabetes. *Exp Mol Med*. 2012;44(11):665-73.
  312. Martínez-González MA, Salas-Salvadó J, Estruch R, Corella D D, Fitó M, Ros E. Benefits of the Mediterranean Diet: Insights from the PREDIMED Study. *Prog Cardiovasc Dis*. 2015;58(1):50-60.
  313. Riserus U, Willett W, Hu F. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. *Prog Lipid Res*. 2009;48(1):44-51.
  314. Pereira MA, Jacobs DR, Pins JJ, Raatz SK, Gross MD, Slavin JL, et al. Effect of whole grains on insulin sensitivity in overweight hyperinsulinemic adults. *Am J Clin Nutr*. 2002;75(5):848-55.
  315. Weickert MO. What dietary modification best improves insulin sensitivity and why? *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012;77(4):508-12.
  316. Trento M, Passera P, Tomalino M, Bajardi M, Pomero F, Allione A, et



- al. Group visits improve metabolic control in type 2 diabetes: a 2-year follow-up. *Diabetes Care*. 2001;24(6):995-1000.
317. Way KL, Hackett DA, Baker MK, Johnson NA. The Effect of Regular Exercise on Insulin Sensitivity in Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Diabetes Metab J*. 2016;40(4):253-71.
  318. Baldasseroni S, Antenore A, Di Serio C, Orso F, Lonetto G, Bartoli N, et al. Adiponectin, diabetes and ischemic heart failure: a challenging relationship. *Cardiovasc Diabetol*. 2012;11:151.
  319. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, et al. Plasma Concentrations of a Novel, Adipose-Specific Protein, Adiponectin, in Type 2 Diabetic Patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(6):1595-9.
  320. Hara K, Horikoshi M, Yamauchi T, Yago H, Miyazaki O, Ebinuma H, et al. Measurement of the high-molecular weight form of adiponectin in plasma is useful for the prediction of insulin resistance and metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2006;29(6):1357-62.
  321. Flachs P, Mohamed-Ali V, Horakova O, Rossmeisl M, Hosseinzadeh-Attar MJ, Hensler M, et al. Polyunsaturated fatty acids of marine origin induce adiponectin in mice fed a high-fat diet. *Diabetologia*. 2006;49(2):394-7.
  322. You JS, Zhao X, Kim SH, Chang KJ. Positive correlation between serum taurine and adiponectin levels in high-fat diet-induced obesity rats. *Adv Exp Med Biol*. 2013;776:105-11.
  323. Rodrigues PO, Martins S V, Lopes PA, Ramos C, Miguéis S, Alfaia CM, et al. Influence of feeding graded levels of canned sardines on the inflammatory markers and tissue fatty acid composition of Wistar rats. *Br J Nutr*. 2014;112(3):309-19.
  324. Wolf AM, Wolf D, Rumpold H, Enrich B, Tilg H. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;323(2):630-5.
  325. Satoh-Asahara N, Shimatsu A, Sasaki Y, Nakaoka H, Himeno A, Tochiya M, et al. Highly purified eicosapentaenoic acid increases interleukin-10 levels of peripheral blood monocytes in obese patients with dyslipidemia. *Diabetes Care*. 2012;35(12):2631-9.
  326. Lin S, Hirai S, Yamaguchi Y, Goto T, Takahashi N, Tani F, et al. Taurine improves obesity-induced inflammatory responses and modulates

- the unbalanced phenotype of adipose tissue macrophages. *Mol Nutr Food Res*. 2013;57(12):2155-65.
327. Kim H-J, Higashimori T, Park S-Y, Choi H, Dong J, Kim Y-J, et al. Differential effects of interleukin-6 and -10 on skeletal muscle and liver insulin action in vivo. *Diabetes*. 2004;53(4):1060-7.
  328. Straczkowski M, Kowalska I, Nikolajuk A, Krukowska A, Gorska M. Plasma interleukin-10 concentration is positively related to insulin sensitivity in young healthy individuals. *Diabetes Care*. 2005;28(8):2036-7.
  329. Forsythe LK, Wallace JMW, Livingstone MBE. Obesity and inflammation: the effects of weight loss. *Nutr Res Rev*. 2008;21(2):117-33.
  330. Ouellet V, Weisnagel SJ, Marois J, Bergeron J, Julien P, Gougeon R, et al. Dietary cod protein reduces plasma C-reactive protein in insulin-resistant men and women. *J Nutr*. 2008;138(12):2386-91.
  331. Lindgren FT, Adamson GL, Shore VG, Nelson GJ, Schmidt PC. Effect of a salmon diet on the distribution of plasma lipoproteins and apolipoproteins in normolipidemic adult men. *Lipids*. 1991;26(2):97-101.
  332. Wulffelé MG, Kooy A, de Zeeuw D, Stehouwer CDA, Gansevoort RT. The effect of metformin on blood pressure, plasma cholesterol and triglycerides in type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *J Intern Med*. 2004;256(1):1-14.
  333. Cho YI, Mooney MP, Cho DJ. Hemorheological disorders in diabetes mellitus. *J Diabetes Sci Technol*. 2008;2(6):1130-8.
  334. Weijers RNM. Lipid composition of cell membranes and its relevance in type 2 diabetes mellitus. *Curr Diabetes Rev*. 2012;8(5):390-400.
  335. Anuradha C V, Balakrishnan SD. Taurine attenuates hypertension and improves insulin sensitivity in the fructose-fed rat, an animal model of insulin resistance. *Can J Physiol Pharmacol*. 1999;77(10):749-54.
  336. Fujita T, Ando K, Noda H, Ito Y, Sato Y. Effects of increased adrenomedullary activity and taurine in young patients with borderline hypertension. *Circulation*. 1987;75(3):525-32.
  337. Fujita T, Sato Y. Changes in blood pressure and extracellular fluid with taurine in DOCA-salt rats. *Am J Physiol*. 1986;250(6 Pt 2):R1014-20.
  338. Geleijnse JM, Giltay EJ, Grobbee DE, Donders ART, Kok FJ. Blood

- pressure response to fish oil supplementation: metaregression analysis of randomized trials. *J Hypertens*. 2002;20(8):1493-9.
339. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006;444(7122):1027-31.
  340. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006;444(7122):1022-3.
  341. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FWJ, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One*. 2010;5(2):e9085.
  342. Duncan SH, Lopley GE, Holtrop G, Ince J, Johnstone AM, Louis P, et al. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32(11):1720-4.
  343. Verdham FJ, Fuentes S, de Jonge C, Zoetendal EG, Erbil R, Greve JW, et al. Human intestinal microbiota composition is associated with local and systemic inflammation in obesity. *Obesity*. 2013;21(12):E607-15.
  344. Hwang I, Park YJ, Kim Y-R, Kim YN, Ka S, Lee HY, et al. Alteration of gut microbiota by vancomycin and bacitracin improves insulin resistance via glucagon-like peptide 1 in diet-induced obesity. *FASEB J*. 2015;29(6):2397-411.
  345. Miquel S, Martín R, Rossi O, Bermúdez-Humarán LG, Chatel JM, Sokol H, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* and human intestinal health. *Curr Opin Microbiol*. 2013;16(3):255-61.
  346. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 2014;505(7484):559-63.
  347. Fava F, Gitau R, Griffin BA, Gibson GR, Tuohy KM, Lovegrove JA. The type and quantity of dietary fat and carbohydrate alter faecal microbiome and short-chain fatty acid excretion in a metabolic syndrome “at-risk” population. *Int J Obes (Lond)*. 2013;37(2):216-23.
  348. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(33):14691-6.
  349. Nadal I, Santacruz A, Marcos A, Warnberg J, Garagorri JM, Garagorri

- M, et al. Shifts in clostridia, bacteroides and immunoglobulin-coating fecal bacteria associated with weight loss in obese adolescents. *Int J Obes (Lond)*. 2009;33(7):758-67.
350. Kruis W, Schütz E, Fric P, Fixa B, Judmaier G, Stolte M. Double-blind comparison of an oral *Escherichia coli* preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 1997;11(5):853-8.
351. Kruis W, Fric P, Pokrotnieks J, Lukás M, Fixa B, Kascák M, et al. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut*. 2004;53(11):1617-23.
352. Möndel M, Schroeder BO, Zimmermann K, Huber H, Nuding S, Beisner J, et al. Probiotic *E. coli* treatment mediates antimicrobial human beta-defensin synthesis and fecal excretion in humans. *Mucosal Immunol*. 2009;2(2):166-72.
353. Rubin RR, Peyrot M. Quality of life and diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 1999;15(3):205-18.
354. Ali S, Stone M, Skinner TC, Robertson N, Davies M, Khunti K. The association between depression and health-related quality of life in people with type 2 diabetes: a systematic literature review. *Diabetes Metab Res Rev*. 2010;26(2):75-89.
355. Henríquez Sánchez P, Ruano C, de Irala J, Ruiz-Canela M, Martínez-González MA, Sánchez-Villegas A. Adherence to the Mediterranean diet and quality of life in the SUN Project. *Eur J Clin Nutr*. 2012;66(3):360-8.
356. Muñoz M-A, Fíto M, Marrugat J, Covas M-I, Schröder H. Adherence to the Mediterranean diet is associated with better mental and physical health. *Br J Nutr*. 2009;101(12):1821-7.
357. Toobert DJ, Glasgow RE, Strycker LA, Barrera M, Radcliffe JL, Wander RC, et al. Biologic and quality-of-life outcomes from the Mediterranean Lifestyle Program: a randomized clinical trial. *Diabetes Care*. 2003;26(8):2288-93.
358. Lee P, Chen R. Vitamin D as an analgesic for patients with type 2 diabetes and neuropathic pain. *Arch Intern Med*. 2008;168(7):771-2.
359. Furet J-P, Firmesse O, Gourmelon M, Bridonneau C, Tap J, Mondot S, et al. Comparative assessment of human and farm animal faecal

- microbiota using real-time quantitative PCR. *FEMS Microbiol Ecol*. 2009;68(3):351-62.
360. Guo X, Xia X, Tang R, Zhou J, Zhao H, Wang K. Development of a real-time PCR method for Firmicutes and Bacteroidetes in faeces and its application to quantify intestinal population of obese and lean pigs. *Lett Appl Microbiol*. 2008;47(5):367-73.
361. Rinttilä T, Kassinen A, Malinen E, Krogius L, Palva A. Development of an extensive set of 16S rDNA-targeted primers for quantification of pathogenic and indigenous bacteria in faecal samples by real-time PCR. *J Appl Microbiol*. 2004;97(6):1166-77.
362. Lopez-Siles M, Martinez-Medina M, Busquets D, Sabat-Mir M, Duncan SH, Flint HJ, et al. Mucosa-associated Faecalibacterium prausnitzii and Escherichia coli co-abundance can distinguish Irritable Bowel Syndrome and Inflammatory Bowel Disease phenotypes. *Int J Med Microbiol*. 2014;304(3-4):464-5.
363. Huijsdens XW, Linskens RK, Mak M, Meuwissen SGM, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Savelkoul PHM. Quantification of bacteria adherent to gastrointestinal mucosa by real-time PCR. *J Clin Microbiol*. 2002;40(12):4423-7.





# 10 **Annexos**



# Annex I. Publicació de l'estudi Pilchardus

Balfegó et al. *Lipids in Health and Disease* (2016) 15:78  
DOI 10.1186/s12944-016-0245-0

Lipids in Health and Disease

## RESEARCH

## Open Access



## Effects of sardine-enriched diet on metabolic control, inflammation and gut microbiota in drug-naïve patients with type 2 diabetes: a pilot randomized trial

Mariona Balfegó<sup>1,2\*</sup>, Silvia Canivell<sup>2,3,12</sup>, Felicia A. Hanzu<sup>1,4,11</sup>, Aleix Sala-Vila<sup>5</sup>, Margarita Martínez-Medina<sup>6</sup>, Serafín Murillo<sup>1,2</sup>, Teresa Mur<sup>7</sup>, Elena G. Ruano<sup>1,2</sup>, Francisca Linares<sup>1,8</sup>, Nuria Porras<sup>1,8</sup>, Silvia Valladares<sup>1,9</sup>, Maria Fontalba<sup>1,8</sup>, Elena Roura<sup>10</sup>, Anna Novials<sup>1,2,4</sup>, Cristina Hernández<sup>1,9</sup>, Gloria Aranda<sup>4</sup>, Antoni Sisó-Almirall<sup>3,11</sup>, Gemma Rojo-Martínez<sup>1,8</sup>, Rafael Simó<sup>1,9</sup> and Ramon Gomis<sup>1,2,4,11</sup>

### Abstract

**Background:** Nutrition therapy is the cornerstone of treating diabetes mellitus. The inclusion of fish (particularly oily fish) at least two times per week is recommended by current international dietary guidelines for type 2 diabetes. In contrast to a large number of human studies examining the effects of oily fish on different cardiovascular risk factors, little research on this topic is available in patients with type 2 diabetes. The aims of this pilot study were to investigate the effects of a sardine-enriched diet on metabolic control, adiponectin, inflammatory markers, erythrocyte membrane fatty acid (EMFA) composition, and gut microbiota in drug-naïve patients with type 2 diabetes.

**Methods:** 35 drug-naïve patients with type 2 diabetes were randomized to follow either a type 2 diabetes standard diet (control group: CG), or a standard diet enriched with 100 g of sardines 5 days a week (sardine group: SG) for 6 months. Anthropometric, dietary information, fasting glycated hemoglobin, glucose, insulin, adiponectin, inflammatory markers, EMFA and specific bacterial strains were determined before and after intervention.

