

VERSIÓN 29 – EDICIÓN JUNIO 2021

El contenido de este manual es actualizado continuamente.

MANUAL DE INVESTIGACIÓN MÉDICA

CONFIDENCIAL

Bovia®
Metabolitos del Cacao



SH/RM-2324

sanki mayor®
IN-VIVO INNOVATIONS LTD.

Kanaya Bldg 5F, 4-11-3 Hatchobori
Chuo-ku, Tokyo 104-0032 JAPAN.
www.sanki-mayor.com
development@sanki-mayor.com

TÍTULO	BOVIA®, Reporte de Investigación Médica.
PATROCINADOR	SANKI MAYOR – Kanaya Bldg 5F, 4-11-3 Hatchobori, Chuo-Ku, Tokyo, JAPAN.
LABORATORIO	APA MED N. ICA TOKYO LABORATORIES 14-5 Kusunokichō, Nishi-ku, Yokohama-shi, Kanagawa-ken 220-0003.
INVESTIGADOR ESPECIALIZADO	Dr. Yuki Ikeda
PRODUCTO	BOVIA®
TECNOLOGÍA	Tecnología de fermentación japonesa
COMPOSICIÓN	100% metabolitos del cacao

ACUERDO DE NO DIVULGACIÓN

ESTE ACUERDO se celebra entre Sanki Mayor y el destinatario. La parte receptora del presente desea obtener acceso a: **BOVIA®** Manual de Investigación Médica. En consideración de las promesas y convenios mutuos contenidos en este Acuerdo, y otra consideración buena y valiosa, cuyo recibo y suficiencia se reconoce por la presente, las partes acuerdan lo siguiente:

1. Cualquier (a) información científica o técnica debe ser razonablemente reconocida como información confidencial y no ser distribuida o reproducida (b) digitalmente o (c) manualmente.

a) Invención, diseño, proceso, procedimiento, fórmula, mejora, tecnología o método; todos los conceptos, informes, datos, saber como, trabajos en progreso, diseños, herramientas de desarrollo, especificaciones, software, código fuente, código de objeto, diagramas de flujo, bases de datos, invenciones, información y secretos comerciales.

b) Fotocopiado, escaneado, toma de fotografías y grabación de video.

c) Notas, resúmenes, memorandos, dibujos, manuales, registros, extractos o información derivada de los mismos y todos los demás documentos o materiales.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, las partes del presente han ejecutado este Acuerdo a partir de la fecha escrita anteriormente.

Parte reveladora: Sanki Mayor

Parte receptora _____

[illegible]

TABLA DE CONTENIDO

ACUERDO DE NO DIVULGACIÓN	3
ENSAYOS Y PRUEBAS CLÍNICAS	5
1. INTRODUCCIÓN	6
1.1 La ciencia de bovia	6
1.2 Sición	7
1.2.1 La plantación de cacao más antigua del mundo	7
1.2.2 Tecnología de fermentación japonesa tradicional	8
2. COMPUESTOS BIOACTIVOS	9
2.1 Metabolitos del cacao	9
2.1.1 Glicina	9
2.1.2 Propionato	9
2.1.3 Ácido glutámico	10
2.1.4 B-alanina	11
2.1.5 B-sitosterol	12
2.1.6 Acacetina	13
2.1.7 Palmitoiletanolamida	13
2.1.8 L-ornitina	14
2.1.9 Uridina	14
2.1.10 Ácido 3-hidroxiβ-butilírico	15
2.1.11 B-hidroxi β-metilbutirato	16
3. MECANISMOS DE ACCIÓN	17
3.1 Modulación de la microbiota intestinal	17
3.2 Actividad antiglicación	18
3.3 Mejora de la microcirculación	18
3.3.1 Función sexual	19
3.4 Mejora de la función cerebral	20
3.5 Aumento de la absorción de proteína	21
3.6 linflamación	22
3.7 Efecto en la saciedad	23
3.8 Disminución de la lipogénesis	26
3.9 Mejora del metabolismo de glucosa	27
4. ENSAYOS CLÍNICOS	28
4.1 Modulación de microbiota intestinal por metabolitos de cacao	28
4.2 Efecto inhibitorio de los metabolitos del cacao sobre biomarcadores proinflamatorios	32
4.3 Mejora de la microcirculación por metabolitos de cacao	37
4.4 Aumento de los niveles de energía	43
5. CONCLUSIÓN	48

ENSAYOS Y PRUEBAS CLÍNICAS

MEDICA TOKYO LABORATORIES

14-5 Kusunokichō, Nishi-ku,
Yokohama-shi, Kanagawa-ken 220-0003.
Gestionado por: Dr. Taro Hirata

JAPAN FOOD RESEARCH LABORATORIES

52-1 Motoyoyogi-cho Shibuya-ku
Tokyo 151-0062 JAPAN.

INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR

Universidad Miguel Hernández
03202 Elche (Alicante) Spain.
Gestionado por: Dr. Vicente Micol

CERN - CENTRO DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN NUTRICIÓN

Centre Hospitalier de Bretagne Sud BP2233 56322
Lorient Cedex France.
Gestionado por: Dr. Bernard Schmitt

1. INTRODUCCIÓN

1.1 LA CIENCIA DE BOVIA

BOVIA® es un complejo de metabolitos de granos de cacao que se obtiene por fermentación utilizando tecnología japonesa. Estos granos de cacao crudo son una cepa de bacterias con actividad de tanasa: *Lactobacillus plantarum* LP127, cuyos metabolitos proporcionan diversos beneficios para la salud, principalmente: modulación de la microbiota intestinal, antiinflamación y metabolismo de los lípidos.

BOVIA® fue desarrollado considerando tres factores importantes:

- **Seguridad**

La seguridad del producto es una prioridad y **BOVIA®** se desarrolló con granos de cacao que son 100% de origen vegetal, cultivados en granjas con un estricto control de calidad. Las pruebas farmacéuticas se realizan para que todos productos obtengan la eficacia óptima y tengan siempre la seguridad bajo control.

- **Biodisponibilidad**

La biodisponibilidad es un paso clave para garantizar la eficacia de los compuestos bioactivos. A veces, los bioactivos se absorben poco en el intestino, se metabolizan mucho o se eliminan rápidamente.

- **Eficacia**

BOVIA® es rico en metabolitos, obtenidos después del proceso de fermentación, los cuales, aumentan la diversidad de la buena microbiota intestinal e inhiben selectivamente las cepas patógenas. Estos metabolitos fermentados tienen una potente acción antiinflamatoria, reducen la lipogénesis, aumentan la oxidación de lípidos e inducen la quema de grasa.

1.2 COMPOSICIÓN

La eficacia del producto en el efecto reivindicado se centra en los ingredientes activos de la fórmula:

Ingredientes	Sustancias activas
Metabolitos del Cacao	Propionato de glicina Ácido glutámico β -alanina β -sitosterol Acacetina Palmitoiletanolamida L-ornitina Uridina Ácido 3-hidroxibutírico β -hidroxi β -metilbutirato

Características de la solución de salud biomimética BOVIA®.

1.2.1 LA PLANTACIÓN DE CACAO MÁS ANTIGUA DEL MUNDO

Los granos de cacao, utilizados para la producción de BOVIA®, se cultivan en la región sur de México en una plantación especializada en el cultivo de cacao desde hace 4000 años. El clima favorable y los suelos ricos de la región de Chiapas concentran los granos de cacao en polifenoles bioactivos con un enfoque especial en su capacidad para modular las defensas antioxidantes.



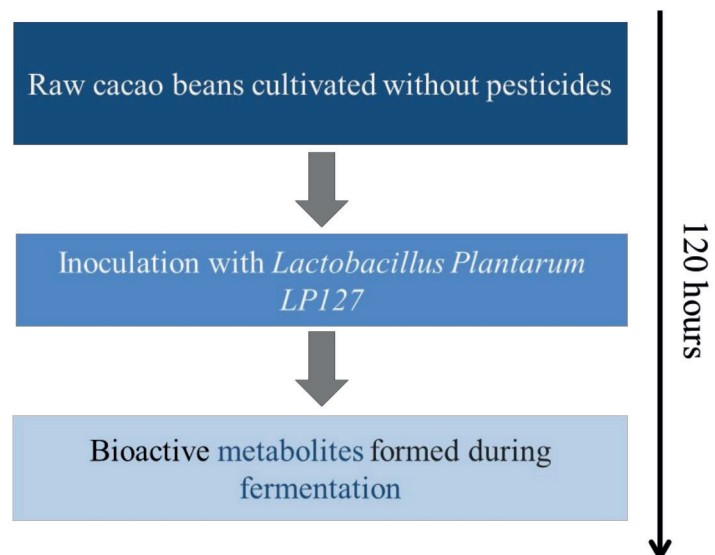
1.2.2 TECNOLOGÍA DE FERMENTACIÓN JAPONESA TRADICIONAL

La tecnología de fermentación japonesa convierte los compuestos fenólicos del cacao en metabolitos únicos. La fermentación mejora el rendimiento y cambia el perfil de éstos debido a la liberación de compuestos fenólicos ligados, como consecuencia de la degradación de la estructura de la pared celular por las enzimas microbianas producidas durante la fermentación.

Sanki Mayor ha desarrollado un sistema de fermentación, tecnología de Biofusión en frío, que produce un rendimiento óptimo de metabolitos emitidos por los granos de cacao. La tecnología de Biofusión en frío fermenta los granos a 37°C, durante 120 horas, para asegurar una bioconversión eficiente de compuestos fenólicos en metabolitos. Otros parámetros de fermentación de alta temperatura, pueden conducir al crecimiento de cepas de bacterias no deseadas y a la producción de metabolitos no objetivo.



Cold BioFusion Technology



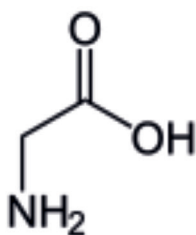
Se aísla de los granos de cacao crudos, una cepa de bacterias con actividad de tanasa (*Lactobacillus plantarum* LP127), los cuales, se obtienen después del proceso de fermentación, lo que ayuda a mejorar la biodisponibilidad de los polifenoles del cacao. El complejo contiene cientos de metabolitos y oligoelementos. Se enumeran los principales aminoácidos presentes. (Ver anexo).

2. COMPUESTOS BIOACTIVOS

2.1 METABOLITOS DEL CACAO

2.1.1 GLICINA

La glicina es un aminoácido necesario para un sistema digestivo saludable porque ayuda a regular la síntesis del ácido biliar utilizado para ayudar a digerir las grasas. La glicina también desempeña un papel como neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central, particularmente en la médula espinal, en el tronco encefálico y en la retina. Este aminoácido es esencial para el desarrollo y la calidad de los músculos esqueléticos humanos, los tejidos y su integridad estructural, y la síntesis de ácidos nucleicos.



Estructura química de glicina

Fórmula molecular: C₂H₅NO₂

Peso molecular: 75.067 g·mol⁻¹

Número de registro CAS:56-40-6

Glicina es representada por la estructura química de la izquierda.

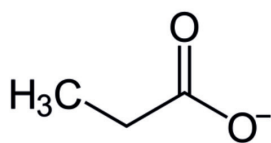
La glicina es un aminoácido no esencial que crea tejidos musculares y convierte la glucosa en energía. Además, también es vital para mantener saludable el sistema nervioso central y digestivo.

La glicina se utiliza en el cuerpo humano para ayudar a construir cadenas normales de ADN y ARN. Este aminoácido ayuda a prevenir la descomposición de los músculos al aumentar los niveles de creatina, que desarrolla la masa muscular. La glicina también se encuentra en la piel (mantiene su firmeza y flexibilidad) y en otros tejidos conectivos.

2.1.2 PROPIONATO

El propionato se encuentra entre los ácidos grasos de cadena corta más comunes producidos por la microbiota intestinal humana en respuesta a los carbohidratos no digeribles en la dieta. El propionato es producido por las bacterias del género *Bacteroides* en el intestino.

Estructura química del propionato



Fórmula molecular: $C_3H_5O_2^-$

Peso molecular: 73.071 g/mol

Número de registro CAS: 72-03-7

Propionato es representado por la estructura química de la izquierda.

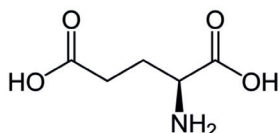
El propionato reduce la lipogénesis, los niveles de colesterol en suero y la carcinogénesis en otros tejidos. Por lo tanto, dirigir la producción de propionato microbiano, a través de la dieta, podría ser una estrategia potente para aumentar los efectos sobre la salud de los carbohidratos microbianos. El propionato es absorbido principalmente por el hígado y activa la gluconeogénesis, influye en la producción de citocinas, las cuales, estimulan la producción de IL-18, una interleucina involucrada en el mantenimiento y la reparación de la integridad epitelial.

El propionato es un inhibidor de histona desacetilasa que regula pigenéticamente la expresión génica. Se ha demostrado que el propionato modula la regulación del apetito y la ingesta de energía a través de mecanismos mediados por el receptor al actuar sobre la función de las células β y atenuar el comportamiento alimentario basado en recompensas a través de las vías estriatales.

2.1.3 ÁCIDO GLUTÁMICO

El ácido glutámico es un aminoácido importante para la síntesis de proteínas. Este aminoácido contribuye a la salud de los sistemas inmunitario y digestivo, así como a la producción de energía. Los tejidos musculares son un sitio importante para almacenar y producir este aminoácido. Cada día, los músculos liberan aproximadamente 80 g de ácido glutámico en la circulación para su uso en todo el cuerpo. El ácido glutámico está en el mismo grupo familiar de aminoácidos que la glutamina y pueden alterar su estructura para transformarse entre sí. Los músculos requieren glutamina más que cualquier otro aminoácido, ya que la usan rápidamente durante el ejercicio. Por lo tanto, los culturistas y otros atletas que dependen de la masa muscular, la resistencia y la fuerza, tienen una mayor demanda de glutamina. En consecuencia, tener un suministro adecuado de glutamina/ácido glutámico es importante para mantener un cuerpo sano y activo.

Estructura química del ácido glutámico



Fórmula molecular: $C_5H_9NO_4$

Peso molecular: 147.130 g·mol⁻¹

Número de registro CAS: 56-86-0

Ácido glutámico es representado por la estructura química de la izquierda.

El ácido glutámico proporciona una fuente de energía directa para que el cerebro funcione a un alto nivel y estimula el estado de alerta mental y mejora la función de la memoria. El ácido glutámico es muy importante en el tratamiento de afecciones como la depresión, la ansiedad y otros trastornos relacionados con el

estado 10 de ánimo. Los estudios han demostrado que las personas que padecen estas afecciones neuropsicológicas, suelen tener una relación o concentración desequilibrada de neurotransmisores.

El ácido glutámico es esencial para detoxificar el amoníaco. Este aminoácido se une a los átomos de nitrógeno y, a su vez, crea glutamina. Esta conversión de ácido glutámico en glutamina es la única forma de eliminar este producto de desecho metabólico tóxico.

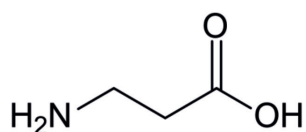
El ácido glutámico en forma de glutamato monosódico (GMS) puede aumentar la tolerancia al ejercicio y mejorar la función cardíaca. Este aminoácido también puede ayudar a reducir el dolor en el pecho comúnmente asociado con la enfermedad coronaria.

2.1.4 β -ALANINA

La Beta-alanina o ácido 3-aminopropiónico es un beta aminoácido natural y un componente de los dipéptidos de histidina, carnosina y anserina, así como la vitamina B5 o ácido pantoténico. La Beta-alanina es una versión modificada del aminoácido alanina y se ha demostrado que mejora la resistencia muscular. La suplementación con este beta aminoácido natural, también puede mejorar el rendimiento del ejercicio cardiovascular de intensidad moderada a alta.

