



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR
ZUBIRAN**

**EFFECTO DEL CONSUMO DE UN PORTAFOLIO DIETARIO (SOYA, NOPAL,
CHÍA E INULINA) EN PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN PACIENTES CON
DIABETES TIPO 2**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS

**PRESENTA
ISABEL DE JESÚS MEDINA VERA**

**TUTOR
DRA NIMBE TORRES Y TORRES
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR
ZUBIRAN**

**COMITÉ TUTOR
DR EN C. ARMANDO R. TOVAR PALACIO
DRA EN C. MARTHA GUEVARA CRUZ.
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR
ZUBIRAN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

RESUMEN

Antecedentes: La prevalencia de diabetes tipo 2 (DT2) ha incrementado en la población mexicana, se estima que la mayoría de esta población tiene descontrol metabólico aunado a ello en los últimos años se ha reportado una disbiosis en la microbiota intestinal, estas condiciones alertan a fortalecer e implementar estrategias dietarias incorporadas al tratamiento nutricional y farmacológico. Se considera que el uso de alimentos funcionales y la sinergia de ellos puede ser importante para un mejor control metabólico y cambios en la composición de la Microbiota intestinal.

Objetivo: Evaluar el efecto del portafolio dietario (combinación de alimentos funcionales: nopal, chía, proteína de soya e inulina) en parámetros bioquímicos y cambios en la composición de la microbiota intestinal en sujetos con DT2.

Metodología: Un total de 81 sujetos fueron incluidos al ensayo clínico, aleatorizado doble ciego y paralelo y asignados al grupo de Portafolio dietario (PD) (n=44) o Placebo (P) (n=37). El estudio consistió en cinco visitas donde se evaluó la composición de la microbiota intestinal mediante el secuenciamiento del gen 16S ribosomal utilizando la plataforma Illumina MiSeq; parámetros bioquímicos, antropométricos y clínicos.

Resultados: La intervención con el PD aumentó la alfa diversidad, disminuyó la abundancia de *Prevotella copri*, aumentó *Faecalibacterium prausnitzii* y *Akkermansia muciniphila* en comparación con el grupo P. Además, el grupo de PD presentó una reducción significativa en el ABC de glucosa, triglicéridos, colesterol total, colesterol LDL, AGL en plasma, HbA1c, PCR y un aumento en la actividad antioxidante en suero.

Conclusiones: Los datos de este estudio sugieren que el consumo de estos alimentos funcionales podría mejorar el control metabólico por la vía de un restablecimiento en la disbiosis de la microbiota intestinal en sujetos con DT2.

Palabras clave: Diabetes tipo 2, microbiota intestinal, alimentos funcionales, portafolio dietario, control metabólico.

ABREVIATURAS

\geq	Mayor o igual
%	Porcentaje
<	Menor que
β	Beta
2h	Dos horas
ABC	Área bajo la curva
ABC-ATP	Transportadores ligados al cassette de ATP
ACRR	Aminoácidos de cadena ramificada
ADA	American Diabetes Association
ADA	American Dietetic Association
AF	Alimento funcional
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
AGL	Ácidos grasos libres
ALA	Ácido alfa linoleico
AMPK	Proteína cinasa activada por AMP
BCKDH	Branched-chain α keto acid dehydrogenase
c-HDL	Lipoproteínas de alta densidad
c-LDL	Lipoproteínas de baja densidad
cm	Centímetros
CPT-1	carnitil palmitoil transferasa
CTOG	Curva de tolerancia oral a la glucosa
CTOG 2h	Curva de tolerancia oral a la glucosa por 2 horas.
D.UK	Diabetes United Kingdom (Guías de Diabetes de Reino Unido)
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
DHA	Ácido docosahexaenoico
DT2	Diabetes tipo 2
ECV	Enfermedad cardiovascular
EDTA	Ácido etilen-diamino-tetra-cético
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
EO	Estrés oxidativo
EPA	Ácido eicosapentanoico
EROs	Especies reactivas de oxígeno
FEMOC	9-fluorenilmetilcloroformato
FID	Federación Internacional de Diabetes
g	Gramos
GIP	Péptido Insulinotrópico dependiente de glucosa
HbA1c	Hemoglobina glucosilada fracción 1c
HOMA	Modelo de evaluación homeostática
HPLC	High performance liquid chromatography

iABC	Incremento del área bajo la curva
IC95%	Intervalo de confianza al 95%
IECA	Fármaco inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina
IG	Índice glucémico
IMC	Índice de masa corporal
IMEPLAM	Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales
INCMNSZ	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubiran
IPAQ	International Physical Activity Questionnaire
IRS1	Insulin receptor substrate 1
kcal	Kilocalorías
LC-MS/MS	Cromatografía líquida acoplada con espectrometría de masas en tándem
LPS	Lipopolisacárido
LXR	Receptor x del hígado
MDA	Malondialdehído
METs	Unidad de medida del índice metabólico
mg	Miligramos
mg/dL	Miligramos sobre decilitro
mm de Hg	Milímetros de mercurio
mmol/L	Milimol por litro
mTORC1	Mammalian target of rapamycin complex 1
n	Número de muestra
OPA	o-ftaldehído
OTU	Operational Taxonomic Units
PCR	Proteína C reactiva
PCoA	Análisis de coordenadas principales
PCA	Análisis de componentes principales
PD	Portafolio Dietario
PPAR	Receptor activado por proliferadores de peroxisomas
RI	Resistencia a la insulina
RR	Riesgo relativo
Rs	Coefficiente de correlación de Sperman
SM	Síndrome metabólico
SREBP1	Proteína ligada al elemento de respuesta a esteroides
TLR4	Tool receptor-like 4
TG	Triglicéridos
TMAO	N-óxido de Trimetilamina
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
UPA	Unidad de paciente ambulatorio
VCT	Valor calórico total

INDICE

1 Antecedentes

1.1 Diabetes Tipo 2

1.2 Fisiopatología de la diabetes tipo 2

1.2.1 Perfil de aminoácidos en plasma y diabetes tipo 2

1.2.2 Metabolismo del N-óxido de Trimetilamina (TMAO) y diabetes tipo 2

1.3 Microbiota Intestinal y su relación con la diabetes tipo 2

1.4 Control metabólico en diabetes tipo 2

1.4.1 Terapia nutricional en diabetes tipo 2

1.5 Alimentos Funcionales: nuevas tendencias de alimentación para el control en diabetes tipo 2

1.6 Portafolio Dietario

1.6.1 Nopal

1.6.2 Soya

1.6.3 Chía

1.6.4 Inulina

2 Planteamiento del problema

3 Pregunta de Investigación

4 Justificación

5 Objetivos

6 Hipótesis

7 Metodología

7.1 Diseño

7.2 Población y muestra

7.2.1 Tamaño de la muestra

7.2.2 Criterios de selección

7.3 Descripción general del estudio (procedimientos y lugar en que se lleva acabo)

7.4 Descripción de la intervención

7.5 Operacionalización de las variables

7.6 Técnicas y aparatos utilizados en las mediciones de variables

8 Consideraciones éticas.

8.1 Carta de consentimiento

8.2 Hoja de informe al paciente

9 Análisis estadístico

10 Resultados

10.1 Características basales del grupo de sanos vs grupo de DT2

10.2 Composición de la microbiota intestinal de sanos vs DT2

10.3 Concentraciones de TMAO, colina y betaína del grupo de sanos vs DT2

10.4 Aminoácidos totales y ACRR sanos vs DT2

10.5 Selección de los participantes con DT2 para la inclusión al ECA

10.6 Características basales de los participantes incluidos en la intervención

10.7 Evaluación de la dieta y apego a la intervención

10.8 Actividad física de los participantes

10.9 Parámetros bioquímicos, cambios después de la intervención

10.10 Cambios en la composición de la microbiota intestinal después de la intervención

11 Discusión

12 Conclusiones

13 Anexos

Anexo 1. Historia clínica

Anexo 2. Recordatorio de 24 horas

Anexo 3. Cuestionario de actividad física IPAQ

Anexo 4. Seguimiento de visitas

Anexo 5. Ejemplos de menús del plan de alimentación

Anexo 6. Sistema de equivalentes

Anexo 7. Bitácoras de alimentación

Anexo 8. Cuestionario de efectos adversos

Anexo 9. Formato de apego de toma de la bebida (placebo o PD)

Anexo 10. Infografía de recolección de toma de muestras fecales

14 Literatura citada.

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tablas

Tabla 1. Metas básicas del tratamiento para el control de DT2

Tabla 2. HbA1c como parámetro de control glucémico

Tabla 3. Recomendaciones plan de alimentación en DT2

Tabla 4. Estudios reportados con uso de portafolios dietarios

Tabla 5. Composición promedio del nopal

Tabla 6. Intervenciones con fructanos en la respuesta de lípidos

Tabla 7. Características de plan de alimentación

Tabla 8. Composición y calorías del portafolio dietario y placebo

Tabla 9. Evaluación sensorial del portafolio dietario

Tabla 10. Contenido de carbohidratos por sobre de la bebida

Tabla 11. Características basales sanos vs DT2

Tabla 12. Características basales de los participantes con DT2 de la intervención

Tabla 13. Evaluación de la dieta de los participantes a través del estudio

Tabla 14. Porcentaje de apego de la intervención

Tabla 15. Actividad física durante la intervención

Figuras

Figura 1. Historia natural de la diabetes tipo 2

Figura 2. Similitud de la estructura L-carnitina y colina y metabolismo de la colina.

Figura 3. Mecanismos propuestos del TMAO para promover aterosclerosis.

Figura 4. Índice glucémico e insulinémico del nopal

Figura 5. Efecto antihyperglucemiante del nopal

Figura 6. Efecto de la soya en hígado y músculo

Figura 7. Uso de alimentos funcionales para el control de metabólico de DT2

Figura 8. Ensayo clínico controlado, aleatorizado, doble ciego y paralelo

- Figura 9. Procedimientos de cada visita durante la intervención
- Figura 10. Procedimientos para secuenciamiento de DNA de la microbiota intestinal.
- Figura 11. Comparación de características basales sanos vs DT2
- Figura 12. Composición de la microbiota intestinal sanos vs DT2
- Figura 13. Análisis de componentes principales Sanos vs DT2
- Figura 14. Concentraciones de TMAO sanos vs DT2
- Figura 15. Concentraciones de Aminoácidos sanos vs DT2
- Figura 16. Diagrama de flujo de la intervención de los participantes con DT2
- Figura 17. Actividad física de los participantes
- Figura 18. Cambios en parámetros bioquímicos después de la intervención
- Figura 19. Cambios en la composición de la microbiota intestinal después de la intervención

ANTECEDENTES

1.1 Diabetes Tipo 2

La diabetes es una enfermedad sistémica, crónico-degenerativa, de carácter heterogéneo, con grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales, que se caracteriza por hiperglucemia crónica debido a la deficiencia en la producción o acción de la insulina, lo que afecta al metabolismo intermedio de los hidratos de carbono, proteínas y grasas.¹ La diabetes tipo 2 (DT2) es resultado de la presentación de resistencia a la insulina y en forma concomitante una deficiencia en su producción, generalmente las personas presentan sobrepeso u obesidad y el diagnóstico se establece si se cumple cualquiera de los siguientes criterios: glucemia plasmática casual ≥ 200 mg/dL; glucemia plasmática en ayuno ≥ 126 mg/dl; o bien glucemia ≥ 200 mg/dL a las dos horas después de una carga oral de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua¹. En el año 2013 se estimó que aproximadamente 382 millones en el mundo tenían diagnóstico de diabetes, si las tendencias no cambian se estima que para el año 2035 la cifra aumente a 592 millones de personas; es decir un adulto de cada 10 tendrá diagnóstico de diabetes.² Estas cifras posicionan a la diabetes como un problema de salud mundial por su alta incidencia además de la carga de mortalidad y económica importante.

En México la DT2 también se ha convertido en un grave problema de salud ocupando el sexto lugar mundial en número de personas con diabetes. De acuerdo a las encuestas de salud el porcentaje de personas adultas con diagnóstico previo ha ido en aumento los últimos años, la encuesta ENSANUT 2000 se reportó al 4.6% de la población adulta con diagnóstico previo de diabetes por un médico, equivalente a 3.7 millones de personas, para el año 2006 y 2012 se reportó el 7% y 9.2 respectivamente esta última cifra equivalente a 6.4 millones de personas con diabetes³, para la encuesta ENSANUT 2016 lo reportado fue 9.4%⁴. Es importante recalcar que las cifras reportadas en estas encuestas no incluyen a aquellas personas que aún no habían sido diagnosticadas o a las que están en riesgo de

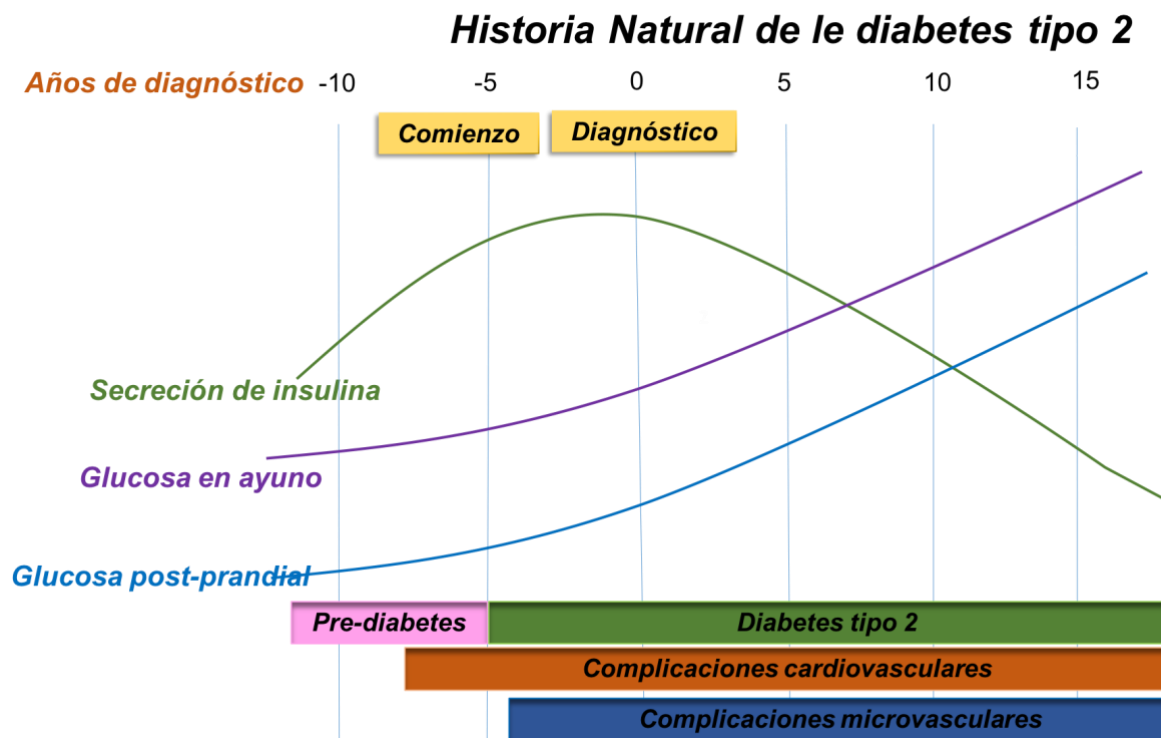
desarrollar la enfermedad, solo fue reportado el porcentaje de personas con diagnóstico previo lo que hace pensar que el porcentaje es aún mayor. Desafortunadamente en México en el año 2013 las defunciones asociadas a diabetes mellitus ocuparon el tercer lugar dentro las principales causas de mortalidad abarcando un 14.3% del total de las defunciones⁵, y es de las cinco principales causas de años de vida vividos con discapacidad. En el 2015 se realizó una estimación de la carga económica en México valorada en \$362,859.82 millones de pesos donde se engloba los costos directos e indirectos de la enfermedad crónica⁶. Bajo este panorama alertador es necesario conocer y entender la enfermedad, pero de igual manera lo es proponer nuevas estrategias de prevención y tratamiento sobre todo aquellas enfocadas a los cambios en el estilo de vida como lo es la nutrición.

1.2 Fisiopatología de la diabetes tipo 2

Los mecanismos para mantener la homeostasis de la glucosa comprenden el uso de esta, el 50% se dirige al cerebro (tejido insulino independiente), otro 25% al área esplácnica, que comprende al hígado y el tracto gastrointestinal (tejidos insulino independientes) y finalmente el 25% restante se dirige a los tejidos dependientes de insulina, en una mayor proporción se dirige al músculo y en menor cantidad al tejido adiposo. Después de la ingestión de hidratos de carbono, la glucosa se incrementa en el plasma y con ello estimula la liberación de la insulina, y tanto la hiperglucemia como la hiperinsulinemia estimulan la captación de la glucosa por parte del hígado y tracto gastrointestinal, además de la captación por parte de los tejidos periféricos (80-85% es por parte del hígado y solo 4-5% es por los adipocitos); además suprime la producción de glucosa endógena (principalmente hepática). Por otro lado, las concentraciones de glucosa en estado basal están determinadas por la tasa de producción de la glucosa endógena que proviene en un 85% del hígado y en 25% del riñón⁷. Sin embargo, los sujetos con DT2 presentan problemas en la homeostasis de la glucosa derivados de la disfunción de las células β del páncreas, la resistencia a la insulina y el aumento de la producción de la glucosa hepática endógena. La disfunción de las células β

durante la DT2 sucede antes de la manifestación clínica de esta, en las etapas iniciales la producción de insulina es normal o aumentada en términos absolutos, sin embargo, la cinética de la insulina, así como la capacidad de la célula β pancreática para liberar la hormona adecuada, están profundamente comprometidas, lo cual es la principal determinante de la hiperglucemia, como se puede observar en la **figura 1**⁸.

Figura 1. Historia Natural de la diabetes tipo 2



Tomado y modificado de Nathan DM. *N Engl J Med.* 2002⁹

Otra característica importante por la que cursan los sujetos con DT2 es la resistencia a la insulina (RI); definida como la incapacidad de la insulina para aumentar la captación y utilización de la glucosa en tejidos dependientes (tejido músculo esquelético, hígado, riñón y tejido adiposo)¹⁰. En el hígado, la RI es manifestada por un aumento en la producción de glucosa durante el estado basal a pesar de la hiperinsulinemia en ayuno. En estado postprandial es el resultado del deterioro en la supresión hepática de glucosa por parte de la insulina¹¹. Esto es la causa primaria

de la hiperglucemia en ayuno; en cambio en el músculo la RI se manifiesta por una alteración en la captación de glucosa después del consumo de carbohidratos¹². Debido a la RI aumenta la liberación de ácidos grasos libres (AGL) de tal manera que aumentan las concentraciones de triglicéridos (TG) en el músculo y disminuye la captación de glucosa por parte de este; provocando mayor RI creando un círculo vicioso, también se ha reportado que la acumulación de AGL provoca disfunción en las células β del páncreas, inhibiendo la secreción de insulina. Debido a estas hiperglucemias crónicas que presentan los sujetos con DT2 se ha reportado un aumento en la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) produciendo a su vez estrés oxidativo (EO).¹³ El EO se define como el resultado de un desequilibrio entre la producción de ERO y la capacidad antioxidante (sustancia que retrasa, previene, disminuye o remueve significativamente la oxidación de moléculas blanco).¹⁴ La elevación exagerada de los picos postprandiales en glucosa y lípidos genera exceso de radicales libres o ERO que pueden resultar en inflamación y/o disfunción endotelial.¹⁵ Además estas vías están ligadas a resistencia y disminución de la secreción de la insulina, características importantes en la fisiopatología de la DT2.

1.2.1 Perfil de aminoácidos en plasma y diabetes tipo 2

La RI no solo afecta el metabolismo de la glucosa, también se ven afectadas otras vías metabólicas como es la de los lípidos y aminoácidos, aunque esta última se ha estudiado menos y de alguna manera es más controversial. Wang et al¹⁶ estudiaron diversos metabolitos en plasma (aminoácidos, metabolitos derivados del triptófano y del ciclo de la urea, N-óxido de Trimetilamina (TMAO), glicerol, colina, betaína etc.) y su relación con una predicción a futuro de diabetes, encontrando 5 metabolitos significativos, resaltando como riesgo las concentraciones altas de leucina OR 3.6 (IC 95%1.61-8.29), seguidos por las concentraciones de isoleucina OR 3.14 (IC 95% 1.51- 6.55) y concentraciones de valina OR 3.14 (IC 95% 1.43-6.86), estos modelos fueron ajustados por edad, sexo, IMC y glucosa en ayuno. Indicando que existe una relación importante entre las altas concentraciones de aminoácidos de cadena ramificada y el desarrollo de diabetes.

Para explicar este enlace entre altas concentraciones de aminoácidos y desarrollo de DT2 se ha hipotetizado dos principales mecanismos; el primero se relaciona a que las tasas de degradación de la proteína en músculo e hígado son inhibidas a partir de la insulina, al existir la condición de RI esta promueve la aminoacidemia, aumentando la degradación de la proteína y por lo tanto aumentando los niveles de aminoácidos totales entre ellos los ACRR. Estas altas concentraciones de ACRR y de insulina promueven la activación persistente de mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) y a su vez la activación de la serina de la cinasa S6k1 promoviendo RI a través de la fosforilación de la serina del receptor de sustrato de insulina (IRS1).

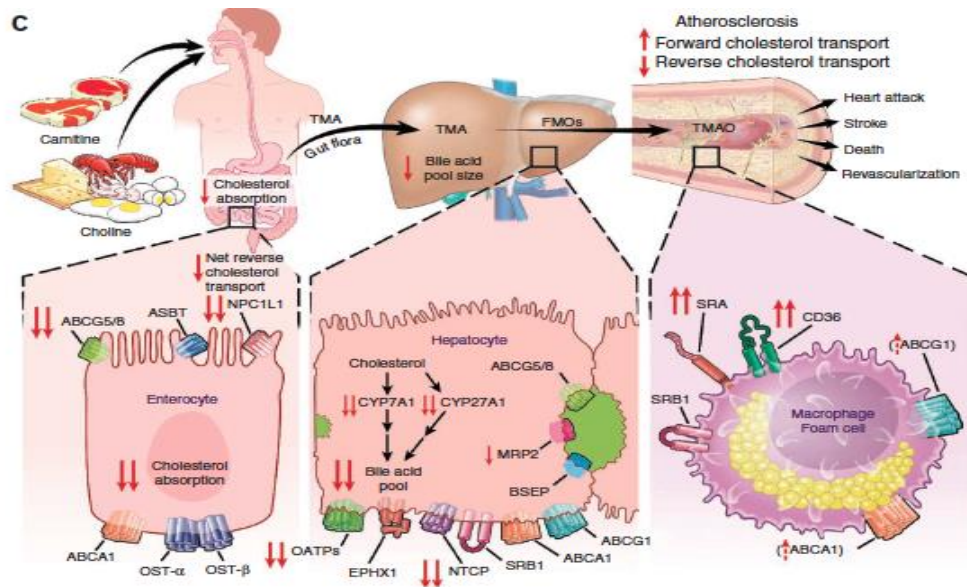
La segunda hipótesis está basada de igual manera en la aminoacidemia, este aumento de los AACR genera metabolitos tóxicos sobrellevando a una disfunción mitocondrial, estrés en la señalización y apoptosis de las células β del páncreas teniendo como resultado el desarrollo de DT2¹⁷. Dentro de estas hipótesis que manejan los mecanismos para desarrollo de RI y/o DT2 se deja entre ver otra posible causa desencadenada por las concentraciones altas de aminoácidos que involucra el metabolismo de los AACR y es la oxidación incompleta de ellos a través de la enzima deshidrogenasa de los ceoácidos de cadena ramificada (branched-chain α -keto acid dehydrogenase;BCKDH), ya que modelos de obesidad y en humanos con RI exhiben niveles reducidos de estas enzima en comparación con controles metabólicamente sanos. También se ha sugerido que la microbiota intestinal podría contribuir con un 20% de los niveles circulantes de ACRR¹⁸. Las especies que se han relacionado positivamente con los niveles de AACR son *B. Vulgatus*, *Prevotella copri*,¹⁹ y de manera negativa con *B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus*, *B. unifromis*.