**Results:** There were no significant differences in glycemic control between groups at the end of the study. Both groups decreased plasma insulin (SG:  $-35.3\%$ ,  $P = 0.01$ , CG:  $-22.6\%$ ,  $P = 0.02$ ) and homeostasis model of assessment - insulin resistance (HOMA-IR) (SG:  $-39.2\%$ ,  $P = 0.007$ , CG:  $-21.8\%$ ,  $P = 0.04$ ) at 6-months from baseline. However only SG increased adiponectin in plasma compared to baseline level ( $+40.7\%$ ,  $P = 0.04$ ). The omega-3 index increased  $2.6\%$  in the SG compared to  $0.6\%$  in the CG ( $P = 0.001$ ). Both dietary interventions decreased phylum Firmicutes (SG and CG:  $P = 0.04$ ) and increased *E. coli* concentrations (SG:  $P = 0.01$ , CG:  $P = 0.03$ ) at the end of the study from baseline, whereas SG decreased Firmicutes/Bacteroidetes ratio ( $P = 0.04$ ) and increased *Bacteroides-Prevotella* ( $P = 0.004$ ) compared to baseline.

(Continued on next page)

\* Correspondence: mbalfego@clinic.ub.es

<sup>1</sup>CIBER in Diabetes and Associated Metabolic Disorders (CIBERDEM), c/ Monforte de Lemos 3-5 Pabellón 11 planta 0, 28029 Madrid, Spain

<sup>2</sup>Diabetes and Obesity Research Laboratory, August Pi i Sunyer Biomedical Research Institute (IDIBAPS), c/ Roselló 149 planta 5, 08036 Barcelona, Spain  
Full list of author information is available at the end of the article



© 2016 Balfegó et al. **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

(Continued from previous page)

**Conclusions:** Although enriching diet with 100 g of sardines 5 days a week during 6 months to a type 2 diabetes standard diet seems to have neutral effects on glycemic control in drug-naïve patients with type 2 diabetes, this nutritional intervention could have beneficial effects on cardiovascular risk. Furthermore, both dietary interventions decreased HOMA-IR and altered gut microbiota composition of drug-naïve patients with type 2 diabetes.

**Trial registration:** Trial number and name of the registry: NCT02294526, ClinicalTrials.gov

**Keywords:** Type 2 diabetes, Pilot trial, Nutrition therapy, Oily fish, Sardine

## Background

Type 2 diabetes (T2D) is becoming a global epidemic affecting more than 340 millions of people around the world [1]. It is necessary to explore direct and effective approaches in order to minimize and prevent macrovascular and microvascular complications associated with T2D. Nutrition therapy is the cornerstone of treating diabetes mellitus [2], and current international dietary guidelines recommend the inclusion of fish (particularly oily fish) at least two times per week for subjects with T2D [2, 3].

The omega-3 index (O3I) is the eicosapentanoic acid (EPA) + docosahexanoic acid (DHA) content in erythrocytes expressed as a percentage of total identified fatty acids. Besides to be the main determinant of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids (LCn-3PUFAs) intake, the O3I is considered as a novel cardiovascular risk factor [4]. The fact that supplements of seafood-derived n-3 (omega 3) failed to improve insulin metabolism in patients with T2D [5] prompted the hypothesis that nutrients other than omega-3 fatty acids may contribute to the beneficial effects of fish in T2D. These nutrients include fish protein and specific amino acids, particularly taurine, an essential amino acid which can be found abundantly in sardines (*Sardina pilchardus*) [6]. In this regard, rats with diabetes and metabolic syndrome improved insulin resistance, inflammatory status and hyperglycemia after a diet supplemented with proteins obtained from sardines [6, 7]. This overall makes sardine consumption an appealing strategy to limit the complications of T2D.

However, the question of whether regular sardine intake without use of oral hypoglycemic agents improves metabolic control and insulin resistance in patients with T2D remains to be explored. To address this issue, we studied the effect of enriching the diet of drug-naïve T2D patients with 100 g of sardines (the average daily consumption of seafood in Spain [8] 5 days a week for 6 months, searching for changes in metabolic control. As secondary endpoints, we assessed changes in erythrocyte membrane fatty acid (EMFA) profile, adiponectin, inflammatory markers and gut microbiota (GM), whose composition is associated to pathological conditions such as obesity and T2D [9].

## Methods

### Subjects

The Pilchardus Study was a multicenter randomized, nutritional pilot trial conducted between October 2012 and November 2013 in free-living men and women who were overweight or obese [body mass index (BMI) between 26 and 35 kg/m<sup>2</sup>]. Candidate subjects were eligible if they had been diagnosed with T2D according to the American Diabetes Association (ADA) criteria [10] and if their glycated haemoglobin (HbA1c) levels were between 6.0 and 8.0 % following standard diabetes dietary recommendations. In addition, to be included in the study, participants could not be undergoing treatment with insulin and/or oral antidiabetic drugs, were aged between 40 and 70 year and consumed less than 3 servings of fish per week.

Exclusion criteria were either acute cardiovascular or cerebrovascular events diagnosed during the 2 months prior to randomization; changes in chronic medication during the 3 months prior to randomization; treatment with oral steroids or non steroidal anti-inflammatory drugs for more than 5 days during the month prior to randomization; intake of omega 3 supplements; and allergy to fish or fish protein.

All procedures used in the study protocol were approved by the Clinical Research Ethics Committees of the three study centers involved (Hospital Clínic of Barcelona, Hospital Vall d'Hebron of Barcelona, and Hospital Carlos Haya of Málaga). Written informed consent to participate in the study and to publish individual data were obtained from all subjects prior to the start of the study.

### Study design

The Pilchardus Study consisted of a 2-week lead-in period, followed by a 6-month dietary intervention study. Sixty-two subjects were recruited and screened from the Endocrinology and Nutrition outpatient departments of the three different hospitals (Hospital Clínic, Hospital Vall d'Hebron, Hospital Carlos Haya) and from the Primary Health Care Centres participating in the study. Finally, sixteen men and nineteen women (60.6 ± 1.4 years) were enrolled. Participants were randomly allocated either to sardine group (SG) or to control group (CG). The method used to generate the random allocation

sequence was an online randomization software. An external person from the trial staff was in charge of allocating subjects to CG or SG as appropriate.

Participants in the SG ( $n = 19$ ) followed a standard diet for T2D enriched with 100 g of sardines 5 days a week during 6 months. Each subject in SG replaced 100 g of their usual protein foods intake by 100 g of sardines. Participants in the CG ( $n = 16$ ) followed a standard diet for T2D during 6 months without sardine's supplementation.

The nutritional intervention aimed to control individual carbohydrate portions and modify the quality of dietary protein and fat with no specific caloric restriction, in order to avoid a possible interference of a high weight loss in study results. The only difference between diets in the two intervention groups was that subjects in the SG replaced 100 g of their usual protein foods intake by 100 g of sardines, therefore both dietary interventions had the same nutrient composition except for the type of protein and fat coming from sardines.

Participants in the SG were provided with a free supply of sardines to cover the entire interventional period. This included sardines canned in olive oil and sardine-based products developed by Alicia [11], such as sardine hamburgers, croquettes and paté, all of which contained either 50 or 100 g of canned sardines in olive oil per serving. Moreover, a variety of dishes featuring fresh and canned sardines were developed by Alicia to increase the variety of recipes used in the sardine diet. The canned sardines were given to patients during the monthly visits with the dietitian, and the sardine-based products were

sent home, frozen, at the intervention onset and at 3 months.

Dietary intake and dietary habits of all the participants were assessed by a 3-day dietary record at baseline and during the last week of the dietary interventional period. Nutritional composition was analysed by Easy Diet® online software, and total LCn-3PUFAs, EPA + DHA and taurine intakes were analysed by DIAL 1.0 ® software. Nutritional compliance to sardine diet was assessed at the end of dietary intervention by O3I and monthly by Food Frequency Questionnaire (FFQ). Incompliance was defined as consumption of less than 300 g of sardines per week during one month.

During the 2-week lead-in period prior to the start of the nutritional intervention, patients attended two sessions of dietary education. Expert dietitians from the Endocrinology and Nutrition Departments implemented a dietary education program focused on developing the knowledge and skills needed to follow the nutritional prescription used in the study. During the 6-month follow-up period of the study, the same dietitians performed monthly follow-up visits with each subject (Fig. 1).

Clinical measurements and biochemical analysis

At baseline and at the end of the intervention, we obtained anthropometric data and overnight fasted blood samples. Aliquots of blood and plasma were immediately frozen and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis. All biochemical measurements were analyzed at the Biomedical

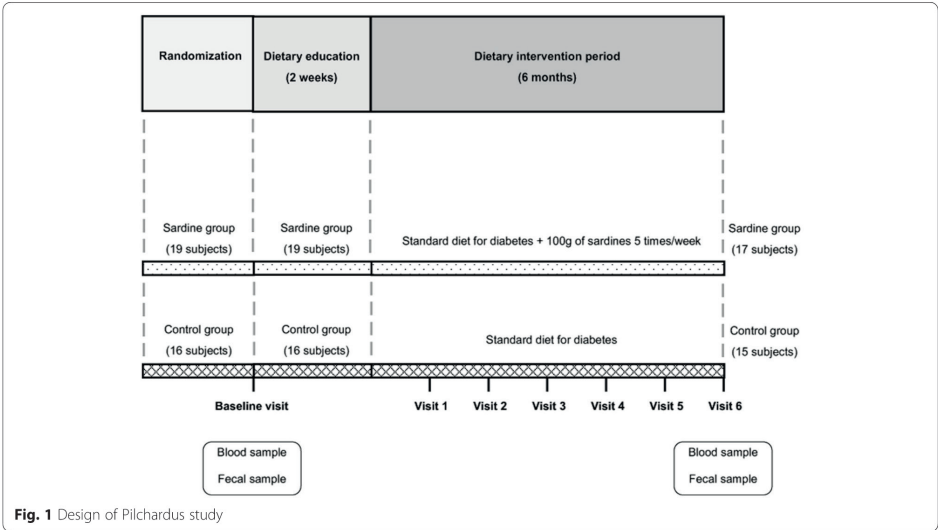


Fig. 1 Design of Pilchardus study

Diagnostic Center of Hospital Clinic of Barcelona and at the IDIBAPS Diabetes and Obesity Research Laboratory.

For HbA<sub>1c</sub> determination, an aliquote of whole blood was refrigerated and was analyzed within the first 48 h. Glucose was determined by enzymatic method (ADVIA 2400 Chemistry Analyzer, Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY), and insulin by chemiluminometric immunoassay (ADVIA Centaur Immunochemistry analyzer, Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY). Insulin resistance was calculated according to homeostasis model of assessment - insulin resistance (HOMA-IR);  $\text{HOMA-IR} = \text{insulin (mU/ml)} \times \text{fasting plasma glucose (mmol/l)} / 22.5$ , with units expressed as mmol/L. Plasma total adiponectin was determined by commercial ELISA kits (Merckodia AB, Uppsala, Sweden). Plasma interleukin 6 (IL-6) and IL-10 were determined by commercial Cytometric Bead Array (BD™, New Jersey, USA). Plasma tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and IL-8 were determined at the Biomedical Diagnostic Center of Hospital Clinic of Barcelona. Whole blood cell membrane fatty acids were determined by GC (Agilent 6890 Gas Chromatograph HP 6890 with capillary column, autosampler and flame ionization detector) as described [12]. Each fatty acid is expressed as a percentage of total identified fatty acids in the whole blood sample. The O3I was calculated by the sum of percentages of EPA + DHA.

#### Gut microbiota composition

Genomic DNA was extracted from fecal samples by using the PSP® Spin Stool DNA Plus kit (Strattec, Berlin, Germany). DNA quantity and purity was checked with NanoDrop ND-100 spectrophotometer. Shifts in microbiota were determined by quantifying the abundance of target bacterial indicators previously associated with T2D by quantitative PCR (qPCR). In particular, we compared the abundance of *Faecalibacterium prausnitzii*, *Escherichia coli* (*E. coli*), *Eubacterium rectale* - *Clostridium coccoides*, *Bacteroides* - *Prevotella*, Firmicutes and the Firmicutes/Bacteroidetes ratio. (Primers, probes, standards for quantification, and PCR conditions are detailed in Additional file 1).

#### Statistical analysis

Descriptive data are presented as the mean or median and standard error (SE) for continuous outcomes, or the number for categorical outcomes. The non-parametric Wilcoxon test for paired data was performed for comparisons between final and baseline values, whereas the U-Mann Withney test was used to compare non-paired data at baseline. Primary and secondary outcomes at 6 months were tested using analysis of covariance (ANCOVA). Statistical analyses were performed using SPSS 18 for Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). *P*

values less than 0.05 were considered statistically significant.

## Results

### Baseline subjects characteristics and drop-outs

Baseline characteristics of the participants were not significantly different between the two groups (Table 1, Additional file 2). All of them were overweight or obese, had HbA<sub>1c</sub> values over 6.5 % and had insulin levels between 14.6 and 17.1 mU/L (Table 1). Two subjects of SG were discontinued from the study, both for incomppliance with the sardine diet. In the CG, one subject was unable to complete the study due to cancer diagnosis. Of the thirty-five randomized subjects selected to enter the study, a total of thirty-two completed the six-month intervention. Six SG subjects and two CG subjects had no final dietary data; therefore, the changes in dietary intake for these subjects were not included in the analyses performed (Fig. 2).

### Body composition and dietary intake

There were no significant changes in body weight between SG and CG at the end of dietary interventions (Table 1). The analyses of 3-day food records showed that the greatest significant differences between groups at 6 months were for nutrients derived from sardine consumption. Total LCn-3PUFA, EPA + DHA and taurine intakes increased significantly in the SG compared to the CG ( $P < 0.001$ ) and to baseline ( $P = 0.002$ ) (Table 2). The addition of sardine to the diet provided  $19.3 \pm 1.0$  g of sardine protein,  $3.0 \pm 0.2$  g of EPA + DHA and  $118.5 \pm 6.2$  mg of taurine daily (Additional file 2), which contributed about 23 %, 92 % and 72 % of total protein, EPA + DHA and taurine daily intakes in the SG, respectively (Additional file 3).