Cuando se ingiere, la Beta-alanina pasa del torrente sanguíneo al músculo esquelético a través de un transportador de Beta-alanina y taurina que depende de la disponibilidad de sodio y cloruro. Una vez que ingresa a una célula del músculo esquelético, se une con el aminoácido esencial L-histidina para formar el dipéptido carnosina. La carnosina se almacena en las células y se libera en respuesta a las caídas de pH. El aumento de las reservas de carnosina puede proteger contra las caídas de pH inducidas por la dieta, así como ofrecer protección contra la producción de ácido láctico inducida por el ejercicio.

Estructura química β -alanina



Fórmula molecular: $C_3H_7NO_2$

Peso molecular: 89.093 g/mol

Número de registro CAS: 107-95-9

Beta-alanina es representada por la estructura química de la izquierda.

La suplementación con Beta-alanina aumenta los niveles de carnosina en el tejido muscular hasta en un 80%. La carnosina funciona como un amortiguador ácido.

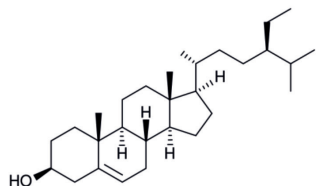
Los músculos descomponen la glucosa para obtener energía. El lactato es un subproducto de la producción rápida de energía y aumenta los iones de hidrógeno, estos iones hacen que los músculos sean ácidos y detienen la descomposición de la glucosa, evitando que el músculo se contraiga, causando fatiga. La carnosina amortigua este ácido al consumir el exceso de iones de hidrógeno producidos durante el ejercicio de alta intensidad.

Los suplementos de Beta-alanina ayudan a reducir los niveles de ácido durante el ejercicio, al aumentar carnosina en los músculos, y a reducir la fatiga.

2.1.5 β -SITOSTEROL

El beta-sitosterol es un fitosterol, es decir, un esteroide producido por las plantas. Químicamente es similar al colesterol y la forma pura es un polvo blanco seroso. El beta-sitosterol es soluble en alcoholes pero insoluble en agua.

Estructura química beta-sitosterol



Fórmula molecular: $C_{29}H_{50}O$

Peso molecular: 414.718 g·mol⁻¹

Número de registro CAS: 83-46-5

Beta-sitosterol es representada por la estructura química de la izquierda

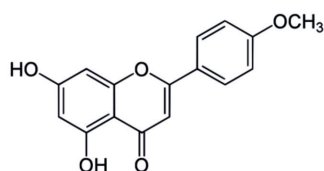
El betasitosterol es principalmente conocido y utilizado por su propiedad para reducir el colesterol, pero estudios han demostrado que el fitoquímico puede tener otros beneficios para la salud: alivia los síntomas de la hiperplasia prostática benigna, reduce el riesgo de cáncer y previene el daño oxidativo a través de su actividad antioxidante. Los análisis epidemiológicos y experimentales han sugerido un papel protector del betasitosterol en el desarrollo de algunos tipos de cáncer como el de mama, colon y próstata.

Estudios in vivo han demostrado que los fitoquímicos inhiben la proliferación e inducen apoptosis en tumores sólidos humanos como el cáncer de colon y de mama. Investigaciones acerca del efecto protector del betasitosterol sobre el cáncer de mama, solo incluyeron experimentos in vitro utilizando éstas células cultivadas. Estos estudios muestran claramente que los fitoquímicos matan las células de cáncer de mama y no son tóxicos para las células normales. Todavía faltan investigaciones clínicas que relacionen el beta-sitosterol y el cáncer de seno, pero algunos científicos sugieren que puede mejorar la eficiencia del tamoxifeno, un medicamento que se usa a menudo para tratar este tipo de cáncer. El betasitosterol es un antioxidante capaz de reducir el daño en el ADN, reducir el nivel de radicales libres en nuestras células y aumentar el nivel de las enzimas antioxidantes típicas.

La ingesta regular de betasitosterol puede reducir los niveles de colesterol en la sangre al inhibir directamente la absorción de colesterol, también previene la oxidación del colesterol LDL, lo que reduce el riesgo de aterosclerosis. Además, los exámenes clínicos han confirmado efectos beneficiosos en pacientes con hiperplasia de la próstata. El fitoquímico disminuye el volumen urinario residual post-vaciamiento y aumenta el flujo urinario en estos pacientes.

2.1.6 ACACETINA

La acacetina es una flavona O-metilada que se encuentra en varias plantas, demuestra actividad espasmolítica, antinociceptiva, antiinflamatoria y antioxidante en varios modelos de investigación.



Estructura química acacetina

Fórmula molecular: $C_{16}H_{12}O_5$

Peso molecular: 284.26 g/mol

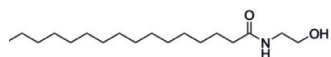
Número de registro CAS: 480-44-4

Acacetina es representada por la estructura química de la izquierda.

Según se informa, la acacetina (5,7-dihidroxi-4-metoxiflavona), es un flavonoide con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias que ejerce efectos antitumorales. Estudios recientes han demostrado que la acacetina desempeña un papel protector en el cerebro, por lo que puede inhibir el factor nuclear inducido por lipopolisacáridos kappa B (NF- κ B) y las vías de señal inflamatoria de la proteína quinasa activada por mitógeno (p38MAPK), así como los factores inflamatorios mediados por microglia, lo que reduce el daño inflamatorio. La respuesta inflamatoria mediada por microglía es un mecanismo importante de lesión por isquemia-reperfusión cerebral.

2.1.7 PALMITOILETANOLAMIDA

La palmitoiletanolamida (PEA) es un componente alimentario conocido desde hace más de 50 años. La PEA se sintetiza y metaboliza por diferentes tipos de células animales y también está presente en las plantas, demuestra una multitud de funciones fisiológicas relacionadas con la homeostasis metabólica y celular. La PEA ya se identificó en los años 50 del siglo pasado como una sustancia terapéutica con potentes propiedades antiinflamatorias. Desde 1970, sus propiedades antiinflamatorias y otras inmunomoduladoras se han demostrado en una serie de ensayos clínicos doble ciego controlados con placebo sobre la gripe y el resfriado común.



Estructura química palmitoiletanolamida

Fórmula molecular: $C_{18}H_{37}NO_2$

Peso molecular: 299.499 g·mol⁻¹

Número de registro CAS: 544-31-0

Palmitoiletanolamida es representada por la estructura química de la izquierda.

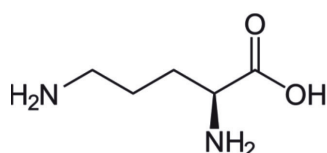
Los estudios con palmitoiletanolamida han demostrado que esta sustancia se une al receptor activado por el proliferador de peroxisomas que se encuentra en el núcleo celular. El receptor activado por el proliferador de peroxisomas ayuda a regular las redes de genes que están asociadas con el control del dolor y la inflamación en el cuerpo. La palmitoiletanolamida se compara con receptores similares a los cannabinoides como GPR55 y GPR119, pero no muestra afinidad por los receptores

de cannabinoides como CB1 y CB2. Por lo tanto, palmitoiletanolamida no tiene la psicoactividad que se observa con los cannabinoides clásicos (CB1 y CB2). PEA previene la liberación de mediadores de mastocitos como TNF-alfa e histamina y regula negativamente la expresión de mastocitos, que es una opción atractiva para el tratamiento de trastornos de mastocitos.

2.1.8 L-ORNITINA

La L-ornitina es un aminoácido natural que se encuentra en la carne, pescado, lácteos y huevos. La ornitina es uno de los reactivos claves en el ciclo de la urea que es responsable del 80% de la excreción de nitrógeno en el cuerpo. La ornitina mejora la función hepática y ayuda a desintoxicar sustancias nocivas, además es utilizado para la suplementación nutricional y para tratar la escasez o el desequilibrio de la dieta. Se ha afirmado que la ornitina mejora el rendimiento atlético, tiene efectos anabólicos, efectos de curación de heridas y mejora la inmunidad.

Estructura química L-ornitina



Fórmula molecular: C₁₈H₃₇NO₂

Peso molecular: 299.499 g·mol⁻¹

Número de registro CAS: 544-31-0

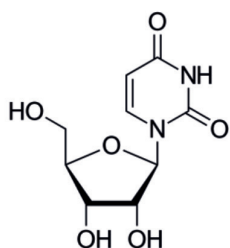
Palmitoiletanolamida es representada por la estructura química de la izquierda.

L-ornitina se metaboliza a L-arginina, ésta estimula la liberación pituitaria de la hormona del crecimiento. Las quemaduras u otras lesiones afectan el estado de la L-arginina en los tejidos de todo el cuerpo. Como la síntesis de novo de L-arginina durante estas condiciones generalmente no es suficiente para la función inmune normal, ni para la síntesis normal de proteínas, la L-ornitina puede tener actividades inmunomoduladoras y de curación de heridas en estas condiciones.

2.1.9 URIDINA

La uridina es un nucleósido que consiste en uracilo, y D-ribosa y un componente de ARN. La uridina en la dieta se sintetiza en el hígado y se secreta como monofosfato de uridina en la sangre. En el cerebro, este nucleósido se convierte en CDP colina, que a su vez se convierte en fosfatidilcolina o PC. Parte de la PC se convierte en un componente de la capa de fosfolípidos que encierra nuevas sinapsis. Mientras más uridina esté disponible en el cerebro, se produce más CDP colina y las mejores sinapsis nuevas se protegen y fortalecen.

Estructura química de uridina



Fórmula molecular: C₉H₁₂N₂O₆

Peso molecular: 244.20 g/mol

Número de registro CAS: 58-96-8

Uridina es representada por la estructura química de la izquierda.

La uridina también ayuda a aumentar la formación de nuevas sinapsis al mejorar el crecimiento de las proyecciones de células neurales o "ramas" conocidas como neuritas, que son cruciales para la señalización neural. Los estudios demuestran que la uridina suplementaria aumentó significativamente tanto el número de neuritas por célula como la cantidad de su ramificación. El crecimiento y la ramificación de neuritas están fuertemente asociadas con una cognición mejorada.

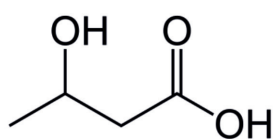
Las acciones combinadas que la uridina desencadena en el cerebro, estimula el desarrollo de nuevas sinapsis y alenta la ramificación de éstas, protegiendo y fortaleciendo las sinapsis existentes, proporcionando colina para la creación de acetilcolina y regulando la producción y liberación de dopamina. Todas trabajan juntas para mejorar la neuroplasticidad o la capacidad del cerebro para reorganizarse y reagruparse en respuesta al aprendizaje.

La neuroplasticidad es esencial para todos los aspectos de la cognición, pero una pérdida de neuroplasticidad tiene un efecto negativo particularmente pronunciado en la memoria. El aumento de la neuroplasticidad está fuertemente asociado con una cognición mejorada en adultos sanos, es una parte vital del tratamiento para la prevención de la enfermedad de Alzheimer y otras afecciones relacionadas con la edad que erosionan las capacidades cognitivas.

2.1.10 ÁCIDO 3-HIDROXIBUTÍRICO

El ácido 3-hidroxibutírico (o beta-hidroxibutirato) es un cuerpo de cetona. Al igual que los otros cuerpos cetónicos (acetoacetato y acetona), los niveles de 3-hidroxibutirato en sangre y orina aumentan en la cetosis. En humanos, el 3-hidroxibutirato se sintetiza en el hígado a partir de acetyl-CoA y el cerebro puede utilizarlo como fuente de energía cuando la glucosa en sangre es baja.

Estructura química ácido 3-hidroxibutírico



Fórmula molecular: $C_4H_8O_3$

Peso molecular: 104.105 g·mol⁻¹

Número de registro CAS: 300-85-6

Ácido 3-Hidroxibutírico es representada por la estructura química de la izquierda.

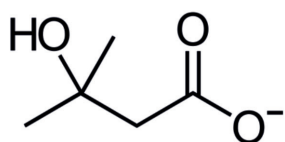
Los niveles en sangre de los niveles de ácido 3-hidroxibutírico se pueden controlar en pacientes diabéticos para buscar cetoacidosis diabética. La hipercetonemia leve persistente es un hallazgo común en los recién nacidos. Los cuerpos cetónicos sirven como una fuente indispensable de energía para los tejidos extrahepáticos, especialmente el cerebro y los pulmones de los mamíferos en desarrollo. Otra función importante de los cuerpos cetónicos es proporcionar acetoacetyl-CoA y acetyl-CoA para la síntesis de colesterol, ácidos grasos y lípidos complejos.

Durante el período posnatal temprano, se prefieren el acetoacetato (AcAc) y el beta-hidroxibutirato sobre la glucosa como sustratos para la síntesis de fosfolípidos y esfingolípidos de acuerdo con los requisitos para el crecimiento cerebral y la mielinización. Por lo tanto, durante las primeras dos semanas de desarrollo postnatal, cuando se acelera la acumulación de colesterol y fosfolípidos, aumenta la proporción de cuerpos cetónicos incorporados en estos lípidos. Por otro lado, se utiliza una mayor proporción de cuerpos cetónicos para la síntesis de cerebrósidos

durante el período de mielinización activa. En el pulmón, AcAc sirve mejor que la glucosa como precursor para la síntesis de fosfolípidos pulmonares. Los lípidos sintetizados, particularmente la dipalmitoilfosfatidilcolina, se incorporan al tensioactivo y, por lo tanto, tienen un papel potencial en el suministro de lípidos tensioactivos adecuados para mantener la función pulmonar durante los primeros días de vida. Se encuentra que el ácido 3-hidroxibutírico está asociado con la deficiencia de fumarasa y la deficiencia de acetilCoA deshidrogenasa de cadena media, que son errores innatos del metabolismo.

2.1.11 β -HIDROXI β -METILBUTIRATO

El β -hidroxi β -metilbutirato (HMB) es un metabolito del aminoácido leucina que, junto con KIC (β cetoisocaproato) e isovaleril-CoA, median los efectos de la leucina. Aproximadamente el 5% de la leucina de la dieta se oxida en HMB y HMB, parece ser el principal metabolito de la leucina que previene de manera más efectiva la descomposición de la proteína muscular.



Estructura química β -Hidroxi β -Metilbutirato

Fórmula molecular: $C_5H_{10}O_3$

Peso molecular: 118.132 g·mol⁻¹

Número de registro CAS: 625-08-1

β -Hidroxi β -Metilbutirato es representada por la estructura química de la izquierda.

La suplementación con HMB produce varios beneficios ergogénicos, incluidos los efectos anticatabólicos, anabólicos y lipolíticos. Dado que el HMB es un metabolito de la leucina y se puede consumir a través de alimentos vegetales y animales como la toronja y el bagre, se ha acreditado como un suplemento dietético. HMB ha sido ampliamente utilizado como una ayuda ergogénica, particularmente entre los culturistas y los atletas de fuerza/potencia, que lo usan para promover el rendimiento del ejercicio y la hipertrofia del músculo esquelético.

Se ha demostrado que el HMB afecta el recambio de proteínas musculares al estimular la síntesis de proteínas a través de la regulación positiva de las vías de señalización anabólicas y al disminuir la proteólisis a través de la regulación negativa de las vías de señalización catabólica. El HMB estimula la síntesis de proteínas a través de mTOR, una proteína quinasa que tiene un papel central en el control de la eficiencia de la traducción de ARNm. La degradación de las proteínas musculares se reduce por HMB, a través de dos vías principales de degradación de proteínas, la proteasoma de ubiquitina y los sistemas lisosomales de autofagia. Se ha demostrado que el HMB disminuye la expresión del proteosoma y las actividades enzimáticas del mismo, atenuando la regulación o incremento de las caspasas y reduciendo la apoptosis de los mionúcleos.