1.2.2 Metabolismo del N-óxido de Trimetilamina (TMAO) y diabetes tipo 2

La diabetes tipo 2 conlleva un alto riesgo de desarrollo de enfermedad de las arterias coronarias siendo la primera causa de mortalidad en México. Se han descrito diversos mecanismos fisiopatológicos los cuales convergen en la pared vascular de

colesterol al interior del enterocito proveniente del lumen, y los transportadores ABC-ATPG5, ABC-ATPG8 quienes transportan afuera del enterocito promoviendo una menor absorción del colesterol (**Figura 3**)²².

Figura 3. Mecanismos propuestos del TMAO para promover aterosclerosis



Tomado de Koeth R. A, et al. Nature Medicine 2013²²

1.3 Microbiota Intestinal y su relación con la diabetes tipo 2

Entre los factores importantes que contribuyen a la susceptibilidad y control de la DT2, la microbiota intestinal ha sido foco de varios estudios. La microbiota intestinal se define como un conjunto de microorganismos que habitan en el tracto gastrointestinal a los cuales se le han atribuido diversas funciones como fermentación de hidratos de carbono complejos, la integridad de la barrera intestinal, producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), síntesis de vitamina K, estimulación a la respuesta inata y adaptativa del sistema inmune entre otros²³. Estas funciones atribuidas a la composición de la microbiota intestinal confieren homeostasis al hospedero, sin embargo en enfermedades crónicas degenerativas como la obesidad y la DT2 se ha descrito que la composición de la microbiota intestinal sufre un desequilibrio (disbiosis) es decir, la composición cambia en

comparación con sujetos sanos ya que se ha observado un incremento en el número de bacterias patógenas más que un cambio en bacterias específicas teniendo así una asociación directa con la patofisiología de la DT2. Se ha encontrado una disminución de bacterias que producen butirato²⁴, esto es importante por que el butirato es la fuente de energía preferida por las células sanas del sistema digestivo humano, entonces el prevenir la disminución o aumentar la abundancia de estas bacterias podría tener un rol protector contra la disbiosis²⁵.

Varios mecanismos han sido propuestos para explicar la influencia de la microbiota intestinal en la RI y DT2, dentro de los cuales se encuentran una endotoxemia metabólica, vías asociadas a la inflamación, modificaciones en la secreción de incretinas y la producción del butirato. En la endotoxemia metabólica, el lipopolisacárido (LPS) juega un papel importante, y se caracteriza por activar moléculas pro-inflamatorias. El LPS se transloca a través del epitelio dañando así la integridad de la barrera intestinal permitiendo la permeabilidad de esta²⁶. La atenuación del grado de inflamación derivado de la endotoxemia mediado por el LPS, así como la regulación de la disbiosis intestinal juegan un papel importante en el control de la RI y por ende en el control metabólico de la DT2. Por tal motivo en los últimos años ha aumentado la evidencia e investigación para la identificación de patrones dietarios, alimentos y/o componentes específicos para incrementar la diversidad bacteriana y promover el crecimiento de bacterias que producen altos niveles de metabolitos bioactivos benéficos para el hospedero. El consumo de fibra dietaria, los probióticos, prebióticos y los componentes bioactivos de los alimentos podrían tener un impacto positivo en la regulación de la disbiosis intestinal promoviendo el crecimiento de bacterias benéficas. Los cambios en la dieta pueden explicar hasta un 57% de la variación de la composición de la microbiota intestinal esto resulta importante por que la modificación en el plan de alimentación juega un papel decisivo en la restauración de la disbiosis.

1.4 Control metabólico en diabetes tipo 2

El tratamiento de la diabetes tiene como objetivo principal el control metabólico y en un segundo plano prevenir las complicaciones agudas y crónicas,

reduciendo así la mortalidad a causa de la enfermedad. Las metas básicas del tratamiento incluyen concentraciones adecuadas de glucosa, colesterol total, c-LDL, c-HDL, TG, presión arterial, índice de masa corporal (IMC), circunferencia de cintura y finalmente la hemoglobina glucosilada fracción 1c (HbA1c), estas metas y los criterios para evaluar el control del paciente se refieren en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Metas básicas del tratamiento para el control de DT2

<i>Metas del tratamiento.</i>			
Glucemia en ayuno.	70 -130 mg/dL	c-HDL. Hombres	>40 mg/dL
Glucemia postprandial de 2h.	<140 mg/dL	c-HDL. Mujeres	>50 mg/dL
HbA1c.	<7 %	Micro albuminuria.	<30 mg/día
Colesterol total.	<200 mg/dL	Presión arterial.	<130/80 mm de Hg
c-LDL.	<100 mg/dL	Circunferencia abdominal. Hombres	<90 cm
TG en ayuno.	<150 mg/dL	Circunferencia abdominal. Mujeres	<80 cm
IMC.	<24.9 kg/m ²		

Tomado y modificado de American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes³⁶

De acuerdo con datos analizados de la ENSANUT 2016, el porcentaje de casos que alcanzan el control con el tratamiento es bajo. En el análisis de una sub muestra se determinaron concentraciones de glucosa en ayuno y concentraciones de HbA1c se encontró que el promedio de glucosa fue de 159.7 mg/dL (IC 95% 149.8-169.7), y la HbA1c fue de 10.6 % (IC 95% 9.1- 11.2). Referente al control de perfil de lípidos en estos sujetos con DT2, se reportó que el 42.3% (IC 95% 39.5-45.2%) de la población refirió niveles elevados de colesterol total y el 72.3% (IC 95% 68.2-76.0) recibían tratamiento con algún hipolipemiante y el porcentaje de hipertensión arterial por diagnóstico previo fue de 46.9% (IC 95% 44.5-49.4). Como se puede observar de acuerdo a los datos obtenidos, el descontrol metabólico en esta población está presente a pesar de que se reportó que el 85.5% (IC 95% 83.6-87.3) tenía un tratamiento médico y el 72.4% (IC 95% 69.9-74.8) tenía tratamiento con hipoglucemiantes orales, pero solo 26.9% de la población (IC 95% 24.6-29.3) realizaba dieta y 10.3% (IC 95% 8.9-11.9) realizaba ejercicio³¹. Esto resulta importante porque deja ver un panorama en el énfasis de las recomendaciones referentes a alimentación para el control de la DT2.

Hemoglobina glucosilada (HbA1c) como parámetro de control metabólico y factor pronóstico de complicaciones

La hemoglobina es una de las proteínas que se someten a la glucosilación no enzimática, la fracción de la hemoglobina A1 incluye HbA1a, HbA1b, y la HbA1c, esta última se forma a partir de la hemoglobina y la glucosa ya que esta fracción tiene unión específica con la glucosa y además la reacción es irreversible; debido a que los eritrocitos son fácilmente permeables a la glucosa, la tasa de formación es directamente proporcional a la concentración ambiente de la glucosa en el que circulan los eritrocitos; debido a estas características la HbA1c constituye una medida fiable de la concentración promedio de glucosa en la sangre durante la vida útil de los eritrocitos es decir de 2 a 3 meses³². **Tabla 2**

Tabla 2. HbA1c como parámetro de control glucémico

	% de HbA1c	mg/dL de glucosa
<i>Valores normales</i>	< 5	89 (76-120)
<i>Pre diabetes</i>	5.7 – 6.4	126 (100-152)
<i>Diagnóstico de Diabetes</i>	> 6.5	154 (123-185)

Tomado y modificado de Nathan DM, et al. Diabetes Care 2008³³

Además de ser un buen estimador para el control de la glucemia, la HbA1c es también utilizada como factor pronóstico, ya que la mejoría del control glucémico reduce el riesgo de complicaciones asociadas con diabetes en sujetos con diabetes tipo 1 y 2 (Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) y el United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS). Ambos estudios mostraron que por cada 1% de reducción de HbA1c hay una reducción de riesgo del 21% (IC 95% 15-27) para muerte relacionada a DT2, una reducción de riesgo del 14% (IC 95% 8-21) para infarto agudo al miocardio, reducción de riesgo de 37% (IC 95% 33-41) para enfermedad microvascular³⁴⁻³⁵.

1.4.1 Terapia nutricional en diabetes tipo 2

Tanto el tratamiento farmacológico como el ejercicio juegan un papel importante en la disminución de la HbA1c y en el control metabólico en general, pero ninguno ha sido tan controversial como la dieta. Se han empleado diversas estrategias nutricionales para el control metabólico en los sujetos con DT2, dentro de las cuales se encuentra dietas con bajo índice glucémico (IG), dietas con un control específico en carbohidratos simples, colesterol y grasa saturadas, dietas con alto consumo de fibra dietaria y granos enteros.

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010 para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus, la dieta para el paciente con diabetes debe ser variada y con un consumo suficiente de verduras y frutas, hidratos de carbono complejos, fibra, con restricciones en el consumo de grasas y reducción o evitar el consumo de azúcares simples (miel, jaleas, dulces y bebidas azucaradas), con el objetivo de mantener concentraciones normales de glucosa en la sangre y disminuir los niveles de lípidos. Pacientes que presenten obesidad ($IMC \geq 30$) se sugiere dietas con restricción energética 20-25 kcal/día con base en el peso recomendable, iniciando una disminución del consumo habitual 250 a 500 kcal/día hasta alcanzar 1200 kcal/día para lograr una reducción de peso de 0.5 a 1.0 kg/semana.

Las guías nutricionales basadas en evidencia científica del Reino Unido (D.UK) recomiendan como primera estrategia nutricional el manejo de peso con una disminución modesta a la ingesta de calorías en general. Además del enfoque en los macronutrientes como un control en la cantidad y calidad de carbohidratos, reducciones en el consumo de grasa total y las grasas saturadas deben minimizarse y reemplazarse por grasas insaturadas con predominio en las grasas mono insaturadas. También recomienda el consumo de fibra de 24 g por día y dietas con IG bajo ya que se ha visto asociación con una disminución de la HbA1c.³⁶ La guía de alimentación de la American Diabetes Association (ADA) recomienda que las kilocalorías consumidas y los macros y micro nutrientes sean de acuerdo al IMC³⁷.

A continuación, en la **Tabla 3** se muestra una revisión de las características de la dieta de acuerdo a las guías Diabetes United Kingdom (D.UK) y la ADA.

Tabla 3. Recomendaciones plan de alimentación en DT2

<i>Componente dietario</i>	<i>Recomendación</i>	<i>Guía</i>
Balance de energía.	Sobrepeso u obesidad con DT2, (Diminución del aporte de energía manteniendo una dieta adecuada) para la pérdida de peso moderada con el objetivo de tener un mejor control de la glucemia, la presión arterial, y/o lípidos).	ADA
	El manejo del peso en sobrepeso y obesidad debe ser la primera estrategia para el control de glucosa.	D.UK
Combinación óptima de macronutrientes	No hay un porcentaje ideal del aporte de calorías de los carbohidratos, proteínas y grasas para todas las personas con diabetes, por lo tanto, la distribución de macronutrientes debe basarse en la evaluación individualizada de los actuales patrones alimentarios, preferencias y objetivos metabólicos.	ADA
Hábitos de consumo.	Una variedad de patrones de alimentación (combinaciones de diferentes alimentos o grupos de alimentos) son aceptables para el tratamiento de la diabetes. Las preferencias personales (por ejemplo, tradición, cultura, religión, creencias de salud y metas, economía) y objetivos metabólicos deben ser considerados cuando se recomienda un patrón de alimentación sobre otro.	ADA
Carbohidratos.	El monitoreo de la ingesta de hidratos de carbono es una estrategia clave para alcanzar el control glucémico. Preferir la ingesta de carbohidratos provenientes de las verduras, frutas, granos enteros, lácteos sobre productos con otras fuentes de hidratos de carbono en especialmente los que contienen grasas añadidas, azúcares, o sodio.	ADA
Índice glicémico.	Se sugiere sustituir los alimentos de carga de alto índice glucémico por aquellos alimentos con bajo de índice glucémico puede mejorar modestamente control de la glucemia.	ADA
	Dietas bajas en índice glucémico tienen una disminución de la HbA1c 0.5%.	D.UK
Fibra dietaria y granos enteros.	Las personas con diabetes deben consumir por lo menos la cantidad de fibra y granos enteros recomendado para el público en general.	ADA
	Los granos enteros tienen un efecto protector, asociado con una reducción de riesgo de 31% (3.5 porciones). Consumo de fibra de 24 g por día.	D.UK
Proteína.	No se recomienda la reducción de la cantidad de proteínas de la dieta por debajo de la ingesta habitual porque no altera las medidas de glucemia. Siempre y cuando el paciente no presente daño renal.	ADA
Grasas totales.	Tener énfasis en la calidad de la grasa ya que parece ser mucho más importante que la cantidad.	ADA
Grasas totales y saturadas.	El reemplazo de grasas saturadas por insaturadas tiene un efecto benéfico en la sensibilidad a la insulina.	D.UK
Grasas trans.	La ingesta de grasa trans debe ser limitada.	D.UK
Ácidos grasos omega 3	Un aumento en los alimentos que contienen los ácidos de cadena larga omega-3 los ácidos grasos (EPA y DHA) (de los pescados grasos) y	ADA

	omega-3 ácido linolénico (ALA) se recomienda para las personas con diabetes, debido a sus efectos beneficiosos en lipoproteínas y prevención de enfermedades del corazón.	
Estanoles y esteroides vegetales.	Las personas con diabetes y Dislipidemias pueden ser capaces de reducir modestamente el colesterol total y el c-LDL por el consumo de 1.6-3 g/día de esteroides o estanoles. Se sugiere el consumo diario de alimentos enriquecidos con esteroides vegetales o estanoles (2-3 g/día) ya que mejora significativamente el colesterol total y el c-LDL para las personas con diabetes.	ADA D.UK
Los micronutrientes y suplementos de hierbas.	No hay pruebas claras del beneficio de suplementos y/o minerales en las personas con diabetes que no tienen deficiencias subyacentes. (Vitamina B3, cromo, magnesio, antioxidantes, vitamina D, zinc). Se requieren investigaciones más robustas en micronutrientes, suplementos y alimentos funcionales antes de poder hacer recomendaciones adicionales sobre la seguridad y eficacia.	ADA D.UK

Tomada y modificada de las guías de ADA³⁶ y las guías de Reino Unido³⁵.

1.5 Alimentos Funcionales: nuevas tendencias de alimentación para el control en diabetes tipo 2

Las estrategias dietarias utilizadas en el manejo nutricional para mejorar el control glucémico y reducir el riesgo de complicaciones necesitan estar basadas en evidencias científicas y diseñadas específicamente para sujetos con DT2. Recientemente ha habido una tendencia mundial por el consumo de alimentos funcionales con beneficios para la salud tomando en cuenta la evidencia científica. Los alimentos funcionales (AF) son alimentos que además de aportar un valor nutritivo, proveen componentes bioactivos dando un beneficio específico sobre la salud reduciendo el riesgo a desarrollar una enfermedad y se consumen como parte de una dieta variada de forma regular³⁸.

La American Dietetic Association (ADA) apoya la investigación para avanzar y definir los beneficios de salud y riesgos de alimentos funcionales individuales y sus componentes fisiológicamente activos. Las declaraciones de las propiedades saludables de los AF deben basarse en la investigación científica de acuerdo a los estándares de evidencia contando con estudios in vitro, en animales, pero sobre todo en ensayos clínicos de intervención bien diseñados con una eficacia clínica sustancial que es esencial para la aprobación de una declaración de propiedades saludables. En la literatura están reportados el impacto de diversos alimentos

funcionales para el manejo y prevención de DT2. Un ejemplo de estos es el ajo con su componente bioactivo *Alli Sativi Bulbus* al que se le atribuye una disminución de los niveles séricos de glucosa³⁹. El ginseng gracias a sus componentes como saponinas (ginsenósidos) polisacáridos y peptidoglucanos tienen un efecto en la disminución de la absorción de glucosa⁴⁰. La avena que por sus componentes como son la fibra dietética (β -glucanos) tiene un efecto hipocolesterolemizante además de disminuir glucosa e insulina⁴¹. La canela que por su efecto antioxidante mejora lípidos y glucosa en sangre⁴². El nopal (*Opuntia Ficus Indica*) por sus componentes como polifenoles, fibra soluble tiene un efecto en disminución de picos postprandiales de glucosa, disminución de niveles de péptido insulínico dependientes de glucosa (GIP) e incremento de la actividad antioxidante⁴³. Estos son tan solo algunos de los ejemplos de AF reportado en la literatura para el manejo y control de la DT2.

1.6 Portafolio Dietario

Previos estudios en el departamento de Fisiología de la Nutrición del Instituto Nacional de ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) han demostrado que la combinación de dos o más alimentos funcionales puede tener un mayor beneficio para la salud que uno solo, a esta combinación de alimentos funcionales se denomina portafolios dietarios (PD). Un PD está definido como un conjunto de dos o más alimentos funcionales diseñados para normalizar los parámetros bioquímicos de una enfermedad específica y para una población específica⁴⁴. Los estudios realizados con PD se encuentran descritos en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Estudios reportados con uso de Portafolios dietarios

Población (n)	Componentes de la intervención	Diseño del estudio	Variable Desenlace (% de cambio)	Autor
Sujetos con hipercolesterolemia (31)	33g soya 9g fibra soluble.	Cruzado (1 mes)	-6.2% colesterol total +6.7% c-LDL +6.3% c-HDL	Jenkins, 1999 ⁴⁵

<i>Sujetos con hiperlipidemia (13)</i>	Por 1000 kcal: 1g esteroides de plantas, 23g proteína de soja, 9g fibra viscosa.	Antes y después (1 mes)	-29% c-LDL. -19.1 TG	Jenkins, 2002 ⁴⁶
<i>Sujetos con hiperlipidemia (13)</i>	Por 1000 kcal: 1.2g fitoesteroides, 16.2g soja, 8.3g fibra soluble, 16.6g almendras.	Paralelo (1 mes)	-35% c-LDL -26.6% c-LDL -26.7% Apo B	Jenkins, 2003 ⁴⁷
<i>Sujetos con hiperlipidemia (46).</i>	Por 1000 kcal: 1g fitoesteroides, 21.4g soja, 10g fibra soluble, 14g almendras.	Paralelo (1 mes)	-28.6% c-LDL -29% PCR	Jenkins, 2003 ⁴⁸
<i>Sujetos con hipercolesterolemia (36)</i>	8g soja 2g fitoesteroides	Antes y después (1.3 meses)	-11.6% c-LDL	Cicero, 2004 ⁴⁹
<i>Sujetos con hiperlipidemia. (34)</i>	Por 1000 kcal: 1g esteroides de plantas, 23g proteína de soja, 9g fibra viscosa, 14g almendra.	Cruzado (1 mes).	-29.6% c-LDL	Jones, 2005 ⁵⁰
<i>Sujetos con y sin DT2 (16, 18)</i>	1.8g esteroides vegetales, 10g β-glucanos.	Estudio cruzado aleatorizado (4 fases de 21 días)	-17.5% c-LDL	Yoshida, 2006 ⁵¹
<i>Sujetos con hipercolesterolemia (59)</i>	30g soja. 4g fitoesteroides.	Paralelo (3 meses)	-14.8% c-LDL -44.8% TG	Lukaczer, 2006 ⁵²
<i>Sujetos con hipercolesterolemia moderada (43).</i>	25g soja, 15g fibra soluble.	Antes y después (3 meses)	-20.6% Colesterol Total. -19.8% c-LDL. -40.4% TG	Torres, 2008 ⁵³
<i>Sujetos con Síndrome metabólico (67).</i>	7g nopal, deshidratado 4g semilla de chía, 22g avena, 32g proteína de soja.	ECA (2.5 meses)	-14.2% TG -33.8% ABC de insulina. -18.6% PCR.	Guevara, 2012 ⁵⁴
<i>Sujetos con hiperlipidemia (351)</i>	Proteína soja Fibra viscosa Frutos secos	Estudio paralelo con 3 grupos (6 meses)	-18.3% c-LDL	Ramprath, 2014 ⁵⁵
<i>Sujetos con DT2 y post cirugía bypass (30).</i>	Por 1000 kcal: 8g fibra viscosa, 17g proteína de soja, 22g almendras.	ECA (1.5 meses)	-19% c-LDL -21.7% homocisteína	Keith, 2014. ⁵⁶

Sujetos con hiperlipidemia (159)	Por 1000 kcal:		-0.8c-LDL	
	22.5 g proteína de soya, 9.8g fibra viscosa, 22.5g nueces, 0,94g esteroleos.	ECA (6 meses)	-1.8 PAD -0.8 colesterol total -0.2 Apo B	Jenkins, 2015 ⁵⁷

Como se puede observar en la revisión, la mayoría de los estudios con uso de PD están enfocados en sujetos con hipercolesterolemia o hiperlipidemia, sin embargo, existen solo dos enfocados a sujetos con DT2 de los cuáles las variables desenlaces estuvieron centradas sólo al control de lípidos, viéndose un cambio significativo en c-LDL y en concentraciones de homocisteína. Dentro de esta revisión también encontramos dos enfocados en población mexicana, pero dirigidos a sujetos con hipercolesterolemia moderada y síndrome metabólico (SM). Por tal motivo el propósito del presente trabajo es estudiar el efecto de un PD diseñado para el control metabólico en sujetos con DT2. Las características de cada componente se describen a continuación.

1.6.1 Nopal (*Opuntia*, sp)

El nopal es uno de los alimentos típicos en México este alimento permanece a la familia de cactáceas, solo aporta 27 kcal/ 100g de producto, y es considerado un AF ya que contiene componentes bioactivos como β - carotenos, vitamina C y polifenoles como la quercetina, el kaempherol y la isorhamentina confiriéndole al nopal capacidad antioxidante. Su composición promedio se encuentra en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Composición promedio del nopal

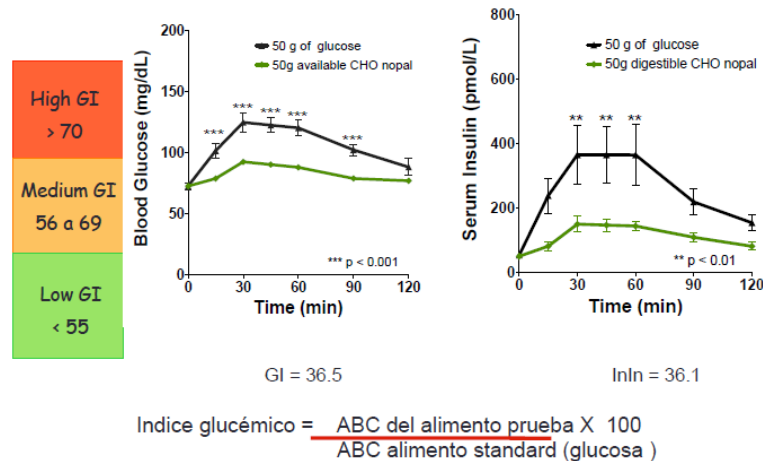
	g/100g
Proteína	1.07
Carbohidratos	1.42
Grasa	No detectable
Cenizas	0.75
Humedad	94.88
Fibra soluble	0.17
Fibra insoluble	1.71

Tomado de López- Romero P, et al. The FASEB Journal 2008 ⁵⁷

Una de las características principales de este alimento y que lo hace apto para el consumo de sujetos con DT2 es que se ha demostrado que el IG y el índice

insulinémico del nopal son 32.1 ± 4 y 36.1 ± 6.1 respectivamente, los cuales se consideran bajos (**Figura 4**)⁵⁸.