Comparing to baseline, SG patients reduced their caloric ( $-203.3 \pm 82.0$  kcal/day,  $P = 0.02$ ) and changed the quality of fat, increasing PUFA (polyunsaturated fatty acid) and decreasing saturated fatty acid (SFA) intake (SFA:  $-2.2 \pm 0.7$  % of energy,  $P = 0.03$ ) (Table 2). Regarding to fiber intake, it was observed an increase in the SG compared to the CG (SG:  $+1.4 \pm 1.3$  g/day, CG:  $-3.3 \pm 2.0$  g/day,  $P = 0.03$ ), while the energy intake or other macronutrient intake did not differ between groups at baseline or at the end of the study (Table 2).

### Glycemic control and insulin sensitivity

The changes in fasting glucose, HbA<sub>1c</sub>, fasting insulin and HOMA-IR values were similar and non-statistically different between the two intervention diets (Table 1). Only CG decreased significantly HbA<sub>1c</sub> values compared to baseline ( $-0.3$  %  $\pm 0.1$ ,  $P = 0.01$ ). Both groups significantly reduced fasting insulin and HOMA-IR levels as compared with baseline values, and although the patients in the SG exhibited greater decrease from baseline (SG:  $-6.1 \pm 1.8$  mU/L insulin,  $P = 0.01$ ,  $-2.3 \pm 0.7$  HOMA-IR,  $P = 0.007$ ,

**Table 1** Body weight, glycemic, insulin, adiponectin and inflammatory parameters at baseline and after 6 months of dietary intervention

|                                             | Baseline                          |                                   | <i>P</i> value <sup>a</sup> | 6 Months                          |                                   | <i>P</i> value <sup>b</sup> | <i>P</i> within SG <sup>c</sup> | <i>P</i> within CG <sup>c</sup> |
|---------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
|                                             | Sardine group<br>( <i>n</i> = 19) | Control group<br>( <i>n</i> = 16) |                             | Sardine group<br>( <i>n</i> = 17) | Control group<br>( <i>n</i> = 15) |                             |                                 |                                 |
| M <sup>d</sup> /F <sup>e</sup> ( <i>n</i> ) | 8/11                              | 8/8                               | 0.64                        | 7/10                              | 7/8                               | 0.76                        |                                 |                                 |
| Age (years)                                 | 60.0 ± 1.7                        | 61.2 ± 2.4                        | 0.83                        | 58.7 ± 1.7                        | 59.8 ± 1.9                        | 0.66                        |                                 |                                 |
| Weight (kg)                                 | 81.7 ± 3.7                        | 75.8 ± 2.9                        | 0.25                        | 80.5 ± 3.7                        | 75.1 ± 2.8                        | 0.71                        | 0.08                            | 0.35                            |
| BMI <sup>f</sup> (kg/m <sup>2</sup> )       | 30.5 ± 1.0                        | 28.8 ± 0.8                        | 0.39                        | 30.0 ± 1.0                        | 28.5 ± 0.8                        | 0.70                        | 0.08                            | 0.44                            |
| HbA1c <sup>g</sup> (%)                      | 6.8 ± 0.1                         | 6.7 ± 0.1                         | 0.59                        | 6.6 ± 0.1                         | 6.4 ± 0.1                         | 0.57                        | 0.08                            | 0.01                            |
| Fasting glucose (mg/dL)                     | 138.2 ± 6.5                       | 134.3 ± 5.1                       | 0.99                        | 128.6 ± 4.4                       | 129.1 ± 5.4                       | 0.74                        | 0.18                            | 0.36                            |
| Fasting insulin (mU/L)                      | 17.2 ± 1.7                        | 15.1 ± 1.8                        | 0.45                        | 11.1 ± 1.8                        | 11.7 ± 2.4                        | 0.37                        | 0.01                            | 0.02                            |
| HOMA-IR <sup>h</sup>                        | 5.9 ± 0.7                         | 5.0 ± 0.6                         | 0.46                        | 3.6 ± 0.6                         | 3.9 ± 0.9                         | 0.34                        | 0.007                           | 0.04                            |
| hs-CRP <sup>j</sup> (mg/dL)                 | 0.2 ± 0.0                         | 0.2 ± 0.1                         | 0.88                        | 0.2 ± 0.0                         | 0.2 ± 0.1                         | 0.73                        | 0.89                            | 0.53                            |
| Total adiponectin (μg/mL)                   | 2.1 ± 0.3                         | 2.0 ± 0.4                         | 0.37                        | 3.0 ± 0.3                         | 2.5 ± 0.4                         | 0.26                        | 0.04                            | 0.16                            |
| TNFα <sup>j</sup> (pg/mL)                   | 5.6 ± 0.2                         | 4.9 ± 0.3                         | 0.44                        | 5.6 ± 0.4                         | 6.1 ± 0.5                         | 0.33                        | 0.71                            | 0.05                            |
| IL-6 <sup>k</sup> (pg/mL)                   | 3.5 ± 0.3                         | 3.0 ± 0.3                         | 0.66                        | 3.6 ± 0.4                         | 3.3 ± 0.4                         | 0.91                        | 0.68                            | 0.58                            |
| IL-8 <sup>l</sup> (pg/mL)                   | 23.3 ± 3.3                        | 18.7 ± 3.0                        | 0.97                        | 25.3 ± 5.3                        | 18.9 ± 1.3                        | 0.50                        | 0.88                            | 0.91                            |
| IL-10 <sup>m</sup> (pg/mL)                  | 1.3 ± 0.1                         | 1.2 ± 0.0                         | 0.28                        | 1.5 ± 0.1                         | 1.3 ± 0.1                         | 0.31                        | 0.09                            | 0.12                            |

Values are mean ± SE

<sup>a</sup> Intergroup comparisons at baseline by Mann-Whitney's *U* test or  $\chi^2$ <sup>b</sup> Differences between groups at 6 months adjusted for baseline values (ANCOVA)<sup>c</sup> Intragroup comparisons by Wilcoxon signed-rank test<sup>d</sup> M: male<sup>e</sup> F: female<sup>f</sup> BMI: Body Mass Index<sup>g</sup> HbA1c: glycated hemoglobin<sup>h</sup> HOMA-IR: homeostasis model of assessment - insulin resistance<sup>j</sup> hs-CRP: high-sensitivity C-reactive protein<sup>k</sup> TNFα: tumor necrosis factor alpha<sup>l</sup> IL-6: interleukin 6<sup>l</sup> IL-8: interleukin 8<sup>m</sup> IL-10: interleukin 10

CG:  $-3.4 \pm 1.5$  mU/L insulin,  $P = 0.02$ ,  $-1.1 \pm 0.7$  HOMA-IR,  $P = 0.04$ ), (Table 1), the mean change from baseline to 6 months was not different between SG and CG (Additional file 4).

#### Erythrocyte membrane fatty acid composition

At the end of the intervention, participants in SG increased both EPA ( $+0.9 \pm 0.2$  %,  $P = 0.001$ ) and DHA ( $+1.7 \pm 0.2$  %,  $P < 0.001$ ), translated into a net significance increase in O3I ( $+2.6 \pm 0.4$  %,  $P < 0.001$ ), (Table 3). Despite the decrease in arachidonic acid (AA: C20:4n-6), ( $-0.9 \pm 0.3$  %,  $P = 0.02$ ), there was a net increase in total PUFAs ( $P < 0.001$ ). When comparing the two groups, SG showed a significant increase in EPA ( $P = 0.008$ ), DHA ( $P = 0.001$ ), O3I ( $P = 0.001$ ) and total PUFAs ( $P = 0.02$ ) as compared to CG (Table 3).

#### Total adiponectin and inflammatory markers

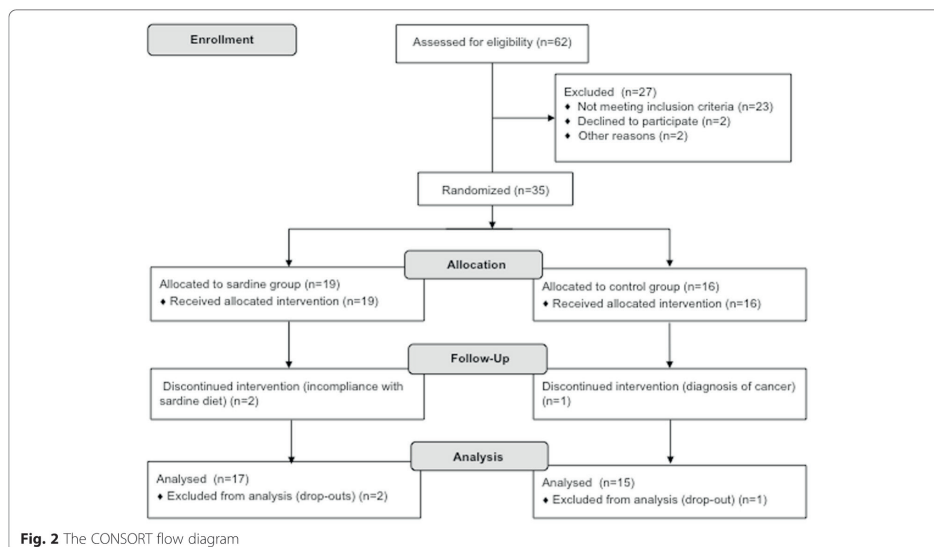
Although there were no significant differences in adiponectin concentrations between groups at 6 months

(Table 1) or comparing the changes over time (SG:  $+0.9 \pm 0.4$ , CG:  $+0.4 \pm 0.5$ ,  $P = 0.41$ ) (Additional file 3), those subjects in SG increased significantly the levels of adiponectin from  $2.1 \pm 0.3$  μg/mL at baseline to  $3.0 \pm 0.3$  μg/mL at 6 months ( $P = 0.04$ ) (Table 1). Regarding to inflammatory markers, IL-10 did not show any significant change after the intervention in the SG (baseline:  $1.3 \pm 0.1$  pg/mL, 6 months:  $1.5 \pm 0.1$  pg/mL,  $P = 0.09$ ) (Table 1). In the CG, TNFα concentrations increased significantly when compared to baseline at the end of the study, ( $P = 0.05$ ), (Table 1). Nevertheless, these changes in inflammatory markers were not different between the two intervention groups at 6 months (Table 1).

#### Gut microbiota composition

Although no statistically significant differences were found in the abundance of the bacterial groups analysed comparing the SG and the CG at 6 months (Table 4), phylum Firmicutes were decreased in both groups after 6 months (SG:  $P = 0.01$ , CG:  $P = 0.03$ ) and the Firmicutes/





Bacteroidetes ratio decreased in SG ( $P = 0.04$ ) (Table 4). *E. coli* concentrations were higher at the end of the study in both SG and CG (SG and CG:  $P = 0.04$ ) (Table 4). Moreover, the proportions of *Bacteroides-Prevotella* increased in the SG ( $P = 0.004$ ), while there was a decreasing trend in the Firmicutes/Bacteroidetes ratio in the CG group ( $P = 0.06$ ) (Table 4).

## Discussion

To our knowledge, the Pilchardus Study is the first study that has been carried out in drug-naïve T2D patients to investigate if a 6-month diet rich in sardines improves glycemic control as compared to a standard diet recommended for T2D. In this sense, this study enhances the field of nutrition research in diabetes.

Previous reports in patients with T2D showed no improvements [13] or small increases in glucose concentrations after a diet rich in fatty fish [14, 15]. Contrasting with these cited studies [14, 15], the Pilchardus Study suggests no deleterious effects of a sardine diet on glycemic control without oral antidiabetic drugs, and during a period of intervention longer enough to observe these changes. In the present study, only the CG reduced significantly its HbA1c levels at the end of the study ( $-0.3\% \pm 0.1$ ), although the clinical relevance of this value was similar that of the value obtained by the SG ( $-0.2\% \pm 0.1$ ). An important point were that both groups managed to delay, through dietary intervention, the onset of therapy with oral diabetes medication,

maintaining a good glycemic control throughout the follow-up period (HbA1c between 6.4 and 6.5 %).

Regarding the reduction of insulin and HOMA-IR in Pilchardus Study, these values were associated with a slight decrease in body weight in both intervention groups, in comparison to the results of other studies, in which weight loss was the main factor [16] or a predictor of improvement in insulin resistance [17]. For this reason, our results differ from the aforementioned studies. In relation to dietary intake, the SG reduced energy intake from baseline but did not significantly modify the body weight. Given that underreporting of energy intake has been previously described in obese patients with T2D [18], this could be a plausible explanation for this observation. In the present study SG and also CG decreased insulin and HOMA-IR levels. The fact that CG had both dietary intervention and dietary education may explain these results, since a variety of approaches in nutrition therapy proves to be effective in improving insulin resistance [2], and dietary education may improve metabolic control inducing modifications in health behaviors [19].

Relating to possible nutrients of oily fish involved in their beneficial effects, because of omega 3 fatty acids supplements failed to yield changes in insulin metabolism in T2D patients [5], some authors emphasized that other nutrients [20], including oily fish protein and taurine (especially in sardines) could have a role in their insulin sensitive effects, as some studies showed in animal models with diabetes and metabolic syndrome [6, 7].