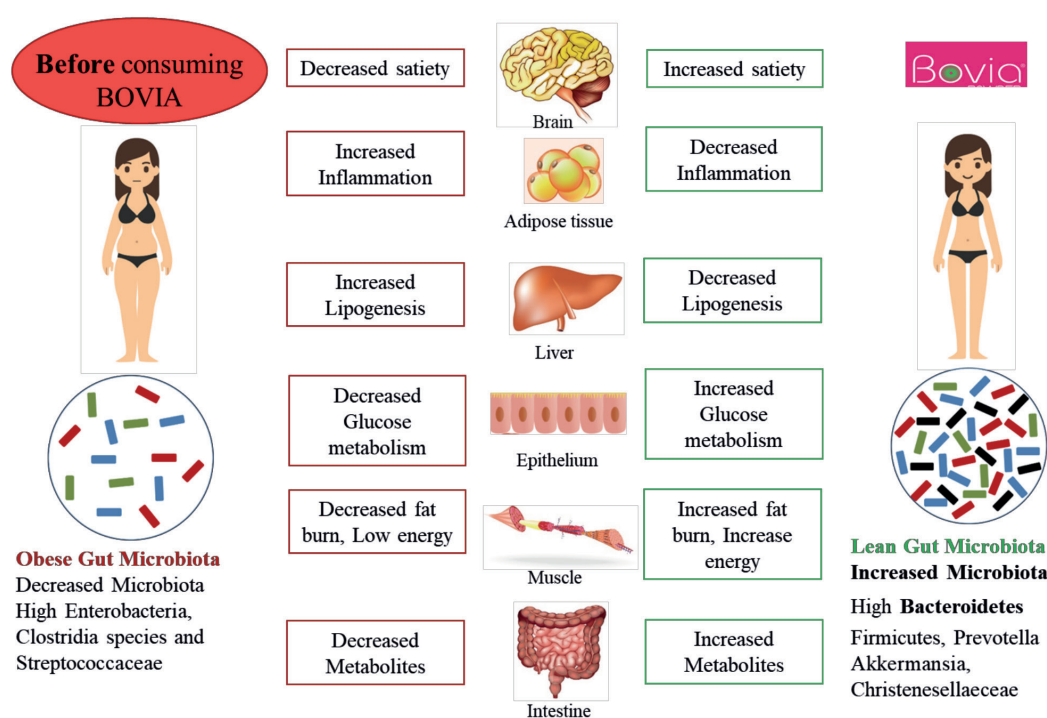
HMB ofrece una serie de beneficios a los sujetos involucrados en deportes de fuerza-fortalecimiento y resistencia. Los efectos sobre la masa muscular y la fuerza, particularmente durante el entrenamiento de resistencia, probablemente estén relacionados con la supresión de la proteólisis y un efecto positivo en la síntesis de proteínas. Sus beneficios en el rendimiento aeróbico probablemente estén más asociados con una mejor biogénesis mitocondrial y oxidación de grasas. Los efectos favorables en la recuperación del daño inducido por el ejercicio, pueden

estar relacionados con el papel del HMB como precursor del colesterol, el cual, modula la fluidez de la membrana y afecta los canales iónicos, y la excitabilidad de la membrana.

3. MECANISMOS DE ACCIÓN

3.1 MODULACIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

El intestino humano alberga una comunidad compleja de microbios cuyo número se estima que es 10 veces mayor que el número de células en todo el cuerpo. La microbiota intestinal interactúa con sus anfitriones de muchas maneras, por ejemplo, la composición de un microbioma puede afectar el equilibrio de todo el sistema, y los cambios en las comunidades microbianas, pueden ejercer efectos significativos en la salud de un individuo. Por lo tanto, los microbios se pueden usar en estrategias que abordan la modulación de la funcionalidad del microbioma, es decir, se pueden usar como moduladores de la salud. Los cambios en la composición de la microbiota intestinal, contribuyen al desarrollo de trastornos metabólicos como la obesidad y la diabetes tipo 2 (DM2). La relación Bacteroidetes/Firmicutes se asocia con un aumento de las concentraciones de glucosa en plasma y una disminución de las bacterias productoras de butirato en pacientes con DM2.

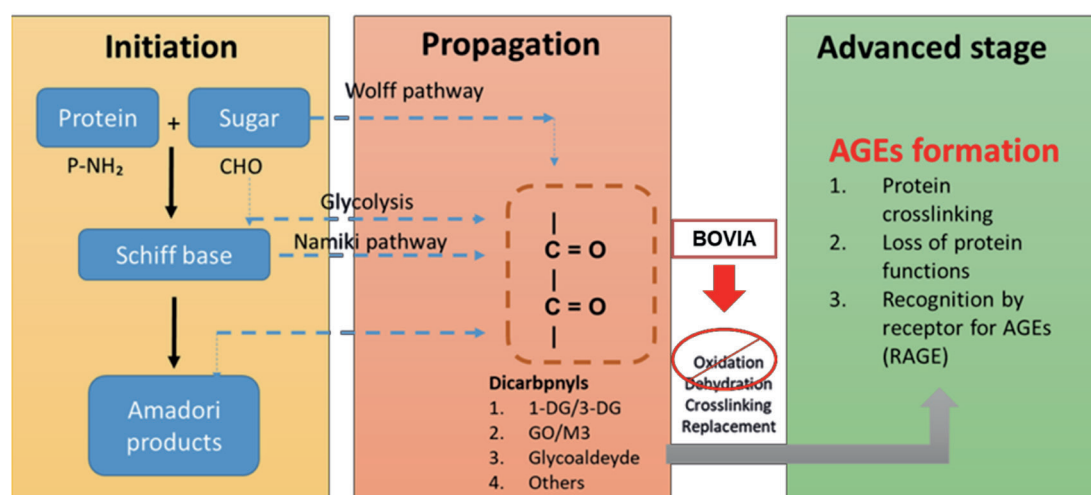


El principal efecto de los metabolitos de **BOVIA®** en la microbiota intestinal humana, es estimular el crecimiento de *Bifidobacterium* y Firmicutes. Cuando se ingieren los metabolitos de **BOVIA®**, son bien tolerados y modifican la composición bacteriana intestinal en personas sanas.

Los metabolitos de **BOVIA®** manipulan el microbioma intestinal y modifican el ambiente intestinal aumentando las uniones estrechas en el epitelio intestinal y disminuyendo las enzimas potencialmente dañinas producidas por las bacterias residentes.

3.2 ACTIVIDAD ANTIGLICACIÓN

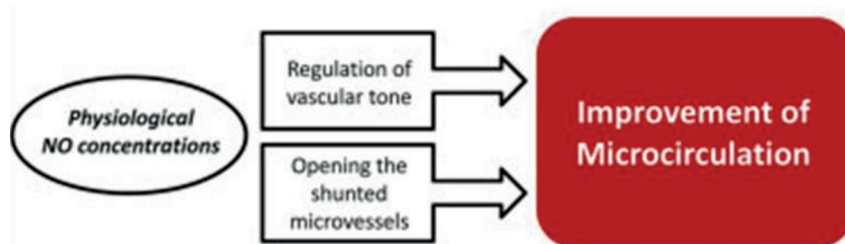
Los productos finales de glicación avanzada (AGE) son un grupo de compuestos que resultan de una serie de reacciones no enzimáticas entre azúcares reductores y grupos amino de proteínas. Los AGE pueden formarse dentro del cuerpo humano como resultado de un nivel elevado de glucosa en sangre. La reacción de glicación inicial forma una base de Schiff, que se reorganiza en un producto Amadori. Los productos Amadori experimentan otras reacciones, que incluyen degradación y autooxidación, para formar dicarbonilos reactivos que forman enlaces cruzados AGE. Se cree que las condiciones de estrés oxidativo y la producción de radicales anión superóxido inician y aceleran la formación de AGEs. Los AGE también pueden unirse a los receptores de la superficie celular, conocidos como RAGE. Esto inicia una serie de respuestas intracelulares que están mediadas por el factor nuclear-kappa B, induciendo inflamación y generación de oxígeno reactivo, así como la transcripción adicional de RAGE. Estas condiciones contribuyen a un ciclo que conduce a un mayor daño tisular. El aumento de los niveles de AGE se ha relacionado con varias afecciones crónicas de salud y contribuye al proceso de envejecimiento.



Los metabolitos **BOVIA®** exhiben actividad SOD y reducen los marcadores de oxidación al inhibir la expresión de marcadores inflamatorios como COX-2, MAPK y NF-kB que son precursores de la formación de AGE.

3.3 MEJORA DE LA MICROCIRCULACIÓN

La microcirculación y la presión arterial (PA) están influenciadas y reguladas por una variedad de condiciones y entidades químicas que interactúan entre ellas de maneras muy complejas. El óxido nítrico (NO) desempeña un papel fundamental en la regulación de la homeostasis vascular y la presión arterial. Los metabolitos de **BOVIA®** aumentan la biodisponibilidad de NO como resultado de la regulación de los niveles en estado estacionario de anión superóxido (O₂ • -) y oxidantes en células y tejidos.



Los procesos involucrados en el mantenimiento del nivel de estado estable de NO tienen múltiples pasos susceptibles de ser regulados por los metabolitos. Los metabolitos de BOVIA® disminuyen la concentración del anión superóxido y oxidantes relacionados en las células mediante la acción de eliminación de radicales libres; baja la concentración de anión superóxido en la célula reduciendo la expresión y actividad del óxido nítrico (NO); aumentan la producción de NO mediante el incremento de la expresión y actividad endotelial de óxido nítrico sintasa (eONS); modula las enzimas y los receptores asociados a la producción de ROS, y protege la pérdida oxidativa de tetrahidrobiopterina para evitar el desacoplamiento de eONS.

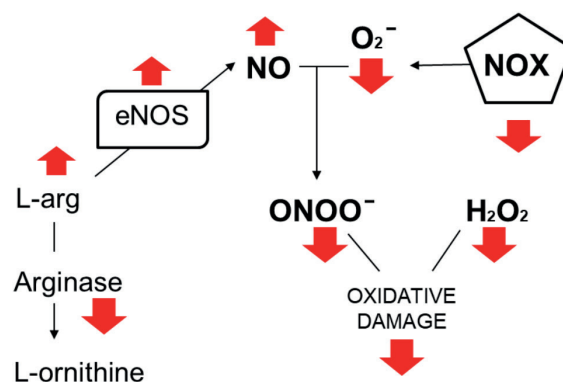


Figura: NO y anión superóxido en la vasculatura. Una buena microcirculación debe ser el resultado de una concentración suficiente de NO en estado estacionario. Las flechas rojas indican los pasos en los que se ha demostrado que los metabolitos de BOVIA® ejercen acciones bioquímicas que resultan en sus acciones antihipertensivas.

3.3.1 FUNCIÓN SEXUAL

La función sexual saludable es un proceso multifactorial que requiere de una adecuada circulación, una sana producción hormonal y niveles de energía idóneos. Desafortunadamente el envejecimiento y las prácticas de estilo de vida poco saludables pueden influir negativamente en uno o más de estos procesos.

Una reducción en la producción de testosterona es común e implica la disminución de la libido y la función sexual. La investigación indica que los niveles de testosterona en los hombres disminuyen progresivamente con la edad y que un porcentaje significativo hombres, mayores de 60 años, tienen niveles de testosterona en suero que están por debajo de los límites inferiores de los hombres adultos jóvenes de 20 a 30 años. Algunos estudios muestran que los hombres experimentan una disminución gradual y progresiva en los niveles totales de testosterona que tiene lugar a una tasa de, aproximadamente, 1% por año a partir de los 30.

Más allá de las ramificaciones en la salud cardiovascular y cerebrovascular, la mala circulación también puede traducirse en un suministro de sangre inadecuado a la región genital, lo que dificulta lograr y mantener una erección. Además, la producción endógena inadecuada del NO bioquímico puede exacerbar este problema ya que es necesario un NO adecuado para la vasodilatación de los vasos sanguíneos. Los metabolitos de **BOVIA®** han demostrado aumentar los niveles de L-arginina y activar la síntesis de NO, este resultado aumenta el flujo sanguíneo y mejora la microcirculación.

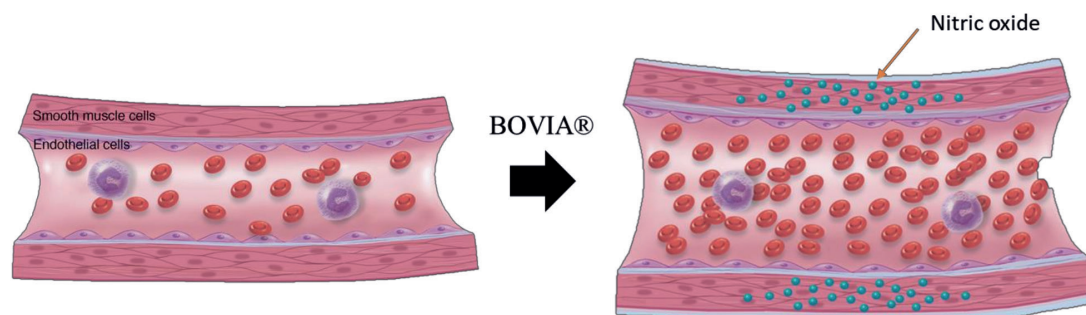


Figura: El óxido nítrico hace que las células del músculo liso se relajen, los vasos sanguíneos se dilaten y el flujo sanguíneo aumente.

3.4 MEJORA DE LA FUNCIÓN CEREBRAL

El ácido glutámico es un participante esencial del metabolismo cerebral, es un precursor de la síntesis de glutamato, que es un neurotransmisor en una gran parte de las sinapsis cerebrales. Actúa a través de varios receptores ionotrópicos o metabotrópicos. Se observan múltiples alteraciones del sistema de glutamato cerebral en lesiones cerebrales agudas y crónicas. Los cambios en el metabolismo del glutamato tienen lugar en muchas patologías neurodegenerativas, como la isquemia cerebral, la enfermedad de Parkinson, Alzheimer, Huntington, la esclerosis lateral amiotrófica, etc. Estas interrupciones pueden estar relacionadas con cambios en las actividades enzimáticas del metabolismo del glutamato, alteraciones de las principales reacciones de formación de energía en mitocondrias y cambios de oxidación/equilibrio redox en las células.

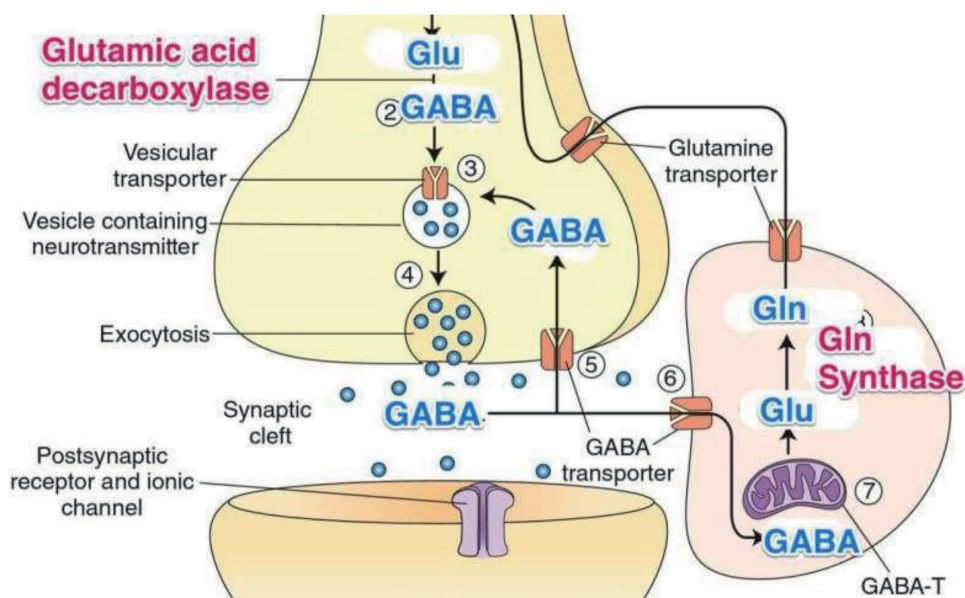


Figura: Neurotransmisión glutamatergica.