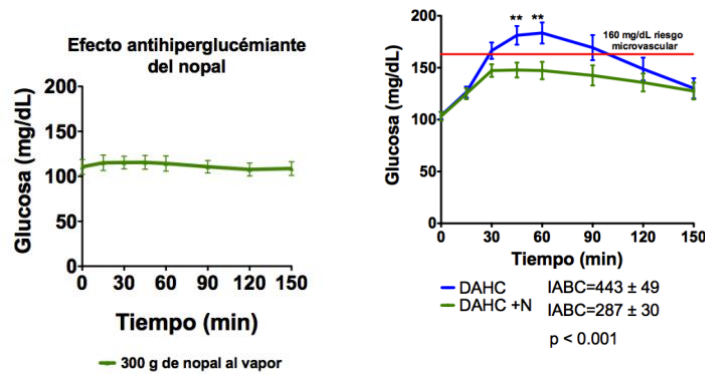
Figura 4. Índice glucémico e insulinémico del nopal



Tomado de López- Romero P, et al. The FASEB Journal 2008 ⁵⁷

Recientes estudios en el Departamento de Fisiología de la Nutrición han demostrado que el consumo de nopal no tiene un efecto hipoglucemiante sino antihiperoglucemiante, a esta conclusión se llegó después de llevar a cabo un estudio clínico realizados en sujetos con DT2 en el que consumieron 300g de nopal al vapor en donde se vio que después de su consumo disminuye significativamente los picos postprandiales de glucosa, siendo significativos el tiempo 45 y 60 minutos después de su consumo teniendo una disminución en el tiempo 60 minutos de 183.8 ± 9 mg/dL a 144.1 ± 9 mg/dL; y una disminución del incremento del área bajo la curva (iABC) de 443 ± 49 a 287 ± 30 ($p < 0.001$) **Figura 5** y además de que disminuyó los picos del péptido gastrointestinal insulínico dependiente de glucosa (GIP), también se encontró que aumenta la actividad antioxidante en suero disminuyendo la formación de especies reactivas ⁵⁹.

Figura 5. Efecto antihiper glucemiante del nopal



Tomado de López-Romero P, et al. J Acad Nutr Diet. 2014;⁵⁸

En sujetos obesos y con DT2 se ha demostrado que el consumo de nopal produce una disminución significativa en el colesterol total, TG y glucosa en plasma⁶⁰. Por otro lado, se ha demostrado en ratas obesas Zucker fa/fa que el consumo de nopal atenúa significativamente la esteatosis hepática mediante un aumento de la oxidación de ácidos grasos, disminuyendo el estrés oxidativo y mejorando la señalización de insulina, probablemente debido a la presencia de antioxidantes y fibra soluble⁶¹.

1.6.2 Soya

La soya (*Glycine max*) es una leguminosa, que representa una importante fuente de proteína con una calificación química de 1, es decir, cumple con los requerimientos nutricionales de aminoácidos en humanos. Esta proteína puede servir como la fuente principal, o incluso única, de la ingesta de proteínas ya que su valor es esencialmente equivalente a las proteínas de los alimentos de origen animal⁶², es considerado un AF por sus componentes bioactivos como lo son el perfil de aminoácidos y las isoflavonas dentro de las que se encuentra la genisteína.

Estudios realizados con Soya

Se ha demostrado que el consumo de proteína de soya por tiempo prolongado no permite que se eleven las concentraciones de insulina, como se observa cuando se consume proteína de origen animal⁶³, y se reportó que este efecto es por el perfil

de aminoácidos de la soya y las isoflavonas presentes⁶⁴; al reducir las concentraciones de insulina, se disminuye la expresión génica del factor de transcripción de la proteína ligada al elemento de respuesta a esteroides (Sterol-regulatory element-binding protein; SREBP-1) el cual controla la expresión de genes de la biosíntesis de ácidos grasos en el hígado⁶⁵ y el tejido adiposo, y por lo tanto disminuye la lipotoxicidad⁶⁶. El consumo de proteína de soya disminuye la expresión de genes lipogénicos y aumenta la expresión de genes responsables de la oxidación de ácidos grasos en animales diabéticos⁶⁷. También se ha reportado que las isoflavonas en especial la genisteína en músculo activa la proteína cinasa activada por AMP (AMP-activated protein kinase (AMPK)) aumentando la actividad del gen de la enzima carnitil palmitoil transferasa (CPT-1) teniendo un efecto en el aumento de oxidación de ácidos grasos, disminución de TG y finalmente una disminución de RI en músculo. Por otro lado, en el hígado activa AMPK y a través de esta proteína regula la fosforilación del receptor x del hígado (LXR) que por una vía inhibe la expresión génica de SREBP-1 disminuyendo así la lipogénesis en hígado y por otra vía estimula la expresión de los transportadores ABC-ATPG5 y ABC-ATPG8 aumentando la excreción de colesterol en el hígado⁶⁸ **Figura 6.**

Estos efectos son de gran importancia por el posible beneficio que puede tener el consumo de proteína de soya en personas con DT2, ya que el consumo de 15 a 25g de proteína de soya podría reducir o retrasar el desarrollo de resistencia a la insulina. En estudios realizados en sujetos con DT2 se ha reportado que la inclusión de 30, 45 y 60 g/día de proteína de soya reduce los niveles de glucosa, TG y colesterol total⁶⁹. Un ensayo clínico aleatorizado en mujeres con DT2 y la suplementación de 30g de proteína de soya en 3 meses reportó una disminución de HbA1c (% de cambio; grupo soya $-0.64 \pm 3.19\%$, grupo placebo $+9.92 \pm 29.1\%$ $p=0.006$), también mostró una disminución de insulina en ayuno (% de cambio; grupo soya $-8.09 \pm 21.9\%$, grupo placebo $+1.08 \pm 3.90\%$ $p=0.048$), y una disminución del índice HOMA-IR (% de cambio; grupo soya $-6.47 \pm 27.7\%$, grupo placebo $+14.7 \pm 32.1\%$ $p=0.003$)⁷⁰.

(PPAR α) aumentando la oxidación de los ácidos grasos a través de una inducción del gen de la enzima CPT-1, e inhibiendo la acción del factor de transcripción SREBP-1⁷⁵ disminuyendo la lipogénesis. Por otra parte, un estudio doble ciego, controlado, con placebo y aleatorizado con diferentes dosis de chía en 11 sujetos sanos reportó una reducción del iABC de glucosa en sangre de 41% para quienes consumieron una dosis alta (24g), 28% para quienes consumieron una dosis media (15g) y 21% para los que consumieron una dosis baja (7g); de tal manera que se asoció significativamente el aumento de las dosis de chía con los iABCs de glucosa ($p= 0.002$, $r=0.45$).⁷⁶

1.6.4 Inulina

La inulina es un carbohidrato que pertenece a una clase de compuestos conocidos como fructanos. Debido a que la inulina es resistente a la digestión en el tracto gastrointestinal superior llega el intestino grueso de manera casi intacta, donde es fermentada por bacterias endógenas. Por lo tanto, puede ser clasificado como una fibra dietética soluble. Se ha demostrado que las fibras solubles modulan los lípidos séricos. La inulina se encuentra generalmente en vegetales y frutas sobre todos en la cebolla, ajo, raíces de achicoria, plátano y trigo. El consumo de 5-8 g/día estimula el crecimiento de las bifidobacterias las cuales inhiben el crecimiento de bacterias perjudiciales.

Estudios realizados con Inulina

Se ha reportada evidencia convincente que indica que la ingesta de los fructanos tipo inulina tiene efectos beneficiosos sobre los lípidos en la sangre; los datos presentado en la **Tabla 6** muestran algunos resultados a favor en la disminución del porcentaje de cambio de lípidos.

Tabla 6. Intervenciones con fructanos en la respuesta de lípidos

<i>ESTUDIO</i>	<i>SUJETOS (n)</i>	<i>CARACTERÍSTICAS</i>	<i>FRUCTANOS</i>	<i>CAMBIOS</i>
Yamashita et al.	18	Diabetes	Oligofructosa 8g	Col -6%
Hidaka et al.	37	Hipercolesterolemia	Oligofructosa 20g	Col -8%
Davidson et al.	21	Hipercolesterolemia	Inulina 18g	Col -9%
Jackson et al.	54	Hipercolesterolemia Hipertrigliceridemia.	Inulina 10g	TG -19%
Causey et al.	12	Hipertrigliceridemia.	Inulina 20g	TG -14%
Balazar et al.	12	Hipercolesterolemia Hipertrigliceridemia.	Inulina 7g	Col -20 % TG -14%

Tomado y modificado de Williams C.M. et al. *British Journal of Nutrition*, 2002⁷⁷

Por otro lado, en un estudio aleatorizado, doble ciego, cruzado se reportó que el consumo de 18g/día de inulina disminuyó el c-LDL (-14,4%) y el colesterol total (-8,7%) y sólo reportó malestares gastrointestinal leves durante el consumo de la inulina⁷⁸.

Las estrategias terapéuticas basadas en la dieta han sido usadas para disminuir la disbiosis o desequilibrio en la microbiota intestinal hacia un perfil favorable, el uso de prebióticos en especial la inulina no ha sido la excepción; Healey et al⁷⁹ reportaron que el consumo de 16g/día de inulina tuvo cambios en la composición de la microbiota a nivel de género cambió 0.1% en *Lactobacillus* (p=0.025), 0.8% en *Ruminococcus* (p=0.018) y 0.3% en *Faecalobacterium* (p=0.009) en comparación con el grupo placebo. Por otro lado, Vandeputte et al⁸⁰ reportaron cambios en el porcentaje de abundancia de *Bifidobacterium* y *Anaerostipes* al alza y una disminución significativa de *Bilophila*. Debido a la evidencia científica reportada en numerosas publicaciones que el consumo de prebióticos modifica de manera favorable la microbiota intestinal y con ellos mejora el perfil metabólico, se incluyó a la inulina como prebiótico para poder reestablecer el equilibrio entre las bacterias y aumentar el contenido de bifidobacterias; además del beneficio en la reducción de lípidos.

2.- Planteamiento del problema

De acuerdo con las encuestas nacionales de salud y nutrición, la incidencia de DT2 se ha incrementado en la población mexicana y se estima que seguirá en aumento en los próximos años. A pesar de que las recomendaciones generales para el control de la DT2 están descritas, la última encuesta de salud y nutrición estimó en una sub-muestra que la de HbA1c fue de 10.6% (IC 95% 9.1-11.2); y de glucosa en ayuno 159.7 mg/dL (IC 95% 149.8-169.7). De acuerdo con los estándares de control la mayoría se encuentra en un descontrol de regular a malo; a pesar de que el 85.5% de las personas recibían tratamiento médico para la hiperglucemia y solo el 26.8% de los sujetos reconocieron haber modificado su alimentación como parte del tratamiento.

La HbA1c resulta ser un buen parámetro de control y se ha visto que la reducción de 1% de HbA1c reduce 21% (IC 95% 15-27) el riesgo de muerte relacionada a DT2, 14% (IC 95% 8-21) riesgo de infarto agudo al miocardio, y 37% (IC 95% 33 - 41) riesgo de enfermedad microvascular. Este descontrol metabólico en los sujetos con DT2 alerta sobre la necesidad de fortalecer e implementar estrategias dietarias en conjunto con el tratamiento nutricional y farmacológico que permitan contener este grave problema de salud pública. De esta forma, se considera que el uso de alimentos funcionales para el control de metabólico de DT2 y la sinergia de ellos en un portafolio dietario en este caso compuesto por nopal, proteína de soya, semillas de chía e inulina, formulado para sujetos con DT2 puede ser importante para modular la microbiota intestinal y con ello tener un mejor control metabólico en tratamiento de la DT2 lo que ayudará a disminuir las complicaciones micro y macrovasculares. **Figura 7.**

Figura 7. Uso de alimentos funcionales para el control de metabólico de DT2



3.- Pregunta de Investigación

¿Los sujetos con DT2 que consumen el portafolio dietario (soya, nopal, chía e inulina) tendrán una mejor respuesta en la concentración de HbA1c, control metabólico y composición del microbiota intestinal, con respecto a los sujetos que consumen placebo en un periodo de tres meses?

4.- Justificación

El objetivo del manejo clínico en la DT2 es un óptimo control en las anormalidades metabólicas comunes; tradicionalmente el enfoque de control ha sido aplicado a la dieta, actividad física regular y medicación apropiada, y ninguno ha sido tan controversial como la dieta.

La disminución modesta pero importante al realizar un plan de alimentación por 6 meses tiene una reducción de la HbA1c de 0.4-0.6%; los antihiperoglucemiantes como la metformina tiene una reducción de 1-2 % y finalmente el ejercicio moderado y de manera frecuente tiene un impacto en la reducción de la HbA1c de 0.5-1%. Los alimentos funcionales han jugado un papel importante en el control de parámetros bioquímicos y de igual manera el uso de PD. Se sabe que la dieta podría tener una modulación de hasta el 57% en la composición de la microbiota intestinal y con ello un impacto en el control metabólico.

En este caso se propone un PD específico para el control de las alteraciones metabólicas y cambios favorables en la composición de la microbiota intestinal, basándonos en 4 alimentos funcionales: nopal, soya, chíá e inulina; ya que estos componentes son de fácil acceso, sin efectos colaterales y bajo costo, y debido a que aún no ha sido estudiado el uso de PD en esta población y sabiendo que la combinación de los alimentos funcionales que contengan componentes como ácidos grasos omega 3, proteína vegetal, fibra soluble, antioxidantes, polifenoles y prebióticos como el PD que presentamos, pudiera aumentar la pertinencia de la dieta como un apoyo a la modalidad del tratamiento de la DT2 en México. Además, el estudio de estas intervenciones es importante ya que se requieren investigaciones más robustas del uso de AF en esta población, para poder hacer recomendaciones adicionales al plan de alimentación y sustentar el impacto en la modulación de la Microbiota intestinal y el manejo del descontrol metabólico en la DT2 y con esto la prevención de complicaciones.

5.- Objetivos

Objetivo general

Estudiar el efecto de un PD (soya, nopal, chía e inulina) sobre las concentraciones de HbA1c en sujetos con DT2 en un periodo de 3 meses.

Objetivos específicos

*Comparar el cambio en la composición de la microbiota intestinal, antes y después de la intervención en los sujetos que consuman el PD vs los que consuman P en un periodo de 3 meses.

*Comparar la concentración sanguínea de HbA1c en pacientes con DT2 que consuman el PD vs los que consuman P en un periodo de 3 meses.

*Comparar la concentración sanguínea de glucosa, perfil de lípidos en pacientes con DT2 que consuman el PD vs los que consuman P en un periodo de 3 meses.

*Comparar la concentración AGL y glicerol en pacientes con DT2 que consuman el PD vs los que consuman P en un periodo de 3 meses.

*Comparar los parámetros antropométricos (circunferencia de cintura, IMC, masa magra, masa grasa) y medición de presión arterial en pacientes con DT2 que consuman un PD vs los que consuman P en un periodo de 3 meses.

Objetivos secundarios

*Comparar el cambio en la capacidad antioxidante medida por DPPH y daño oxidante mediante malondialdeído (MDA) en plasma en los sujetos que consuman el PD vs los que consuman P en un periodo de 3 meses.

*Comparar el área bajo la curva de glucosa, insulina, antes y después de la intervención en los sujetos que consuman el PD vs los que consuman P en un periodo de 3 meses.

*Comparar el perfil de aminoácidos en plasma en los sujetos que consuman el PD vs los que consuman P en un periodo de 3 meses.

*Comparar las concentraciones de colina, betaína y TMAO en plasma en los sujetos que consuman el PD vs los que consuman P en un periodo de 3 meses.

6.- Hipótesis

Los sujetos con DT2 que consumen el portafolio dietario (soya, nopal, chía e inulina) tendrán una disminución en la concentración de HbA1c ≥ 0.5 %, en comparación con los sujetos que consuman placebo en un periodo de tres meses.

Hipótesis Secundarias

Los sujetos con DT2 que consumen el portafolio dietario (soya, nopal, chía e inulina) tendrán un cambio favorable en la composición de la microbiota intestinal, es decir, aumentarán bacterias benéficas y disminuirán bacterias patógenas, en comparación con los sujetos que consuman placebo en un periodo de tres meses.

Los sujetos con DT2 que consumen el portafolio dietario (soya, nopal, chía e inulina) tendrán una menor concentración de colesterol total, c-LDL, TG, en comparación con los sujetos que consuman placebo en un periodo de tres meses.

Los sujetos con DT2 que consumen el portafolio dietario (soya, nopal, chía e inulina) tendrán una mayor concentración de c-HDL, en comparación con los sujetos que consuman placebo en un periodo de tres meses.

Los sujetos con DT2 que consumen el portafolio dietario (soya, nopal, chía e inulina) tendrán una disminución en el daño oxidante medido por MDA y un aumento en la capacidad antioxidante medida por DPPH en comparación con los sujetos que consuman placebo en un periodo de tres meses.

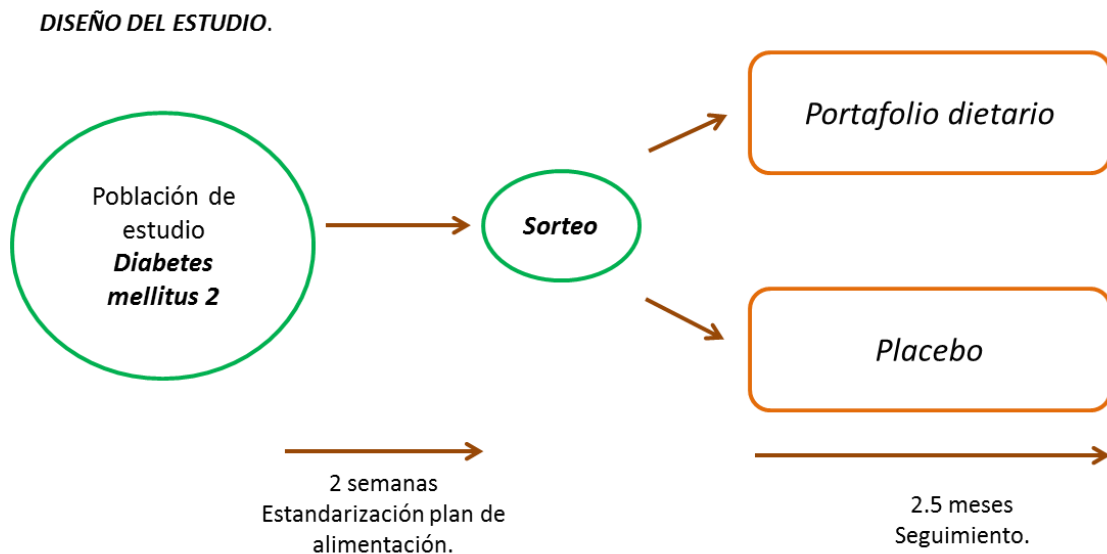
Los sujetos con DT2 que consumen el portafolio dietario (soya, nopal, chía e inulina) tendrán una menor área bajo la curva de glucosa e insulina, en comparación con los sujetos que consuman placebo en un periodo de tres meses.

7.- Metodología

7.1 Diseño

Para cumplir con los objetivos del presente estudio se planteó un ensayo clínico controlado, aleatorizado, doble ciego y paralelo, con duración de 3 meses.

Figura 8. Diseño del estudio.



7.2 Población y muestra

7.2.1 Tamaño de la muestra

Se calculó un tamaño de muestra a través de la fórmula de comparación de dos medias, la n calculada fue de 60 sujetos (30 por grupo), determinando un poder de 80% con un valor de $\alpha = 0.05$; el tamaño del efecto considerado fue de 0.6% en reducción de HbA1c. Con una desviación estándar de 0.75%⁸¹ y agregado un 20% por pérdidas durante el estudio

Fórmula de comparación de dos medias

$$n = 2s^2 (Z\alpha + Z\beta)^2 / \Delta^2$$

$$\begin{aligned} n &= 2(0.75)^2 (1.96 + 0.84)^2 / (0.6)^2 \\ n &= 2 (0.5625)(7.84)/0.36 \\ n &= 8.82/0.36 \\ n &= 24.5 \end{aligned}$$

HbA1c	
s	0.75
Δ	0.6 %
Zα	0.84 (80%)
Zβ	1.96 (0.05)

$$n = 24.5 + 20\% = 29.4 \text{ por grupo}$$

60 sujetos en total

J Am Board Fam Med 2009;22:507-512.

7.2.2 Criterios de selección

Selección de pacientes

Se seleccionaron a los sujetos que cumplieron con los criterios de inclusión, captados por medio de anuncios que se colocaron en diferentes hospitales del sur de la Ciudad de México (Hospital Gea González, Instituto Nacional de Pediatría, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Instituto Mexicano de Psiquiatría, Instituto Nacional de Cancerología, INCMNSZ).