**Table 2** Nutrient dietary intake at baseline and after 6 months of dietary intervention

|                                             | Baseline                  |                           |                      | 6 Months                  |                           |                      |                          |                          |
|---------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|--------------------------|--------------------------|
|                                             | Sardine group<br>(n = 12) | Control group<br>(n = 11) |                      | Sardine group<br>(n = 12) | Control group<br>(n = 11) |                      |                          |                          |
|                                             |                           |                           | P value <sup>a</sup> |                           |                           | P value <sup>b</sup> | P within SG <sup>c</sup> | P within CG <sup>c</sup> |
| Energy (kcal/day)                           | 1829.5 ± 129.9            | 1758.5 ± 150.7            | 0.74                 | 1626.2 ± 89.2             | 1687.2 ± 128.6            | 0.30                 | 0.02                     | 0.53                     |
| Carbohydrates (g/day)                       | 163.8 ± 13.9              | 146.8 ± 11.7              | 0.83                 | 141.6 ± 10.8              | 136.3 ± 14.1              | 0.82                 | 0.18                     | 0.18                     |
| Protein (g/day)                             | 92.0 ± 6.7                | 87.3 ± 7.9                | 0.83                 | 83.9 ± 4.8                | 83.5 ± 5.0                | 0.85                 | 0.24                     | 0.42                     |
| Fat (g/day)                                 | 88.3 ± 4.8                | 84.4 ± 8.1                | 0.41                 | 79.2 ± 4.5                | 83.7 ± 5.8                | 0.27                 | 0.01                     | 0.86                     |
| SFA <sup>d</sup> (g/day)                    | 25.3 ± 2.7                | 22.6 ± 3.0                | 0.41                 | 18.6 ± 1.6                | 21.6 ± 2.2                | 0.11                 | 0.003                    | 0.72                     |
| MUFA <sup>e</sup> (g/day)                   | 44.8 ± 2.3                | 42.0 ± 3.3                | 0.26                 | 40.6 ± 1.9                | 43.3 ± 2.8                | 0.25                 | 0.07                     | 0.66                     |
| PUFA <sup>f</sup> (g/day)                   | 11.4 ± 0.6                | 12.4 ± 1.6                | 0.93                 | 13.0 ± 1.2                | 12.0 ± 1.5                | 0.21                 | 0.21                     | 0.79                     |
| EPA <sup>g</sup> + DHA <sup>h</sup> (g/day) | 0.4 ± 0.1                 | 0.2 ± 0.02                | 0.15                 | 3.2 ± 0.1                 | 0.4 ± 0.1                 | <0.001               | 0.002                    | 0.16                     |
| Total n-3 PUFA <sup>i</sup> (g/day)         | 1.6 ± 0.2                 | 1.5 ± 0.2                 | 0.60                 | 4.7 ± 0.2                 | 1.3 ± 0.1                 | <0.001               | 0.002                    | 0.12                     |
| Taurine (mg/day)                            | 61.0 ± 10.9               | 53.6 ± 7.6                | 0.95                 | 168.2 ± 9.4               | 58.7 ± 6.3                | <0.001               | 0.002                    | 0.53                     |
| Fat (% Energy)                              | 44.4 ± 1.9                | 43.1 ± 1.6                | 0.53                 | 43.8 ± 0.8                | 44.9 ± 0.9                | 0.60                 | 0.58                     | 0.25                     |
| SFA (% Energy)                              | 12.3 ± 0.8                | 11.3 ± 0.8                | 0.49                 | 10.2 ± 0.4                | 11.3 ± 0.5                | 0.06                 | 0.03                     | 0.97                     |
| MUFA (% Energy)                             | 22.8 ± 1.4                | 21.9 ± 1.0                | 0.65                 | 22.7 ± 0.9                | 23.8 ± 1.2                | 0.45                 | 0.58                     | 0.13                     |
| PUFA (% Energy)                             | 5.8 ± 0.4                 | 6.2 ± 0.4                 | 0.75                 | 7.1 ± 0.5                 | 6.3 ± 0.4                 | 0.01                 | 0.04                     | 0.72                     |
| Dietary fiber (g/day)                       | 15.5 ± 1.3                | 18.9 ± 2.5                | 0.41                 | 17.3 ± 1.2                | 15.1 ± 1.5                | 0.03                 | 0.08                     | 0.08                     |

Values are mean ± SE

<sup>a</sup> Intergroup comparisons at baseline by Mann-Whitney's *U* test

<sup>b</sup> Differences between groups at 6 months adjusted for baseline values (ANCOVA)

<sup>c</sup> Intragroup comparisons by Wilcoxon signed-rank test

<sup>d</sup> SFA: saturated fatty acid

<sup>e</sup> MUFA: monounsaturated fatty acid

<sup>f</sup> PUFA: polyunsaturated fatty acid

<sup>g</sup> EPA: eicosapentaenoic acid

<sup>h</sup> DHA: docosahexaenoic acid

<sup>i</sup> n-3 PUFA: omega 3 polyunsaturated fatty acid

In Pilchardus Study, we could not found a specific effect of oily sardine-enriched diet in insulin resistance, differing from other studies, in which the subjects did not present T2D but healthy weight or overweight/obesity [20, 21]. The reason might be attributed to the differences in metabolic state, given that the studies in subjects with T2D showed the similar results as our study [13], or no modifications in HOMA-IR [14, 15]. It could be possible that effects of oily fish intake in T2D would be dependent on the degree of insulin resistance and glucose deterioration, or the interplay with other factors such as multiple medications, genetic background or macronutrient balance of diet. However, the human evidence of the effects of oily fish on insulin metabolism in T2D is limited to 3 studies [13–15], very scarce comparing to 9 clinical trials conducted with omega 3 supplements; the most recent including 12,350 with T2D [5, 22]. Therefore, the Pilchardus Study enhances the field of nutrition research in diabetes.

In the present study, the inclusion of 100 g of sardines 5 days a week translated to a significant rise in dietary EPA + DHA (3.0 g) and taurine (118.5 mg), those were significantly different from CG. Moreover, the protein

and taurine from sardines contributed respectively to 23 % and 72 % of total daily intakes. Therefore, sardine protein and taurine might contribute at some extent to the improvement on HOMA-IR in the SG.

Furthermore, we cannot exclude the possible contributions of olive oil from canned sardines in insulin sensitivity in SG, since and olive oil has favourable effects on insulin sensitivity [23]. Regarding fiber intake, SG exhibited an increase in fiber intake as compared to CG at the end of the dietary intervention. We speculate that the inclusion of sardines during the study could have determined the dietary pattern of patients, so that they included modifications that implied a healthier diet, such as to replace refined cereal products for whole grain cereal products. The evidence indicates that total and cereal fiber is inversely related to the risk of T2D [24], and that a whole-grain diet can improve insulin sensitivity in hyperinsulinemic subjects [25]. Therefore, the increase in fiber intake in SG probably contributed to reduction of HOMA-IR.

As for adipokine profile, in spite that the changes in adiponectin levels was not significant between groups, we observed a 41 % increase in adiponectin levels from baseline values in SG subjects, double the increase found

**Table 3** EMFA composition at baseline and after 6-month dietary intervention

|                                  | Baseline                  |                           |                      | 6 Months                  |                           |                      |                          |                          |
|----------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|--------------------------|--------------------------|
|                                  | Sardine group<br>(n = 17) | Control group<br>(n = 15) |                      | Sardine group<br>(n = 17) | Control group<br>(n = 15) |                      |                          |                          |
|                                  |                           |                           | P value <sup>a</sup> |                           |                           | P value <sup>b</sup> | P within SG <sup>c</sup> | P within CG <sup>c</sup> |
| EPA <sup>d</sup> (%)             | 0.6 ± 0.1                 | 0.7 ± 0.1                 | 0.26                 | 1.5 ± 0.2                 | 0.9 ± 0.1                 | 0.008                | 0.001                    | 0.51                     |
| DHA <sup>e</sup> (%)             | 4.7 ± 0.2                 | 5.1 ± 0.2                 | 0.35                 | 6.4 ± 0.3                 | 5.5 ± 0.3                 | 0.001                | <0.001                   | 0.11                     |
| Total n-3 PUFAs <sup>f</sup> (%) | 6.8 ± 0.3                 | 7.5 ± 0.3                 | 0.19                 | 11.6 ± 0.3                | 8.2 ± 0.5                 | <0.001               | <0.001                   | 0.11                     |
| O3I <sup>g</sup> (%)             | 5.3 ± 0.3                 | 5.8 ± 0.3                 | 0.26                 | 8.0 ± 0.4                 | 6.4 ± 0.5                 | 0.001                | <0.001                   | 0.20                     |
| AA <sup>h</sup> (%)              | 16.4 ± 0.5                | 17.2 ± 0.7                | 0.28                 | 15.4 ± 0.5                | 17.1 ± 0.6                | 0.04                 | 0.02                     | 0.39                     |
| DHGLA <sup>i</sup> (%)           | 1.7 ± 0.1                 | 1.7 ± 0.1                 | 0.63                 | 1.7 ± 0.1                 | 1.7 ± 0.1                 | 0.04                 | 0.34                     | 0.03                     |
| Total n-6 PUFAs <sup>j</sup> (%) | 34.1 ± 0.9                | 34.8 ± 1.0                | 0.44                 | 32.8 ± 0.9                | 34.6 ± 0.8                | 0.12                 | 0.05                     | 0.30                     |
| Total n-3 PUFAs + n-6 PUFAs (%)  | 40.9 ± 0.8                | 42.2 ± 1.1                | 0.17                 | 44.4 ± 0.8                | 42.8 ± 0.7                | 0.02                 | <0.001                   | 0.95                     |

Values are mean ± SE

<sup>a</sup>Inter-group comparisons at baseline by Mann-Whitney's U test<sup>b</sup>Differences between groups at 6 months adjusted for baseline values (ANCOVA)<sup>c</sup>Intragroup comparisons by Wilcoxon signed-rank test<sup>d</sup>EPA, eicosapentaenoic acid<sup>e</sup>DHA, docosahexaenoic acid<sup>f</sup>n-3 PUFAs: omega 3 polyunsaturated fatty acids<sup>g</sup>O3I: omega-3 index<sup>h</sup>AA: arachidonic acid<sup>i</sup>DHGLA: dihomo-γ-linolenic acid<sup>j</sup>n-6 PUFAs: omega 6 polyunsaturated fatty acids

in the CG (21 %). Due to its key role in insulin sensitivity [26], this adipokine might be one of other factors involved in the improvement of insulin resistance in the SG. Some clinical studies have shown the benefits of oily fish intake in adiponectin, but they were not associated with an improvement in HOMA-IR [27, 28]. Perhaps the presence of insulin resistance together with hypoadiponectinemia is needed in order to observe an effect in the improvement on HOMA-IR, as this is a feature of

T2D [26] and the cited studies [27, 28] did not include patients with T2D. In addition, since we analysed total adiponectin but not high-molecular weight adiponectin, which is the main isoform that influence adiponectin levels and is related with insulin sensitivity [26], it could be a reason for not finding higher effects in SG.

In respect of oily fish nutrients that can affect adiponectin, both fish oil and taurine have been reported to induce an increase in adiponectin levels in humans

**Table 4** Gut microbiota composition at baseline and after 6 months of dietary intervention

|                                                      | Baseline                  |                           |                      | 6 Months                  |                           |                      |                          |                          |
|------------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------|--------------------------|--------------------------|
|                                                      | Sardine group<br>(n = 16) | Control group<br>(n = 14) |                      | Sardine group<br>(n = 16) | Control group<br>(n = 14) |                      |                          |                          |
|                                                      |                           |                           | P value <sup>c</sup> |                           |                           | P value <sup>d</sup> | P within SG <sup>e</sup> | P within CG <sup>e</sup> |
| Phylum Firmicutes <sup>a</sup>                       | 0.22 ± 0.002              | 0.22 ± 0.03               | 0.56                 | 0.16 ± 0.02               | 0.15 ± 0.01               | 0.11                 | 0.01                     | 0.03                     |
| Phylum Bacteroidetes <sup>a</sup>                    | 0.19 ± 0.03               | 0.12 ± 0.02               | 0.19                 | 0.17 ± 0.01               | 0.18 ± 0.01               | 0.63                 | 1.00                     | 0.08                     |
| Firmicutes/Bacteroidetes ratio <sup>b</sup>          | 2.59 ± 0.7                | 1.99 ± 0.5                | 1.00                 | 1.19 ± 0.1                | 0.92 ± 0.1                | 0.75                 | 0.04                     | 0.06                     |
| <i>Bacteroides-Prevotella</i> group <sup>b</sup>     | 0.04 ± 0.006              | 0.05 ± 0.008              | 0.56                 | 0.06 ± 0.008              | 0.06 ± 0.01               | 0.85                 | 0.004                    | 0.12                     |
| <i>E. rectale-C. coccoides</i> group <sup>a, f</sup> | 0.09 ± 0.02               | 0.09 ± 0.02               | 0.75                 | 0.08 ± 0.02               | 0.09 ± 0.02               | 0.97                 | 0.65                     | 0.78                     |
| <i>F. prausnitzii</i> <sup>a, g</sup>                | 0.02 ± 0.003              | 0.02 ± 0.004              | 0.73                 | 0.03 ± 0.005              | 0.02 ± 0.006              | 0.54                 | 0.11                     | 0.73                     |
| <i>E. coli</i> <sup>a, h</sup>                       | 0.0008 ± 0.0002           | 0.02 ± 0.02               | 0.93                 | 0.005 ± 0.002             | 0.08 ± 0.08               | 0.35                 | 0.04                     | 0.04                     |

Values are mean ± SE

<sup>a</sup>16S rRNA gene copies of the bacterial group / 16S rRNA gene copies of total bacteria<sup>b</sup>16S rRNA gene copies of Firmicutes/ 16S rRNA gene copies of Bacteroidetes<sup>c</sup>Inter-group comparisons at baseline by Mann-Whitney's U test<sup>d</sup>Differences between groups at 6 months adjusted for baseline values (ANCOVA)<sup>e</sup>Intragroup comparisons by Wilcoxon signed-rank test<sup>f</sup>*E. rectale-C. coccoides*: *Eubacterium rectale* – *Clostridium coccoides*<sup>g</sup>*F. prausnitzii*: *Faecalibacterium prausnitzii*<sup>h</sup>*E. coli*: *Escherichia coli*



[29, 30]. The dose of EPA + DHA from sardines in our study was 3.0 g per day, in the range of those reported in fish oil studies [29], but the dose of taurine supplementation was much higher (3 g per day versus 118.5 mg per day) than in our study [30]. However, because whole foods are provided of superior effects over their isolated constituents [31], these two nutrients might be related to the observed results for adiponectin in SG. Despite this rise in adiponectin, we did not find any modifications in the inflammatory markers studied except for an unexpected rise in TNF $\alpha$  in the CG. However, some studies revealed beneficial effects of oil fish intake on inflammatory markers, such as u-CRP, TNF $\alpha$  and IL-6 [28, 32].