Los metabolitos de **BOVIA®** promueven el metabolismo de la glucosa en el cerebro, que son fuentes esenciales de energía, no solo para mantener la homeostasis del glutamato, sino también para la neurotransmisión glutamatérgica. Estos procesos ayudan a soportar los niveles de metabolitos del ciclo del citrato para la formación de energía suficiente y el suministro de equivalentes REDOX a las mitocondrias neuronales.

3.5 AUMENTO DE LA ABSORCIÓN DE PROTEÍNA

Las proteínas son moléculas grandes y complejas que juegan muchos papeles críticos en el cuerpo, ellas hacen la mayor parte del trabajo en las células y son necesarias para la estructura, función y regulación de los tejidos y órganos del cuerpo.

Las proteínas son secuencias de aminoácidos (AA) unidos por enlaces peptídicos. Hay veinte aminoácidos de los cuales nueve son esenciales y once no esenciales, éstos solo se pueden obtener a través del consumo de alimentos/suplementos. La digestión de proteínas comienza al masticar alimentos, las enzimas en la saliva (amilasa y lipasa) descomponen los carbohidratos y las grasas, ya en el estómago, el ácido clorhídrico y las proteasas descomponen las proteínas en cadenas más pequeñas de aminoácidos. Las cadenas más pequeñas de aminoácidos mueven el intestino delgado, y el páncreas libera enzimas y un amortiguador de bicarbonato que reduce la acidez de los alimentos digeridos. Esta reducción permite que más enzimas como la tripsina, quimotripsina y carboxipeptidasa trabajen para descomponer aún más las cadenas de aminoácidos en aminoácidos individuales. A partir de ahí, los aminoácidos se absorben en el torrente sanguíneo y se transportan a todo el cuerpo.

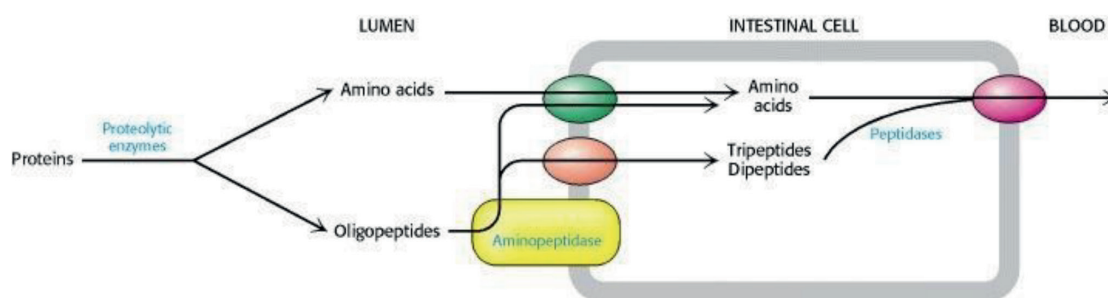


Figura: La digestión de proteínas es principalmente el resultado de la actividad de enzimas secretadas por el páncreas. Las aminopeptidasas asociadas con el epitelio intestinal digieren más proteínas. Los aminoácidos y los di y tripeptidos son absorbidos por las células intestinales a través de transportadores específicos. Los aminoácidos libres se liberan a la sangre para que otros tejidos los usen.

BOVIA® suministra metabolitos como la piridoxina que ayudan y aumentan el metabolismo de las proteínas para maximizar la absorción de proteínas para desarrollar músculo.

Los aminoácidos contienen nitrógeno. El N puede permanecer en la molécula e incorporarse a un subproducto celular como los polipéptidos o puede transaminarse para formar un nuevo aminoácido. Por ejemplo, la amina se transporta desde el aminoácido no esencial, alanina, hasta el ácido alfa-cetoglutarico para producir ácido glutámico, otro aminoácido no esencial. La piridoxina es necesaria para

este proceso. El grupo amina se elimina del aminoácido en un proceso conocido como desaminación, éste se usa para la excreción del nitrógeno y el esqueleto de carbono, se usa para producir energía. La piridoxina se necesita nuevamente para este proceso.

3.6 ANTIINFLAMACIÓN

La manipulación de la microflora intestinal con metabolitos de **BOVIA®** puede regular la homeostasis intestinal y la función de barrera en parte a través de la producción de metabolitos bacterianos. Si bien, los SCFA son metabolitos derivados de bacterias bien establecidas con funciones efectoras en la mucosa intestinal, la microbiota intestinal también puede producir ácidos grasos de cadena más larga, incluido el CLA, un compuesto que suprime la inflamación mediante la activación de PPAR γ . El CLA mejora la EII experimental en ratones y cerdos, mientras la CD y otros agonistas de PPAR γ , han demostrado eficacia clínica contra la CU humana. Curiosamente, VSL#3 también ejerce efectos protectores en pacientes con colitis ulcerosa. El VSS#3 suprime la inflamación intestinal al alterar la diversidad microbiana del colon y mejorando la producción de CLA microbiana localmente que a su vez activa PPAR γ en macrófagos.

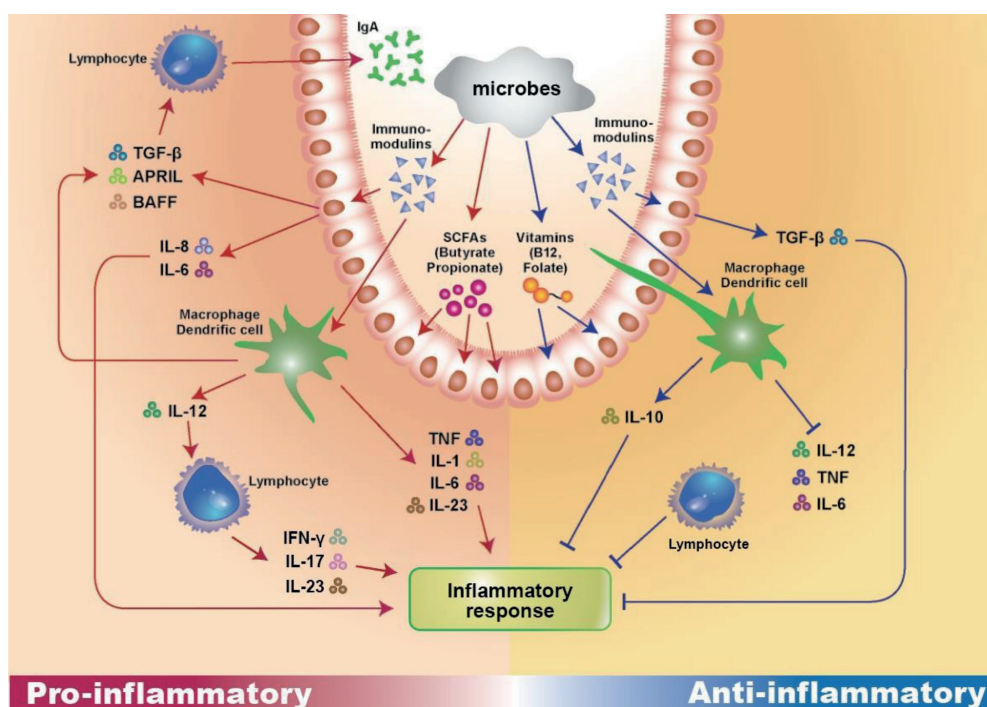
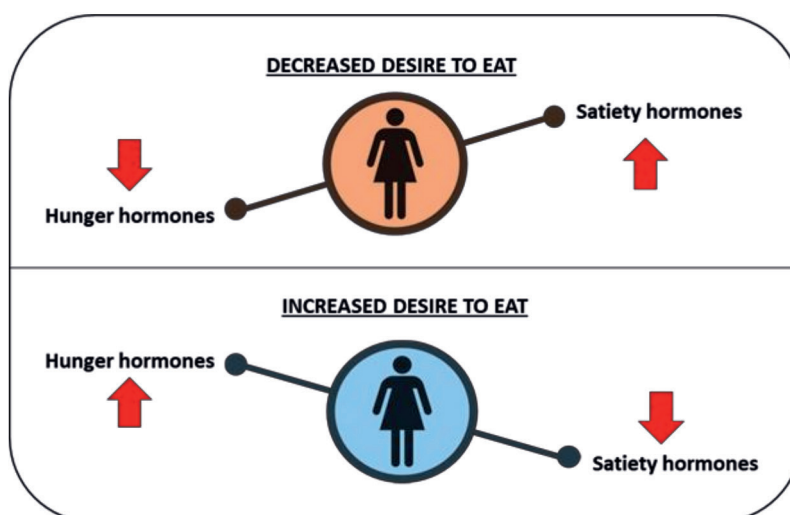


Figura: Efecto de los metabolitos microbianos intestinales sobre las moléculas inflamatorias.

Los cambios en la diversidad microbiana y la producción local de CLA, están implicados en los mecanismos de acción dependientes de PPAR γ , subyacentes a los efectos antiinflamatorios y anticancerígenos de las bacterias probióticas. Este novedoso modelo mecanicista está respaldado por resultados de análisis de pérdida de función, que ilustran el requisito de los macrófagos PPAR γ en la mediación del espectro completo de efectos antiinflamatorios de las bacterias probióticas en el intestino; evidencia in vivo que indica una reducción de la diversidad bacteriana del colon, con un marcado predominio de TRF H-116 y producción local de CLA en colon de ratones tratados con VSL#3; y notables similitudes en la capacidad de las bacterias probióticas y el CLA para modular la función de los macrófagos en la mucosa intestinal.

3.7 EFECTO EN LA SACIEDAD

La saciedad determina el tamaño de la comida y es el proceso que conduce a la finalización de su consumo. Es el estado fisiológico al final de una comida cuando la "plenitud" inhibe una mayor ingesta. La saciedad termina cuando las señales de procesamiento del alimento disminuyen y el hambre inicia el siguiente período de alimentación. Los procesos sensoriales y cognitivos, guían la anticipación de las comidas con una recompensa y placer anticipados que ayudan a definir la calidad y cantidad general de las comidas.



Los metabolitos de **BOVIA®** modulan la microbiota intestinal para aumentar la población de Bacteroides. Éstos producen propionato y butirato, los cuáles desempeñan un papel en la regulación central del apetito, promoviendo la oxidación de las grasas, la mejora de la homeostasis de la glucosa y el estado inflamatorio. Estudios recientes mostraron que el propionato atenúa directamente el apetito y la ingesta de alimentos, influye en la elección de los alimentos, mejora la función pancreática y modula la acumulación de lípidos hepáticos. Se ha demostrado que el propionato oral aumenta la oxidación de grasas humanas, mientras que el butirato oral agudo reduce la ingesta de alimentos y mejora los perfiles de glucosa y lípidos a través de un circuito neuronal intestinal en los animales.

Hallazgos recientes apuntan a la participación de la microbiota en las señales de apetito y saciedad. El intestino expresa varias proteínas que participan en la regulación de la ingesta de alimentos, por ejemplo, el péptido YY(PYY) que se expresa en las células enteroendocrinas (células L). La pérdida de la producción de SCFA de microbios en ratones GF, condujo a una activación reducida del receptor acoplado a la proteína G del receptor SCFA (Gpr) 41 y a una disminución en la expresión de PYY.

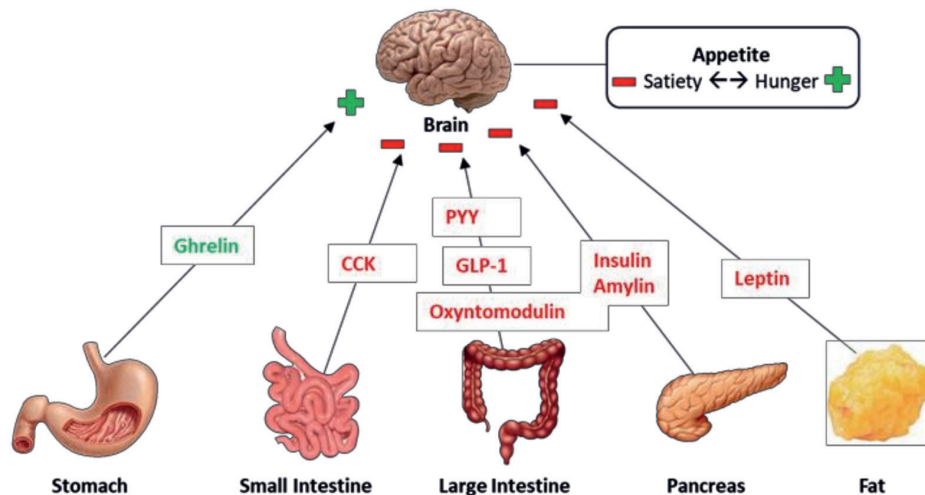


Figura: Péptidos implicados en la saciedad.

Por lo tanto, los ratones GF muestran una mayor ingesta de energía y un menor aumento de peso debido a un mayor tiempo de tránsito intestinal y menor lipogénesis hepática. Los ratones con obesidad inducida por la dieta (DIO) y los sujetos obesos humanos, tienen niveles circulantes de PYY más bajos en ayunas, sin embargo, no se sabe si los SCFA afectan la homeostasis de PYY en sujetos obesos.

El péptido 1 de tipo incretin glucagón (GLP-1) es otra proteína inductora de saciedad, que es secretada por el intestino, la ingestión de prebióticos aumentó la síntesis de GLP-1 y PYY en plasma de roedores y humanos, y se acompañó de tasas reducidas de hambre. De manera similar, los SCFA desencadenaron la secreción de GLP1 de cultivos de colon mixtos in vitro. Ambos efectos fueron mediados por Gpr43 y Gpr41. Los ratones que carecen de estos receptores exhibieron una secreción reducida de GLP-1 mediada por SCFA in vitro e in vivo, así como una tolerancia alterada a la glucosa. Curiosamente, un estudio reciente en ratones encontró que Bacteroidetes y Firmicutes podrían estar involucrados en la regulación de la expresión de GLP-1. El agotamiento de ambos phyla en ratones DIO, con tratamiento antibiótico (vancomicina y bacitracina), condujo a un aumento de la secreción de GLP-1 que mejoró el metabolismo de la glucosa. Curiosamente, las proteobacterias dominaron la microbiota después de la administración de antibióticos y el tratamiento con dieta alta en grasas (HFD).

Estos hallazgos destacan la participación de la microbiota en la regulación de GLP-1 y otras hormonas inductoras de saciedad, pero el mecanismo exacto en la obesidad aún no se ha dilucidado. GLP-2 ejerce una función similar a GLP-1. Ambas hormonas intestinales resultan del procesamiento postraducciona del pro-glucagón en las células L intestinales. GLP-2 está asociado con la proliferación intestinal y una mejora de la permeabilidad intestinal. Por ejemplo, los ratones alimentados con HFD tienen una expresión más baja de las proteínas de barrera zonula ocluye (ZO) 1 y niveles más bajos de Bifidobacterias.

Los ratones obesos tratados con probióticos (*Bifidobacterium* spp.) tienen una mayor expresión de proteínas de unión/barrera apretadas y niveles más bajos de LPS en plasma, lo que mejora la permeabilidad intestinal. Además, se mejoró la expresión de GLP-2 en el intestino, se hicieron hallazgos similares en un estudio reciente con ratas, curiosamente, el tratamiento con oligofructosa (prebiótico) mostró resultados diferentes que el tratamiento con probióticos con *Bifidobacterium animalis*. Los prebióticos aumentaron los niveles de GLP-1 portal, mientras que los probióticos aumentaron GLP-2.

Sin embargo, ambos compuestos mejoraron los parámetros metabólicos (ingesta de energía, aumento de peso, masa grasa y homeostasis de glucosa), destacando que GLP-1 y 2 no solo disminuyen la permeabilidad intestinal, sino que también mejoran la homeostasis de glucosa. Hallazgos similares también se hicieron en humanos, donde la concentración de GLP-2 de sujetos diabéticos se correlacionó inversamente con la resistencia a la insulina. Otro tratamiento prebiótico con pasta de insulina mejoró la permeabilidad intestinal y los niveles de GLP-2 en sujetos jóvenes sanos.