Criterios de Inclusión

- Paciente con diagnóstico de DT2 realizado por médico
- Masculino o femenino
- Adultos entre 30 y 60 años
- IMC de 25 a 39.9 kg/m²
- Tratamiento farmacológico con metformina, combinación de metformina y glibenclamida
- Evolución de la DT2 de 4 ± 3 años
- Pacientes que sabían leer y escribir
- Firma del consentimiento informado

Criterios de Exclusión

- a) Pacientes con enfermedades adquiridas que produzcan secundariamente obesidad
- b) Pacientes que sufrieron algún evento cardiovascular
- c) Pérdida de peso > 3 kg en los últimos 3 meses posterior a la evaluación de los criterios
- d) Enfermedades catabólicas como cáncer y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida
- e) Estado de gravidez
- f) Tabaquismo positivo
- g) Tratamiento con medicamentos:
- h) Tratamiento con fármacos antihipertensivos (diuréticos tiacídicos, de asa o ahorradores de potasio, IECA, bloqueadores de los receptores de la angiotensina II, alfa bloqueadores, calcio antagonista, beta bloqueadores).
- i) Tratamiento con otros hipoglucemiantes que no fueron metformina, o la combinación de metformina + glibenclamida (alfa glucosidasas, tiazolidinedionas o cualquiera de estas combinado con metformina, metilglinidas, incretinas u otras biguanidas) o insulina
- j) Tratamiento con estatinas, fibratos u otros fármacos para control de la dislipidemia, 6 meses antes del inicio del protocolo
- k) Cualquier droga o medicamento que activen la motilidad intestinal
- l) Uso de laxantes o antiespasmódicos 4 semanas antes del estudio
- m) Tratamiento con antibióticos 6 meses antes del estudio
- n) Uso de esteroides, quimioterapia, inmunosupresores o radioterapia
- o) Descontrol metabólico de la DT2, refiriéndose esta con la concentración de HbA1c $\geq 9.9\%$
- p) Glucosa en ayuno ≥ 220 mg/dL
- q) Colesterol en ayuno ≥ 240 mg/dL
- r) TG en ayuno ≥ 350 mg/dL
- s) Creatinina sérica en mujeres > 1.2 mg/dL en hombre > 1.3 mg/dL

Criterios de eliminación

- a) Pacientes que no llevaron apego al plan de alimentación en más del 80%.
- b) Pacientes que no llevaron apego al tratamiento (PD o P) en más del 80%
- c) Uso de estatinas durante el estudio

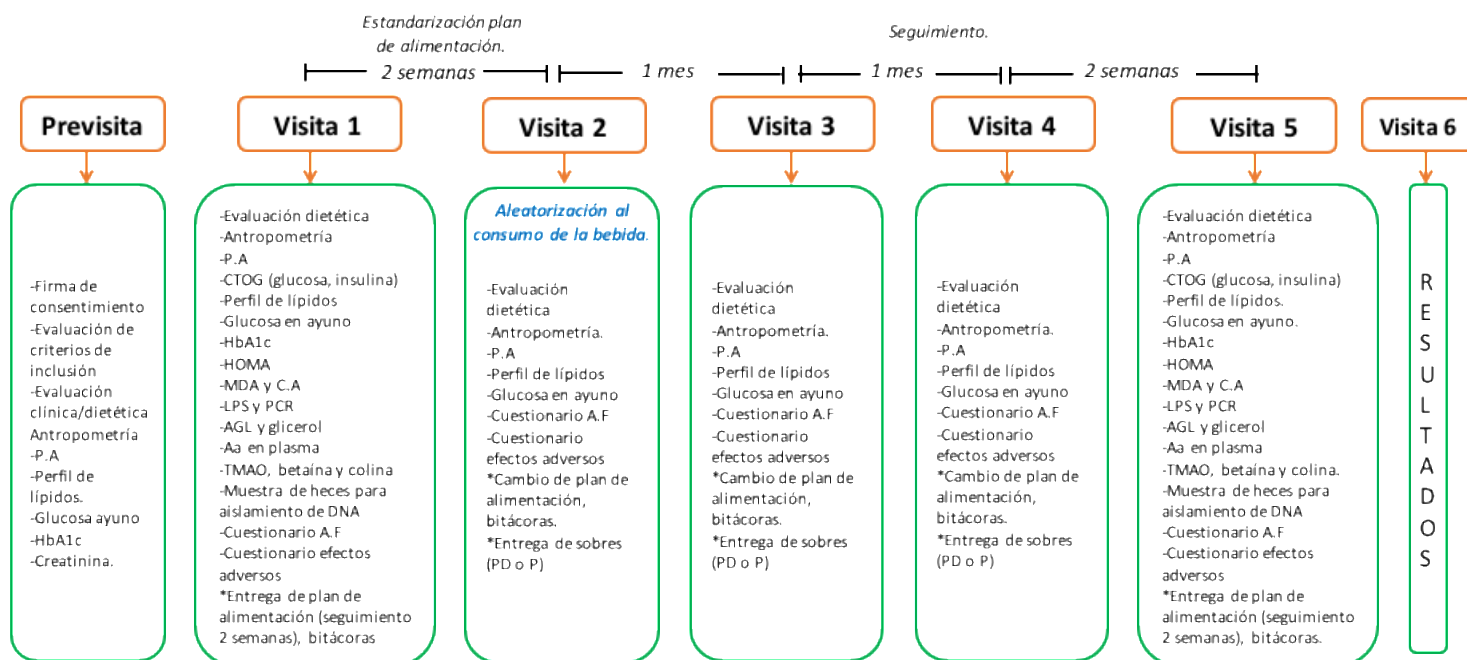
7.3 Descripción general del estudio (procedimientos y lugar en que se lleva a cabo)

El protocolo se llevó a cabo en el INCMNSZ en el sexto piso de la Unidad de Pacientes Ambulatorios (UPA) donde se contó con consultorios para ver pacientes y un área de toma de muestra (con centrifuga para después de la toma de muestra), además de tener un consultorio especial para determinación de composición corporal por medio de impedancia eléctrica (Inbody), el estadímetro. Las determinaciones de los parámetros bioquímicos y aislamiento de DNA en heces se realizaron en el laboratorio del departamento de Fisiología de la Nutrición.

Descripción de los procedimientos durante la intervención

El protocolo consistió en una pre-visita, 5 visitas subsecuentes y una sexta visita para entrega de resultados al participante a continuación se describen cada una de estas vistas. **Figura 9.**

Figura 9. Procedimientos de cada visita durante la intervención



Evaluación clínica: Antecedentes heredofamiliares, antecedentes personales, terapia farmacológica. **Evaluación nutricional:** recordatorio de 24 hrs. (1 entre semana y 1 fin de semana). **Antropometría:** peso, talla, circunferencia de cintura, cadera, composición corporal. **Perfil de lípidos:** determinaciones de c-HDL, c-LDL, triglicéridos y colesterol total. **Bitácoras:** Bitácoras de alimentación por semana 2 entre semana y 1 de fin de semana. **EROS:** Especies reactivas de oxígeno. **C.A:** Capacidad Antioxidante. **PD:** portafolio dietario. **P:** placebo. **HbA1c:** hemoglobina glucosilada. **Cuestionario de efectos adversos:** CTCAE Common terminology criteria for adverse events. **Cuestionario A.F:** cuestionario de actividad física IPAQ. **CTOG:** Curva de tolerancia oral a la glucosa 2hr con una carga de 75g de glucosa anhidra. **PA:** Presión Arterial. **Aa:** Aminoácidos. **TMAO:** Trimetil amino-oxidado.

En la **pre-visita** se evaluaron a los sujetos para determinar si cumplían con los criterios de inclusión. Se les pidió asistir con un ayuno de 12 horas, aquellos con esquema de medicamento para el control de la glucosa se les pidió que no lo tomaran para evitar que fuera una variable al momento de medir las concentraciones de glucosa; estando en el hospital se les explicó en qué consistía el estudio, las características, los riesgos y los beneficios esperados después de la intervención, se les pidió leyera la carta de consentimiento, la hoja de informe y se aclararon dudas al respecto, si el participante aceptó estar en el estudio se realizó la firmas de las cartas de consentimiento. En esta pre-visita se tomaron 10 mL de sangre para medir perfil de lípidos (c-HDL, c-LDL, TG y colesterol total), glucosa, creatinina y un tubo con EDTA donde se determinó HbA1c, además se les realizó la historia clínica (**Anexo 1**) con medidas antropométricas (peso, talla, circunferencia de cintura, cadera, composición corporal), evaluación nutricional por recordatorio de 24 horas (1 entre semana y 1 de fin de semana) (**Anexo 2**),

Cuestionario de actividad física International physical activity questionnaire (IPAQ) (**Anexo 3**) y se les midió la presión arterial.

En la **visita 1 y 5** que fueron las visitas inicial y final del estudio se realizaron los mismos procedimientos (solo que la visita 5 se llevó a cabo 3 meses después de que empezó su visita 1) que se describen a continuación: los participantes asistieron a la UPA con ayuno de 12 horas se le tomó 14 mL de sangre total para la determinación de diferentes parámetros bioquímicos (colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, TG, capacidad antioxidante, daño oxidante por MDA, AGL, glicerol, HbA1c, LPS, PCR, concentraciones de aminoácidos en plasma, TMAO, betaína, colina). Se le realizó una curva de tolerancia oral a la glucosa (CTOG) con una duración de 2 horas en la cual el participante permaneció sentado se le puncionó la vena en el brazo para colocar un catéter de venoclisis periférico de 0.9 mm de diámetro y longitud de 2.5 cm conectado a un adaptador, se tomaron muestras a través del adaptador del catéter, cada muestra tuvo un volumen de 3 mL de sangre total para obtención de glucosa e insulina en el minuto 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos de la prueba. Después del minuto 0 al participante se le dio a tomar 75g de glucosa anhidra diluida en 250 mL de agua.

En estas mismas visitas a los participantes se les realizó un seguimiento de visitas (**Anexo 4**) donde se anotaron los parámetros antropométricos, clínicos, dosis de medicamento, presión arterial, kilocalorías del plan de alimentación que se llevó el participante, se hizo la evaluación nutricional (**Anexo 2**) y el cuestionario de Actividad física IPAQ (**Anexo 3**). La presión arterial se midió con un baumanómetro digital mientras el participante permaneció sentado con el brazo derecho descubierto. (La medición se realizó durante 6 veces, en intervalos de 3 minutos); se descartó la primera medición y se reportó el promedio de las mediciones restantes.

En la **visita 1** los participantes recibieron un plan de alimentación para estandarizarlos, el cuál fue diseñado de acuerdo a los lineamientos de la ADA

(American Diabetes Association; standards of medical care in Diabetes) como se describe en la **Tabla 7**. Este plan de alimentación fue hipocalórico con reducción de 500 calorías de acuerdo a lo que los participantes consumían en ese momento; las calorías de su dieta habitual fueron analizadas a través de 2 recordatorios de 24 horas que se realizaron en la pre-visita, el plan de alimentación se explicó de forma individual al participante y recibieron 15 menús (**Anexo 5**), para las 2 semanas de estandarización de la dieta y además se les explicó el uso de equivalentes de alimentos y se les dio un listado de este (**Anexo 6**), con la finalidad de que el participante pudiera hacer intercambios en caso necesario y tuviera un mayor apego al plan de alimentación. Se les enseñó a los participantes a llenar las bitácoras de alimentación (**Anexo 7**) con la intención de que reportaron su alimentación a través de bitácoras de alimentación, el participante reportó 2 días entre semana y 1 de fin semana evaluando así el apego a la dieta.

Tabla 7. Características de plan de alimentación

Macro/ micronutriente	Recomendación
Calorías*	Hipocalórico
Hidratos de carbono	45-55 % del VCT.
Proteína	15-20% del VCT.
Grasas totales	25 - 35 % del VCT.
Grasas saturadas	< 7% del VCT.
Ácidos grasos trans	< 1% del VCT.
Colesterol	< 200 mg/día.
Fibra	20 a 35 g/día.
Sodio**	2000-2300 mg/día.

Tomado y modificado de American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes³⁶

En esta misma visita se les entregó a los participantes 4 envases para recolección de muestras de heces, una hielera para transportar la muestra y un gel para congelar con la finalidad de que las muestras se conservaran en el mejor estado posible. Se les pidió a los participantes que la muestra fuera del día en la mañana previa a su visita o de una noche anterior, el participante recolectó entre 1 a 2 gramos en cada tubo, se le pidió los colocará en la hielera con el gel congelado para transportarlo al hospital. Se citó al participante a los 15 días.

En la **visita 2** el participante asistió a la UPA en ayuno de 12 horas, se le tomaron

5 mL de sangre total para la determinación de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, TG, glucosa. En esta visita el participante entregó sus bitácoras de alimentación completas y además se le preguntó información sobre su alimentación con un recordatorio de 24 horas (**Anexo 2**), se les realizó el seguimiento de visitas (**Anexo 4**) que consistió de medidas antropométricas mencionadas anteriormente y la toma de presión arterial. A partir de esta visita se le realizó el cuestionario de efectos adversos Common terminology criteria for adverse events (CTCAE). (**Anexo 8**).

El participante fue aleatorizado al azar al grupo de PD o P, ellos recibieron 60 sobres de PD (nopal, chía, soya, e inulina) o placebo, estos sobres contenían polvo para disolverse en 250 mL de agua, de los cuales consumió 2 sobres por día (15 minutos antes del desayuno y 15 minutos antes de la comida). Se le enseñó al participante como preparar la bebida. Se entregó un formato donde anotaron los días que tomaron la bebida (placebo y/o portafolio dietario) (**Anexo 9**) con la finalidad de supervisar el apego a la toma, además se les pidió que juntaran los sobres vacíos una vez que lo tomaran y lo llevaron a su siguiente visita para cotejar la información reportada en el apego de la bebida.

Debido a la inclusión de la bebida, al plan de alimentación que llevaron las dos semanas previas se le realizó una disminución de 200 kcal (esto debido a que el PD y el placebo tenían 200 kcal); y se cambiaron los menús de alimentación de acuerdo a la kcal que le tocaron en esta visita. El participante entregó sus bitácoras que llenó con anterioridad y se le entregaron bitácoras nuevas (**Anexo 7**).

En la **visita 3 y 4** los participantes asistieron en ayuno de 12 horas a la UPA se les realizó el seguimiento de visitas (**Anexo 4**) con medidas antropométricas, peso, talla, circunferencia de cintura, cadera, composición corporal, y presión arterial; y se les realizó dos recordatorios de 24 hr. (**Anexo 2**) (1 entre semana y 1 fin de semana), el cuestionario de actividad física IPAQ (**Anexo 3**), también se les realizó el cuestionario de efectos adversos CTCAE (**Anexo 8**) y se entregó un formato donde anotaron los días que tomaron las bebidas (**Anexo 9**) con la finalidad de supervisar el apego a la toma de la bebida además se le pidió que juntaran los sobres vacíos

una vez que lo tomaran y los llevaron a su próxima visita.

Se les tomó 5 mL de sangre para determinar las concentraciones de colesterol total, c-LDL, c-HDL, TG y glucosa.

En cada una de estas visitas se realizó la entrega de sobres (PD o placebo) para 1 mes (60 sobres aproximadamente por caja). Se les recordó cómo preparar la bebida. El participante entregó sus bitácoras que llenó con anterioridad y se le entregaron bitácoras nuevas (**Anexo 7**).

En la **visita 6** los participantes fueron convocados a una reunión donde se le dio los resultados por escrito, además de un plan de alimentación utilizando equivalentes, se les enseñó a realizar el PD en su domicilio a través de nopal, chía, soya, avena e inulina y se aclararon dudas. Se refirieron con su médico para su seguimiento con sus resultados de laboratorio.

7.4 Descripción de las intervenciones

Se asignaron dos intervenciones de acuerdo a la metodología del estudio, para evaluar el efecto del PD.

Portafolio dietario y placebo

Se realizaron las intervenciones de la siguiente manera:

- **Intervención A (portafolio dietario):** A base de nopal deshidratado, semilla de chía, proteína de soya, e inulina.

Los participantes iniciaron el consumo de PD en conjunto con el plan de alimentación el cual fue ajustando para restar las calorías que el PD aportó. La duración del consumo del PD y el plan de alimentación fue por 2.5 meses.

- **Intervención B (placebo):** A base de caseinato de calcio y maltodextrinas.

Los participantes iniciaron el consumo del placebo en conjunto con el plan de alimentación el cual fue ajustando para restar las calorías que aportó el placebo. La duración del consumo del placebo y el plan de alimentación fue por 2.5 meses.

El placebo y el PD fueron administrados en forma de polvo, con previa homogenización de los ingredientes.

La toma de los sobres fue antes del desayuno y la comida, el sobre del desayuno tuvo un gramaje de 17.3 g y el de la comida 34.7 g. **Tabla 8.**

Tabla 8. Composición y calorías del portafolio dietario y placebo

<i>Total, contenido por día</i>		
Macronutrientos	Portafolio Dietario	Placebo
	30g de proteína de soya 14g de nopal deshidratado 4g de semilla de chía 4g de inulina	28g de caseinato de calcio 15g de maltodextrina
Hidratos de carbono	15.05g / 60.2 kcal	14.15g / 56.6 kcal
Lípidos	2.2 g /19.8 kcal	0.42g / 3.78 kcal
Proteína	25.25g / 101 kcal	24.77g / 99.1 kcal
Kilocalorías totales	181 kcal	159.5 kcal

Antes del consumo del PD se realizó una evaluación sensorial con la finalidad de conocer la aceptación de la bebida. Se evaluó color, aroma, sabor y dulzor. De manera general la bebida tuvo una buena aceptación por parte de los evaluadores como se muestra en la **Tabla 9**

Tabla 9. Evaluación sensorial del Portafolio Dietario

Variable a Evaluar	n	%
Color:		
Me desagrada mucho	0	0
Me desagrada	5	16.7
Ni me gusta ni me desagrada	10	33.3
Me gusta	14	46.7
Me gusta mucho	1	3.3

El color es:		
Mucho menos intenso de lo que me gusta	0	0
Menos intenso de lo que me gusta	8	26.7
Tal como me gusta	14	46.7
Más intenso de lo que me gusta	6	20
Mucho más intenso de lo que me gusta	2	6.7
Aroma:		
Me desagrada mucho	0	0
Me desagrada	1	3.3
Ni me gusta ni me desagrada	3	10
Me gusta	22	73.3
Me gusta mucho	4	13.3
Sabor:		
Me desagrada mucho	0	0
Me desagrada	6	20
Ni me gusta ni me desagrada	10	33.3
Me gusta	10	33.3
Me gusta mucho	4	13.3
Dulzor:		
Me desagrada mucho	1	3.3
Me desagrada	5	16.7
Ni me gusta ni me desagrada	3	10
Me gusta	18	60
Me gusta mucho	3	10
Dulzor es:		
Mucho menos intenso de lo que me gusta	0	0
Menos intenso de lo que me gusta	2	6.7
Tal como me gusta	18	60
Más intenso de lo que me gusta	7	23.3
Mucho más intenso de lo que me gusta	3	10

Se analizó el índice glucémico de la bebida el cual no fue determinado debido a que la norma ISO 26642 para la determinación del índice glucémico en alimentos⁸² en el apartado 5.5 menciona que para realizar la prueba la porción del alimento deberá contener 50 g de carbohidratos y que se hará excepción del análisis a aquellos productos que contengan menos de 10 g de carbohidratos por porción debido a que el índice glucémico es bajo. Al realizar el análisis del contenido de carbohidratos de los sobres conteniendo los alimentos funcionales, la cantidad de carbohidratos está por debajo de 10 g, es decir, el IG de la bebida es bajo **Tabla 10**.

Tabla 10. Contenido de Carbohidratos por sobre de la bebida

	Portafolio Dietario					
	<i>Sobre para el desayuno</i>			<i>Sobre para la comida</i>		
	<i>Gramos de producto</i>	<i>Gramos de carbohidratos</i>	<i>Fibra</i>	<i>Gramos de producto</i>	<i>Gramos de carbohidratos</i>	<i>Fibra</i>
Soya	10	0.736	0.56	20	1.472	1.12
Nopal	4.7	1.166	1.739	9.3	2.307	3.441
Chía	1.3	0.5475	0.4472	2.7	1.137	0.928
Inulina	1.3	0.065	1.235	2.7	0.135	2.565
Total	17.3	2.514	3.98	34.7	5.051	8.0548

Sorteo de la maniobra

El sorteo fue realizado en bloques. Los participantes se dividieron en dos tratamientos, utilizando bloques fijos de cuatro celdas, con apoyo de una tabla de números aleatorios. Una vez asignado el número en cada bloque, se utilizaron las combinaciones de tratamientos. Esta asignación al azar se llevó a cabo por una persona ajena al estudio.

Cegamiento de la maniobra

El PD y el placebo fueron empaquetados de manera idéntica en apariencia, tanto el investigador como el participante desconoció que tipo de maniobra fue asignado. Los sobres fueron distribuidos por una persona ajena al estudio que fue la misma que realizó la asignación al azar. El personal del estudio y los participantes estuvieron cegados durante la asignación y ejecución de las intervenciones en el estudio. En tanto que en el ensayo se estableció una separación entre el personal que realizó las mediciones de los participantes y la persona que entregó los sobres. Los sobres entregados para la toma fueron 2 por día, los sobres de placebo se igualaron gramos, calorías, color, apariencia, sabor al del PD.

Similitud de la intervención.

El placebo se ajustó con el fin de que adquiriera la misma apariencia de los sobres del PD (el mismo color, tamaño, sabor y aporte calórico).

7.5 Operacionalización de las variables

Variable	Definición	Tipo de variable	Escala de medición
HbA1c	Unión de la hemoglobina a productos avanzados de la glucosilación no enzimática de las proteínas, la fracción 1c es la glucosilación irreversible y refleja el promedio de las glucosas de 120 días.	Cuantitativa continua	%
Glucosa en ayuno	La concentración de glucosa en la sangre con 12 horas de ayuno colorimetría enzimática.	Cuantitativa continua	mg/dL
Insulina	Concentración de insulina en la sangre con 12 horas de ayuno.	Cuantitativa continua	μUI/mL
HOMA	(Evaluación del modelo homeostático), Cociente para estimar la resistencia a la insulina por medio de la multiplicación de la glucosa por la insulina entre la constante 40.5	Cuantitativa continua	Unidad arbitraria.
Creatinina sérica	Cantidad de creatinina existente en suero.	Cuantitativa continua	mg/dL
Capacidad Antioxidante	Determinación de la actividad antioxidante por medio del método de 2,2-difenil-picrilhidracilo (DPPH)	Cuantitativa continua	% de atrapamiento de DPPH
Daño oxidante	Medición de la reacción del tiobarbitúrico con el malondialdeído (MDA), producto este del desdoblamiento de los hidro-peróxidos en plasma de los pacientes	Cuantitativa continua	uM/L
Colesterol sérico total	Medición de colesterol sérico por medio de colorimetría enzimática.	Cuantitativa continua	mg/dL
Colesterol-HDL	Medición de lipoproteína de alta densidad de colesterol por método de inmuno inhibición.	Cuantitativa continua	mg/dL
Colesterol-LDL	Medición de la lipoproteína de baja densidad de colesterol con el método inmuno-químico directo.	Cuantitativa continua	mg/dL
TG	Medición de los TG séricos por el método de colorimetría enzimática.	Cuantitativa continua	mg/dL
Presión arterial sistólica	Corresponde al valor máximo de la presión arterial cuando el corazón está en sístole.	Cuantitativa continua	mmHg
Presión arterial diastólica	Corresponde al valor mínimo de la presión arterial cuando el corazón está en diástole.	Cuantitativa continua	mmHg
Peso corporal	Medida en kilogramos, mediante la báscula Inbody 720	Cuantitativa continúa	Kg
Circunferencia de cintura	Medida en centímetros del punto medio entre la cresta iliaca y el arco subcostal, al final de una espiración normal mediante una cinta métrica ajustada milimétricamente.	Cuantitativa continúa	Cm.
Masa grasa	Impedancia bioeléctrica con Inbody 720.	Cuantitativa continúa	Porcentaje
Masa magra	Impedancia bioeléctrica con Inbody 720.	Cuantitativa continúa	Porcentaje
Área bajo la curva de glucosa	Es el área obtenida por la regla de los trapezoides, después de realizar una CTOG por 2 horas y de medir la concentración de glucosa en el minuto 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120.	Cuantitativa continúa	mg/dL·2 hr

Área bajo la curva de insulina	Es el área obtenida por la regla de los trapezoides, después de realizar una CTOG por 2 horas y de medir la concentración de insulina en el minuto 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120.	Cuantitativa continua	μU/ml. 2 hr
Edad	Tiempo transcurrido desde su nacimiento hasta el momento.	Cuantitativa continua	Años
Sexo	Condición anatómica que distingue al hombre de la mujer.	Dicotómico	Masculino / femenino
Apego a la dieta	Valorado por recordatorio de 24 horas y por una bitácora cada tres días.	Cuantitativa continua	Porcentaje
Actividad física	Cantidad de ejercicio que realiza durante la intervención.	Cuantitativa Continua /Cualitativa categórica	METs / Leve, moderada e intensa.
Ácidos grasos libres	Determinación colorimétrica enzimática de AGL en plasma.	Cuantitativa continua	mmol/L
Glicerol	Determinación enzimática cuantitativa de glicerol en plasma.	Cuantitativa continua	mmol/L
Lipopolisacárido	Determinación de LPS en plasma por la técnica de sándwich ELISA	Cuantitativa continua	ng/mL
Microbiota intestinal	Determinación del porcentaje de la abundancia relativa del phylum, género y especies de la microbiota intestinal	Cuantitativa Cualitativa	%
Proteína C reactiva	Medición de la PCR sérica por el método fotométrico.	Cuantitativa continua	mg/dL
Aminoácidos en plasma	Determinación en plasma de aminoácidos a través de cromatografía líquida de alta eficacia.	Cuantitativa continua	μM
TMAO, betaína y colina	Determinación en plasma de TMAO, betaína y colina a través de cromatografía líquida acoplada con espectrometría de masas en tándem.	Cuantitativa continua	μmol/L

Frecuencia de la medición de las variables.