Since the main determinant of O3I is LCn-3PUFAs intake [12], the significant increase of O3I observed in SG attests to its optimal adherence to dietary intervention. Importantly, SG subjects increased the O3I from 5.3 to 8 %, reaching the suggested cutoff for protection against ischemic heart disease, particularly sudden cardiac death [4].

Another remarkable finding related to EMFA composition is the net increase in total PUFAs in red blood cells that was observed in SG. One of the rheological parameters altered in T2D is the deformability of erythrocytes, which has been found to be reduced compared with healthy participants [33]. Such stiffness is likely to reduce microcirculatory flow, impairing diabetes-driven microvascular pathology in the retina and renal glomerulus. In line with this notion, the shift towards insaturation in erythrocyte membranes, ensuing increased cell deformability, has been suggested to counteract microangiopathy in T2D [34]. Therefore, although sardine intake appears to be unrelated to glycemic control, it might contribute toward limiting vascular co-morbidities associated to T2D.

The Pilchardus Study investigated the impact of a diet rich in sardines on GM in drug-naïve T2D patients, showing a decrease in phylum Firmicutes in both groups and in the Firmicutes/Bacteroidetes ratio in the SG group over time. These results are in agreement with studies in obese patients whose GM was enriched in phylum Firmicutes and the Firmicutes/Bacteroidetes ratio was higher than in control subjects [35]. The opposite was found, however, when they lost weight with low-calorie diets [35] or surgically induced weight loss [36]. There may possibly be an association between the changes in phylum Firmicutes and in Firmicutes/Bacteroidetes ratio with HOMA-IR, as a recent study in mice found an association between a decrease in these bacterial groups and an improvement in insulin resistance [37]. The modification in GM composition in our study could be related to dietary interventions, as shifting dietary macronutrients is proven broadly and rapidly alter the gut microbiome [38]. We speculate a possible effect of LCn-3PUFA present in the sardine diet on GM changes, as certain studies have shown in both mice [39] and infants [40].

In addition, we found increased levels of *E. coli* in both groups and raised proportions of *Bacteroides-Prevotella* in SG patients. Similar results were found in previous studies in obese patients with and without T2D after gastric bypass surgery [36] or following weight loss diets [41]. Although *E. coli* is considered a marker of dysbiosis in T2D [42, 43], only observational studies have established these bacterial imbalances without taking into consideration the diet, which is the main factor affecting GM [9].

It should be noted that we included only drug-naïve T2D patients, thus we can rule out any confounding effect of metformin or insulin on glycemic control or insulin parameters. Moreover, the long duration of the nutritional intervention (6 months) and the use of O3I as a biomarker of LCn-3PUFA confer validity to HbA1c values and to the dietary compliance of the subjects assigned to the SG. In our study, we determined the taurine intake of diets. Given that none of cited studies provided the intake of this sulfur amino acid, the Pilchardus Study is specially novel to this point, contributing to enhance the field of nutrition research in diabetes.

The main limitation of the present study is the small sample size, which makes it difficult to detect changes between the groups due to low statistical power. Another important limitation is the assessment of insulin sensitivity using HOMA-IR as it is a measure of basal insulin sensitivity and does not give information about the stimulated state. In addition, the determination of total adiponectin and not high-molecular weight adiponectin could influence the lack of significant increased in SG compared to CG, considering that this isoform is the most active. Furthermore, the CG also followed a dietary intervention, which could have influenced the results and contributed to producing non-significant results. A third group control, with no intervention at all, or a control group under “usual care” would have been interesting to include, in order to achieve a stronger contrast of results.

## Conclusions

In conclusion, our results suggest that the inclusion of 100 g of sardines 5 days a week during 6 months does not improve glycemic control, but it could have beneficial effects on cardiovascular risk by achieving optimal levels of O3I. Furthermore, both dietary interventions decreased HOMA-IR and altered gut microbiota composition in drug-naïve patients with T2D. Further studies with a greater sample size and extended diet periods would be needed to corroborate our findings and further explore the effects and mechanisms by which a sardine diet could influence metabolic control, adiponectin, inflammation and GM composition in patients with T2D.

## Additional files

**Additional file 1:** 16S rRNA-targeted primers and probes used in the analysis of gut microbiota. (DOC 56 kb)

**Additional file 2:** Pharmacological treatment of patients at baseline. (DOC 29 kb)

**Additional file 3:** Nutrient intake from sardines at the end of dietary intervention in sardine group. (DOC 35 kb)

**Additional file 4:** Changes from baseline in body weight, glycemia, insulin, adiponectin and inflammatory parameters after dietary intervention. (DOC 39 kb)

## Abbreviations

AA: Arachidonic acid; ADA: American Diabetes Association; ANCOVA: Analysis of covariance; BMI: Body mass index; CG: Control group; DHA: Docosahexanoic acid; EMFA: Erythrocyte membrane fatty acid; EPA: Eicosapentanoic acid; FFQ: Food Frequency Questionnaire; GM: Gut microbiota; HbA1c: Glycated hemoglobin; HOMA-IR: Homeostasis model of assessment - insulin resistance; hs-CRP: High-sensitivity C-reactive protein; IL: Interleukin; LCn-3PUFA: Long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids; O3I: Omega-3 index; PUFA: Polyunsaturated fatty acid; qPCR: Quantitative PCR; SE: Standard error; SFA: Saturated fatty acid; SG: Sardine group; T2D: Type 2 diabetes; TNF- $\alpha$ : Tumor necrosis factor alpha.

## Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

## Authors' contributions

The authors' contributions were as follows: MB conceived the nutritional design of the study, recruited and did follow-up of participants, collected data and drafted the paper, figures, and tables. SC contributed to the design of the study, recruited and did follow-up of participants, performed the statistical analysis of data. FAH collaborated in the design of the study and performed the statistical analysis of data. ASV performed EMFA composition determinations. MMM performed the microbiota analyses. SM conceived the nutritional design of the study and did follow-up of patients. TM recruited participants did follow-up of patients and collected data. EGR performed biochemical determinations. FL recruited participants, did follow-up of patients and collected data. NP recruited participants, did follow-up of patients and collected data. SV recruited participants, did follow-up of patients and collected data. MF recruited participants, did follow-up of patients and collected data. ER coordinated the development of sardine products used in the study. AN contributed toward the discussion section and revised and approved the manuscript. CH recruited patients and contributed to the discussion section. ASA recruited participants. RS recruited participants and contributed to the design and discussion. GA performed the statistical analyses of data. GR recruited participants, did follow-up of patients, and collected data. All the authors contributed toward reading and approving the manuscript. RG conceived and designed the study. He is the guarantor of this work and, as such, had full access to all the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

## Acknowledgements

The authors thank: Lola Sanz of the Hospital Clinic of Barcelona for performing study monitoring; Kimberly Katte for her assistance; Dr. Mercè Vilaró from CAP Terrassa Sud; Dr. Núria Porta from CAP Terrassa Sud; Charo López from CAP Terrassa Sud; Agueda Castaño from CAP Terrassa Sud; and Olga Mestres from Hospital Vall d'Hebron and Dr. Natalia Colomo from Hospital Carlos Haya for their help in the recruitment and follow-up of subjects. We especially thank Conservas Cerqueira S.A. from Vigo (Galicia) for their donation of canned sardines, and Xavier Mestres and Aleix Mestres from Culinary Development and Investigation company (IRC company) for the fabrication of sardine products. Moreover, we thank Transports Carbó company for their help in the transport of sardine products to the homes of the subjects participating in the Pilchardus Study.

## Funding

This work was sponsored by funding from Catalunya-La Pedrera Foundation, the Government of Catalonia under the grant agreement 2014 SGR659 and

the Ajut ACD Gonçalves Lloveras i Valles 2014. Ciberdem is an initiative of the Instituto de Salud Carlos III.

## Author details

<sup>1</sup>CIBER in Diabetes and Associated Metabolic Disorders (CIBERDEM), c/ Monforte de Lemos 3-5 Pabellón 11 planta 0, 28029 Madrid, Spain. <sup>2</sup>Diabetes and Obesity Research Laboratory, August Pi i Sunyer Biomedical Research Institute (IDIBAPS), c/ Roselló 149 planta 5, 08036 Barcelona, Spain. <sup>3</sup>Les Corts Primary Health Care Center, Transverse Group for Research in Primary Care, IDIBAPS, c/ Mejía Lequerica s/n, 08028 Barcelona, Spain. <sup>4</sup>Department of Endocrinology and Nutrition, Hospital Clinic of Barcelona, c/Villarroel 170 Escala 11 planta 2, 08036 Barcelona, Spain. <sup>5</sup>CIBER in Physiopathology of Obesity and Nutrition (CIBERObn), c/Villarroel 170, Edifici Helios, 08036 Barcelona, Spain. <sup>6</sup>Laboratory of Molecular Microbiology, Biology Department, University of Girona, Av. Montilivi s/n, E-17071 Girona, Spain. <sup>7</sup>Terrassa Sud Primary Health Care Center, Mútua de Terrassa, Av. Santa Eulàlia s/n, 08223 Terrassa, Barcelona, Spain. <sup>8</sup>Endocrinology and Nutrition Department, Hospital Carlos Haya, Biomedical Research Institute of Málaga (IBIMA), Plaza Hospital Civil s/n Sótano Pabellón 1, 29009 Málaga, Spain. <sup>9</sup>Vall d'Hebrón Research Institute and Autonomous University of Barcelona, Pg. de la Vall d'Hebrón 119-129 planta 8, Barcelona, Spain. <sup>10</sup>Alicia Foundation, Camí Sant Benet, 08272 Sant Fruitós de Bages, Barcelona, Spain. <sup>11</sup>University of Barcelona, Facultat de Medicina, c/ Casanova 143, 08036 Barcelona, Spain. <sup>12</sup>Present address: Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV), Département de Endocrinologie, Rue Saint-Martin 3, CH-1003 Lausanne, Switzerland.

Received: 25 December 2015 Accepted: 7 April 2016

Published online: 18 April 2016

## References

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 6th ed. Brussels: International Diabetes Federation; 2013.
2. Evert AB, Boucher JL, Cypress M, Dunbar SA, Franz MJ, Mayer-Davis EJ, et al. Nutrition therapy recommendations for the management of adults with diabetes. *Diabetes Care*. 2014;37 Suppl 1:S120-43.
3. Mann JJ, De Leeuw I, Hermansen K, Karamanos B, Karlström B, Katsilambros N, et al. Evidence-based nutritional approaches to the treatment and prevention of diabetes mellitus. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2004;14:373-94.
4. Harris WS. The omega-3 index: clinical utility for therapeutic intervention. *Curr Cardiol Rep*. 2010;12:503-8.
5. Bosch J, Gerstein HC, Dagenais GR, Diaz R, Dyal L, Jung H, et al. n-3 Fatty Acids and Cardiovascular Outcomes in Patients with Dysglycemia. *N Engl J Med*. 2012;367:309-18.
6. Madani Z, Louchami K, Sener A, Malaise WJ, Ait YD. Dietary sardine protein lowers insulin resistance, leptin and TNF- $\alpha$  and beneficially affects adipose tissue oxidative stress in rats with fructose-induced metabolic syndrome. *Int J Mol Med*. 2012;29:311-8.
7. Mellouk Z, Ait Yahia D, Boukourt F, Benaicha N, Madani Z, Bouchenak M. Dietary sardine (*Sardina pilchardus*) protein attenuates hyperglycemia and hyperlipidemia and ameliorates tissue morphology changes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Met Funct Res Diabetes*. 2009;2:45-54.
8. Varela-Moreiras G, Avila JM, Cuadrado C, del Pozo S, Ruiz E, Moreiras O. Evaluation of food consumption and dietary patterns in Spain by the Food Consumption Survey: updated information. *Eur J Clin Nutr*. 2010;64 Suppl 3:S37-43.
9. Tilg H, Moschen AR. Food, immunity, and the microbiome. *Gastroenterology*. 2015;148:1107-19.
10. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. Sec. 2. In: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*. 2016;39 Suppl 1:S13-22.
11. Alicia Foundation. <http://www.alicia.cat>.
12. Sala-Vila A, Harris WS, Cofán M, Pérez-Heras AM, Pintó X, Lamuela-Raventós RM, et al. Determinants of the omega-3 index in a Mediterranean population at increased risk for CHD. *Br J Nutr*. 2011;106:425-31.
13. Karlström BE, Järvi AE, Byberg L, Berglund LG, Vessby BÖH. Fatty fish in the diet of patients with type 2 diabetes: comparison of the metabolic effects of foods rich in n-3 and n-6 fatty acids. *Am J Clin Nutr*. 2011;94:26-33.
14. Kondo K, Morino K, Nishio Y, Kondo M, Nakao K, Nakagawa F, et al. A fish-based diet intervention improves endothelial function in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus: a randomized crossover trial. *Metabolism*. 2014;63:930-40.