Éstos hallazgos resaltan la participación de la microbiota intestinal en la inducción de la expresión de las hormonas intestinales, lo que mejora aún más la permeabilidad intestinal y las funciones metabólicas. El polipéptido insulíntrópico, dependiente de glucosa (GIP), es la cuarta hormona intestinal importante, que se modula a través de la microbiota intestinal. Se expresa en las células K intestinales y es un modulador importante de la homeostasis energética y el metabolismo de la glucosa. Similar a PYY y GLP, su expresión fue inducida por SCFA, posiblemente mediada por Gpr43 y Gpr41. Sin embargo, no puede excluirse que otros receptores puedan estar involucrados ya que la eliminación de Gpr41 no condujo a diferencias después del tratamiento con SCFA. Descubrimientos recientes también sugieren la participación de la microbiota intestinal en la regulación del sistema endocannabinoide (eCB), que está involucrado en la señalización de saciedad en el hipotálamo.

Los sujetos obesos muestran altos niveles de endocannabinoides (eCB), que se correlacionan con una mayor ingesta de alimentos. El bloqueo del receptor eCB con un antagonista redujo la ingesta de alimentos. Además, se ha demostrado que eCB promueve la activación de macrófagos, contribuye a la resistencia a la insulina, a través de la activación de los receptores periféricos CB1 (CB1R), y estimula la falla de las células beta. La primera evidencia del vínculo entre bacterias específicas y el sistema endocannabinoide provino de un estudio en el que la administración de *Lactobacillus acidophilus* moduló la expresión de receptores de cannabinoides en células intestinales en ratas.

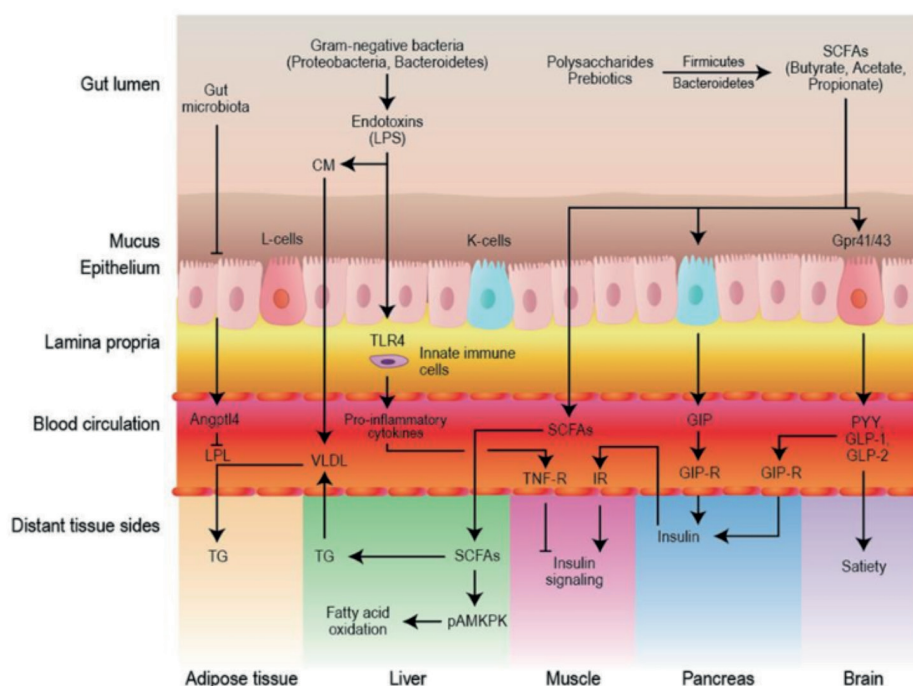


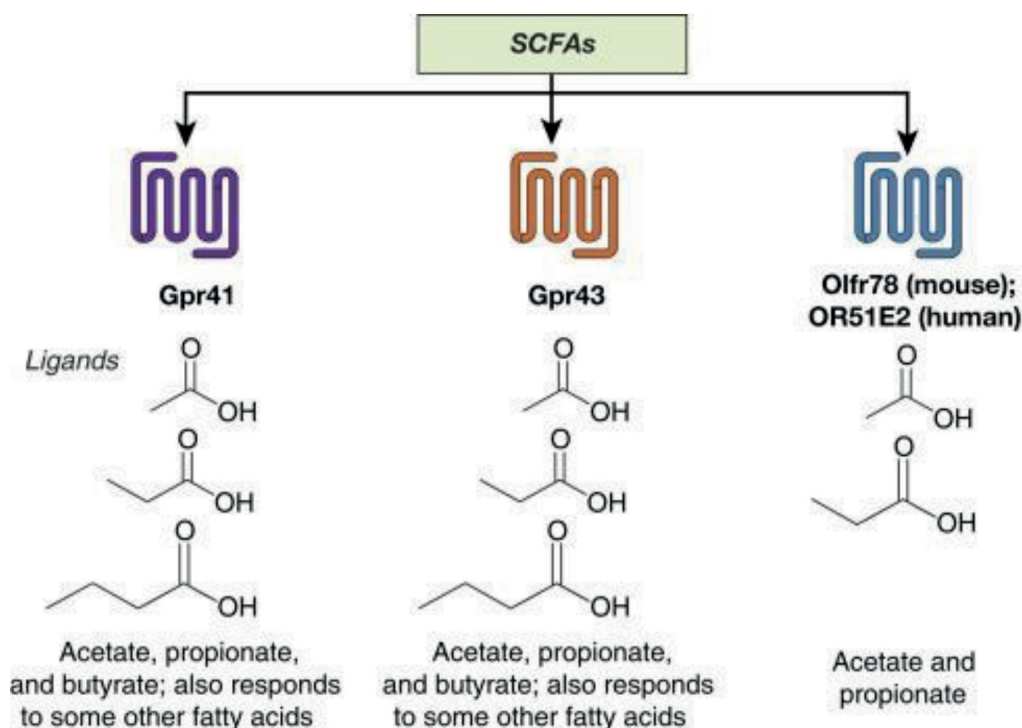
Figura: Efectos de la microbiota intestinal en la regulación del peso y la resistencia a la insulina.

Además, la microbiota intestinal parece modular el tono intestinal de eCB. Los sujetos obesos muestran niveles más altos de eCB, que se pueden aumentar a través de HFD y reducirse mediante el tratamiento prebiótico y el tratamiento con antibióticos.

3.8 DISMINUCIÓN DE LA LIPOGÉNESIS

La acumulación de grasa está determinada por el equilibrio entre la lipogénesis y la oxidación de la lipólisis/ácidos grasos. La fermentación de fibras dietéticas consistentes en carbohidratos no digeribles, como los polisacáridos sin almidón y el almidón resistente, por microbiota colónica, genera ácidos grasos de cadena corta (SCFA). El ácido acético, butírico y propiónico son los SCFA más abundantes y se cree que son mediadores importantes de las fibras dietéticas fermentadas en el metabolismo con la suplementación dietética rectal y oral. La administración de SCFA a ratones y ratas, disminuye los ácidos grasos libres y las concentraciones de glucosa en la sangre.

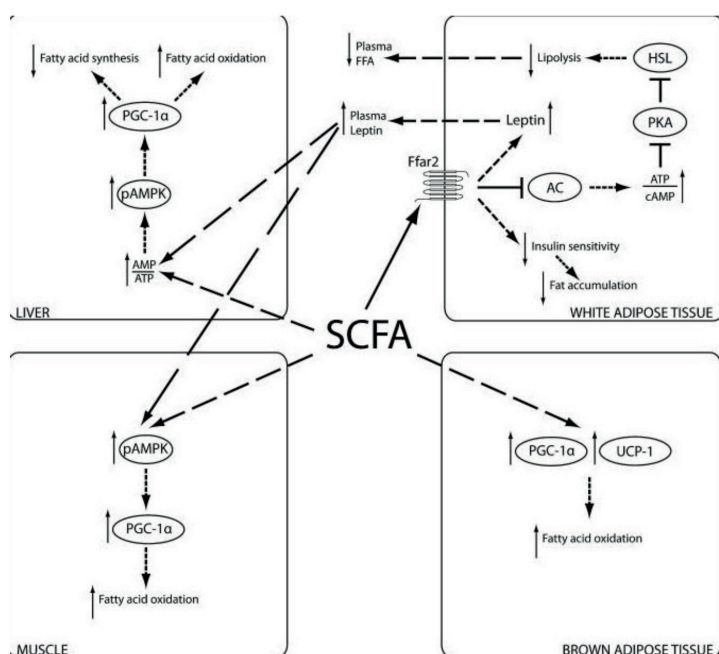
Además, los estudios en animales muestran que la dieta alta en grasas suplementada con ácido propiónico y ácido butírico mejora la sensibilidad a la insulina y la protección contra el desarrollo de obesidad y resistencia a la insulina. Se cree que el efecto de los SCFA está mediado por el receptor de ácidos grasos libres (Ffar), también conocido como proteína G acoplada receptor (GPCR) que se expresan en el tejido adiposo.



3.9 MEJORA DEL METABOLISMO DE GLUCOSA

Los SCFA regulan el equilibrio entre la síntesis de ácidos grasos, la oxidación de ácidos grasos y la lipólisis en el cuerpo. La oxidación de ácidos grasos se activa por los SCFA, mientras que la síntesis de novo y la lipólisis se inhiben. El resultado neto es una reducción de las concentraciones de ácidos grasos libres en plasma y una disminución del peso corporal. La proteína quinasa activada por AMP (AMPK) juega un papel importante en el metabolismo de la glucosa.

La administración oral de acetato y propionato redujo la glucemia en ratones diabéticos hiperglucémicos KK-A (y) y ratas normales. La activación de la vía hepática AMPK disminuyó la expresión génica de las enzimas gluconeogénicas glucosa 6-fosfatasa (G6Pase) y fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK). Desafortunadamente, el flujo gluconeogénico no se midió pero los niveles de glucosa e insulina en plasma en ayunas disminuyeron junto con una mayor tolerancia a la glucosa.



Los SCFA también pueden afectar los niveles de glucosa en plasma al aumentar las hormonas intestinales PYY y GLP-1 a través de la activación de los receptores Ffar2 y Ffar3. PYY es conocida como una hormona de saciedad, pero también refuerza la acción de la insulina en la eliminación de glucosa en el músculo y el tejido adiposo. En muestras de colon humano y de rata, los receptores SCFA Ffar2 y Ffar3 se colocan con células L enteroendocrinas que contienen PYY. Además, los ratones inactivados con Ffar2 y Ffar3 mostraron una expresión PYY del colon reducida y tolerancia a la glucosa en todo el cuerpo. Las infusiones intracolónicas de SCFA en ratas y cerdos aumentaron las concentraciones sanguíneas de PYY, pero desafortunadamente no se informaron datos sobre el metabolismo de la glucosa. GLP-1 regula indirectamente los niveles de glucosa en la sangre al aumentar la secreción de insulina y disminuir la secreción de glucagón por el páncreas. Las infusiones intracolónicas de SCFA y la ingesta de fibras, aumentaron las concentraciones plasmáticas de GLP-1 y la captación de glucosa por el tejido adiposo. Los ratones que carecían de Ffar2 o Ffar3, mostraron una secreción reducida de SCFA desencadenada por SCFA in vitro e in vivo, y un deterioro paralelo de la tolerancia a la glucosa. Los SCFA afectan beneficiosamente el metabolismo de la glucosa al normalizar sus niveles en plasma y aumentar su manejo.

4. ENSAYOS CLÍNICOS

4.1 MODULACIÓN DE MICROBIOTA INTESTINAL POR METABOLITOS DE CACAO

TÍTULO

Efectos del suministro dirigido de Bovia® a la población y diversidad de la microbiota intestinal humana.

TIPO DE ESTUDIO

Estudio controlado con placebo, doble ciego, que compara Bovia® contra placebo.

PATROCINADOR

SANKI MAYOR

Kanaya Bldg 5F, 4-11-3 Hatchobori, Chuo-Ku, Tokyo, JAPAN.

LABORATORIO

MEDICA TOKYO LABORATORIES

14-5 Kusunokichō, Nishi-ku, Yokohama-shi, Kanagawa-ken 220-0003.

INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

Bovia® (Metabolitos fermentados del cacao) y placebo.

OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Evaluar la eficacia de Bovia® para modular la población y la diversidad de la microbiota intestinal humana.

RESULTADOS

Principal:

- Cambio en el perfil microbiano intestinal en la semana 12.
- Cambio en la población de bacterias en el intestino en la semana 12.

NÚMERO TOTAL DE PACIENTES

Se incluyeron en el estudio 40 adultos sanos con sobrepeso ($IMC = 26.9 \pm 3.2$) de 24 a 42 años (37 ± 5.2), hombres y mujeres (20 sujetos en el grupo de experimento y 20 sujetos en el grupo de placebo).

DURACIÓN DEL TRATAMIENTO Y DOSIFICACIÓN

El experimento se llevó a cabo durante un período de 12 semanas y al final del período experimental, la diversidad de microbiota fecal y la población se midieron por qPCR.

Resumen

Objetivo: Bovia® contiene ácidos grasos de cadena corta. La evidencia reciente sugiere que el propionato de ácidos grasos de cadena corta puede desempeñar un papel importante en la modulación de la microbiota intestinal humana. Presumimos que la administración oral de metabolitos diversificaría la microbiota intestinal y aumentaría la población de Bacteroides.

Diseño: Investigar si los metabolitos fermentados promueven la modulación de la microbiota intestinal. Se utilizó un estudio cruzado aleatorizado y controlado cruzado para evaluar los efectos de este metabolito de cacao fermentado en la población y diversidad de la microbiota intestinal. Los efectos a largo plazo de los metabolitos de cacao fermentados en la microbiota intestinal, se evaluaron posteriormente en un estudio aleatorizado y controlado de 12 semanas en el que participaron 40 adultos con sobrepeso.

Resultados: Bovia® aumentó significativamente la población de Bacteroides en el intestino humano. Durante 12 semanas, la suplementación con 10 g/día de Bovia® aumentó significativamente la población de bacterias y la microbiota intestinal diversificada en el grupo de control.

Conclusiones: Estos datos demuestran que el consumo de Bovia® modifica el perfil de la microbiota intestinal y aumenta los niveles de bacterias en el intestino.

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2012 ocurrieron 38 millones de muertes por enfermedades no transmisibles (ENT), y el 82% de estas muertes en países de ingresos bajos y medianos [1]. Uno de los principales factores de riesgo modificables asociados con esta carga es el sedentarismo, el cual, incluye comportamientos como el tiempo que se pasa frente a una pantalla, el transporte inactivo y las actividades basadas en sentarse [2]. El comportamiento sedentario prolongado se asocia con el síndrome metabólico y la obesidad [3].

Un estudio realizado en la Ciudad de México mostró que el tiempo promedio de descanso/día aumentó 17.3 minutos entre 2006 y 2015 en la Ciudad de México [4]. El tiempo de sesión se asoció con sobrepeso/obesidad y con altos niveles de glucosa. Las políticas actuales de salud pública están encontrando estrategias para combatir la creciente epidemia de obesidad y diabetes en México.

Un estudio en humanos demostró que la microbiota de los sujetos obesos es menos diversa y se compone de significativamente menos Bacteroides en comparación con los sujetos no obesos [5]. Esto respalda la evidencia existente de que la microbiota intestinal influye en la regulación energética y puede ser un determinante importante en el desarrollo de la obesidad. Investigaciones recientes sugieren que la dieta, la microbiota intestinal y el almacenamiento de grasa se pueden vincular a través de un mecanismo molecular que involucra ácidos grasos de cadena corta (AGCC) [6]. Los SCFA son productos principales de la fermentación de cacao por *Lactobacillus plantarum* LP127.