Variable	Pre-visita	V-1	V-2	V-3	V-4	V-5
1.- Historia clínica	✓					
2.- Recordatorio 24H	✓	✓	✓	✓	✓	✓
3.- IPAQ		✓	✓	✓	✓	✓
4.- Antropometría	✓	✓	✓	✓	✓	✓
5.- Presión arterial	✓	✓	✓	✓	✓	✓
6.- Glucosa en ayuno	✓	✓	✓	✓	✓	✓
7.- Insulina en ayuno	✓	✓	✓	✓	✓	✓
8.- Colesterol total	✓	✓	✓	✓	✓	✓
9.- Colesterol-HDL	✓	✓	✓	✓	✓	✓
10.- Colesterol-LDL	✓	✓	✓	✓	✓	✓
11.-TG	✓	✓	✓	✓	✓	✓
12.- HbA1c	✓	✓				✓
13.-Creatinina	✓					

14.-Glicerol	✓	✓				✓
15.- AGL	✓	✓				✓
16.-Capacidad antioxidante		✓				✓
17.-Daño oxidante		✓				✓
18.-Curva de tolerancia oral a la glucosa (2 horas)		✓				✓
19.-Aminoácidos en plasma		✓				✓
20.-Colina, betaína y TMAO		✓				✓
21.- Cuestionario efectos adversos		✓	✓	✓	✓	✓
22. LPS		✓				✓
23.-Cuantificación de phyla, género y especie en la microbiota intestinal		✓				✓
24.-PCR		✓				✓

7.6 Técnicas y aparatos utilizados en las mediciones de variables

Determinación de parámetros bioquímicos.

Todas las muestras de sangre de los pacientes se obtuvieron después de un ayuno de 12 horas. Posteriormente, las muestras de sangre se centrifugaron a una velocidad de 3000 rpm por 10 minutos y se separó el suero o plasma (dependiendo del tubo que se utilizó), el cual se mantuvo a una temperatura de -70° hasta su análisis.

Perfil de lípidos y creatinina: las concentraciones en suero de colesterol total y de los TG se determinaron por métodos enzimáticos (Cobas c111). El c-HDL, el c-LDL, la PCR y la creatinina se determinaron por método homogéneo, enzimático y fotométrico (Cobas c111).

Curva de tolerancia oral a la glucosa por 2 hr (CTOG 2h). Al participante se le pidió asistir con 12 horas de ayuno, se le colocó un catéter para obtener una muestra venosa de 3 mL cada una y se determinó la cantidad de insulina y glucosa en los

tiempos 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos después de haber consumido 75 g de glucosa. Las concentraciones de glucosa en suero se determinaron por radiación ultravioleta y método enzimático de referencia empleando hexocinasa (Cobas c111). La concentración de insulina fue determinada en suero usando el kit de ELISA (ALPCO).

HbA1c: se recolectó en un tubo con EDTA se midió en sangre total a través de fotometría de absorción (Cobas c111)

Medidas antropométricas

La circunferencia de cintura se midió utilizando la siguiente técnica: se tomó entre la mitad de la última costilla y la cresta iliaca, mediante una cinta métrica flexible marca SECA con capacidad de 200 cm y una exactitud de 1 mm.

La estatura se tomó con un estadímetro electrónico de pared, se le pidió al participante subirse sin zapatos y permanecer derecho en plano de Frankfort hasta que el brazo del aparato bajara a su cabeza e hiciera la medición.⁸³

El peso, porcentaje de masa magra y masa magra se realizó a través de bioimpedancia con el aparato Inbody 720, con la menor ropa posible, sin zapatos y sin calcetas y/o medias se le pidió al participante pararse en los 2 electrodos que se encuentran en los pies y tomar los otros dos con las manos.

Estas actividades fueron efectuadas por personas previamente estandarizadas (cegadas para el grupo en el que se encontraba cada participante).

Evaluación clínica

La presión arterial se midió con un baumanómetro digital (Omron, HEM-78INT), mientras la persona permaneció sentada con el brazo derecho descubierto. La medición se realizó durante 5 veces, en intervalos de 3 minutos. Las primeras dos medidas (0 y 3 minutos) no fueron tomadas en cuenta, en tanto que las últimas 4 mediciones (6, 9, 12 y 15 minutos) fueron promediadas para determinar la presión sistólica y diastólica.

Daño oxidante

La determinación de la actividad antioxidante se realizó por el método DPPH. El método de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo se utiliza para evaluar la actividad antioxidante de un compuesto o de una mezcla. Se basa en la reducción del DPPH, un radical libre que por su electrón desapareado presenta absorbancia a 517 nm (púrpura) y en presencia de un antioxidante (donador de hidrógeno o electrones) la absorbancia disminuye. A partir del ensayo con DPPH se obtiene la concentración efectiva (IC) que se define como la concentración a la cual se disminuye en un 50% con respecto a la inicial de DPPH.

Determinación de estrés oxidativo se determinó lipoperoxidación mediante determinación de las concentraciones de malondialdehído (MDA). El MDA se determinó por medio de análisis espectrofotométrico.

Glicerol y ácidos grasos libres

El glicerol será determinado en plasma por hidrólisis enzimática cuantitativa por medio de la lipasa en glicerol y ácidos grasos libres, la absorbancia de la reacción se midió en el lector de placas a 540 nm. Se utilizó el reactivo Free glicerol reagent de Sigma. Los ácidos grasos libres se determinaron en plasma por test colorimétrico enzimático cuantitativo, la absorbancia se midió en 2 puntos 546 nm y 660 nm, se utilizó el kit free fatty acid de Roche.

Actividad física

La actividad física se midió por el cuestionario de actividad física IPAQ este cuestionario es un instrumento internacional con el cual se puede comparar, cuantificar y categorizar la actividad física. Se eligió ya que es un cuestionario corto (7 ítems) que se puede aplicar en poco tiempo y puede ser auto-administrado. El resultado puede ser dado en variables continua como METs/minutos/semana y se puede categorizar la actividad física de la forma siguiente: Actividad física baja (<600 METs/minutos/Semana); Actividad física moderada (≥600 a <3000 METs/minutos/Semana) y Actividad física Alta (≥3000 METs/minutos/Semana). Se tomó y se recolectó en forma cuantitativa y cualitativa.

Cuantificación del apego a la dieta

La cuantificación del apego a la dieta se realizó a través de 2 recordatorios de 24 horas (1 entre semana y 1 de fin de semana) estos se le realizaron al participante cuando acudió a sus vistas además se utilizó las bitácoras de alimentación (2 de entre semana y 1 de fin semana) estas bitácoras el participante las llenó en casa por cada semana de la intervención⁸⁴; el recordatorio de 24 horas se utilizó con la ayuda visual de réplicas de alimento y el nutrikit (fotos reales de alimentos) para una mejor estimación de los alimentos; tanto los recordatorios de 24 horas como las bitácoras de alimentos se levantaron el reporte de los alimentos consumidos, ingredientes de la preparación, la cantidad y la manera de preparación así como la hora y lugar de consumo, se analizaron a través del software Food Processor SQL donde además de estimarse los macronutrientes y calorías se determinaron la estimación de algunos micronutrientes.

Cuantificación de apego a la bebida

Se le pidió al participante registrar en el formato de apego de toma de bebida (placebo o PD) (**Anexo 9**) los días que consumió la bebida, este formato es un calendario que donde palmeaba si tomó el sobre del desayuno y el de la comida, además se contó el número de palomas que reportó el participante de los días que tomó la bebida por un mes, se le cambió el calendario en cada visita; como medida extra se le pidió llevar a la consulta los sobres vacíos que consumió durante el mes. Se cuantifico el número de sobres vacíos.

Resistencia a la insulina (HOMA)

La estimación de RI se hizo a través del siguiente cálculo:

$$HOMA-IR = \frac{\text{Glucosa } \left(\frac{mg}{dL}\right) \times \text{Insulina } \left(\frac{uUI}{mL}\right)}{405}$$

Basado en la glucemia e insulina basal en ayuno y dividido a través de la constante 405, el punto de corte para RI fue de 2.5.

Lipopolisacárido

La determinación de la cantidad de lipopolisacárido presente en plasma fue determinando mediante un ensayo de ELISA sándwich usando el kit USCN Life Science®.

Determinación de aminoácidos totales en plasma

La determinación de aminoácidos en plasma se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta eficacia (High performance liquid chromatography HPLC). La determinación de aminoácidos se realizó a través de un análisis cuantitativo a mediante su derivatización usando o-ftalaldehído (OPA) para aminoácidos primarios y 9-fluorenilmetilcloroformato (FEMOC) para aminoácidos secundarios. El procedimiento se llevó a cabo a través de un robot de muestreo (Robot G1367F) acoplado a un HPLC (Agilent 1260 infinity) y a un detector de fluorescencia (Detector G1321B). Se utilizó una columna (Agilent ZORBAX Eclipse AAA). Los aminoácidos fueron caracterizados a través de su tiempo de retención comparado con estándares puros. La fase móvil fue compuesta por dos soluciones Solución A Buffer de fosfatos 40 mM pH 7.8 y la solución B, la cual es una mezcla de acetonitrilo: metanol: agua (45:45:10 v/v). El gradiente de solución fue:

Tiempo (min)	% Solución B
0	0
1.9	0
18.1	57
18.6	100
22.3	100
23.2	0
26	0

El detector se usó a las longitudes de excitación 340 nm y de emisión 450 nm. La columna se mantuvo a una temperatura de 40° C.

TMAO, colina y betaína

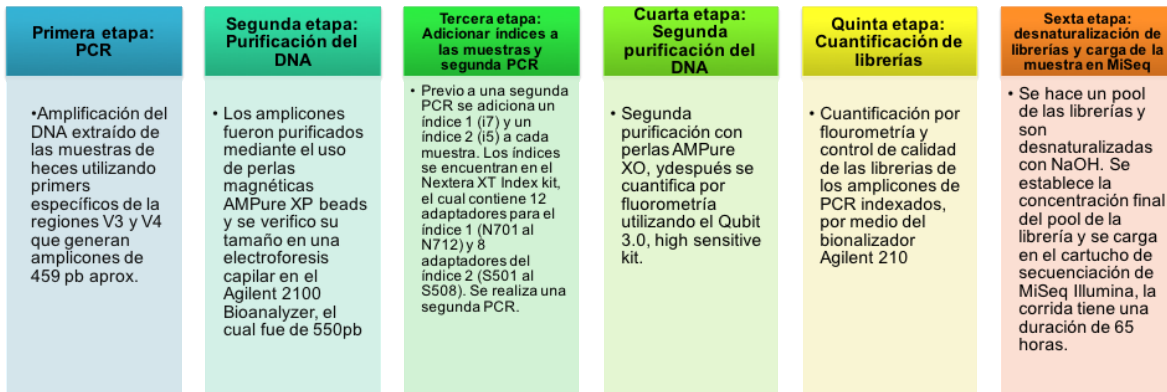
La concentración plasmática de TMAO, colina y betaína se midió por duplicado en plasma mediante cromatografía líquida acoplada con espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS), utilizando método de Holm et al⁸⁵, con algunas

modificaciones, descritas en la metodología de Yan J et al ⁸⁶. En resumen, las muestras de plasma se mezclaron con una solución de acetonitrilo compuesta de ácido fórmico al 0.1% y patrones internos (13 C3 -TMAO; d13-colina). Las muestras se agitaron con vortex vigorosamente para coagular las proteínas, y luego se centrifugaron, el sobrenadante se inyectó en la LC-MS/MS. Los coeficientes de variación (CV) inter ensayo para colina y TMAO fueron 2.5% y 3.7% respectivamente, y los controles internos 2.6% y 4.4% para cada metabolito.

Microbiota Intestinal

La extracción de DNA en muestras de heces fecales se realizó mediante el uso de columnas de QIAGEN® usando el QIAamp fast DNA Stool Mini Kit. La concentración de DNA y pureza se cuantificó mediante el NanoDrop 2000. Se realizaron rangos dinámicos para determinar la concentración de DNA a utilizar en la reacción en cadena de la polimerasa del proceso de caracterización de las Phyla bacterianas. **Figura 10.** El análisis de la composición de la microbiota se realizó por la amplificación de las secuencias de las regiones hipervariables V3 y V4 del gen rRNA usando el par primer 5´- TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-3´ y 5´-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGAC-3´⁸⁷ para generar amplicones de 459 bp que fueron secuenciados en la plataforma de MiSeq Illumina. Las salidas de las secuencias fueron analizadas usando el programa Quantitative Insights into Microbial Ecology (QIIME) versión 1.9.1⁸⁸. Los pares de lectura finales del 16s fueron ensamblados usando el script `multiple_join_pired_ends.py`, que unen las lecturas forward y reverse. Los resultados de las salidas finales fueron procesados para evaluar la calidad filtrando por `Split_libraries_fastq.py`. Las secuencias con alta calidad fueron agrupadas en Operational Taxonomic Units (OTUs) con una secuencia idéntica con un rango de 97%, de similitud y la taxonomía fue asignada con la base de datos de Greengenes. La Beta diversidad fue evaluada por el cálculo de distancias Unifrac weighted y unweighted⁸⁹. Para el estudio de la Alpha diversidad, se estimó el índice de diversidad de Shannon.

Figura 10. Procedimiento para secuenciamiento de DNA de la microbiota intestinal



Tomado y modificado de Sánchez-Tapia M, et al. Sci Rep. 2017⁹⁰

8 Consideraciones éticas

El protocolo fue sometido a los comités de ética e investigación del INCMNSZ se aprobó en marzo del 2014 con el número de REF 1165.

8.1 Carta de consentimiento

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO:
ESTUDIO DEL EFECTO DEL CONSUMO DE UN PORTAFOLIO DIETARIO (SOYA, NOPAL, CHIA E
INULINA) EN PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2.
1 DE DICIEMBRE DEL 2013, PRIMERA VERSIÓN**

Investigador principal: Dra. Nimbe Torres y Torres

Av. Vasco de Quiroga No. 15 Col. Sección XVI, Tlalpan C.P.14000, México D.F; Tel:
54870900 ext. 2801 y 2802

Investigadores participantes: Dra. Martha Guevara, Dr. Armando Tovar, M en C. Isabel de
Jesús Medina Vera.

Versión del consentimiento informado y fecha de su preparación: 1/Diciembre/2013

INTRODUCCIÓN:

Por favor, tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento, pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga.

Este consentimiento informado cumple con los lineamientos establecidos en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la Declaración de Helsinki y las Buenas Prácticas Clínicas emitidas por la Comisión Nacional de Bioética.

Para decidir si participa o no en este estudio, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los riesgos y beneficios que esto implica, con el fin de tomar una decisión informada. Este documento le dará información detallada acerca del estudio de investigación, la cual podrá comentar con su médico tratante o con algún miembro del equipo de investigadores. Al terminar de leer este documento se le pedirá que forme parte del proyecto y de ser así, bajo ninguna presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado.

INVITACION A PARTICIPAR Y DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

Estimado Sr. (a) _____

El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición le invita a participar en este estudio de investigación que tiene como objetivo: comparar el efecto de un portafolio dietario junto con un plan de alimentación en individuos con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2, sobre el control de parámetros clínicos, antropométricos y bioquímicos.

La duración del estudio es de 3 meses y 15 días, con un número aproximado de participantes de 150 pacientes dividido en dos grupos, 75 participantes que consumirán el portafolio dietario y 75 participantes que no lo consumirán.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

El tratamiento que será evaluado es un portafolio dietario, el cual es un polvo para preparar bebida disuelta en agua, este polvo está compuesto por nopal, semilla de chíá, inulina y proteína de soya. Será comparado contra un producto placebo compuesto de caseinato de calcio y maltodextrinas. Su probabilidad para ser asignado a uno de los grupos antes mencionado es de un 50%.

El estudio consistirá en una examinación previa (pre-visita) y cinco visitas durante el periodo de seguimiento y una sexta visita de entrega de resultados.

Visita previa: PRE-INGRESO (Duración de 60 min aproximadamente)

Debe de asistir a la unidad de paciente ambulatorio (UPA) en el sexto piso (Investigación clínica) en ayuno de 12 horas (sin ingerir alimento y bebidas) sin consumir café ni bebidas alcohólicas 24 horas previas a esta visita, la actividad física a realizar será la habitual, con excepción del ejercicio físico que convendrá no realizarlo, ni el día previo ni el día del estudio; le tomarán 10 ml de sangre total para la determinación de parámetros bioquímicos (colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, TG, glucosa, hemoglobina glucosilada, albumina y creatinina) y se le pedirá una muestra de orina de cualquier hora del día, para determinar su funcionamiento renal para descartar daño renal (cálculo del cociente albúmina/creatinina, y estimación de la tasa de filtración glomerular). Además, le preguntarán información sobre su alimentación, actividad física, y función intestinal; y le realizarán medidas antropométricas como: medición de peso, talla, masa grasa y masa magra a través de colocarlo en una báscula tipo Tanita, también se medirá circunferencia de cintura, cadera y presión arterial. La presión arterial se medirá con un baumanómetro digital mientras usted estará sentado con el brazo derecho descubierto. (La medición se realizará durante 6 veces, en intervalos de 3 minutos).

Visita Uno (Duración 150min aprox.): INICIO

Debe de asistir a la Unidad de paciente ambulatorio (UPA), sexto piso en investigación clínica en ayuno de 12 horas (sin ingerir alimento y bebidas) sin consumir café ni consumir bebidas alcohólicas 24 horas previas a esta visita, la actividad física a realizar será la habitual. Se le tomarán 14 ml de sangre total para la determinación de diferentes parámetros bioquímicos (colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, TG, insulina, especies reactivas de oxígeno y daño oxidante, Hemoglobina glucosilada) y parámetros de inflamación (TNF alfa y IL-6) y se medirá la expresión de diferentes genes (TLR-4 y SOCS-3) en células de la sangre (leucocitos). Se le realizará una curva de tolerancia oral a la glucosa con una duración de 2 horas en las cuales permanecerá sentado, se puncionará su vena en el brazo para colocar un catéter de venoclisis periférico de 0.9 mm de diámetro y longitud de 2.5 cm conectado a un adaptador, se tomará muestras a través del adaptador del catéter, cada muestra tendrá un volumen de 3ml de sangre total para obtención de glucosa e insulina en el minuto 0, 15,30, 45, 60, 90 y 120 minutos de la prueba. Después del minuto 0 se le solicitará que tome un líquido que contiene glucosa (75 gramos). Además, le preguntarán información sobre su alimentación, actividad física, y le realizarán medidas antropométricas como: medición de peso, talla, masa grasa y masa magra colocándose en una báscula tipo Tanita, también se medirá circunferencia de cintura y cadera.

La presión arterial se medirá con un baumanómetro digital mientras usted estará sentado con el brazo derecho descubierto. (La medición se realizara durante 6 veces, en intervalos de 3 minutos). Se le entregará 1 envase para recolección de muestra de heces; recolectará 5 gramos de heces. Este tubo lo tiene que entregar lo más pronto posible en una hielera que se le proporcionará en la visita anterior a no más tardar 24 horas después de haberle entregado el tubo de recolección.

También, se le entregarán diferentes menús bajos en grasas saturadas y en colesterol (recomendados a pacientes con diabetes mellitus tipo 2) para 2 semanas y aprenderá a llenar una bitácora de alimentación.

Visita Dos (Duración 45min aprox.): INICIO DEL PORTAFOLIO DIETARIO

Debe asistir a la unidad de paciente ambulatorio (UPA), sexto piso en investigación Nutrición en ayuno de 12 horas (sin ingerir alimento y bebidas), sin consumir bebidas

alcohólicas 24 horas previas a esta visita, la actividad física a realizar será la habitual y sin consumir café. Le tomarán 5 ml de sangre total para la determinación de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, TG, glucosa e insulina. Debe llevar la bitácora de alimentación completa, le preguntarán información sobre su alimentación, y se le realizarán medidas antropométricas mencionadas anteriormente y determinación de presión arterial. Le entregarán diferentes menús bajos en grasas saturadas y en colesterol. Dependiendo del grupo de estudio al que ha sido asignado al azar, le darán 60 sobres del portafolio dietario (nopal, chía, soya, e inulina) o placebo que contienen polvo que se disolverán en 250 ml de agua, de los cuales debe consumir 2 sobres por día (15 minutos antes del desayuno y 15 minutos antes de la comida).

Visita Tres (Duración 45min aprox): UN MES CON PORTAFOLIO DIETARIO

Debe asistir a la unidad de paciente ambulatorio (UPA), sexto piso en investigación en ayuno de 12 horas (sin ingerir alimento y bebidas solo agua), sin consumir bebidas alcohólicas 24 horas previas a esta visita, la actividad física a realizar será la habitual y sin consumir café. Me tomarán 5 ml de sangre total para la determinación de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, TG, glucosa e insulina. Debo llevar la bitácora de alimentación completa, me preguntaran información de mi alimentación y actividad física, y se realizarán medidas antropométricas mencionadas anteriormente. Me entregarán diferentes menús bajos en grasas saturadas y en colesterol. Dependiendo del grupo de estudio al que ha sido asignado al azar, me darán 60 sobres del portafolio dietario (nopal, chía, soya, e inulina) o placebo que contienen polvo que se disolverán en 250ml de agua, de los cuales debo consumir 2 sobres por día (15 minutos antes del desayuno y comida). Debe entregar los sobres vacíos que me entregaron el mes previo.

Visita Cuatro: (Duración 45min aprox): DOS MESES CON PORTAFOLIO DIETARIO

Debo asistir a la unidad de paciente ambulatorio (UPA), sexto piso en investigación en ayuno de 12 horas (sin ingerir alimento y bebidas), sin consumir bebidas alcohólicas 24 horas previas a esta visita, la actividad física a realizar será la habitual y sin consumir café. Le tomarán 5 ml de sangre total para la determinación de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, TG, glucosa e insulina. Debe llevar la bitácora de alimentación completa, le preguntaran información de su alimentación y actividad física, y se le realizarán medidas antropométricas mencionadas anteriormente. Le entregarán diferentes menús bajos en grasas saturadas y en colesterol. Dependiendo del grupo de estudio al que ha sido asignado al azar, le darán 60 sobres del portafolio dietario (nopal, chía, soya, e inulina) o placebo que contienen polvo que se disolverán en 250ml de agua, de los cuales debe consumir 2 sobres por día (15 minutos antes del desayuno y comida). Debe entregar los sobres vacíos que le entregaron el mes previo.

Visita Cinco (Duración 150 min aprox): TRES MESES CON PORTAFOLIO DIETARIO.