15. Dunstan DW, Mori TA, Puddey IB, Bellin LJ, Burke V, Morton AR, et al. The independent and combined effects of aerobic exercise and dietary fish intake on serum lipids and glycemic control in NIDDM. A randomized controlled study. *Diabetes Care*. 1997;20:913–21.
16. Mori TA, Bao DQ, Burke V, Puddey IB, Watts GF, Bellin LJ. Dietary fish as a major component of a weight-loss diet: effect on serum lipids, glucose, and insulin metabolism in overweight hypertensive subjects. *Am J Clin Nutr*. 1999;70:817–25.
17. Ramel A, Martínéz A, Kiely M, Morais G, Bandarra NM, Thorsdottir I. Beneficial effects of long-chain n-3 fatty acids included in an energy-restricted diet on insulin resistance in overweight and obese European young adults. *Diabetologia*. 2008;51:1261–8.
18. Sallé A, Ryan M, Ritz P. Underreporting of food intake in obese diabetic and nondiabetic patients. *Diabetes Care*. 2006;29:2726–7.
19. Trento M, Passera P, Tomalino M, Bajardi M, Pomeroy F, Allione A, et al. Group visits improve metabolic control in type 2 diabetes: a 2-year follow-up. *Diabetes Care*. 2001;24:995–1000.
20. Abete I, Parra D, Crujeiras AB, Goyenechea E, Martínez JA. Specific insulin sensitivity and leptin responses to a nutritional treatment of obesity via a combination of energy restriction and fatty fish intake. *J Hum Nutr Diet*. 2008;21:591–600.
21. Navas-Carretero S, Pérez-Granados AM, Schoppen S, Vaquero MP. An oily fish diet increases insulin sensitivity compared to a red meat diet in young iron-deficient women. *Br J Nutr*. 2009;102:546–53.
22. Hartweg J, Perera R, Montori V, Dinneen S, Neil HAW, Farmer A. Omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane database Syst Rev*. 2008;1:CD003205.
23. Martínez-González MA, Salas-Salvadó J, Estruch R, Corella DD, Fitó M, Ros E. Benefits of the Mediterranean Diet: Insights from the PREDIMED Study. *Prog Cardiovasc Dis*. 2015;58:50–60.
24. Dietary fibre and incidence of type 2 diabetes in eight European countries: the EPIC-InterAct Study and a meta-analysis of prospective studies. *Diabetologia*. 2015;58:1394–408.
25. Pereira MA, Jacobs DR, Pins JJ, Ratz SK, Gross MD, Slavin JL, et al. Effect of whole grains on insulin sensitivity in overweight hyperinsulinemic adults. *Am J Clin Nutr*. 2002;75:848–55.
26. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2006;116:1784–92.
27. Neale EP, Muhlenhauser B, Probst YC, Batterham MJ, Fernandez F, Tapsell LC. Short-term effects of fish and fish oil consumption on total and high molecular weight adiponectin levels in overweight and obese adults. *Metabolism*. 2013;62:651–60.
28. Zhang J, Wang C, Li L, Man Q, Meng L, Song P, et al. Dietary inclusion of salmon, herring and pompano as oily fish reduces CVD risk markers in dyslipidaemic middle-aged and elderly Chinese women. *Br J Nutr*. 2012;108:1455–65.
29. Wu JHY, Cahill LE, Mozaffarian D. Effect of fish oil on circulating adiponectin: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(6):2451–9.
30. Rosa FT, Freitas EC, Deminice R, Jordão AA, Marchini JS. Oxidative stress and inflammation in obesity after taurine supplementation: a double-blind, placebo-controlled study. *Eur J Nutr*. 2014;53:823–30.
31. Jacobs DR, Gross MD, Tapsell LC. Food synergy: an operational concept for understanding nutrition. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(5):1543S–8S.
32. Tsitouras PD, Gucciardo F, Salbe AD, Heward C, Harman SM. High omega-3 fat intake improves insulin sensitivity and reduces CRP and IL6, but does not affect other endocrine axes in healthy older adults. *Horm Metab Res*. 2008;40:199–205.
33. Cho YI, Mooney MP, Cho DJ. Hemorheological disorders in diabetes mellitus. *J Diabetes Sci Technol*. 2008;2:1130–8.
34. Weijers RNM. Lipid composition of cell membranes and its relevance in type 2 diabetes mellitus. *Curr Diabetes Rev*. 2012;8:390–400.
35. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006;444:1022–23.
36. Furet J-P, Kong L-C, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouillot J-L, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes*. 2010;59:3049–57.
37. Greenhill C. Gut microbiota: Firmicutes and Bacteroidetes involved in insulin resistance by mediating levels of glucagon-like peptide 1. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;11:254.
38. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 2014;505:559–63.
39. Yu H-N, Zhu J, Pan W, Shen S-R, Shan W-G, Das UN. Effects of fish oil with a high content of n-3 polyunsaturated fatty acids on mouse gut microbiota. *Arch Med Res*. 2014;45:195–202.
40. Andersen AD, Mølbak L, Michaelsen KF, Lauritzen L. Molecular fingerprints of the human fecal microbiota from 9 to 18 months old and the effect of fish oil supplementation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011;53:303–9.
41. Nadal I, Santacruz A, Marcos A, Warnberg J, Garagorri JM, Garagorri M, et al. Shifts in clostridia, bacteroides and immunoglobulin-coating fecal bacteria associated with weight loss in obese adolescents. *Int J Obes*. 2009;33:758–67.
42. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström G, Behre CJ, Fagerberg B, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013;498:99–103.
43. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012;490:55–60.

Submit your next manuscript to BioMed Central and we will help you at every step:

- We accept pre-submission inquiries
- Our selector tool helps you to find the most relevant journal
- We provide round the clock customer support
- Convenient online submission
- Thorough peer review
- Inclusion in PubMed and all major indexing services
- Maximum visibility for your research

Submit your manuscript at  
[www.biomedcentral.com/submit](http://www.biomedcentral.com/submit)



## Annex II. Consentiment informat

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estudio de intervención dietética para evaluar los beneficios de la sardina en el control metabólico de la diabetes mellitus tipo 2. PILCHARDUS estudio.

Yo, .....  
(nombre y apellidos)

- He leído la información en el documento adjunto que se me ha entregado
- Acepto participar en el estudio
- He sido informado de todos los detalles y se me ha respondido a todas mis dudas al respecto.
- He sido informado por el Dr/Dra .....
- Entiendo que mi participación es voluntaria
- Entiendo que puedo abandonar el estudio:
  - Cuando quiera
  - Sin tener que dar explicaciones
  - Sin que esto afecte mi atención médica como paciente
- Entiendo que mis muestras personales y todos mis datos serán tratados anónimamente
- Entiendo que cualquier material residual del estudio será destruido

Doy libremente mi consentimiento de participar en éste estudio

Signatura del participante \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

Signatura del médico \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

# Annex III. Qüestionari de freqüència de consum d'aliments

Poner una cruz en el recuadro correspondiente, según con qué frecuencia consuma cada tipo de alimento:

|      |                                                              | AL DÍA              |         |            |         |          | A LA SEMANA  |              |       | AL MES       |            | NUNCA<br>O CASI<br>NUNCA |
|------|--------------------------------------------------------------|---------------------|---------|------------|---------|----------|--------------|--------------|-------|--------------|------------|--------------------------|
|      |                                                              | 5 ó<br>mas<br>veces | 4 veces | 3<br>veces | 2 veces | 1<br>vez | 4-6<br>veces | 2-3<br>veces | 1 vez | 2-3<br>veces | una<br>vez |                          |
| 3.1  | Cereales de desayuno                                         |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.2  | Cereales de desayuno<br>integrales                           |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.3  | Pan blanco                                                   |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.4  | Pan integral                                                 |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.5  | Arroz, pasta italiana, cous-<br>cous                         |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.6  | Arroz, pasta italiana cous-<br>cous integrales               |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.7  | Azúcar, miel, caramelos,<br>mermeladas                       |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.8  | Chocolate                                                    |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.9  | Dulces, pasteles,<br>Magdalenas, galletas,<br>donuts, bollos |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.10 | Huevos                                                       |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.11 | Leche, yogurt, queso                                         |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.12 | Batidos envasados, flan<br>natillas, helados                 |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.13 | Mantequilla, nata, manteca                                   |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.14 | Margarina                                                    |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.15 | Mayonesa                                                     |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |
| 3.16 | Frituras caseras                                             |                     |         |            |         |          |              |              |       |              |            |                          |

\***Menestra o acompañamiento** = (verdura u hortaliza que se toman como tales, como plato principal o acompañando al 2º plato, pero no las que se utilicen para preparar guisos (sofritos etc)  
**\*\*Verdura en guisos** verdura que acompañe al cocinado (lentejas, estofados, sofritos, etc) y que supone una cantidad pequeña dentro de cada plato

|      |                               | 1-Aceite de oliva | 2-Girasol | 3-Girasol alto oleico | 4-Otros |
|------|-------------------------------|-------------------|-----------|-----------------------|---------|
| 3.32 | Para aliñar (ensaladas, etc.) |                   |           |                       |         |
| 3.33 | Para guisar                   |                   |           |                       |         |
| 3.34 | Para freir                    |                   |           |                       |         |
| 3.35 | Para mayonesa                 |                   |           |                       |         |

|      |                     | AL DÍA        |         |         |         |       | A LA SEMANA |           |       | AL MES    |         | NUNCA O CASI NUNCA |
|------|---------------------|---------------|---------|---------|---------|-------|-------------|-----------|-------|-----------|---------|--------------------|
|      | BEBIDAS ALCOHÓLICAS | 5 ó mas veces | 4 veces | 3 veces | 2 veces | 1 vez | 4-6 veces   | 2-3 veces | 1 vez | 2-3 veces | una vez |                    |
| 3.36 | Vino tinto          |               |         |         |         |       |             |           |       |           |         |                    |
| 3.37 | Vino blanco, cava   |               |         |         |         |       |             |           |       |           |         |                    |
| 3.38 | Vino rosado         |               |         |         |         |       |             |           |       |           |         |                    |
| 3.39 | Vino dulce          |               |         |         |         |       |             |           |       |           |         |                    |
| 3.40 | Cerveza             |               |         |         |         |       |             |           |       |           |         |                    |
| 3.41 | Licores destilados  |               |         |         |         |       |             |           |       |           |         |                    |

3.42. ¿Cuándo toma bebidas alcohólicas?

- ☐ Sólo con las comidas  
☐ Sólo fuera de las comidas  
☐ Ambas

☐ ns,nr

3.43. Frecuencia

- ☐ A diario o casi  
☐ Los fines de semana  
☐ ocasionalmente

☐ ns,nr

3.44. ¿Ha tomado alguna bebida alcohólica las últimas 24 horas?

☐ Si      ☐ No      ☐ ns/nc      Especificarla:.....

|      |                                    | AL DÍA        |         |         |         |       | A LA SEMANA |           |       | AL MES    |         | NUNCA O CASI NUNCA |
|------|------------------------------------|---------------|---------|---------|---------|-------|-------------|-----------|-------|-----------|---------|--------------------|
|      | BEBIDAS NO ALCOHÓLICAS             | 5 ó mas veces | 4 veces | 3 veces | 2 veces | 1 vez | 4-6 veces   | 2-3 veces | 1 vez | 2-3 veces | una vez |                    |
| 3.45 | Cerveza sin alcohol                |               |         |         |         |       |             |           |       |           |         |                    |
| 3.46 | Refrescos con cafeína (tipo colas) |               |         |         |         |       |             |           |       |           |         |                    |
| 3.47 | Otros refrescos con azúcar         |               |         |         |         |       |             |           |       |           |         |                    |
| 3.48 | Refrescos sin azúcar (light)       |               |         |         |         |       |             |           |       |           |         |                    |
| 3.49 | Zumos envasados                    |               |         |         |         |       |             |           |       |           |         |                    |
| 3.50 | Café expreso (de máquina)          |               |         |         |         |       |             |           |       |           |         |                    |

|      |                                          |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|------|------------------------------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 3.51 | Café filtrado                            |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 3.52 | Café instantáneo                         |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 3.53 | Café descafeinado<br>de máquina          |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 3.54 | Café descafeinado<br>instantáneo         |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 3.55 | Té (especificar)<br>.....                |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 3.56 | Otras infusiones<br>Especificar<br>..... |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |



# Annex IV. Qüestionari de qualitat de vida

Marque con una cruz como esta ☒ la afirmación en cada sección que describa mejor su estado de salud en el día de hoy.

## Movilidad

- |                                      |                          |
|--------------------------------------|--------------------------|
| No tengo problemas para caminar      | <input type="checkbox"/> |
| Tengo algunos problemas para caminar | <input type="checkbox"/> |
| Tengo que estar en la cama           | <input type="checkbox"/> |

## Cuidado-Personal

- |                                                        |                          |
|--------------------------------------------------------|--------------------------|
| No tengo problemas con el cuidado personal             | <input type="checkbox"/> |
| Tengo algunos problemas para lavarme o vestirme solo/a | <input type="checkbox"/> |
| Soy incapaz de lavarme o vestirme solo/a               | <input type="checkbox"/> |

## Actividades de Todos los Días (ej, trabajar, estudiar, hacer tareas domésticas, actividades familiares o realizadas durante el tiempo libre)

- |                                                                         |                          |
|-------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| No tengo problemas para realizar mis actividades de todos los días      | <input type="checkbox"/> |
| Tengo algunos problemas para realizar mis actividades de todos los días | <input type="checkbox"/> |
| Soy incapaz de realizar mis actividades de todos los días               | <input type="checkbox"/> |

## Dolor / Malestar

- |                                 |                          |
|---------------------------------|--------------------------|
| No tengo dolor ni malestar      | <input type="checkbox"/> |
| Tengo moderado dolor o malestar | <input type="checkbox"/> |
| Tengo mucho dolor o malestar    | <input type="checkbox"/> |

## Ansiedad / Depresión

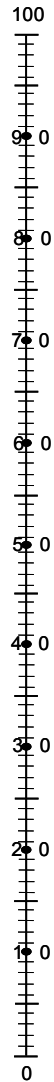
- |                                             |                          |
|---------------------------------------------|--------------------------|
| No estoy ansioso/a ni deprimido/a           | <input type="checkbox"/> |
| Estoy moderadamente ansioso/a o deprimido/a | <input type="checkbox"/> |
| Estoy muy ansioso/a o deprimido/a           | <input type="checkbox"/> |

Para ayudar a la gente a describir lo bueno o malo que es su estado de salud, hemos dibujado una escala parecida a un termómetro en la cual se marca con un 100 el mejor estado de salud que pueda imaginarse, y con un 0 el peor estado de salud que pueda imaginarse.