Varios trastornos metabólicos como la obesidad, la resistencia a la insulina y el síndrome metabólico se acompañan de cambios en la microbiota intestinal. Existe evidencia de que la modulación de la microbiota intestinal puede disminuir el peso corporal en humanos. Dirigirse a los mecanismos por los cuales el cacao fermentable modula el perfil microbiano de los adultos con sobrepeso para imitar los perfiles microbianos de los adultos sanos, puede proporcionar un enfoque más efectivo para el control del peso.

La evidencia reciente sugiere que los SCFA del cacao fermentado pueden modificar el perfil microbiano intestinal y aumentar los niveles de Bacteroides en el intestino. El propionato es uno de los SCFA producidos por fermentación de cacao. Varios estudios señalan a Bacteroidetes como los mayores productores de propionato en el intestino humano. Curiosamente, al modificar la composición de la microbiota con la administración de propionato se encontró una fuerte

correlación entre los niveles fecales de SCFA y la abundancia de Bacteroides y otros miembros del filo Bacteroidetes [6].

Por lo tanto, aumentar el propionato es un objetivo atractivo para el control de peso. Nuestra hipótesis fue que Bovia® estimularía el aumento de los niveles de Bacteroides en el intestino y modularía el perfil microbiano intestinal para prevenir el aumento de peso a largo plazo en humanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de estudio: Como el producto del estudio contiene metabolitos de cacao fermentados, estos poseen una potente capacidad para reducir el aumento de peso y la adiposidad de varios órganos.

El estudio se realizó con un diseño paralelo, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo. Se requirieron visitas de estudio de dos días al inicio del estudio (semana 0) y después de 12 semanas de suplementación dietética. El día anterior a cada visita de estudio, se pidió a los sujetos que consumieran una cena estándar, ayunar durante la noche a partir de las 22:00 hrs. y evitar una actividad física extenuante y el alcohol. Todas las visitas de estudio comenzaron entre las 08:00 y las 09:00 hrs. Después de que se tomaron todas las medidas de referencia, los sujetos fueron asignados aleatoriamente al grupo de metabolitos fermentados de 10 g/día o al grupo de control.

Los voluntarios fueron asignados al azar, el suplemento dietético se suministró a aquellos en sobres listos para usar y se les indicó que mezclaran los contenidos en su dieta normal una vez al día durante el período de suplementación de 12 semanas. Todos recibieron instrucciones de mantener sus hábitos habituales de alimentación y actividad física durante el período de suplementación. En la semana 12, se repitieron las medidas tomadas al inicio del estudio. Los sujetos devolvieron todos sus sobres usados y no usados para estimar el cumplimiento. El análisis de la expresión de los perfiles microbianos fecales se realizó mediante qPCR.

Población del estudio: Un total de 40 pacientes de 24 a 42 años (37 ± 5.2) fueron incluidos en el estudio. De 40 participantes en cada grupo, 20 hombres y mujeres estuvieron en el grupo A (Placebo). y 20 hombres y mujeres en el grupo B (con Bovia®). La población de estudio tenía sobrepeso. Todos los sujetos dieron su consentimiento informado por escrito antes del ensayo clínico que fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación. Todos los ensayos clínicos fueron registrados.

MEDICIONES

Peso y composición corporal: El peso corporal se midió en todos los sujetos al 0.1 kg más cercano (Tanita BC-418 MA) mientras los sujetos usaban ropa ligera. La composición corporal se evaluó mediante espectroscopía MRI y MR (MRS).

Análisis de la microbiota fecal: La cantidad y el tipo de bacterias intestinales se identifican al hacer crecer las bacterias de la muestra de heces de cada participante. Se forman las colonias y se expresa la diversidad de poblaciones y especies. La comparación de la modulación del perfil de microbiota se analizó después de 12 semanas de suplementación con BOVIA®.

Estadísticas: Se aplicó una prueba estadística paramétrica o no paramétrica según el tipo y la distribución de datos. Todas las pruebas estadísticas fueron de dos colas y el nivel de significancia fue <0.05 .

Para la comparación de variables con una sola medición de pre-suplementación y post-suplementación, calculamos el cambio desde el inicio a las 12 semanas y comparamos las medias dentro de los grupos usando pruebas T pareadas. Los cambios medios entre los grupos para cada una de estas variables se estimaron utilizando una regresión lineal múltiple ajustada para su medición inicial, peso inicial y el grupo aleatorio. El modelo lineal también se ejecutó en variables transformadas logit que se expresaron como porcentajes para garantizar que sus valores predictivos estén dentro del rango 0–100%. Las variables medidas múltiples (> 2) durante el período de suplementación (peso corporal, perfil microbiano intestinal, evaluación de efectos secundarios) se analizaron utilizando modelos de efectos mixtos multinivel para tener en cuenta la variabilidad dentro y entre los sujetos. El área bajo la curva (AUC), no ajustada para covariables, para glucosa postprandial y respuesta de insulina postprandial, también se calculó y comparó entre los grupos. En el caso de datos que faltan al azar, las técnicas de regresión descritas anteriormente se aplicaron después de que los datos fueron imputados utilizando la técnica de imputación múltiple por ecuaciones encadenadas para tener en cuenta los sesgos aleatorios de las covariables no observadas. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM o IC del 95%. Los valores <0.05 se consideraron estadísticamente significativos.

RESULTADOS

Datos demográficos de los participantes en la semana 0 (N = 40)

Variables	PL [n = 20 (9 mujeres, 11 hombres)]	Bovia® [n = 20 (12 mujeres, 8 hombres)]	p
Edad (años)	37 $\pm$ 5.2	35.9 $\pm$ 3.4	<0.05
IMC (kg/m ²)	26.9 $\pm$ 3.2	27.0 $\pm$ 1.5	<0.05

La suplementación aguda con metabolitos de cacao fermentados, aumenta los niveles de Bacteroides.

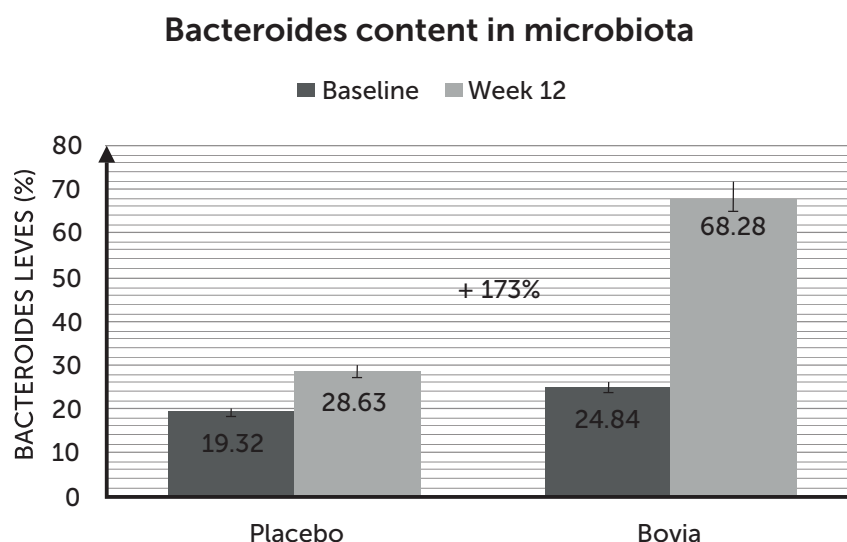


Figura 1: La suplementación de Bovia® aumenta la población de bacterias en el intestino.

En el grupo placebo, la diferencia en los niveles de Bacteroides fue insignificante entre el inicio y la suplementación con Bovia® después de 12 semanas ($p = 0.258$).

En el grupo experimental, la diferencia en los niveles de Bacteroides fue significativamente mayor en la semana 12 de la suplementación con Bovia® en comparación con el valor inicial (<0.05).

La suplementación con Bovia® a las 12 semanas aumentó significativamente los niveles de Bacteroides (<0.05) en comparación con el grupo placebo.

COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

El perfil microbiano del intestino humano es un factor importante en el control del peso. La modulación de la microbiota intestinal se ha relacionado con efectos fisiológicos positivos, incluyendo regulación en la adiposidad y el metabolismo de la glucosa.

Resultados Bovia®

- Regula la microbiota intestinal y aumenta la población de Bacteroides en individuos obesos en un 173%.
- Previene la disbiosis.

En resumen, el presente estudio demuestra que Bovia® es un tratamiento potente contra la disbiosis y la obesidad de la microbiota intestinal.

4.2 EFECTO INHIBITORIO DE LOS METABOLITOS DEL CACAO SOBRE BIOMARCADORES PROINFLAMATORIOS

TÍTULO

Un estudio clínico prospectivo, aleatorizado, doble ciego, de tres brazos, paralelo, controlado con placebo, para evaluar los efectos de Bovia® sobre la inflamación en adultos sanos.

TIPO DE ESTUDIO

Estudio clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, que compara Bovia® y placebo.

PATROCINADOR

SANKI MAYOR

Kanaya Bldg 5F, 4-11-3 Hatchobori, Chuo-Ku, Tokyo, JAPAN.

INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

Bovia® (Metabolitos fermentados del cacao).

OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Evaluar el efecto de la suplementación de Bovia® en los marcadores de inflamación (hs-CRP, IL-6 y TNF- α).

RESULTADO

Primario:

- Nivel de biomarcadores proinflamatorios: hs-CRP, IL-6 y TNF- α

NÚMERO TOTAL DE PACIENTES

40 adultos sanos, entre 40 y 70 años, participaron en un ensayo doble ciego controlado con placebo que probó la eficacia de **Bovia®**.

DURACIÓN DEL TRATAMIENTO Y DOSIFICACIÓN

Los pacientes ingirieron diariamente 10 g de **Bovia®** durante seis semanas. Al final del período experimental, las expresiones de plasma hs-CRP, IL-6 y TNF- α se midieron utilizando el método del kit ELISA.

Resumen

Antecedentes y justificación: Las intervenciones farmacéuticas actuales están diseñadas para retrasar la progresión de la aterosclerosis al reducir los niveles plasmáticos de colesterol. Sin embargo, los datos clínicos y experimentales respaldan un papel crítico adicional para la inflamación en la atero-trombosis [7]. Los biomarcadores, como la proteína C reactiva de alta sensibilidad (hs-CRP), la interleucina-6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), están asociados con un mayor riesgo de eventos cardiovasculares, independientemente del nivel de colesterol. Estudios recientes han demostrado que los SCFA pueden reducir los niveles de colesterol y los marcadores de inflamación. En una serie de ensayos clínicos se descubrió que los resultados benéficos, después de la administración oral de SCFA, se relacionan tanto con una reducción en el nivel de colesterol como con la inhibición de la inflamación [8]. Dirigirse a los mecanismos de la inhibición de la inflamación a través de la administración de SCC, puede proporcionar un enfoque efectivo para reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

El proceso de fermentación del cacao produce SCFA, butirato. El butirato es el SCFA más estudiado, y su capacidad antiinflamatoria está bien documentada tanto in vitro como in vivo. Es importante destacar que varios estudios clínicos demuestran los efectos beneficiosos del butirato en la EII [9]. Sin embargo, el efecto del butirato sobre la inflamación vascular no se ha dilucidado completamente.

Por lo tanto, el propósito de este estudio fue investigar y comparar las propiedades antiinflamatorias de **Bovia®** en comparación con el placebo. Presumimos que la suplementación de **Bovia®** inhibirá la actividad de los biomarcadores de inflamación en comparación con el placebo.

Diseño del estudio: Este es un ensayo clínico aleatorizado de centro único, doble ciego, controlado con placebo.

Población del estudio: Este estudio ha reclutado a 40 adultos, entre 40 y 70 años, sin ninguna enfermedad conocida, con un índice de masa corporal (IMC) de 18.5 kg/mg² a 24.9 kg/mg². A los sujetos se les asignó aleatoriamente **Bovia®** o placebo mediante un proceso de aleatorización simple a los grupos de tratamiento. En cada grupo de estudio se inscribieron 20 participantes y todos los sujetos completaron el estudio.

Criterios de inclusión

1. Sujeto que no esté usando medicamentos y/o suplementos dietéticos y/o vitaminas que contengan algún ingrediente antioxidante.
2. Dispuesto a dar su consentimiento informado por escrito y dispuesto a cumplir con el protocolo de prueba.
3. Habilidad para comprender los riesgos/beneficios del protocolo.
4. Estar disponible para la duración del período de estudio

Criterios de exclusión

1. Cualquier historial o evidencia de presencia de enfermedades sistémicas, infecciosas o enfermedades crónicas, incluyendo leucemia y/o cánceres y enfermedades inflamatorias que, en opinión del investigador, pueden afectar la interpretación de los datos de eficacia y seguridad.
2. Sujetos que toman algún medicamento para cualquier enfermedad.
3. Fumador actual o antecedentes de tabaquismo durante al menos seis meses antes de inscribirse en el estudio.
4. Dependencia o abuso activo de alcohol/drogas.
5. Sujetos con resultados de altos niveles oxidativos.
6. Los sujetos que actualmente participan o participaron en otro ensayo clínico durante los últimos tres meses antes del comienzo de este estudio.
7. Ejercicio agotador siete días antes del comienzo del estudio.
8. Sujetos con antecedentes de trastorno psiquiátrico que pueden afectar la capacidad de proporcionar un consentimiento informado por escrito.
9. Pacientes que hayan completado su participación en cualquier otro ensayo clínico durante los últimos tres meses.
10. Cualquier otra condición que el investigador principal considere que puede poner en peligro el resultado del estudio.

Reclutamiento de sujetos y duración del seguimiento: Los sujetos fueron reclutados por teléfono o correo electrónico. Después de que el voluntario aceptó participar (consentimiento informado y firmado), se completó una lista de verificación de criterios de inclusión. Posteriormente, las personas se inscribieron y, ya cumplidos los criterios de inclusión, se realizó un examen clínico antes del comienzo del estudio.

Producto en estudio: Bovia®

Componentes: El producto de prueba fue Bovia® emitido por fermentación láctica.

PROCEDIMIENTOS DE ESTUDIO

Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de cada persona en compañía del representante legal. La identidad de los sujetos/pacientes del estudio y los datos generados se manejaron con estricta confidencialidad. La accesibilidad de los datos en bruto se limitó al personal autorizado del equipo de investigadores, al comité de ética, al patrocinador y a las agencias reguladoras para el monitoreo, inspección y auditorías programadas.

Visitas de seguimiento: Se requirió que los participantes seleccionados acudieran al centro de estudio el día cero y la semana seis del estudio. Durante cada visita de seguimiento se realizó el control de salud del paciente, el registro de eventos adversos y se tomaron muestras de sangre.

Mediciones de sangre: A los participantes seleccionados se les pidió que no consumieran alimentos ni bebidas después de las nueve de la noche del día anterior a la visita de estudio y se les solicitó que acudieran a las 8 de la mañana del día siguiente al estudio del centro. Las muestras de sangre se analizaron en un laboratorio acreditado para determinar los parámetros inflamatorios (hs-CRP, IL-6 y TNF- α).

Perfil de seguridad: El perfil de seguridad de Bovia® se determinó evaluando la incidencia y la gravedad de los eventos adversos que ocurrieron. Los eventos adversos que fueron monitoreados incluyeron signos vitales. Los participantes recibieron instrucciones de contactar al coordinador del estudio por teléfono en caso de experimentar cualquier anomalía. En caso de que se reportaran eventos adversos, el coordinador del estudio evaluó la gravedad y causalidad en forma de informe. Los valores vitales, como la frecuencia respiratoria, pulso y presión arterial, se midieron al inicio y en la semana seis. El cambio en los signos vitales en relación con la medición inicial fue considerado para la evaluación de seguridad. La temperatura oral se registró con la ayuda de un termómetro. La frecuencia respiratoria se evaluó por el número de inhalaciones y expiraciones en un minuto durante el estado de reposo del paciente. El pulso se registró palpando la arteria radial de cualquier brazo durante un minuto. La presión arterial (sistólica y diastólica) se registró mediante el método del auscultador con la ayuda del manómetro de mercurio estándar durante el estado de reposo en posición sentada.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se presentaron en forma de media $\pm$ DE/SEM con un IC del 95% para datos continuos y descriptivamente para datos categóricos. La prueba estadística para el análisis de datos se seleccionó según el tipo y distribución.