Debe de asistir a la Unidad de paciente ambulatorio (UPA), sexto piso en investigación clínica en ayuno de 12 horas (sin ingerir alimento y bebidas) sin consumir café ni consumir bebidas alcohólicas 24 horas previas a esta visita, la actividad física a realizar será la habitual. Le tomarán 14 ml de sangre total para la determinación de diferentes parámetros bioquímicos (colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, TG, insulina, especies reactivas de oxígeno y daño oxidante, Hemoglobina glucosilada, y parámetros de inflamación (TNF alfa, IL-6) y expresión de TLR-4 y SOCS-3. Se le realizará una curva de tolerancia oral a la glucosa con una duración de 2 horas en las cuales permanecerá sentado, se puncionará su vena del brazo para colocar un catéter de venoclisis periférico de 0.9 mm de diámetro y longitud de 2.5 cm conectado a un adaptador, se tomará muestras a través del adaptador del catéter, cada muestra tendrá un volumen de 3ml de sangre total

para obtención de glucosa e insulina en el minuto 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos de la prueba. Después del minuto 0 se le solicitará que tome un líquido que contiene glucosa (75 gramos). Además, le preguntarán información sobre su alimentación, actividad física, y le realizarán medidas antropométricas como: medición de peso, talla, masa grasa y masa magra colocándole en una báscula tipo Tanita, también se medirá circunferencia de cintura y cadera.

La presión arterial se medirá con un baumanómetro digital mientras usted estará sentado con el brazo derecho descubierto. (La medición se realizara durante 6 veces, en intervalos de 3 minutos).

Se le entregará 1 envase para recolección de muestra de heces; recolectará 5 gramos heces aproximadamente. Este tubo lo tiene que entregar lo más pronto posible en una hielera que se le proporcionará en su visita anterior, a no más tardar 24 horas después de haberle entregado el tubo de recolección.

También, se le entregarán diferentes menús bajos en grasas saturadas y en colesterol (recomendados a pacientes con diabetes mellitus tipo 2) para 2 semanas y aprenderá a llenar una bitácora de alimentación.

Debe entregar los sobres vacíos que le dieron un mes previo.

Visita seis (Duración 40 min aprox): ENTREGA DE RESULTADOS

Debe asistir al auditorio de fisiología de la nutrición en segundo piso del edificio de dirección de nutrición a una plática donde se le explicara sus resultados y se le entregaran por escrito, se le dará un plan de alimentación utilizando equivalentes y se le enseñara a realizar el portafolio dietario en su domicilio con nopal, chía, avena e inulina.

RESPONSABILIDADES

Debe reportar cambios de su dirección o del estado de salud.

Debe mantener apego al tratamiento dietario, entregar los sobres vacíos correspondientes, así como dar información verídica al personal durante la realización de los distintos cuestionarios. Cumplir con las citas programadas, horarios y apego a las indicaciones dadas por los investigadores. De igual manera reportar cualquier síntoma que aparezca durante la realización del estudio, como diarrea, distensión abdominal, vómito u otra sintomatología que aparezca, reportar cambios en el tratamiento como ingesta de algún medicamento o suplemento durante el estudio o cualquier otra acción que modifique los resultados del estudio

RIESGOS E INCONVENIENTES

El Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud señala que la obtención de muestras biológicas representa un riesgo mínimo dentro de la investigación. Los riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción, mareo o sensación de desmayo. El personal que extraerá la muestra sanguínea está capacitado para ello, lo que minimizará los riesgos de complicaciones. Por otro lado, la ingesta de la bebida puede producir distensión abdominal, flatulencia o diarrea. Esto síntomas pueden desaparecer con el consumo regular del producto. Aunque las hipoglucemias en pacientes con DM2 no son muy frecuentes; la corrección del plan de alimentación podría llegar a causar hipoglucemias, por lo que se le explicara a usted los síntomas y la manera de corregir estas cifras.

PRIVACIDAD

Los datos acerca de su identidad y su información médica no serán revelados en ningún momento como lo estipula la ley, por tanto, en la recolección de datos clínicos usted no enfrenta riesgos mayores a los relativos a la protección de la confidencialidad la cual será protegida mediante la codificación de sus muestras y de su información

BENEFICIOS POTENCIALES

Este estudio no está diseñado para beneficiarse directamente. Por otra parte, la búsqueda de tratamiento con un portafolio dietario para pacientes con síndrome metabólico podría permitir desarrollar nuevos blancos terapéuticos y con esto hacer un tratamiento más personalizado de esta enfermedad. Además, gracias a su participación, su comunidad se puede beneficiar significativamente al encontrar nuevas formas de atender este problema médico.

CONSIDERACIONES ECONÓMICAS

No se cobrará ninguna tarifa por participar en el estudio ni se le hará pago alguno. El Departamento de Fisiología de la Nutrición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición absorberá los gastos de los procedimientos y exámenes de laboratorio descritos en el protocolo, así como los costos de la consulta de nutrición, por lo tanto, usted no tendrá que pagar nada de lo indicado en este proyecto de investigación.

COMPENSACIÓN

Si sufre lesiones como resultado de su participación en este estudio, nosotros le proporcionaremos el tratamiento inmediato y lo referiremos, en caso de ameritarlo, al especialista médico que requiera. No contamos con presupuesto para financiar compensaciones por lesiones. El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán no brinda ningún tipo de compensación adicional para cubrir daños.

ALTERNATIVAS A SU PARTICIPACIÓN:

Su participación es voluntaria. Sin embargo, usted puede elegir no participar en el estudio. Si usted es un sujeto con síndrome metabólico, usted requiere de tratamiento. Y si usted es un sujeto sano, no requiere estudios o acciones terapéuticas adicionales

POSIBLES PRODUCTOS COMERCIALES DERIVABLES DEL ESTUDIO:

Los materiales serán propiedad del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ). Si un producto comercial es desarrollado como resultado del estudio, tal insumo será propiedad del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán (INCMNSZ) o quienes ellos designen. En tal caso, usted no recibirá un beneficio financiero.

ACCIONES A SEGUIR DESPUÉS DEL TÉRMINO DEL ESTUDIO:

Usted puede solicitar los resultados de sus exámenes clínicos y de las conclusiones del estudio en el Dpto. Fisiología de la Nutrición, con la Nimbe Torres y Torres, la Dra. Martha Guevara-Cruz y la M.C Isabel Medina Vera (tel. 54870900 ext. 2802/2801). La investigación es un proceso largo y complejo. El obtener los resultados finales del proyecto puede tomar varios años.

PARTICIPACIÓN Y RETIRO DEL ESTUDIO:

Su participación es VOLUNTARIA. Si usted decide no participar, no se afectará su relación con el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán (INCMNSZ) o su derecho para recibir atención médica o cualquier servicio al que tenga derecho. Si decide participar, tiene la libertad para retirar su consentimiento e interrumpir su participación en

cualquier momento sin perjudicar su atención en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán (INCMNSZ). Se le informará a tiempo si se obtiene nueva información que pueda afectar su decisión para continuar en el estudio.

El investigador puede excluirlo del estudio si usted no tiene el apego suficiente al tratamiento.

Si usted es retirado del estudio, se le pedirá que traiga todos los sobres vacíos o llenos del portafolio y el podómetro prestado de vuelta al departamento de Fisiología de la Nutrición del INCMNSZ. Así mismo también podrá ser retirado del estudio en caso de que su médico tratante lo considere necesario para su beneficio.

CONFIDENCIALIDAD Y MANEJO DE SU INFORMACIÓN.

Su nombre no será usado en ninguno de los estudios. Las muestras biológicas obtenidas serán codificadas con un número de serie para evitar cualquier posibilidad de identificación. Por disposición legal las muestras biológicas, incluyendo la sangre, son catalogadas como residuos peligrosos biológico-infecciosos y por esta razón durante el curso de la investigación su muestra no podrá serle devuelta. Es posible que sus muestras biológicas, así como su información médica y/o genética puedan ser usadas para otros proyectos de investigación análogos o relacionados con la enfermedad en estudio. No podrán ser usados para estudios de investigación que no estén relacionados con condiciones distintas a las estudiadas en este proyecto. Sus muestras podrán ser almacenadas por los investigadores hasta por 5 años. Los códigos que identifican su muestra estarán solo disponibles a los investigadores titulares, quienes están obligados, por ley, a no divulgar su identidad. Estos códigos serán guardados en un archivero con llave y solo tendrán acceso los investigadores. Existe la posibilidad de que su privacidad sea afectada como resultado de su participación en el estudio. Su confidencialidad será protegida como lo marca la ley. El código es un número de identificación que no incluye datos personales. Ninguna información sobre su persona será compartida con otros sin su autorización, excepto:

- Si es necesario para proteger sus derechos y bienestar (por ejemplo, si ha sufrido una lesión y requiere tratamiento de emergencia); o
- Es solicitado por la ley.

Monitores o auditores del estudio podrán tener acceso a la información de los participantes. Si usted decide retirarse del estudio, podrá solicitar el retiro y destrucción de su material biológico y de su información. Todas las hojas de recolección de datos serán guardadas con las mismas medidas de confidencialidad, y solo los investigadores titulares tendrán acceso a los datos que tienen su nombre.

La Comisión de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición aprobó la realización de este estudio. Dicho comité es quien revisa, aprueba y supervisa los estudios de investigación en humanos en el Instituto. En el futuro, si identificamos información que consideremos importante para su salud, consultaremos con dicha Comisión de ética que supervisa el estudio para decidir la mejor forma de darle esta información a usted y a su médico. Además, le solicitamos que nos autorice re contactarlo, en caso de ser necesario, para solicitarle información que podría ser relevante para el desarrollo de este proyecto.

Los datos científicos obtenidos como parte de este estudio podrían ser utilizados en publicaciones o presentaciones médicas. Su nombre y otra información personal serán eliminados antes de usar los datos.

Si usted lo solicita su médico de cabecera será informado sobre su participación en el estudio.

IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES:

En caso de que usted sufra un daño relacionado al estudio, o si tiene preguntas sobre el estudio por favor póngase en contacto con la Dra. Nimbe Torres y Torres, la Dra. Martha Guevara-Cruz o M.C Isabel Medina Vera, en el INCMNSZ (teléfono: 54870900 ext. 2802/01) o al celular 55 13 63 27 05.

Si usted tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en el estudio, puede hablar con el coordinador del Comité de Éticas en Investigación del INCMNSZ (Dr. Carlos A. Aguilar Salinas. Teléfono: 54870900 ext. 6101).

DECLARACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO:

He leído cuidadosamente este consentimiento informado, he hecho todas las preguntas pertinentes y todas me han sido respondidas satisfactoriamente. Para poder participar en el estudio, estoy de acuerdo con todos los siguientes puntos:

Estoy de acuerdo en participar en el estudio descrito anteriormente. Los objetivos generales, particulares del reclutamiento y los posibles daños e inconvenientes me han sido explicados a mi entera satisfacción.

Estoy de acuerdo en donar de forma voluntaria mis muestras biológicas (sangre y heces) para ser utilizadas en este estudio. Así mismo, mi información médica y biológica podrá ser utilizada con los mismos fines.

Estoy de acuerdo, en caso de ser necesario, que se me contacte en el futuro si el proyecto requiere coleccionar información adicional o si encuentran información relevante para mi salud. Mi firma también indica que he recibido un duplicado de este consentimiento informado.

Por favor responda las siguientes preguntas

	SÍ (marque por favor)	NO (marque por favor)
a. ¿Ha leído y entendido la forma de consentimiento informado, en su lenguaje materno?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b. ¿Ha tenido la oportunidad de hacer preguntas y de discutir este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c. ¿Ha recibido usted respuestas satisfactorias a todas sus preguntas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
d. ¿Ha recibido suficiente información acerca del estudio y ha tenido el tiempo suficiente para tomar la decisión?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
e. ¿Entiende usted que su participación es voluntaria y que es libre de suspender su participación en este estudio en cualquier momento sin tener que justificar su decisión y sin que esto afecte su atención médica o sin la pérdida de los beneficios a los que de otra forma tenga derecho?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
f. ¿Entiende los posibles riesgos, algunos de los cuales son aún desconocidos, de participar en este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
g. ¿Entiende que puede no recibir algún beneficio directo al participar en este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
h. ¿Ha discutido usted otras opciones de tratamiento con el médico participante en el estudio y entiende usted que otras opciones de	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

		SÍ (marque por favor)	NO (marque por favor)
tratamiento están a su disposición?			
i.	¿Entiende que no está renunciando a ninguno de sus derechos legales a los que es acreedor de otra forma como sujeto en un estudio de investigación?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
j.	¿Entiende que el médico participante en el estudio puede retirarlo del mismo sin su consentimiento, ya sea debido a que Usted no cumplió con los requerimientos del estudio o si el médico participante en el estudio considera que médicamente su retiro es en su mejor interés?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
k.	¿Entiende que usted recibirá un original firmado y fechado de esta Forma de Consentimiento, para sus registros personales?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Declaración del paciente:

Yo, _____ declaro que es mi decisión participar en el estudio. Mi participación es voluntaria. He sido informado que puedo negarme a participar o terminar mi participación en cualquier momento del estudio sin que sufra penalidad alguna o pérdida de beneficios. Si suspendo mi participación, recibiré el tratamiento médico habitual al que tengo derecho en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) y no sufriré perjuicio en mi atención médica o en futuros estudios de investigación. Yo puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos o beneficios potenciales derivados de mi participación en el estudio. Puedo obtener los resultados de mis exámenes clínicos si los solicito. Si tengo preguntas sobre el estudio, puede ponerme en contacto en cualquier momento con la Dra. Nimbe Torres y Torres, Dra. Martha Guevara o la M.C Isabel Medina en el INCMNSZ en el teléfono 54870900 ext. 2802/01. Si tengo preguntas acerca de mis derechos como participante en el estudio, puedo hablar con el coordinador del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ (Dr. Carlos A. Aguilar Salinas. Teléfono: 54870900 ext. 6101). Debo informar a los investigadores de cualquier cambio en mi estado de salud (por ejemplo, uso de nuevos medicamentos, cambios en el consumo de tabaco) o en la ciudad donde resido, tan pronto como sea posible. He leído y entendido toda la información que me han dado sobre mi participación en el estudio. He tenido la oportunidad para discutirlo y hacer preguntas. Todas las preguntas han sido respondidas a mi satisfacción. He entendido que recibiré una copia firmada de este consentimiento informado.

Nombre del Participante

Firma del Participante

Fecha

Coloque su huella digital si no sabe escribir

Nombre del representante legal
(si aplica)

Firma del representante legal

Fecha

Nombre del Investigador
que explicó el documento

Firma del Investigador

Fecha

Nombre del Testigo 1

Firma del Testigo 1

Fecha

Relación con el participante: _____

Dirección: _____

Nombre del Testigo 2

Firma del Testigo 2

Fecha

Dirección:

Relación que guarda con el participante: _____

Lugar y Fecha: _____

(El presente documento es original y consta de 10 páginas).

8.2 Hoja de Informa al paciente.

HOJA DE INFORME AL PACIENTE

“Efecto del consumo de un portafolio dietario (Soya, Nopal, chía e inulina) en parámetros bioquímicos en pacientes con diabetes tipo 2”

Investigadores: *Dra. Nimbe Torres y Torres, Dra. Martha Guevara-Cruz, Dr. Armando Tovar, M en .C Isabel de Jesús Medina Vera.*

*Departamento de Fisiología de la Nutrición; Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Tel: 54870900 ext. 2802

Esta es una forma importante. Por favor léala cuidadosamente. Le dice todo lo que usted necesita saber acerca de este estudio de investigación. Si usted está de acuerdo en participar en este estudio, usted debe firmar la forma adjunta. Su firma significa que usted ha sido informado de todas las características del estudio, sus riesgos y que usted desea participar en el estudio.

¿Por qué se está realizando esta investigación?

Para comparar el efecto de un portafolio dietario junto con un plan de alimentación en individuos con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2, sobre el control de parámetros clínicos (presión arterial), antropométricos (peso, circunferencia de cintura, porcentaje de grasa corporal y de masa muscular) y bioquímicos (concentraciones en suero de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, TG, glucosa, insulina y el promedio de las glucosas 2 meses atrás conocida como hemoglobina glucosilada).

¿Cuántas personas participaran?

Participaran 150 personas, las cuales se dividirán en dos grupos, 75 participantes que consumirán el portafolio dietario y 75 participantes que no lo consumirán. El portafolio dietario es un polvo para preparar bebida disuelta en agua, este polvo está compuesto por nopal, semilla de chía, inulina y proteína de soya. Será comparado contra un producto placebo compuesto de caseinato de calcio y maltodextrinas. Su probabilidad para ser asignado a uno de los grupos antes mencionado es de un 50%.

¿Qué involucrará mi participación?

Antes de se inicien los exámenes y pruebas del estudio, usted recibirá una explicación de la investigación y usted tendrá la oportunidad de realizar preguntas acerca del estudio. Si usted está de acuerdo en participar, se le pedirá que firme un documento.

Usted ha sido invitado a participar en el estudio debido a que cumple los criterios de inclusión de este estudio. Su participación en el estudio consiste en acudir a una visita pre-ingreso y seis visitas de seguimiento al Instituto y cumplir con el plan de alimentación designado. El tratamiento que será evaluado es una bebida denominada portafolio dietario compuesto por nopal deshidratado, semilla de chía, inulina y proteína de soya y será comparada contra otra bebida denominada placebo compuesta de caseinato de calcio y maltodextrinas. Su probabilidad para ser asignado a uno de los grupos antes mencionado es de un 50%.

Su participación en el estudio consiste en: una visita pre-ingreso y 5 visitas (visita uno, dos, tres, cuatro, cinco y seis)

En las visitas: pre-ingreso, uno, dos, tres, cuatro y cinco:

1. Debe de asistir a la unidad de paciente ambulatorio (UPA) en sexto piso (Investigación clínica) en ayuno de 12 horas (sin ingerir alimento y bebidas solo agua) sin consumir café ni consumir bebidas alcohólicas 24 horas previas a esta visita, la actividad física a realizar será la habitual, con excepción del ejercicio físico que convendrá no realizarlo, ni el día previo ni el día del estudio.

2. Se le preguntarán información sobre su alimentación, su actividad física, y su función intestinal y le realizarán medidas antropométricas como: medición de peso, talla, medición de masa grasa y masa magra a través de colocarlo en una báscula tipo Tanita, también se medirá circunferencia de cintura y cadera, y la presión arterial.

En la visita seis (entrega de resultados) no es necesario venir en ayuno, debe asistir al edificio de la dirección de nutrición, al auditorio de fisiología de la nutrición en el segundo piso; en donde se dará un platica para explicar sus resultados.

En la visita pre-ingreso

1. Tendrá una duración de 60 minutos aproximadamente,

2. Le tomarán 5 ml de sangre total para la determinación de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, TG, glucosa, insulina, hemoglobina glucosilada, albumina y creatinina.

En la visita uno y cinco

1. Tendrá una duración de 150 minutos aproximadamente.

2. Se le tomará 14 ml de sangre total para la determinación de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, TG, insulina, hemoglobina glucosilada, actividad antioxidante y daño oxidante.

3. Se le realizará una curva de tolerancia oral a la glucosa con una duración de 2 horas en las cuales permanecerá sentado, se puncionará su vena de su brazo para colocar un catéter de venoclisis periférico de 0.9 mm de diámetro y longitud de 2.5 cm conectado a un adaptador, se tomará muestras a través del adaptador del catéter, cada muestra tendrá un volumen de 3ml de sangre total para obtención de glucosa e insulina en el minuto 0, 15,30, 45, 60, 90 y 120 minutos de la prueba. Después del minuto 0 se le solicitará que tome un líquido que contiene glucosa (75 gramos).

4. Se le entregarán una hielera (caja térmica de unice) con 1 envase para recolección de muestra de heces; recolectare una cantidad de materia fecal aproximadamente de 5 gramos. Los tubos los tendrá que entregar lo más pronto posible en la hielera con hielos a no más tardar 24 horas después de haberle entregado el tubo de recolección.

En la visita dos, tres y cuatro.

1. Tendrá una duración aproximada de 45 minutos

2. Se le tomarán 5 ml de sangre total para la determinación de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, TG, glucosa e insulina.

3. Debe llevar un diario de alimentación completo.

4. Dependiendo del grupo de tratamiento al que ha sido asignado al azar, le darán 60 sobres que contiene polvo que se disolverá en agua, de los cuales debe consumir 2 sobres por día (15 minutos antes del desayuno y comida).

A partir de la visita 1 a 4 se le entregarán diferentes menús bajos en grasas saturadas y en colesterol (recomendados a pacientes con diabetes tipo 2) para 2 semanas y aprenderé a llenar una bitácora de alimentación.

¿Existe alguna razón por la que pudiese dejar el estudio anticipadamente?

Es su decisión tomar parte en este estudio de investigación. Usted puede decidir parar en cualquier momento.

¿Tengo que pagar por los exámenes, pruebas o procedimientos?

Usted no tiene que pagar por los exámenes, pruebas o procedimientos que se realicen solamente para este estudio.

¿Cuáles son mis derechos si participo en este estudio?

El participar en este estudio no le quita ninguno de sus derechos o beneficios a los cuales usted puede tener derecho si no participa en el estudio. El participar en este estudio no le proporciona privilegios especiales. Usted no será penalizado a ninguna manera si usted decide no participar o retirarse después de iniciar el estudio. Específicamente, usted no tiene que estar en el estudio para recibir o continuar recibiendo la asistencia del Instituto.

Se le informara sobre cualquier descubrimiento nuevo o cambio de los procedimientos del estudio que pudiese afectar su deseo de continuar en el estudio.

¿Quién puede responder a mis preguntas?

Cualquier duda o inconformidad con el proyecto de investigación puede contestarlas o manifestarlas con el Dr. Nimbe Torres y Torres, al teléfono 54870900 extensión 2802.

Usted puede tener más información acerca de las políticas, el funcionamiento de este estudio o los derechos de los participantes en la investigación con cualquiera de los investigadores que están involucrados.

Su privacidad es importante para nosotros y queremos protegerla tanto como sea posible. Al firmar esta forma, usted está autorizada al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición y a los investigadores a usar y publicar cualquier información creada o recolectada durante su participación en este estudio.

Esta información será proporcionada del monitoreo adecuado de este estudio, verificando la exactitud de los datos del estudio, analizando los datos del estudio y otros propósitos necesarios para el funcionamiento y reporte adecuado de este estudio.

9 Análisis estadístico.

La distribución de las variables fue evaluada usando la prueba de Z de Kolmogorov-Smirnov, tomándose como una distribución normal cuando el valor de p fue >0.05 , tomando en cuenta la hipótesis nula de que el conjunto de datos sigue una distribución normal. Las variables continuas con distribución paramétrica se expresaron en promedios y en desviación estándar y con distribución no paramétrica como medianas y rango intercuartilar, las variables dicotómicas como frecuencias y porcentajes. Para determinar las diferencias entre las características basales de los grupos sanos vs DT2 y las características basales de los participantes con DT2 (DP vs P) que se enrolaron en el ensayo clínico se analizó mediante el estadístico t de muestras independientes y las proporciones por χ^2 . La comparación del ABC de insulina y glucosa entre los grupos sanos, DT2 con menos de 2 años de diagnóstico y DT2 con más de 2 años de diagnóstico se analizó mediante ANOVA de una vía. Para comparar los porcentajes de cambio con respecto al basal de los parámetros bioquímicos que fueron comparados entre los grupos de PD y P se analizó mediante el estadístico t de student para muestras independientes. La asociación entre las variables de glucosa sérica con AGL, TMAO con ABC glucosa y HDL-c se analizó mediante la correlación de Pearson.