Por favor, dibuje una línea desde el cuadro que dice "su estado de salud hoy," hasta el punto en la escala que, en su opinión, indique lo bueno o malo que es su estado de salud en el día de hoy.

**Su estado de salud hoy**

Mejor estado de salud imaginable



# Annex V. Metodologia de la determinació de la microbiota intestinal

| Target de bacteries                      | Primers i prova*,<br>concentració final<br>a la reacció | Seqüència (5'3')                          | Espècies<br>tilitzades com a<br>estàndar, rang<br>d'amplificació<br>(còpies del gen<br>16S RNAr) | Ref.  |
|------------------------------------------|---------------------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <b>Bactèries totals<br/>(Eubacteria)</b> | F_Bact 1369,<br>250 nM                                  | CGGTGAATACGTTC<br>CCGG                    | <i>Faecalibacterium<br/>prausnitzii</i> DSM<br>17677, 10 <sup>7</sup> -10 <sup>8</sup>           | (359) |
|                                          | R_Prok1492,<br>250 nM                                   | TACGGCTACCTTGT<br>TACGACTT                |                                                                                                  |       |
|                                          | <b>P_TM1389F,<br/>275 nM</b>                            | <b>FAM-CTTGTACACAC<br/>CGCCCGTC-TAMRA</b> |                                                                                                  |       |
| <b>Firmicutes</b>                        | Firm934F, 300 nM                                        | GGAGYATGTGGTTT<br>AATTCGAAGCA             | <i>Faecalibacterium<br/>prausnitzii</i> DSM<br>17677, 10 <sup>7</sup> -10 <sup>4</sup>           | (360) |
|                                          | Firm1060R,<br>300 nM                                    | AGCTGACGACAACC<br>ATGCAC                  |                                                                                                  |       |
| <b>Bacteroidetes</b>                     | Bact934F, 200 nM                                        | GGARCATGTGGTTTA<br>ATTGATGAT              | <i>Bacteroides<br/>thetaiotaomicron</i><br>VPI 5482, 10 <sup>7</sup> -10 <sup>2</sup>            | (360) |
|                                          | Bact1060R,<br>200 nM                                    | AGCTGACGACAACA<br>TGCAG                   |                                                                                                  |       |

\* Seqüències de prova en negreta

Taula 52. Primers, proves, estàndards de quantificació i condicions de la PCR

| Target de bacteries                                            | Primers i prova*,<br>concentració final<br>a la reacció | Seqüència (5'3')                                         | Espècies<br>tilitzades com a<br>estàndar, rang<br>d'amplificació<br>(còpies del gen<br>16S RNAr) | Ref.  |
|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <b>Bacteroides-<br/>Prevotella</b>                             | F_Bacter 11,<br>200 nM                                  | CCTWCGATGGATA<br>GGGGTT                                  | <i>Bacteroides<br/>thetaiotaomicron</i><br>VPI 5482, 10 <sup>6</sup> -10 <sup>2</sup>            | (359) |
|                                                                | R_Bacter 08,<br>200 nM                                  | CACGCTACTTGGC<br>TGGTTCAG                                |                                                                                                  |       |
|                                                                | <b>P_Bac303,<br/>250 nM</b>                             | <b>YY-AAGGTCCCCCA<br/>CATTG-TAMRA</b>                    |                                                                                                  |       |
| <b>Eubacterium<br/>rectale -<br/>Clostridium<br/>coccoides</b> | ClEubF, 200 nM                                          | CGGTACCTGACTAA<br>GAAGC                                  | <i>Clostridium<br/>coccoides</i> ATCC<br>29236, 10 <sup>8</sup> -10 <sup>3</sup>                 | (361) |
|                                                                | ClEubR, 200 nM                                          | AGTTT(C/T)ATTCTTG<br>CGAACG                              |                                                                                                  |       |
| <b>Faecalibacterium<br/>prausnitzii</b>                        | Fpra428F, 300 nM                                        | TGTAAACTCCTGTTG<br>TTGAGGAAGATAA                         | <i>Faecalibacterium<br/>prausnitzii</i> DSM<br>17677, 10 <sup>7</sup> -10 <sup>3</sup>           | (362) |
|                                                                | Fpra583R,<br>300 nM                                     | GCGCTCCCTTTACAC<br>CCA                                   |                                                                                                  |       |
|                                                                | <b>Fpra493PR,<br/>250 nM</b>                            | <b>FAM-CAAGGAAGTGA<br/>CGGCTAACTACGTGC<br/>CAG-TAMRA</b> |                                                                                                  |       |

\* Seqüències de prova en negreta

**Taula 52.1.** Primers, proves, estàndards de quantificació i condicions de la PCR

| Target de bacteries     | Primers i prova*,<br>concentració<br>final a la reacció | Seqüència (5'3')                                            | Espècies<br>tilitzades com a<br>estàndar, rang<br>d'amplificació<br>(còpies del gen<br>16S RNAr) | Ref.  |
|-------------------------|---------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <i>Escherichia coli</i> | E.coli F, 300 nM                                        | CATGCCGCGTGTAT<br>GAAGAA                                    | <i>Escherichia coli</i><br>CECT 105, 10 <sup>7</sup> -10 <sup>3</sup>                            | (363) |
|                         | E.coli R, 300 nM                                        | CGGGTAACGTCAAT<br>GAGCAAA                                   |                                                                                                  |       |
|                         | E.coli P, 100 nM                                        | <b>FAM-TATTAAC TTTA<br/>CTCCCTTCCTCCCC<br/>GCTGAA-TAMRA</b> |                                                                                                  |       |
| IAC PCR†                | IAC F, 300 nM                                           | TACGGATGAGGAGG<br>ACAAAGGA                                  | n.a.‡                                                                                            | (362) |
|                         | IAC, 300 nM R                                           | CACTTCGCTCTGATC<br>CATTGG                                   |                                                                                                  |       |
|                         | IAC PR, 250 nM                                          | <b>VIC®-CGCCGCTATGG<br/>GCATCGCA-TAMRA</b>                  |                                                                                                  |       |

\* Seqüències de prova en negreta

† IAC: Control Intern d'Amplificació

‡ n.a.: no aplicable

Seqüència IAC de DNA (5'-3'): TACGGATGAGGAGGACAAAGGACGCCGCTA  
TGGGCATCGCACCAATGGATCAGAGCGAAGTG

**Taula 52.2.** Primers, proves, estàndards de quantificació i condicions de la PCR

## Annex VI. Receptari de plats amb sardina

### Platos completos

#### Pastel de patata, verdura y sardina

##### Ingredientes para 1 persona:

- 150 g de puré de patata
- 100 g de sardina en conserva escurrida
- 20 g de cebolla picada
- 30 g de leche desnatada
- 15 g de queso rallado
- 150 g de base de verduras

##### Elaboración:

1. Para el puré de patata: hervir en abundante agua patatas peladas y cortadas a trozos. Escurrir. Hacer un puré con ayuda de un tenedor. Ligar con un poco de aceite. Salpimentar y reservar.
2. Para la base de verduras: Rehogar cebolla, pimiento verde y rojo, zanahoria y ajo todo bien picado en una sartén con un poco de aceite. Añadir un poco de salsa de tomate y un chorrito de vino blanco (opcional). Rehogar todo hasta que esté bien sofrito. Salpimentar.
3. Mezclar el puré con la leche.
4. En un recipiente apto para cocer al horno poner la base de verdura.
5. Hacer otra capa con la sardina escurrida y la cebolla picadas.
6. Acabar con una última capa de puré de patata con leche.
7. Poner encima el queso rallado y cocinar al horno a 200°C durante 10 minutos.

Nota: si se elabora con filetes de sardina fresca, dorar en una sartén o cocer al horno con unas gotas de aceite de oliva durante 2-3 minutos.



100 g de sardina

## Paella de sardinas

### **Ingredientes para 1 persona:**

- 100 g sardina fresca (filetes limpios)
- 30 g de guisantes
- 20 g de pimiento rojo picado
- 20 g de pimiento verde picado
- 80 g de alcachofa (2 corazones)
- 20 g de cebolla tierna rallada
- 50 g de puré de tomate
- 70 g de arroz
- 250 ml (aprox.) de caldo de pescado
- 50 ml de aceite de oliva
- Perejil fresco
- Unas hebras de azafrán
- ½ u Ajo

### **Elaboración:**

1. Calentar el aceite y sofreír la cebolla, los pimientos y las alcachofas cortadas a cuartos.
2. Añadir el tomate y dejar confitar. Poner los guisantes.
3. Añadir el arroz y rehogar todo junto un minuto.
4. Mojar con el caldo y cocer unos 15 minutos.
5. Unos minutos antes, añadir una picada de perejil, azafrán y el ajo. Rectificar de sal.
6. Colocar los filetes de sardina encima del arroz y cocer un minuto. (se puede acabar la cocción al horno).
7. Dejar reposar y servir.



100 g de sardina

## Coca de sardina

### Ingredientes para 1 persona:

- 1 base de pan tipo coca (o una rebanada de pan de payes tostado).
- 100 g sardina fresca (filetes limpios)
- 20 g de sofrito de tomate
- Aceite de oliva
- Romero
- Sal y pimienta

### Elaboración:

1. Sobre el pan, untar el sofrito de tomate.
2. Enseguida colocar los filetes de sardina cortados por la mitad. Espolvorear de romero.
3. Aliñar con sal, pimienta y aceite de oliva.
4. Hornear durante 6-8 minutos a 170º



100 g de sardina



## Entrantes

### “Xató” fácil

#### Ingredientes para 1 persona:

- 50 g de sardina en conserva escurrida
- 70 g de escarola
- 25 g de pasta de aceitunas negras
- 20 g de salsa romesco (elaboración en la pág.15)
- 2 filetes de anchoa escurridos

#### Elaboración:

1. Limpiar y trocear la escarola. Disponer sobre un plato.
2. Desmenuzar a trozos grandes las sardinas.
3. Poner todos los ingredientes sobre la escarola. Aliñar con la salsa de romesco.

Nota: Si se elabora con filetes de sardina fresca, dorar en una sartén o cocer al horno con unas gotas de aceite de oliva durante 2-3 minutos.



50 g de sardina

## Escondidinho

### Ingredientes para 1 persona:

- 100 g de puré de patata
- 50 g de sardina en conserva escurrida
- 10 g de cebolla picada
- 20 g de leche desnatada
- 10 g de queso rallado

### Elaboración:

1. Para el puré de patata: hervir en abundante agua patatas peladas y cortadas a trozos. Escurrir. Hacer un puré con ayuda de un tenedor. Ligar con un poco de aceite. Salpimentar y reservar.
2. Mezclar el puré con la leche.
3. En una flanera, poner una capa con mitad de la mezcla de puré con leche.
4. Desmenuzar las sardinas.
5. Hacer otra capa con la sardina y la cebolla picadas.
6. Otra capa con la mitad de la mezcla de puré con leche.
7. Por último, poner el queso por encima.
8. Cocinar en horno a 200°C durante 10 minutos.

Nota: Si se elabora con filetes de sardina fresca, dorar en una sartén o cocer al horno con unas gotas de aceite de oliva durante 2-3 minutos.



50 g de sardina

## Patata duquesa de sardina

### **Ingredientes para 1 persona:**

- 40 g de puré de patata (elaboración anterior)
- 50 g de sardina en conserva escurrida
- 10 g de leche desnatada
- 5 g de mantequilla
- 10 g de huevo batido
- 5 g de queso parmesano rallado
- sal

### **Elaboración:**

1. Desmenuzar las sardinas.
2. Mezclar todos los ingredientes con una espátula. Poner a punto de sal.
3. Poner la farsa en una manga pastelera y escudillar sobre una bandeja de horno pequeñas bolas del tamaño de una albóndiga (5 unidades).
4. Cocinar en horno a 180°C durante 12-15 minutos.
5. Se obtienen 5 unidades con 10 g de sardina cada una.

Nota: Si se elabora con filetes de sardina fresca, dorar en una sartén o cocer al horno con unas gotas de aceite de oliva durante 2-3 minutos.



50 g de sardina

## Guacamole con sardina

### Ingredientes para 1 persona:

- 50 g de sardina en conserva escurrida.
- 30 g de aguacate.
- 25 g de tomate troceado
- 25 g de cebolla picada
- Cilantro
- Zumo de limón
- Aceite de oliva virgen
- Sal y pimienta

### Elaboración:

1. Desmenuzar las sardinas.
2. Chafar el aguacate con un tenedor hasta formar una pasta. Aliñar.
3. Picar el cilantro.
4. Mezclar todos los ingredientes.
5. Servir como un paté o farsa fría.

Nota: Si se elabora con filetes de sardina fresca, dorar en una sartén o cocer al horno con unas gotas de aceite de oliva durante 2-3 minutos.



Aguacate relleno de guacamole con sardina  
50 g de sardina

## Terrina-soufflé

### Ingredientes para 1 persona:

- 60 g de base de verdura (elaboración anterior)
- 50 g de sardina fresca (filetes limpios)
- 1 clara de huevo
- Sal, pimienta

### Elaboración:

1. Dorar las sardinas en una sartén o cocer al horno con unas gotas de aceite de oliva durante 2-3 minutos.
2. Desmenuzar las sardinas.
3. Batir la clara de huevo a punto de nieve.
4. Mezclar todos los ingredientes. Salpimentar.
5. Cocinar al horno en baño maría a 180°C durante 15 minutos en un molde tipo flan.
6. Observaciones: se puede usar huevo entero mezclando la yema a la base de verduras y sardina y después añadiendo la clara de huevo suavemente.

Nota: Se puede substituir la sardina fresca por sardina en conserva escurrida.