En caso de datos continuos, se evaluó su distribución con la ayuda de la prueba de normalidad. Según los resultados de la prueba de normalidad, se aplicaron indicadores paramétricos o no paramétricos apropiados para la comparación de grupos no emparejados (entre grupos) y pares (dentro del grupo). Todas las pruebas estadísticas aplicadas fueron de dos colas y el nivel de significancia para todas las pruebas estadísticas fueron <0.05 .

RESULTADOS

Datos demográficos de los participantes en la semana 0 (N = 40).

Variables	PL [n = 20 (9 mujeres, 11 hombres)]	Bovia® [n = 20 (12 mujeres, 8 hombres)]	p
Edad (años)	35 $\pm$ 3.2	36.9 $\pm$ 3.0	<0.05
IMC (kg/m ²)	22.9 $\pm$ 2.2	21.0 $\pm$ 3.5	<0.05

Inhibición del biomarcador proinflamatorio

Proinflammatory biomarkers

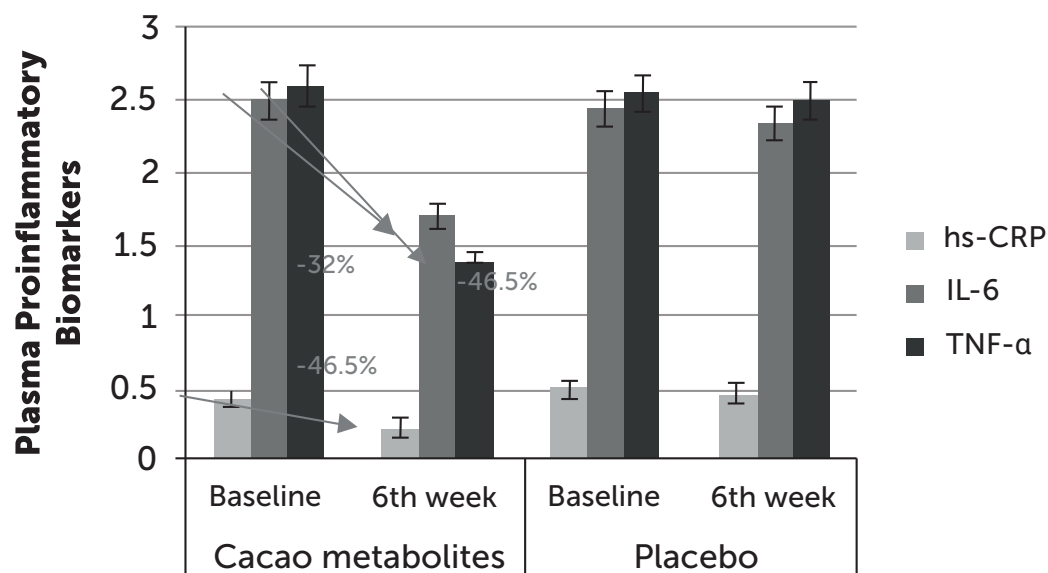


Figura 1: Medidas antiinflamatorias.

No hubo diferencias significativas en los marcadores proinflamatorios en el grupo placebo al inicio y en la semana seis de la suplementación con **Bovia®**. Los marcadores proinflamatorios en el grupo de experimento se redujeron significativamente después de seis semanas de suplementación con **Bovia®** (<0.05).

Evaluación de la seguridad: No se observaron efectos adversos durante el estudio.

CONCLUSIONES

En el presente estudio, se evaluó el efecto de un producto que contenía metabolitos de fermentación en el nivel sanguíneo de marcadores de inflamación y se comparó con placebo.

- El consumo de **Bovia®** resultó en una reducción significativa en la concentración plasmática de hsCRP, IL-6 y TNF- α en un 46.5%, 32% y 47.7%, respectivamente.
- **Bovia®** mejora la salud intestinal al reducir los biomarcadores proinflamatorios. Una microbiota intestinal saludable mejora la salud general al reducir la inflamación sistémica.
- Estos estudios proporcionan la evidencia de que **Bovia®** puede modular la microbiota intestinal en adultos sanos y sugieren que **Bovia®** es un tratamiento potente contra la disbiosis e inflamación de la microbiota intestinal.

4.3 MEJORA DE LA MICROCIRCULACIÓN POR METABOLITOS DE CACAO

TÍTULO

Efectos del suministro dirigido de **Bovia®** sobre la microcirculación cutánea.

TIPO DE ESTUDIO

Estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo que compara los metabolitos de **Bovia®** contra placebo.

PATROCINADOR

SANKI MAYOR

Kanaya Bldg 5F, 4-11-3 Hatchobori, Chuo-Ku, Tokyo, JAPAN.

LABORATORIO

MEDICA TOKYO LABORATORIES

14-5 Kusunokichō, Nishi-ku, Yokohama-shi, Kanagawa-ken 220-0003.

INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

Bovia® (metabolitos de cacao fermentados) y placebo.

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

La microcirculación es un sistema complejo e integrado que transporta oxígeno y nutrientes a las células. El componente clave de este sistema es el endotelio, que contribuye al equilibrio local entre mediadores pro y antiinflamatorios, el

equilibrio hemostático, así como la permeabilidad vascular y la proliferación celular. El aumento del estrés oxidativo es un mecanismo patogénico principal de la disfunción endotelial al disminuir la biodisponibilidad de NO, promover la inflamación y participar en la activación de la cascada de señales intracelulares, lo que influye en la activación de los canales iónicos, las vías de transducción de señales, la remodelación del citoesqueleto, la comunicación intercelular y, en última instancia, la expresión génica. Dirigirse a la inflamación microvascular y al estrés oxidativo es un enfoque fascinante para nuevas terapias con el fin de disminuir la morbilidad y mortalidad de enfermedades crónicas y agudas.

Cacao (los derivados de *Theobroma cacao* son reconocidos como las principales fuentes dietéticas de antioxidantes debido a su alto contenido fenólico) (10). Numerosos estudios de intervención dietética en humanos y animales indican que los alimentos y bebidas ricos en flavanol ejercen efectos cardioprotectores con respecto a la función vascular y la reactividad plaquetaria. (11). Se ha informado que el consumo de cacao rico en flavanol mejora la función endotelial y reduce la incidencia de enfermedades ateroscleróticas (12). Estos resultados están de acuerdo con los datos de estudios en humanos que mostraron las propiedades antihipertensivas de los polifenoles del cacao (13). La mejora de la función cardiovascular en humanos con el consumo de cacao se ha relacionado específicamente con la presencia de metabolitos derivados de flavan-3-ol en plasma, especialmente el glucurónido de epicatequina (14). El infarto de miocardio es la condición aguda que ocurre como resultado del desequilibrio entre el suministro de sangre coronaria y la demanda de miocardio (15). Dirigirse a los mecanismos por los cuales el cacao fermentado aumenta la microcirculación en adultos sanos puede proporcionar un enfoque más efectivo que reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Por lo tanto, el propósito de este estudio fue investigar y comparar los efectos sobre la microcirculación cutánea de Bovia® en comparación con el placebo. Presumimos que la suplementación de Bovia® aumentará significativamente la microcirculación en comparación con el placebo.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

Evaluar la eficacia de los metabolitos de cacao fermentados para mejorar la microcirculación cutánea.

RESULTADO

- Cambio en el análisis de microcirculación usando O2C para el flujo sanguíneo en la piel y análisis por HPLC de metabolitos de cacao en muestras de plasma.

NÚMERO TOTAL DE PACIENTES

Se inscribieron para el estudio 60 hombres y mujeres sanos, de 40 a 70 años (30 sujetos en el grupo experimental y 30 sujetos en el grupo placebo).

DURACIÓN DEL TRATAMIENTO Y DOSIFICACIÓN

El experimento se realizó durante un día. Al final del período experimental, se analizó la microcirculación cutánea utilizando O2C para el flujo sanguíneo en la piel y análisis por HPLC de metabolitos de cacao en muestras de plasma.

Población del estudio: Este estudio ha reclutado a 60 adultos, entre 40 y 70 años, sin ninguna enfermedad conocida, con un índice de masa corporal (IMC) de 18.5 kg/mg² a 24.9 kg/mg². A los sujetos se les asignó aleatoriamente Bovia® o placebo mediante un proceso de aleatorización simple a los grupos de tratamiento. En cada grupo de estudio se inscribieron 20 participantes y todos los sujetos completaron el estudio.

Criterios de inclusión

1. Sujeto que no usa medicamentos y/o suplementos dietéticos y/o vitaminas que contienen algún ingrediente antioxidante.
2. Dispuesto a dar su consentimiento informado por escrito y a cumplir con el protocolo de prueba.
3. Capacidad para comprender los riesgos/beneficios del protocolo.
4. Estar disponible para la duración del período de estudio.

Criterios de exclusión

1. Cualquier historial o evidencia de presencia de enfermedades istémicas, infecciosas o enfermedades crónicas, incluyendo leucemia y/o cánceres y enfermedades inflamatorias que, en opinión del investigador, pueden afectar la interpretación de los datos de eficacia y seguridad.
2. Sujetos que toman algún medicamento para cualquier enfermedad.
3. Fumador actual o antecedentes de tabaquismo durante al menos seis meses antes de inscribirse en el estudio.
4. Dependencia o abuso activo de alcohol/drogas.
5. Sujetos con indicaciones de altos niveles oxidativos.
6. Los sujetos que actualmente participan o participaron en otro ensayo clínico durante los últimos tres meses antes del comienzo de este estudio.
7. Ejercicio agotador siete días antes del comienzo del estudio.
8. Sujetos con antecedentes de trastorno psiquiátrico que pueden afectar la capacidad de proporcionar un consentimiento informado por escrito.
9. Pacientes que hayan completado su participación en cualquier otro ensayo clínico durante los últimos tres meses.
10. Cualquier otra condición que el investigador principal considere que puede poner en peligro el resultado del estudio.

Reclutamiento de sujetos y duración del seguimiento: Los sujetos fueron reclutados por teléfono o correo electrónico. Después de que el voluntario aceptó participar (consentimiento informado y firmado), se completó una lista de verificación de criterios de inclusión. Posteriormente, las personas se inscribieron y, ya cumplidos los criterios de inclusión, se realizó un examen clínico antes del comienzo del estudio.

PRODUCTO EN ESTUDIO

Componente: El producto de prueba fue Bovia® emitido por fermentación láctica.

Población del estudio: Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de cada persona en compañía del representante legal. La identidad de los sujetos/pacientes del estudio y los datos generados se manejaron con estricta confidencialidad. La accesibilidad de los datos en bruto se limitó al personal autorizado del equipo de investigadores, al comité de ética, al patrocinador y a las agencias reguladoras para el monitoreo, inspección y auditorías programadas

Visitas de seguimiento: Los participantes seleccionados acudieron al centro de estudio durante un día. Se realizó revisión de salud del paciente, a través de un registro de eventos adversos y se tomaron muestras de sangre.

Perfil de seguridad: El perfil de seguridad de Bovia® se determinó evaluando la incidencia y la gravedad de los eventos adversos que ocurrieron, los cuales, fueron monitoreados incluyendo signos vitales. Los participantes recibieron instrucciones de contactar al coordinador del estudio por teléfono en caso de experimentar cualquier anomalía. En caso de que se reportaran 43 eventos adversos, el coordinador del estudio evaluó la gravedad y causalidad en forma de informe. La temperatura oral se registró con la ayuda de un termómetro. La frecuencia respiratoria se evaluó por el número de inhalaciones y expiraciones en un minuto durante el estado de reposo del paciente. El pulso se registró palpando la arteria radial de cualquier brazo durante un minuto. La presión arterial (sistólica y diastólica) se registró mediante el método del auscultador con la ayuda del manómetro de mercurio estándar durante el estado de reposo en posición sentada.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se presentaron en forma de media $\pm$ DE/SEM con un IC del 95% para datos continuos y descriptivamente para datos categóricos. La prueba estadística para el análisis de datos se seleccionó según el tipo y distribución. En caso de datos continuos, se evaluó su distribución con la ayuda de la prueba de normalidad. Según los resultados de la prueba de normalidad, se aplicaron indicadores paramétricos o no paramétricos apropiados para la comparación de grupos no emparejados y pares. Todas las pruebas estadísticas aplicadas fueron de dos colas y el nivel de significancia para todas las pruebas estadísticas fueron <0.05 .

RESULTADOS

Datos demográficos de los participantes en la semana 0 (N = 40).

Variables	PL [n = 20 (10 mujeres, 10 hombres)]	Bovia® [n = 20 (7 mujeres, 13 hombres)]	p
Edad (años)	37 ± 5.2	35.9 ± 3.4	<0.05
IMC (kg/m2)	23.9 ± 2.2	22.0 ± 1.8	<0.05

Mejora de la microcirculación

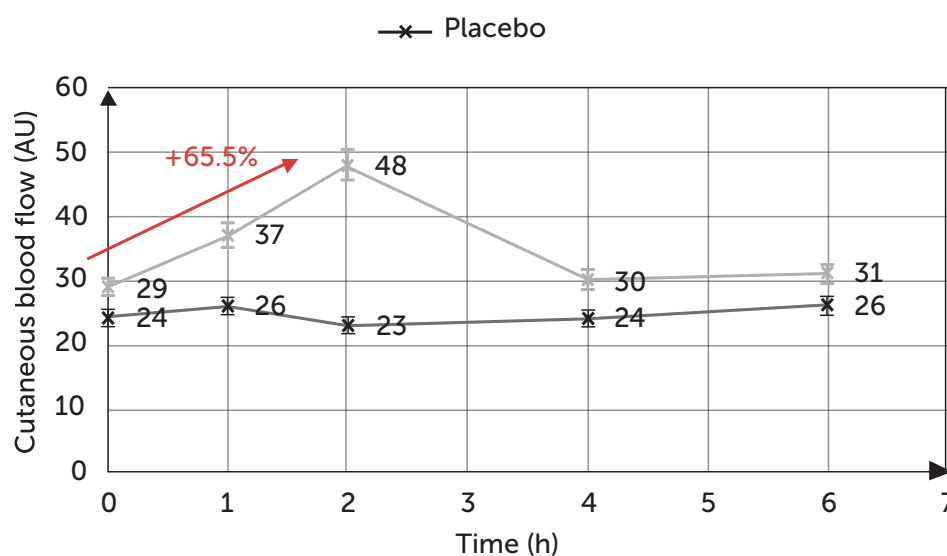


Figura 1: Efecto de Bovia® sobre el flujo sanguíneo cutáneo.

En el grupo de experimento, el flujo sanguíneo cutáneo aumentó sinificativamente después de dos horas en comparación con los niveles basales.

En el grupo placebo no hubo diferencias significativas en el flujo sanguíneo cutáneo entre los niveles basales y los niveles de flujo sanguíneo, después de dos horas de suplementación con Bovia®.

El flujo sanguíneo cutáneo, después de dos horas de suplementación con Bovia® en el grupo experimental, es significativamente mayor que el grupo placebo.