El consumo de kilocalorías así como los macronutrientes a través del estudio fue analizado mediante ANOVA de medidas repetidas, y la actividad física medida en METs que se comparó antes y después de la intervención se analizó por el estadístico de Wilcoxon. Las proporciones de participantes que tuvieron actividad leve, moderada e intensa se analizó con el estadístico χ^2 .

El valor significativo de p se estableció en < 0.05 de dos colas. Los datos fueron analizados por el programa SPSS (versión 21.00 SPSS Inc. Chicago. IL).

Análisis de la Microbiota intestinal

Para el análisis de la composición taxonómica, se utilizaron secuencias de comandos Custom C # y python, así como secuencias de comandos Python en Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME), canal de software 1.9 para

procesar los archivos de secuencia. Las salidas de secuencia se filtraron para las secuencias de baja calidad (definidas como cualquier secuencia que sea <200 pb o > 620 pb, secuencias con discrepancias de nucleótidos con el código de barras o el cebador, secuencias con un puntaje de calidad promedio de <25 y secuencias con bases ambiguas > 0).

Las secuencias se analizaron con quimeras con Gold.fa y las secuencias quiméricas se filtraron. El análisis comenzó agrupando secuencias dentro de un porcentaje de similitud de unidades taxonómicas operativas (OTU). El 91% de las secuencias pasó el filtro, lo que dio como resultado 398.789 secuencias/muestra con un umbral de similitud del 97%. La selección de OTU se realizó utilizando el conjunto de herramientas QIIME-tools, por el método Usearch. Las secuencias representativas se alinearon usando algoritmos PyNAST.

Los OTU se cotejaron de la base GreenGenes 13.9 (GG v13.9) con una similitud del 97%. Después de la salida resultante, los archivos se fusionaron en una tabla general y se asignó la taxonomía según la de referencia GG v13.9. Por lo tanto, 99.73%, 99.34%, 99.33%, 93.61%, 75.15% y 32.65% de las lecturas fueron asignados a nivel de phyla, clase, orden, familia, género y especie, respectivamente. Se calculó la alfa diversidad por medio del índice Shannon, y se estimó la diversidad dentro de la muestra a una profundidad de enrarecimiento de >10,557 lecturas por muestra. Se usaron distancias UniFrac no ponderadas para realizar el análisis de coordenadas principales (PCoA), para un muestreo uniforme, se utilizó una profundidad de 10,557 secuencias/muestra. PCoAs se produjeron usando Emperor.

La diversidad de la comunidad se determinó por el número de OTU y la beta diversidad se midió por matrices de distancias ponderadas y no ponderadas UniFrac en QIIME. Se realizó un análisis estadístico llamado ANOSIM (**AN**alysis **Of** **SIM**ilarities), para determinar la agrupación estadísticamente significativa de los grupos en función de las distancias de la estructura de la microbiota. Para determinar los taxones que fueron significativamente diferente entre los sujetos con

DT2 y los sanos, se realizó un análisis discriminante lineal del tamaño del efecto (LDA-LEfSe) a través del software Galaxy/Hutlab⁹¹. LDA-LEfse es un análisis que determina las características más probables para explicar las diferencias entre grupos, en este caso se utilizó la abundancia relativa de las especies. El análisis de LDA-LEfse utilizó un análisis factorial entre clases (Kruskall-Wallis), las gráficas representan el tamaño del efecto (LDA) para una especie en particular en cada uno de los grupos, y la longitud de la barra representa el score de LDA con transformación log 10. El umbral del análisis discriminante lineal se estableció en 3. Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) de parámetros bioquímicos y abundancia relativa de especies de la Microbiota intestinal en los sujetos con DT2 de manera basal para resumir el conjunto de datos y estudiar las relaciones entre estas variables.

10.- Resultados

Se realizaron diferentes mediciones de parámetros bioquímicos como de metabolitos y de composición de la microbiota intestinal antes y después de la intervención, pero no contábamos con un grupo de referencia para algunos de estos parámetros. Por lo tanto, para tener una referencia, consideramos importante tener un grupo de sujetos sanos. Para ello se reclutaron 30 sujetos sanos con un promedio de edad 20-40 años y un IMC normal (18.5-24.9 kg/m²), sin alteraciones metabólicas.

10.1 Características basales del grupo de sanos vs grupo con DT2

Estos 30 sujetos seleccionados se compararon con los 81 sujetos con DT2 que cumplieron los criterios de selección para participar en el ECA. El grupo de sanos mostró un menor IMC, porcentaje de grasa corporal, y cómo era de esperarse los parámetros bioquímicos como lípidos, glucosa, insulina estuvieron por debajo de las cifras del grupo de DT2 a excepción del colesterol HDL. **Tabla 11**

Tabla 11. Características basales sanos vs DT2

Características basales de los participantes del grupo sano vs DT2			
	Sanos <i>n</i> =30	DT2 <i>n</i> =81	<i>p</i>
Genero			0.788*
Mujeres (%)	52.6	56.2	
Hombres (%)	47.4	43.8	
Edad, años	30 ± 10	49.5 ± 9	<0.0001
Duración de la diabetes, años	-	3.7 ± 3.4	
Peso corporal, kg	60 ± 8	81 ± 13	<0.0001
IMC, kg/m²	22 ± 1.7	31 ± 6	<0.0001
Circunferencia de cintura, cm	77.3 ± 5.1	98.5 ± 9.6	<0.0001
Grasa corporal, %	27 ± 9	41 ± 8	<0.0001
Masa libre de grasa, %	72.6 ± 9.2	48.4 ± 8.9	<0.0001
Área visceral, cm²	64 ± 18	127 ± 24	<0.0001
Presión arterial sistólica, mmHg	98 ± 11	119 ± 13	<0.0001
Presión arterial diastólica, mmHg	64 ± 6	80 ± 10	<0.0001
HbA1c, %	5.1 ± 0.15	7.1 ± 1.2	<0.0001

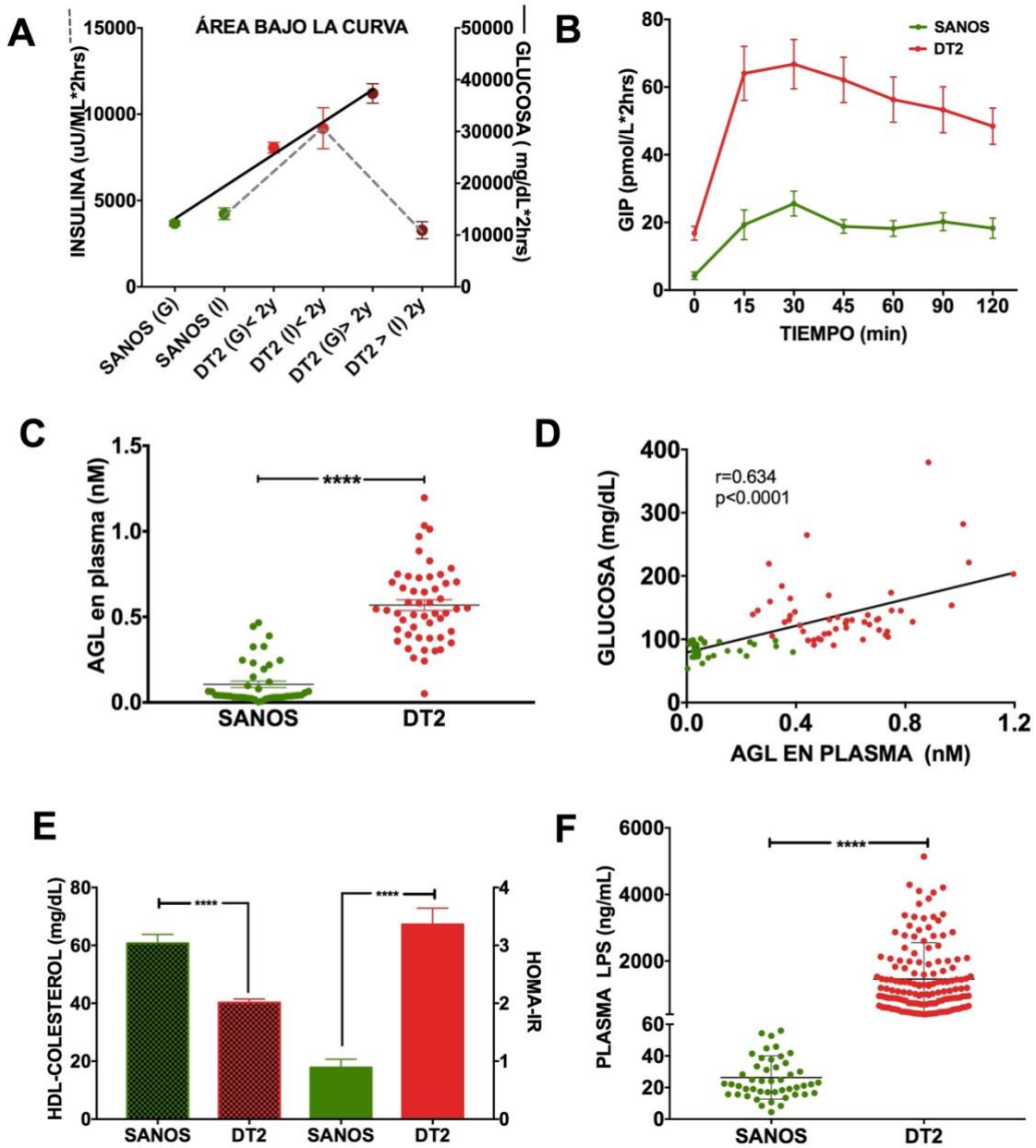
Glucosa, <i>mg/dL</i>	86 ± 11	146 ± 51	<0.0001
Colesterol total, <i>mg/dL</i>	175 ± 30	201 ± 51	0.046
c-LDL, <i>mg/dL</i>	93 ± 22	123 ± 43	0.006
c-HDL, <i>mg/dL</i>	60 ± 18	38 ± 9.7	<0.0001
Triglicéridos, <i>mg/dL</i>	95 ± 37	194 ± 104	<0.0001
Insulina, <i>μUI/mL</i>	4.9 ± 2.4	9.2 ± 6.3	<0.0001
Índice HOMA-IR	1.1 ± 0.5	3.4 ± 2.1	<0.0001
LPS, <i>ng/mL</i>	38.5 ± 54	1075 ± 627	<0.0001
AGL, <i>nM</i>	0.105 ± 0.12	0.56 ± 0.22	<0.0001

Los datos son expresados como promedio y desviación estándar, y *porcentaje. **IMC**: índice de masa corporal, **LPS**: Lipopolisacárido, **AGL**: ácidos grasos libres.

De manera interesante los resultados mostraron que los sujetos con DT2 tuvieron una elevada área bajo la curva (ABC) de glucosa después de una CTOG en comparación de los sujetos sanos, además el ABC de glucosa dependió de los años de evolución de la enfermedad, cuantos más años de evolución de T2D, mayor es el área bajo la curva ($p < 0.0001$). Por el contrario, los niveles circulantes de insulina disminuyeron con la evolución de la enfermedad como se observó con el ABC de insulina ($p = 0.001$), (**Figura 11A**). Como se esperaba, los sujetos con DT2 tenían niveles significativamente más altos del péptido insulínico dependiente de glucosa (GIP) y de AGL en comparación con los sujetos sanos (**Figura 11 B, C**). De hecho, hubo una correlación significativa entre el AGL en plasma y la glucosa sérica, lo que indica un aumento de la lipólisis del tejido adiposo en sujetos con T2D (**Figura 11D**).

También pudimos observar que los sujetos con DT2 mostraron concentraciones de HDL 33% más bajo que los sujetos sanos, mientras que el HOMA-IR fue 2.8 veces mayor que los sujetos sanos (**Figura 11E**). Por otro lado, pudimos también observar que los sujetos con DT2 aumentaron en aproximadamente 54 veces los niveles circulantes de lipopolisacárido (LPS) en comparación con los sujetos sanos (**Figura 11D**), lo que indica una inflamación crónica de bajo grado que se ha definido como endotoxemia metabólica causada por una posible disbiosis en la microbiota intestinal.

Figura 11. Comparación de características basales sanos vs DT2



A. ABC de glucosa e insulina en sujetos sanos, sujetos con DT2 con <2 años de diagnóstico y sujetos con DT2 con >2 años de diagnóstico, **B.** Concentraciones de GIP después a una CTOG, **C.** Ácidos grasos libres en sujetos sanos y con DT2, **D.** Correlación entre glucosa sérica y ácidos grasos libres en plasma, **E.** Concentraciones de c-HDL y HOMA-IR, **F.** Lipopolisacárido en plasma sanos (n=30) y DT2 (n=151) quienes fueron evaluados para los criterios de inclusión. Los datos son presentados en promedio \pm SEM. *** $p<0.001$, **** $p<0.0001$.

10.2 Composición de la microbiota intestinal de sanos vs DT2

Como bien se mencionó anteriormente los niveles circulantes de LPS en plasma sugieren una posible endotoxemia metabólica posiblemente causada por una disbiosis en la microbiota intestinal. Para examinar esta posibilidad se realizaron análisis de la composición de la microbiota intestinal basales tanto del grupo de sanos como del grupo de DT2. El análisis de coordenadas principales (PCoA) reveló que la microbiota intestinal de sujetos con DT2 fue diferente de la de sujetos sanos (ANOSIM $R= 0.6065$, $p = 0.001$ a 999 permutaciones; **Figura 12A**) donde se puede observar que la abundancia de las tres principales filas fueron Bacteroidetes, Firmicutes y Proteobacterias representa aproximadamente el 93.8% de las secuencias, los sujetos con DT2 mostraron un aumento de aproximadamente 10.4% en la abundancia relativa de Firmicutes con respecto a los sujetos sanos (**Figura 12B**).

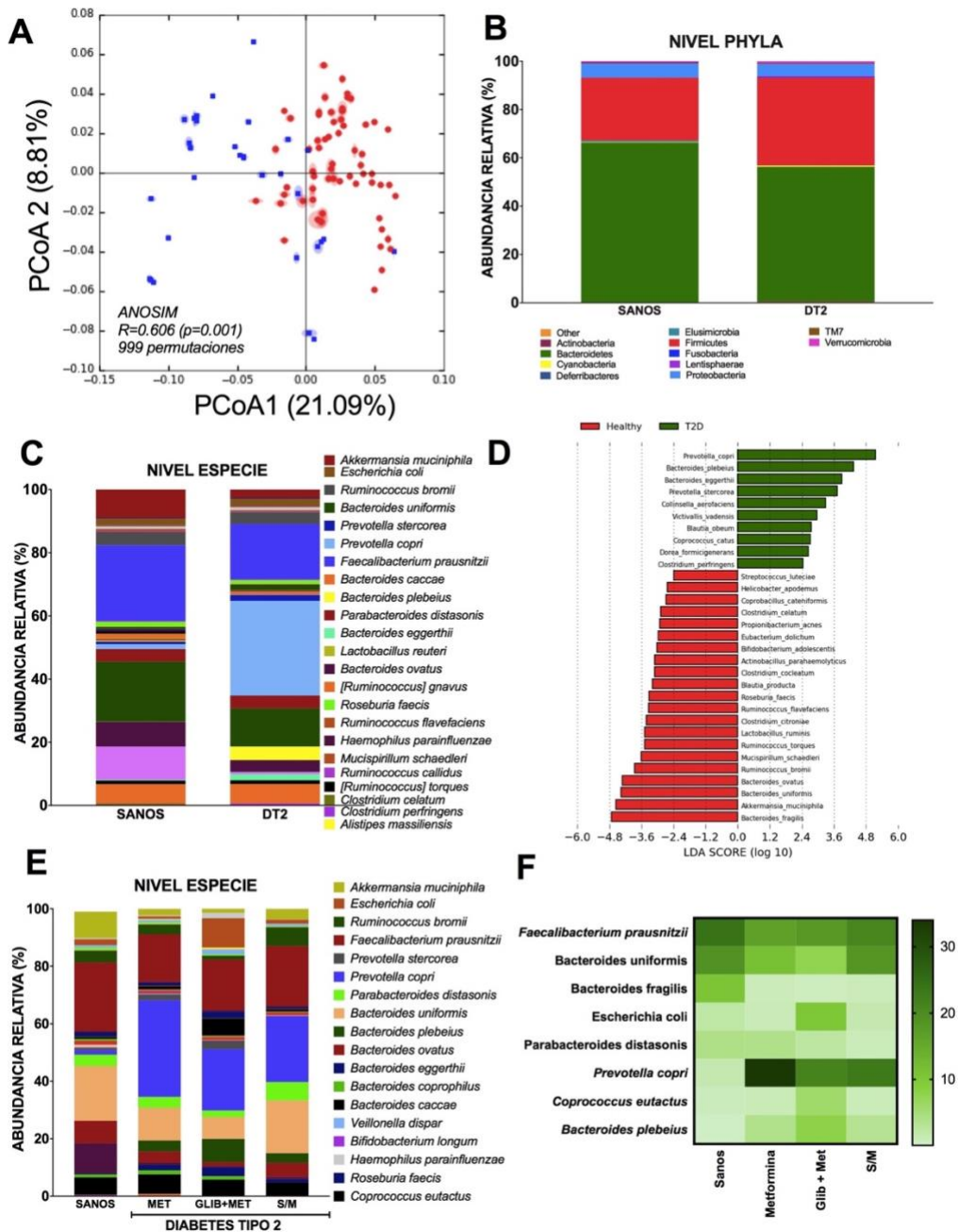
A nivel de especie, el análisis reveló una marcada diferencia en la microbiota intestinal entre sujetos con DT2 en comparación con sujetos sanos (**Figura 12C**), en el análisis del tamaño del efecto de análisis discriminante lineal (LEfSe) indicó una clara diferencia en la microbiota intestinal entre los grupos con niveles elevados de *Prevotella copri*, *Bacteroides plebeius*, *Bacteroides eggerthii*, en el grupo de DT2, y *Bacteroides fragilis*, *Akkermansia muciniphila*, *Bacteroides uniformis* en el grupo de sanos, (**Figura 12D**).

Existe evidencia de que la microbiota intestinal está modificada por los hipoglucemiantes orales⁹², en el presente estudio los sujetos con DT2 estaban tratados con diferentes tipos de hipoglucemiantes orales, metformina o metformina + glibenclamida. De manera interesante la microbiota intestinal mostró algunas diferencias entre los grupos a nivel de especie (**Figura 12F**), en particular, el mapa de calor reveló que los sujetos con DT2 tratados con metformina tenían la mayor abundancia de *P. copri* seguido del grupo de metformina + glibenclamida, mientras que en el grupo de metformina + glibenclamida se observó una mayor abundancia

de *E. coli*. Por el contrario, los sujetos sanos mostraron mayor abundancia de *F. prausnitzii* y *B. fragilis*.

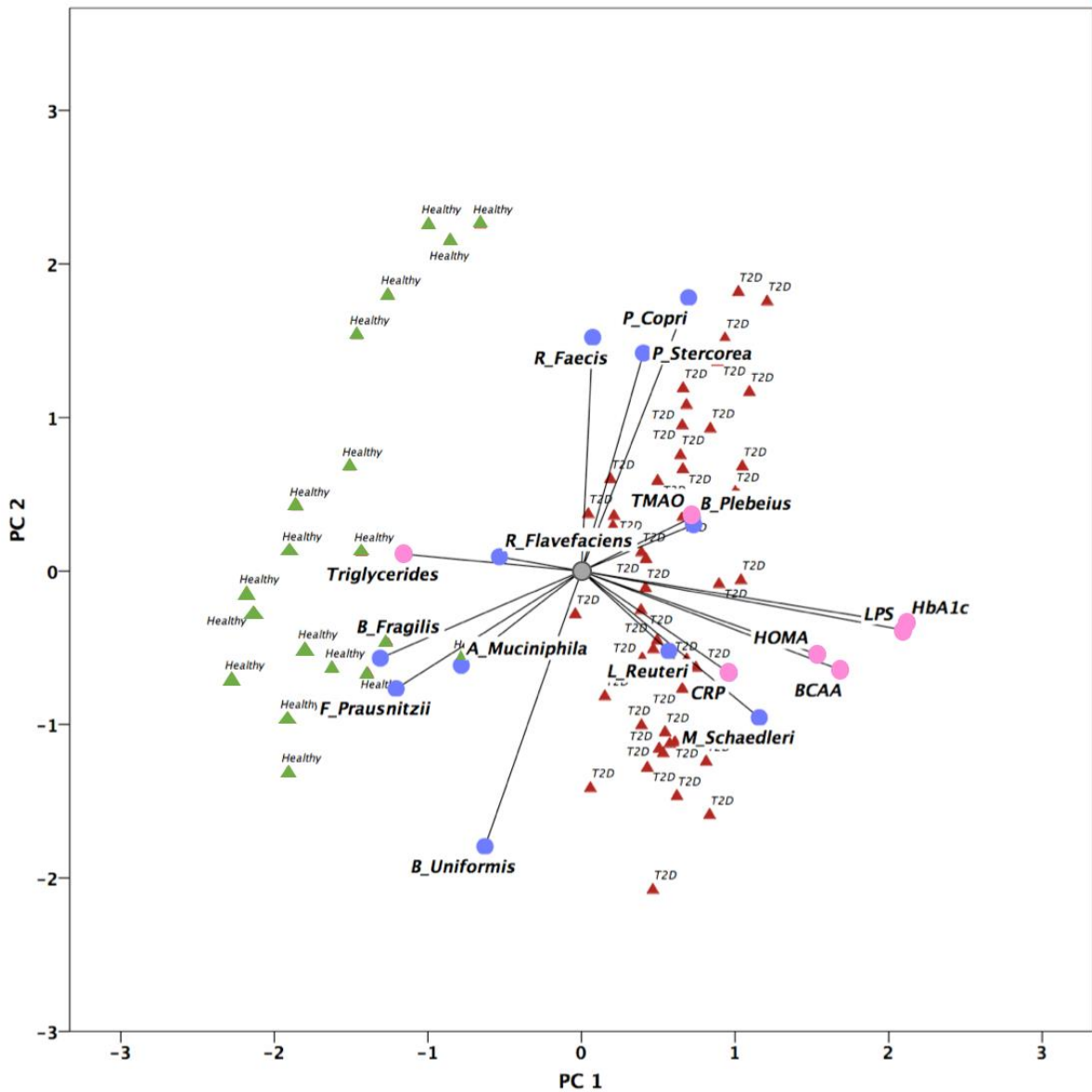
Al relacionar la composición de la microbiota intestinal a nivel de especie (círculos rosas) y los parámetros bioquímicos determinados en plasma (círculos morados) mediante el análisis de componentes principales (PC) pudimos observar al graficar los puntajes de los participantes que se agregaron los sujetos sanos (triángulos verdes) y por otro lado los sujetos con DT2 (triángulos rojos); siendo representados el primer agrupamiento por las especies *R. Flavefaciens*, *A. Muciniphilia*, *B. Uniformis*, *F. Prausnitzii*, *B. Fragilis* y solo como parámetro bioquímicos los TG, en el agrupamiento de sujetos con DT2 las especies que los representaron fueron *R. Faecis*, *P. Copri*, *P. Stercorea*, *B. Plebeius*, *M. Schaedleri* y en los parámetros bioquímicos TMAO, HbA1c, LPS, HOMA, AACR y PCR. Haciéndose notar que el agrupamiento de esas variables bioquímicas nos estaría hablando en general de RI y su interacción con AACR y LPS como marcador de inflamación. Dentro de este grupo las variables estrechamente relacionadas fueron HOMA con AACR, HbA1c con LPS y el TMAO con *B. Plebeius*. (**Figura 13**).