Terrina de sardina y verdura con salsa rosa  
50 g de sardina

## Ensaladilla

### Ingredientes para 1 persona:

- 30 g de patata cocida cortada a dados
- 30 g de zanahoria cocida cortada a dados
- 20 g de judías verdes troceadas cocidas
- 20 g de pimiento asado troceado
- 10 g de mayonesa
- 10 g de queso crema
- 50 g de sardina en conserva escurrida
- Sal y pimienta

### Elaboración:

1. Desmenuzar las sardinas.
2. Mezclar mayonesa y el queso crema.
3. En un recipiente mezclar la verdura cocida, las sardinas y la salsa. Salpimentar.
4. Acompañar con hojas de lechuga fresca.

Nota: Si se elabora con filetes de sardina fresca, dorar en una sartén o cocer al horno con unas gotas de aceite de oliva durante 2-3 minutos.



50 g de sardina

## Ajo blanco malagueño con sardinas

### Ingredientes para 1 persona:

- 50 g de almendras crudas
- 1 diente de ajo pequeño
- 50 g de pan
- 50 g sardina fresca (filetes limpios)
- Aceite de oliva virgen
- Vinagre de Jerez
- Laurel
- Pimienta
- Sal

### Elaboración:

1. Para preparar el ajo blanco, se majan las almendras peladas, el pan y el ajo con agua, hasta formar una pasta, a la que se va añadiendo poco a poco el aceite. Se sazona al gusto con sal y un poco de vinagre.
2. Se colocan las sardinas en una fuente formando una capa, a la que se echa un poco de vinagre, sal, pimienta y laurel. Se dejan macerar durante varias horas.
3. Se sirven en un plato con la sopa de ajo blanco.



50 g de sardina

## Segundos platos

### Albóndigas de sardina

#### Ingredientes para 1 persona:

- 50 g de sardina en conserva escurrida
- 15 g de cebolla tierna en cubos
- 15 g de huevo batido
- Perejil picado
- Pan rallado
- Salsa de tomate
- Sal y pimienta

#### Elaboración:

1. Desmenuzar las sardinas.
2. Escurrir y triturar la sardina con ayuda de un tenedor, y mezclar con la cebolla, el huevo y el perejil. Formar albóndigas.
3. Empanar ligeramente con el pan rallado.
4. Freír las albóndigas 2 minutos justo que se doren. Escurrir sobre un papel absorbente.
5. Calentar la salsa de tomate, salpimentar y servir con las albóndigas.

Nota: Si se elabora con filetes de sardina fresca, dorar en una sartén o cocer al horno con unas gotas de aceite de oliva durante 2-3 minutos.



50 g de sardina



## Sardina con salsa verde

### Ingredientes para 1 persona:

- 50 g sardina fresca (filetes limpios)
- ½ diente ajo picado
- Perejil picado
- 10 g de harina
- 40 g de vino blanco (opcional)
- Sal
- 65 g de agua
- Aceite de oliva

### Elaboración:

1. Sofreír el ajo con un poco de aceite, agregar la harina. Remover y dejar cocer 1 minuto.
2. Agregar el vino blanco, remover y reducir.
3. Agregar agua caliente, remover con una varilla y ligar para que quede una salsa homogénea.
4. Salar, poner el perejil y las sardinas.
5. Tapar y cocer a fuego muy lento 2-3 minutos. Dejar reposar y servir.



50 g de sardina

## Sardina con salsa verde al microondas

### Ingredientes para 1 persona:

- 50 g sardina fresca (filetes limpios)
- ½ diente ajo picado
- Perejil fresco picado
- 10 g de harina
- 10 g de vino blanco (opcional)
- Sal
- 20 g de agua
- 20 g de caldo de pescado
- Aceite de oliva

### Elaboración:

1. En un tuper o recipiente apto para microondas, poner el ajo y el aceite de oliva. Calentar en microondas durante 1 minuto a máxima potencia, sacar el envase, remover con una cuchara y repetir la operación.
2. Enseguida, añadir la harina y el perejil. Calentar durante 1 minuto, remover y repetir la operación.
3. Añadir caldo de pescado, agua y vino blanco, introducir al microondas durante 2 minutos mas.
4. Finalmente, colocar las sardinas bien estiradas y cocer 30 segundos mas. Dejar reposar en el propio recipiente tapado un par de minutos.



50 g de sardina

## Sardina con salsa romesco

### **Ingredientes para 1 persona:**

- 50 g sardina fresca (filetes limpios)
- 50 g de salsa romesco
- 30 g de agua
- sal

### **Elaboración:**

1. Para la salsa Romesco: Asar al horno 8-10 tomates rojos y una cabeza de ajos. Pelar y triturar con avellanas y almendras tostadas, la pulpa de un pimiento seco choricero, aceite de oliva, unas gotas de vinagre y sal.
2. En un cazo poner un poco de salsa romesco y el agua, remover y arrancar el hervor.
3. Poner las sardinas y cocinar unos 2 minutos a fuego lento. Poner a punto de sal.
4. Servir calientes o frías.



50 g de sardina

## Sardina en escabeche

### Ingredientes para 1 persona:

- 50 g sardina fresca (filetes limpios)
- 25g zanahoria a rodajas
- 25g pimiento troceado
- 50g cebolla
- 1 diente de ajo
- tomillo, laurel, romero
- Aceite de oliva virgen
- Vinagre de vino

### Elaboración:

1. Para el escabeche: Rehogar en un cazo con un buen chorro de aceite de oliva el ajo, la cebolla laminada y la zanahoria. Añadir las hierbas aromáticas, un chorro de vinagre y el doble de agua. Dejar hervir unos minutos. Salpimentar. Dejar reposar.
2. En un cazo poner el escabeche; salar y añadir las sardinas. Cocinar unos 2 minutos a fuego lento. Dejar enfriar en la misma salsa.
3. Es mejor dejar reposar el conjunto una noche en el frigorífico.
4. Servir.



50 g de sardina

## Sardina “nórdica”

### **Ingredientes para 1 persona:**

- 50 g sardina fresca (filetes limpios)
- Hinojo fresco troceado
- 50 g de aceite de oliva
- 50 g de zumo de limón
- 5 g de azúcar
- Sal

### **Elaboración:**

1. Preparar la marinada, mezclar todos los ingredientes y reposar en nevera 1 día como mínimo.
2. Dorar las sardinas en una sartén o cocer al horno con unas gotas de aceite de oliva durante 2-3 minutos.
3. Poner las sardinas una vez frías en el marinado y dejar reposar unas 4-5 horas como mínimo.
4. Servir solas o por ejemplo, como parte de una ensalada.



50 g de sardina

## “Suquet” de sardina

### Ingredientes para 1 persona:

- 50 g sardina fresca (filetes limpios)
- 50 g patata (1/2 u)
- 1 tomate maduro
- ½ cebolla
- ½ diente de ajo
- Vino blanco
- 250g Caldo de pescado
- Aceite de oliva
- Sal, pimentón dulce
- Perejil picado

### Elaboración:

1. Pelar y trocear las patatas a trozos grandes.
2. Rallar el tomate y la cebolla. Picar el ajo.
3. En una cazuela con aceite rehogar el ajo y la cebolla a fuego lento. Una vez esté confitada, añadir el tomate y dejar cocer poco a poco.
4. Añadir una pizca de pimentón y un chorro de vino blanco. Dejar reducir.
5. Añadir las patatas y el perejil. Verter el caldo y dejar cocer. Poner a punto de sal.
6. En el último minuto poner las sardinas, tapar y cocer unos segundos sin remover demasiado para evitar que se rompan.
7. Espolvorear de perejil y servir.



50 g de sardina

## Tortilla de sardinas

### **Ingredientes para 1 persona:**

- 50 g sardina fresca (filetes limpios)
- 2 huevos
- ½ diente de ajo
- Perejil
- Pimentón
- Aceite
- Sal

### **Elaboración:**

8. Separar las claras y yemas de huevo.
9. Se baten las claras a punto de nieve y se añaden las yemas delicadamente para lograr una tortilla más aérea. Poner perejil picado y la sal.
10. En una sartén grande se pone un poco de aceite y se dora el ajo, añadir las sardinas y freír unos segundos.
11. Mezclarlas con el huevo y un poco de pimentón.
12. Hacer la tortilla al gusto procurando que quede cocida por los dos lados.



50 g de sardina

## Moraga de sardinas

### Ingredientes para 1 persona:

- 50 g sardina fresca (filetes limpios)
- ½ cebolla pequeña
- ½ tomate maduro
- ¼ de pimiento verde
- 1 diente de ajo
- 1 hoja pequeña de laurel
- Aceite de oliva
- Sal
- 1 grano de pimienta negra
- Pimentón dulce
- Vino blanco

### Elaboración:

1. En un cazo con aceite se prepara un sofrito con la cebolla picada muy fina, el pimiento y el ajo picado.
2. Añadir el tomate pelado y troceado. Dejar rehogar lentamente removiendo de vez en cuando.
3. Sazonar con sal, pimienta, pimentón y el laurel.
4. Añadir las sardinas, un buen chorro de vino blanco y llevar a ebullición.
5. Apartar el cazo del fuego y dejar que se acaben de hacer con el calor residual.
6. Es mejor dejar reposar el conjunto una noche en el frigorífico.
7. Servir.



50 g de sardina



## Sardinas en adobo

### Ingredientes para 1 persona:

- 50 g sardina fresca (filetes limpios)
- ½ diente de ajo
- Harina
- Pimentón
- Orégano
- Pimienta molida
- Aceite
- Sal

### Elaboración:

1. Colocar las sardinas en una fuente, aliñar con sal, pimienta, pimentón, el diente de ajo machacado, un poco de orégano, y un chorro de aceite.
2. Se remueve muy bien para que las sardinas se empapen con el adobo y se deja reposar en el frigorífico unas cuantas horas.
3. Transcurrido ese tiempo, se sacan los trozos de sardina y se escurren muy bien. Se enharinan y se fríen en una sartén con abundante aceite muy caliente.



50 g de sardina

## Patés y salsas

### Paté de sardina con mayonesa y zanahoria

#### Ingredientes para 1 persona:

- 50 g de sardina en conserva escurrida
- 30 g de mayonesa light
- 10 g de cebolla rallada
- 10 g de zanahoria rallada
- Perejil picado, pimienta y sal



#### Elaboración:

1. Desmenuzar las sardinas.
2. Con un tenedor, mezclar la mayonesa con el resto de ingredientes.
3. Servir como un paté o farsa fría.

Nota: Si se elabora con filetes de sardina fresca, dorar en una sartén o cocer al horno con unas gotas de aceite de oliva durante 2-3 minutos.

Se puede consumir como una paté sobre unas tostadas, o sobre pan de molde, pero también como rellenos de unos huevos duros u otras preparaciones.



Tomate relleno con paté de sardina  
Huevos duros rellenos con paté de sardina y ensalada de lechugas.  
50 g de sardina

## Paté de sardina con albahaca y tomate

### Ingredientes para 1 persona:

- 50 g de sardina en conserva escurrida
- 50 g de tomate rojo troceado
- Hojas de albahaca fresca
- Aceite de oliva virgen
- Sal y pimienta

### Elaboración:

1. Desmenuzar las sardinas.
2. Mezclar todos los ingredientes. Aliñar.
3. Servir como un paté o farsa fría.

Nota: Si se elabora con filetes de sardina fresca, dorar en una sartén o cocer al horno con unas gotas de aceite de oliva durante 2-3 minutos.

Igual que con el anterior, podemos utilizarlo en varias preparaciones, en esta ocasión os proponemos una terrina con queso fresco tipo burgos. Para ellos sólo necesitáis mezclar el paté con trocitos de queso fresco, disponerlo en un molde y, bien frío, desmoldar y servir.



Pimientos del piquillo rellenos de paté de sardina con aceite de albahaca

Terrina de paté de sardina con queso fresco.

50 g de sardina

## Paté de sardina con queso

### Ingredientes para 1 persona:

- 50 g de sardina en conserva escurrida
- 30 g de queso unttable bajo en grasa
- Aceite de oliva
- Sal y pimienta

### Elaboración:

1. Desmenuzar las sardinas.
2. Mezclar todos los ingredientes.
3. Servir como un paté o farsa fría.

Nota: Si se elabora con filetes de sardina fresca, dorar en una sartén o cocer al horno con unas gotas de aceite de oliva durante 2-3 minutos.



Tostada de pan de molde con paté y ensalada  
Crujientes de pan con pate de sardina y queso  
50 g de sardina

## Paté de sardina con yogur

### Ingredientes para 1 persona:

- 50 g de sardina en conserva escurrida
- 50 g de yogur desnatado
- Ajo picado
- 30 g de pepino rallado
- Menta fresca
- Aceite de oliva virgen
- Sal y pimienta



### Elaboración:

1. Desmenuzar las sardinas.
2. Picar la menta fresca.
3. Mezclar todos los ingredientes

Nota: Si se elabora con filetes de sardina fresca, dorar en una sartén o cocer al horno con unas gotas de aceite de oliva durante 2-3 minutos.

Os proponemos utilizar esta preparación como aperitivo, para comer con unos bastoncitos de hortalizas crudas o con cualquier otro ingrediente que os apetezca: palitos de pan, nachos, hojas de lechuga o endibia...



Crudités de verdura fresca con paté de sardinas y yogur  
50 g de sardina

## Salsa de tomate y sardina

### **Ingredientes para 1 persona:**

- 150 g de tomate maduro
- 1 diente de ajo
- 50 g de sardina en conserva
- Aceite de oliva, orégano seco
- 1 filete de anchoa

### **Elaboración:**

1. Escurrir y desmenuzar groseramente las sardinas.
2. Limpiar y trocear groseramente los tomates. En una cazuela, rehogar el ajo con el aceite, añadir los tomates, salar y sofreír lentamente unos 30 minutos.
3. Picar el filete de anchoa.
4. Fuera del fuego, añadir la anchoa, el orégano y las sardinas.
5. Servir sobre la pasta caliente.

Nota: Si se elabora con filetes de sardina fresca, dorar en una sartén o cocer al horno con unas gotas de aceite de oliva durante 2-3 minutos.

Ideal para combinar con cualquier tipo de pasta: espaguetis, macarrones, etc.



50 g de sardina