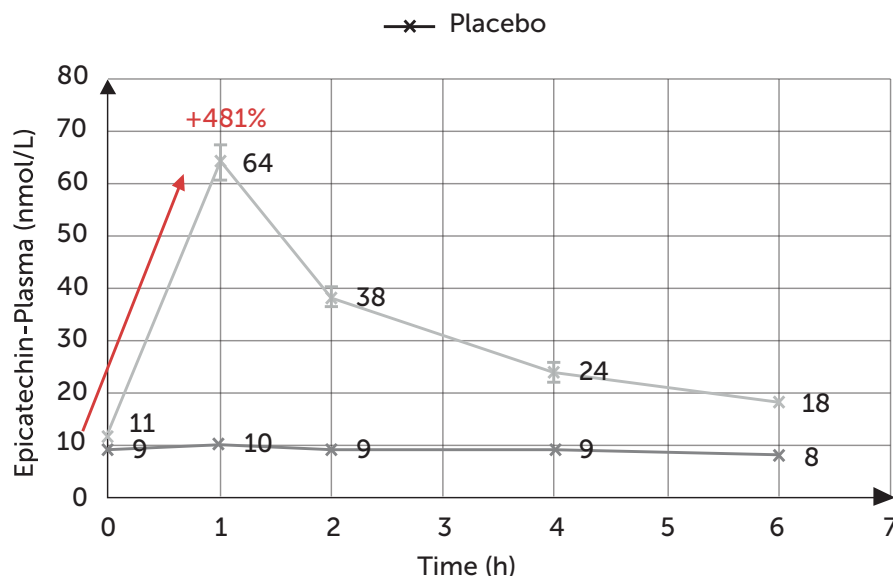


Figura 2: Efecto de Bovia sobre los niveles plasmáticos de metabolitos de cacao

En el grupo de experimento, los niveles plasmáticos aumentaron significativamente después de una hora en comparación con los niveles basales.

En el grupo placebo, no hubo diferencias significativas en los niveles plasmáticos entre los niveles basales y los niveles de flujo sanguíneo después de una hora de suplementación con **Bovia®**.

Los niveles plasmáticos, después de una hora de suplementación con **Bovia®**, en el grupo experimental son significativamente más altos que el grupo placebo.

Evaluación de la seguridad: No se observaron efectos adversos durante el estudio.

CONCLUSIONES

En el presente estudio, se evaluó el efecto de un producto que contenía metabolitos de fermentación sobre el nivel sanguíneo de marcadores de inflamación y se comparó con placebo.

- El consumo de **Bovia®** aumenta de manera aguda la concentración total de metabolitos de cacao en plasma y la microcirculación del flujo sanguíneo cutáneo, con un efecto máximo observado a la primera y segunda hora después de la ingesta, respectivamente.
- El flujo sanguíneo cutáneo aumentó en un 65,5% después de dos horas de suplementación con **Bovia®**.
- Los niveles plasmáticos de metabolitos de cacao aumentaron en un 481% después de una hora de suplementación con **Bovia®**.
- **Bovia®** mejora la salud intestinal al beneficiar la microcirculación rápidamente después del consumo.

4.4 AUMENTO DE LOS NIVELES DE ENERGÍA

TÍTULO DEL ENSAYO CLÍNICO

Efectos del suministro dirigido de Bovia® sobre los niveles de energía.

TIPO DE ESTUDIO

Estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo que compara los metabolitos de Bovia® contra placebo.

PATROCINADOR

SANKI MAYOR

Kanaya Bldg 5F, 4-11-3 Hatchobori, Chuo-Ku, Tokyo, JAPAN.

LABORATORIO

MEDICA TOKYO LABORATORIES

14-5 Kusunokichō, Nishi-ku, Yokohama-shi, Kanagawa-ken 220-0003.

INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

Bovia® (Metabolitos fermentados de cacao) y placebo.

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Los SCFA son productos principales de la fermentación de cacao por *Lactobacillus plantarum* LP127. En el estudio actual, se proporciona evidencia de la actividad termogénica y el valor terapéutico de un ácido graso de cadena corta, el ácido butírico. El ácido butírico tiene cuatro carbonos en la molécula ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$) y se convierte en butirato de sodio después de recibir sodio. Las bioactividades del butirato de sodio están relacionadas con la inhibición de las desacetilasas de histonas de clase I y clase II (16). Las desacetilasas de histonas regulan la transcripción génica mediante la modificación de la estructura de la cromatina mediante la desacetilación de proteínas, incluidas las proteínas de histona y los factores de transcripción. Hasta donde sabemos, no hay ningún informe sobre el butirato en la regulación de la sensibilidad a la insulina o el metabolismo energético.

Nuestra hipótesis es que la suplementación de Bovia® promueve la producción de energía. La espectrometría de resonancia magnética se utilizó para medir el metabolismo en el músculo esquelético mediante análisis de sangre y suero de orina. El propósito de este estudio fue investigar y comparar la producción de energía de Bovia® en comparación con el placebo. Presumimos que la suplementación de Bovia® promoverá la producción de energía en comparación con el placebo.

OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Evaluar la eficacia de los metabolitos fermentados de cacao para mejorar la microcirculación cutánea.

RESULTADOS ESPERADOS

El perfil metabólico en la muestra de plasma y orina indicará un cambio en los niveles de energía en el cuerpo.

NÚMERO TOTAL DE PACIENTES

50 hombres y mujeres sanos, de 24 a 49 años, se incluyeron en el estudio (25 sujetos en el grupo de experimento y 25 sujetos en el grupo de placebo).

DURACIÓN DEL TRATAMIENTO Y DOSIFICACIÓN

El experimento se realizó durante 12 semanas. Al final del período experimental, la prueba del perfil metabólico se realizó mediante resonancia magnética nuclear (RMN) y el método de espectrometría de masas (EM).

DISEÑO DEL ESTUDIO

Este es un ensayo clínico aleatorizado de centro único, doble ciego, controlado con placebo.

POBLACIÓN EN ESTUDIO

Este estudio ha reclutado a 50 adultos, entre 24 y 49 años, sin ninguna enfermedad conocida, con un índice de masa corporal (IMC) de 18.5 kg/mg² a 24.9 kg/mg². A los sujetos se les asignó aleatoriamente Bovia® o placebo mediante un proceso de aleatorización simple a los grupos de tratamiento. En cada grupo de estudio, se inscribieron 25 participantes y todos los sujetos completaron el estudio

Criterios de inclusión

1. Sujeto que no usa medicamentos y/o suplementos dietéticos y/o vitaminas que contienen algún ingrediente antioxidante.
2. Dispuesto a dar su consentimiento informado por escrito y cumplir con el protocolo de prueba.
3. Capacidad para comprender los riesgos/beneficios del protocolo.
4. Disponibilidad para la duración del período de estudio.

Criterios de exclusión

1. Cualquier historial o evidencia de presencia de enfermedades istémicas, infecciosas o enfermedades crónicas, incluidas leucemia y/o cánceres y enfermedades inflamatorias que, en opinión del investigador, pueden afectar la interpretación de los datos de eficacia y seguridad.
2. Sujetos que toman algún medicamento para cualquier enfermedad.
3. Fumador actual o antecedentes de tabaquismo durante al menos seis meses antes de inscribirse en el estudio.
4. Dependencia o abuso activo de alcohol/drogas.
5. Sujetos con indicadores de altos niveles oxidativos.
6. Sujetos que actualmente participan o participaron en otro ensayo clínico durante los últimos tres meses antes del comienzo de este estudio.
7. Ejercicio agotador siete días antes del comienzo del estudio.
8. Sujetos con antecedentes de trastorno psiquiátrico que pueden afectar la capacidad de proporcionar un consentimiento informado por escrito.
9. Pacientes que hayan completado su participación en cualquier otro ensayo clínico durante los últimos tres meses.
10. Cualquier otra condición que el investigador principal considere que puede poner en peligro el resultado del estudio.

Reclutamiento de sujetos y duración del seguimiento: Los sujetos fueron reclutados por teléfono o correo electrónico. Después de que el voluntario aceptó participar (consentimiento informado y firmado), se completó una lista de verificación de criterios de inclusión.

Posteriormente, las personas se inscribieron y, ya cumplidos los criterios de inclusión, se realizó un examen clínico antes del comienzo del estudio.

PRODUCTO EN ESTUDIO

Composición: El producto de prueba fue Bovia® emitido por fermentación láctica.

PROCEDIMIENTO DE ESTUDIO

Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de cada persona en compañía del representante legal. La identidad de los sujetos/pacientes del estudio y los datos generados se manejaron con estricta confidencialidad. La accesibilidad de los datos en bruto se limitó al personal autorizado del equipo de investigadores, al comité de ética, al patrocinador y a las agencias reguladoras para el monitoreo, inspección y auditorías programadas.

Visitas de seguimiento: Se requirió que los participantes seleccionados acudieran al centro de estudio durante 12 semanas realizando la revisión de su salud, el registro de eventos adversos y toma de muestras de sangre.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se presentaron en forma de media $\pm$ DE/SEM con un IC del 95% para datos continuos y descriptivamente para datos categóricos. La prueba estadística para el análisis de datos se seleccionó según el tipo y distribución.

En caso de datos continuos, se evaluó su distribución con la ayuda de la prueba de normalidad. Según los resultados de la prueba de normalidad, se aplicaron indicadores paramétricos o no paramétricos apropiados para la comparación de grupos no emparejados (entre grupos) y pares (dentro del grupo). Todas las pruebas estadísticas aplicadas fueron de dos colas y el nivel de significancia para todas las pruebas estadísticas fueron <0.05 .

RESULTADOS

Datos demográficos de los participantes en la semana 0 (N = 40).

Variables	PL [n = 20 (8 mujeres, 12 hombres)]	Bovia® [n = 20 (9 mujeres, 11 hombres)]	p
Edad (años)	32.2 $\pm$ 3.2	33.4 $\pm$ 3.4	<0.05
IMC (kg/m ²)	22.9 $\pm$ 3.2	21.0 $\pm$ 1.5	<0.05

Niveles de energía

Plasma Metabolic Profile

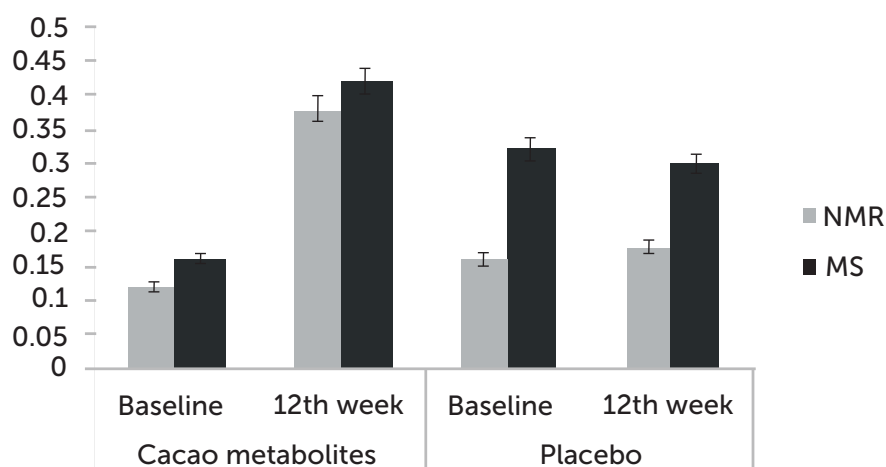


Figura 1: Efecto del perfil metabólico plasmático de Bovia®.

En el grupo de experimento, los niveles de resonancia magnética nuclear (RMN) aumentaron significativamente a las 12 semanas en comparación con los niveles de referencia.

En el grupo placebo, no hubo diferencias significativas en el perfil metabólico plasmático entre los niveles basales y los niveles de EM después de 12 semanas de suplementación con Bovia®.

El perfil metabólico en plasma, después de 12 semanas de suplementación con Bovia® en el grupo experimental, es significativamente mayor que el grupo placebo.

Urine Metabolic Profile

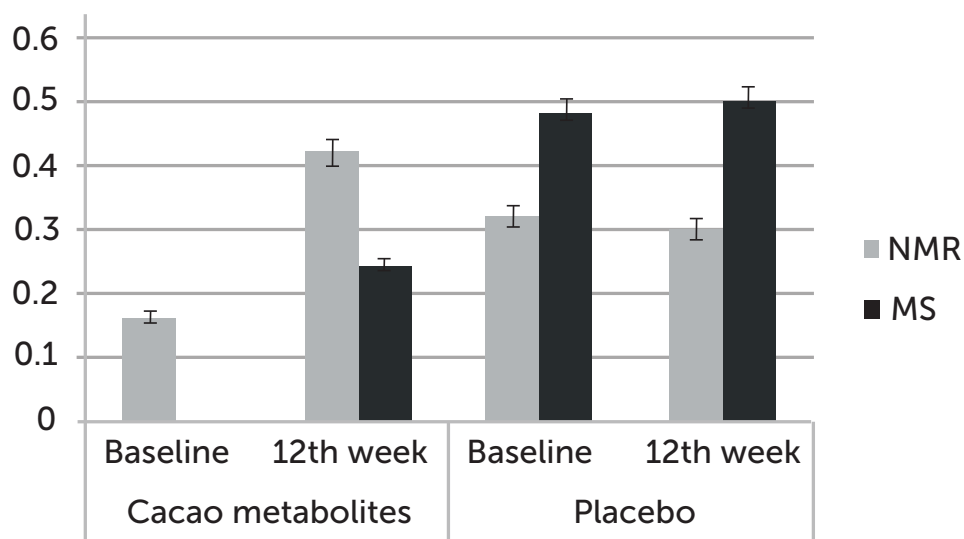


Figura 2: Efecto de Bovia® sobre el perfil metabólico de la orina.

En el grupo de experimento, los niveles de RMN aumentaron significativamente después de 12 semanas en comparación con los niveles de referencia.

En el grupo placebo no hubo diferencias significativas en el perfil metabólico de la orina entre los niveles basales y los niveles de EM, después de 12 semanas de suplementación con **Bovia®**.

El perfil metabólico de la orina, después de 12 semanas de suplementación con **Bovia®** en el grupo experimental, es significativamente mayor que el grupo placebo.

Evaluación de la seguridad:

No se observaron efectos adversos durante el estudio.

CONCLUSIÓN

En el presente estudio, se evaluó el efecto del producto que contiene metabolitos de fermentación sobre los niveles de energía y se comparó con placebo.

- La mejora de los niveles de energía en el cuerpo está directamente relacionada con el perfil metabólico.
- **Bovia®** induce cambios en el perfil metabólico tanto en plasma como en suero.
- Se encontró que la energía aumenta en un 60-68% en la población de estudio que consume **Bovia®**.

5. CONCLUSIÓN

Bovia® es un complejo de metabolitos de granos de cacao que se obtiene por fermentación utilizando tecnología de fermentación japonesa. Estos metabolitos proporcionan varios beneficios para la salud, principalmente: (1) modulación de la microbiota intestinal; (2) antiinflamación; (3) metabolismo de los lípidos.

Los resultados de los ensayos clínicos de **Bovia®** mostraron la mejora consiguiente de la salud de la población con respecto a:

- La modulación de la microbiota intestinal y el aumento de la población de Bacteroides en individuos obesos en un 173%.
- Potente tratamiento contra la disbiosis y la biomimética eficiente del microbiota intestinal magra.
- Reducción significativa de los marcadores proinflamatorios en la concentración plasmática de hs-CRP, IL-6 y TNF- α en 46.5%, 32 % y 47.7%, respectivamente.
- Aumento de los niveles de energía en un 60-68% en los perfiles metabólicos tanto en plasma como en suero.
- Aumento de la concentración total de metabolitos de cacao en plasma y la microcirculación del flujo sanguíneo cutáneo, con un efecto máximo observado a la primer hora y dos horas después de la ingestión, respectivamente.
 - I. El flujo sanguíneo cutáneo aumentó en un 65,5% después de dos horas de suplementación con **BOVIA®**.
 - II. Los niveles plasmáticos de los metabolitos de cacao aumentaron en un 481% después de una hora de suplementación con **BOVIA®**.

Estos estudios proporcionan la evidencia de que **Bovia®** mejora la salud al aumentar la población de Bacteroides en el intestino, reducir los biomarcadores proinflamatorios, mejorar la microcirculación e incrementar los niveles de energía.