Figura 12. Comparación de la microbiota intestinal, sanos vs DT2



A. Análisis de coordenadas principales basado en la distancia Unifrac (unweighted), los círculos rojos representan a los sujetos con DT2 y los cuadros azules a los sujetos sanos. **B.** Resumen taxonómico de la microbiota intestinal a nivel de phyla y **C.** a nivel de especie, **D.** Análisis discriminante taxonómico a nivel de especie, las barras verdes representan las especies más abundantes en sujetos con DT2 y las barras rojas los sujetos sanos. **E.** Resumen taxonómico dividido por tipo de medicamento. **F.** Heatmap de las ocho especies con mayor diferencia entre DT2 y sanos.

Figura 13. Análisis de componentes principales Sanos vs DT2

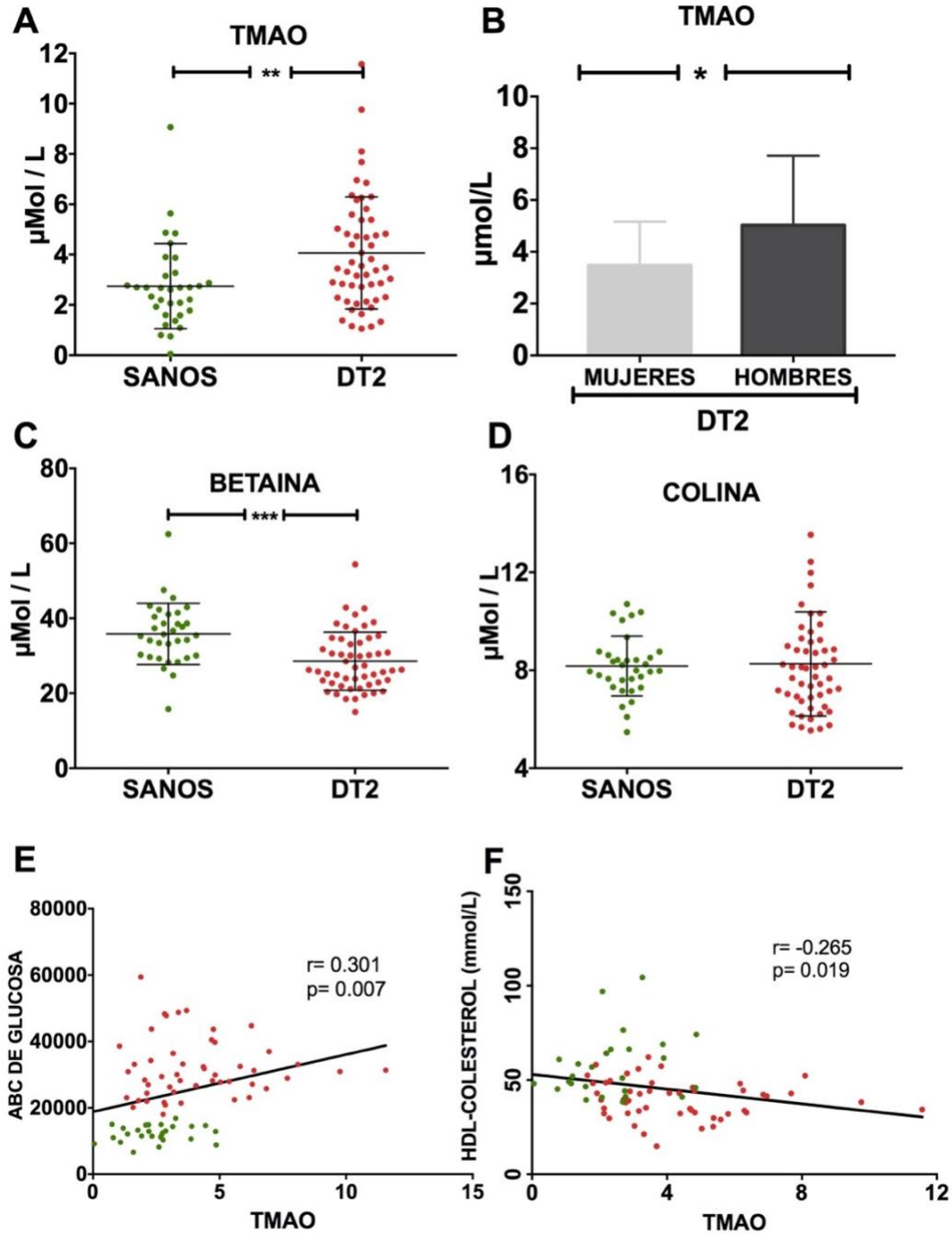


Covariación general de perfiles taxonómicos y parámetros bioquímicos entre sujetos con DT2 y sanos. Triángulos verdes representa a los sujetos sanos, triángulos rojos representa a los sujetos con DT2, círculos azules representa las especies de Microbiota intestinal con mayor contribución de la variación, círculos rosas representa los parámetros bioquímicos con mayor contribución, determinado por análisis de componentes principales categóricos.

10.3 Concentraciones de TMAO, colina y betaína del grupo sano vs DT2.

Debido a la estrecha relación entre la diabetes y las enfermedades cardiovasculares, el vínculo entre la microbiota intestinal y la formación de TMAO, se midió la concentración de TMAO y sus metabolitos relacionados en sujetos sanos y con DT2. En este análisis pudimos observar que los sujetos con DT2 tenían una concentración de TMAO 48% mayor que los sujetos sanos (**Figura 14A**). Al estratificar el análisis por sexo encontramos que los hombres con DT2 mostraron una concentración mayor de TMAO en un 47% en comparación con las mujeres (**Figura 14B**). Analizando los metabolitos relacionados con TMAO, observamos que por el contrario las concentraciones de betaína en sujetos con DT2 fueron significativamente menor (20%) que en los sujetos sanos y de manera interesante no encontramos diferencia entre la concentración de colina entre los grupos (**Figura 14 C, D**). Al analizar asociaciones de parámetros bioquímicos con TMAO y sus metabolitos observamos que hubo una correlación positiva significativa ($r = 0.27$, $p = 0.018$) entre la concentración de TMAO y ABC de glucosa (**Figura 14E**), de igual forma asociamos las concentraciones de TMAO con factores de riesgo vascular, y encontramos una asociación inversa entre las concentraciones de TMAO y las concentraciones de colesterol HDL ($r = -0.26$, $p = 0.019$), es decir, a medida que encontramos concentraciones altas de TMAO en plasma de igual forma encontramos concentraciones bajas de colesterol HDL (**Figura 14F**).

Figura 14. Concentraciones de TMAO, colina y betaína de sanos vs DT2



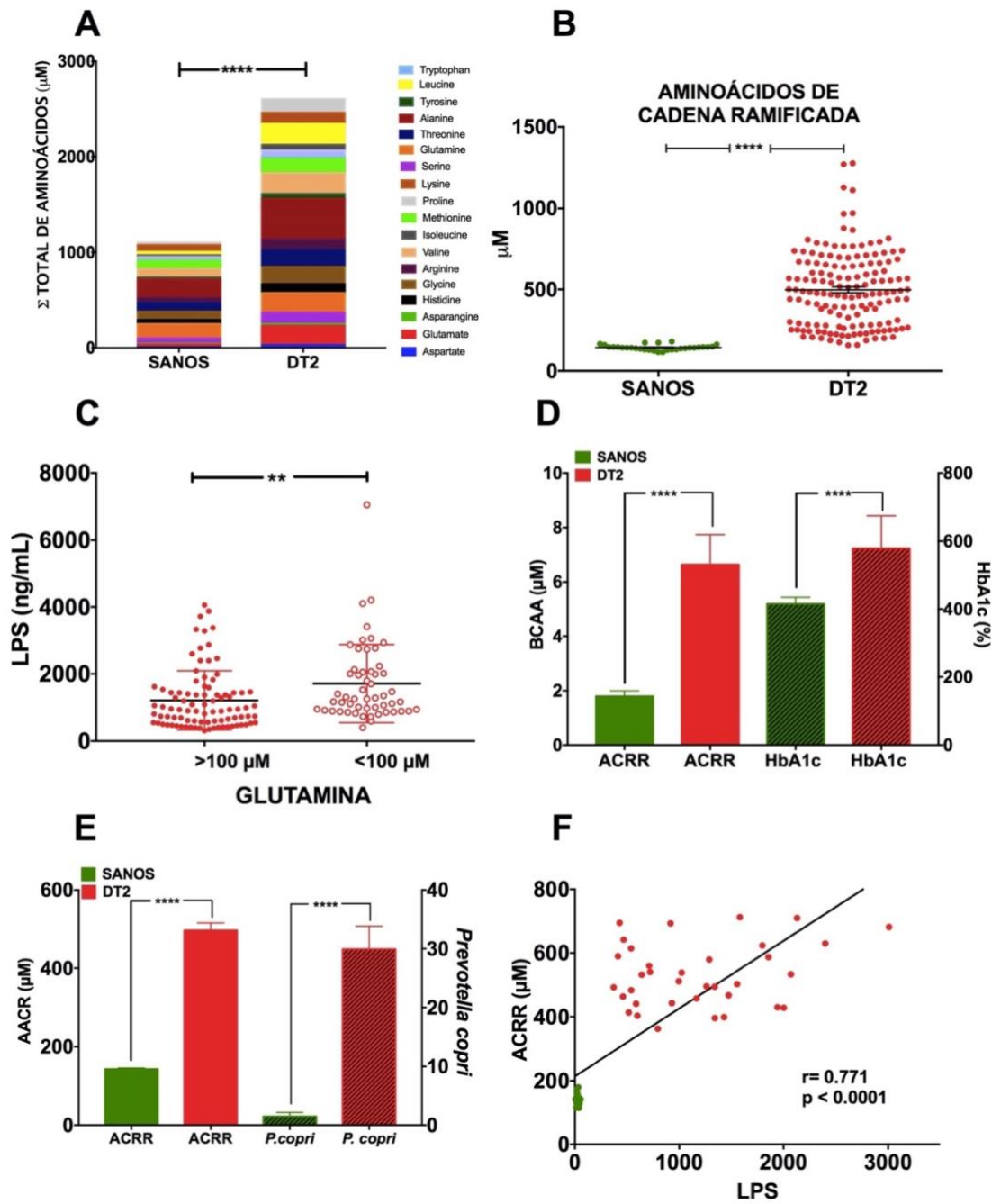
A. Concentraciones en plasma de trimetilamina N-oxidado (TMAO). **B.** TMAO en plasma en sujetos con DT2 dividido por género, **C.** concentraciones de betaína en plasma, **D.** concentraciones de colina en plasma, **E.** correlación de ABC de glucosa vs concentraciones de TMAO en sujetos sanos y con DT2, **F.** Correlación entre c-HDL vs TMAO en plasma.

10.4 Aminoácidos totales y aminoácidos de cadena ramificada sanos vs DT2

Los niveles séricos de aminoácidos, principalmente los AACR se han asociado con RI y recientemente se ha sugerido que podrían estar involucradas bacterias específicas en la síntesis de estos aminoácidos⁹³. Por tal motivo, medimos el total de aminoácidos en sujetos sanos y con DT2. Los aminoácidos séricos totales en sujetos con DT2 fueron 1.3 veces más altos que los sujetos sanos a excepción de las concentraciones de la glutamina (**Figura 15A**). Los AACR en suero (leucina, valina, isoleucina) fueron los aminoácidos que aumentaron más en 2.4 veces con respecto a los sujetos sanos (**Figura 15B**). Estudios experimentales proporcionan evidencia de que la estructura y función del intestino está preservada por la glutamina⁹⁴ y es capaz de regular la permeabilidad intestinal⁹⁵. En el presente estudio hubo una gran variabilidad en la concentración sérica de glutamina en sujetos con DT2, sin embargo, el 32% de los sujetos con DT2 mostraron una concentración muy baja de glutamina (24-69 μM), valores muy por debajo de los valores normales (205 μM) indicando un posible deterioro de la permeabilidad intestinal. Los sujetos con baja concentración de glutamina mostraron concentraciones significativamente mayores de LPS en suero ($p = 0.001$) que los sujetos con DT2 con concentración de glutamina $>100 \mu\text{M}$, indicativo de alteración de la permeabilidad intestinal.

Por otro lado, nuestros datos mostraron que los sujetos con DT2 con una HbA1c promedio de 7.2 ± 1.2 tenían una concentración sérica de AACR significativamente más alta que los sujetos sanos con un promedio de HbA1c de 5.1 ± 0.23 . La evidencia reciente en roedores indica que particularmente *P. copri* se asoció con RI e intolerancia a la glucosa y con un aumento de los niveles circulantes de ACRR. En el presente estudio en sujetos con DT2, observamos que los niveles altos de ACRR se asociaron con un aumento en la abundancia de *P. copri*. (**Figura 15E**). Además, nuestros resultados mostraron que a mayor concentración sérica de ACRR, mayor concentración sérica de LPS (**Figura 15F**).

Figura 15. Concentración de aminoácidos sanos vs DT2



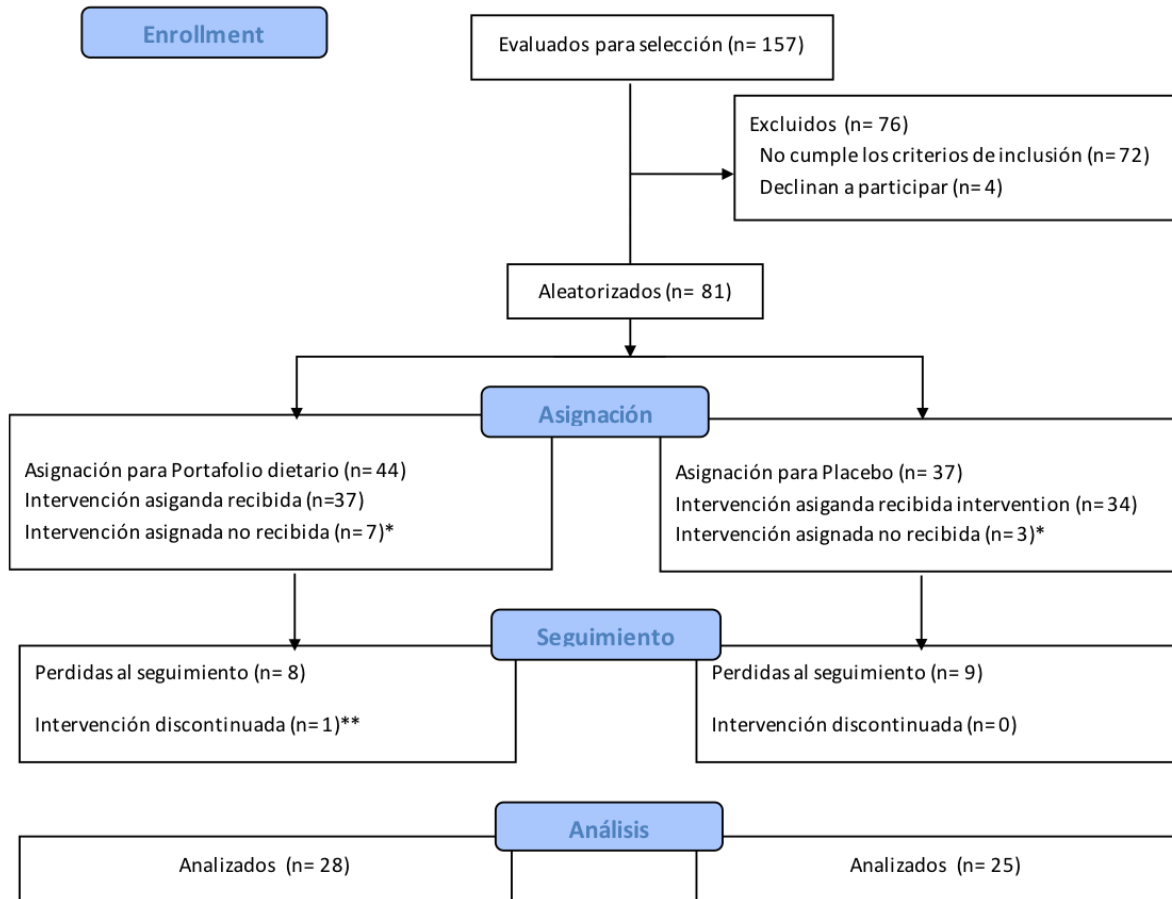
A. Σ total de aminoácidos en plasma, **B.** AACR en sujetos sanos y con DT2, **C.** Concentraciones de LPS en sujetos con concentración de glutamina < y >100μM. **D.** concentración de AACR y HbA1c en sujetos sanos y con DT2, **E.** concentración de AACR y abundancia relativa de *P. copri* en sujetos sanos y con DT2. **F.** Correlación entre concentraciones de LPS y AACR en sujetos sanos y con DT2. **p<0.01, ****p<0.0001

10.5 Selección de los participantes con DT2 para la inclusión al ensayo clínico aleatorizado

Una vez presentadas las características, diferencias en parámetros metabólicos y bioquímicos, así como la disbiosis intestinal del grupo de DT2, a continuación, se presentan los resultados de intervención con alimentos funcionales (portafolio dietario) con la finalidad de restablecer la disbiosis intestinal, así como de mejorar el perfil metabólico y bioquímico de los sujetos con DT2.

De los 157 sujetos que se evaluaron en la pre-visita, 76 fueron excluidos por no cumplir los criterios de inclusión (concentraciones de HbA1c, de TG, y de c-LDL elevadas por arriba del criterio de exclusión) y 4 participantes, aunque cumplieron los criterios de inclusión declinaron participar en el estudio. De estos 157 sujetos, 81 cumplieron con los criterios de inclusión y fueron asignados de manera aleatoria a una de las dos intervenciones del estudio, 44 se asignaron al grupo de portafolio dietario de los cuales 37 recibieron la intervención asignada y 7 no recibieron la intervención ya que no regresaron a la siguiente visita donde era asignada, se tuvieron 8 pérdidas al seguimiento relacionadas a falta de interés por seguir en el protocolo, cambio de residencia y falta de tiempo para seguir acudiendo el Instituto a sus consultas y se discontinuó 1 sujeto por ser alérgico a la soya; al final se realizó el análisis estadístico de 28 sujetos en este grupo. Para el grupo de placebo 34 de los 37 sujetos recibieron la intervención asignada, se tuvieron 9 pérdidas al seguimiento relacionadas a las mismas causas que el grupo de PD y se incluyeron en el análisis 25 sujetos. **Figura 16.** Se realizó X^2 entre los grupos de PD vs P para comparar la proporción de participantes que recibieron la intervención ($p=0.288$) y para comparar las pérdidas de participantes durante el estudio ($p=0.835$). Donde no encontramos diferencias entre los grupos.

Figura 16. Diagrama de flujo de la intervención de los participantes con DT2



*Solo asistieron a la visita 1. (En la visita 2 reciben aleatorización a la intervención).

**Alérgica a la soya.

Basado en Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT).

10.6 Características basales de los participantes incluidos en la intervención

Se determinaron las características basales de los participantes en ambos grupos antes de comenzar la intervención. Como se puede observar en la **Tabla 12** no hubo diferencia entre los grupos, en ambos grupos hubo una mayor participación por parte de las mujeres en el grupo de PD 68% y en el grupo de P 54.2%. La edad de los participantes en promedio fue de 50 años con 4 años de diagnóstico de DT2, no hubo diferencias entre grupos en variables antropométricas, bioquímicas; sin embargo en la toma de medicamentos podemos observar que en el grupo de P hubo

una mayor cantidad de sujetos que tomaban metformina y solo 1 sujeto con la combinación de medicamento metformina y glibenclamida aunque en el grupo de PD la gran mayoría también tomaba metformina el porcentaje fue más bajo (44%) y cerca del 20% de los sujetos tenían una combinación de medicamentos de metformina y glibenclamida.

Tabla 12. Características basales de los participantes con DT2 de la intervención

Características de los participantes evaluados para selección			
n = 53			
	PD n= 28	P n= 25	p
Sexo			0.320*
Femenino <i>n (%)</i>	17 (68)	13 (54.2)	
Masculino <i>n (%)</i>	8 (32)	11 (45.8)	
Edad, años	50.4 ± 8.7	49.8 ± 10.6	0.669
Años de diagnóstico, años	4.1 ± 3.5	4.4 ± 3.9	0.322
Peso, kg	78.3 ± 13.4	78.6 ± 11.8	0.924
IMC, kg/m²	30.7 ± 4	31.5 ± 6	0.591
Circunferencia de Cintura, cm	96.1 ± 11	97.9 ± 8	0.456
Circunferencia de cadera, cm	107 ± 10	107 ± 13	0.911
Presión arterial sistólica, mmHg	116 ± 14	118 ± 13	0.726
Presión arterial diastólica, mmHg	77.9 ± 10	78.3 ± 8	0.866
HbA1c, %	7.5 ± 1.3	6.9 ± 1	0.123
Glucosa, mg/dL	156 ± 63	138 ± 46	0.260
Colesterol Total, mg/dL	212 ± 65	195 ± 52	0.329
Col-LDL, mg/dL	133 ± 48	116 ± 49	
Col-HDL, mg/dL	38 ± 9	40 ± 10	0.559
TG, mg/dL	203 ± 100	195 ± 104	0.789
Índice HOMA	3.5 ± 3.1	3.4 ± 2.3	0.967
Medicamentos para control de glucosa			0.015*
Sin medicamento <i>n (%)</i>	8 (32)	3 (12.5)	
Metformina <i>n (%)</i>	11 (44)	20 (83.3)	
Metformina + glibenclamida <i>n (%)</i>	6 (24)	1 (4.2)	

Los datos son expresados como promedio y desviación estándar, Análisis *estadístico*: t de student para muestras independientes y *chi². **IMC**: índice de masa corporal.

10.7 Evaluación de la dieta y apego a la intervención

Se realizó la evaluación de la dieta de manera basal y a través del tiempo con el software Food Processor en donde analizamos el consumo de kilocalorías y macronutrientes, no se observaron diferencias entre grupos y a lo largo del tiempo. También se analizó el apego a la dieta durante el seguimiento y no se encontraron diferencias entre grupos y al seguimiento; reportándose un promedio de 78.8% de apego a la dieta en el grupo de placebo y un 80.7% de apego a la dieta en el grupo de PD. **Tabla 13.**

Tabla 13. Evaluación de la dieta de los participantes a través del estudio

Evaluación de la dieta de los participantes						
	Después 15 d	Después 45 d	Después 75 d	Después 105 d	Después 120 d	p
Kilocalorías						0.086
P	1734 ± 562	1576 ± 706	1557 ± 704	1707 ± 648	1552 ± 804	
PD	1449 ± 451	1494 ± 727	1327 ± 453	1558 ± 528	1402 ± 338	
Apego a la dieta, %						0.104
P	78.1 ± 15	76.4 ± 14.2	74.3 ± 12.9	77.9 ± 13.7	77.7 ± 14.4	
PD	79.2 ± 14	77.1 ± 24.5	75.9 ± 11.1	82.8 ± 10.3	88.5 ± 12.6	
Proteína, %						0.071
P	20.2 ± 5	18.6 ± 3.2	17.9 ± 5.8	18.3 ± 4.5	23.8 ± 6.3	
PD	17.1 ± 4.8	19.4 ± 5.8	17.9 ± 3.5	17.9 ± 3.1	27.9 ± 3.8	
Carbohidratos, %						0.126
P	50 ± 8.6	53.4 ± 10.4	55.4 ± 12.7	57.3 ± 9.9	49.2 ± 13.2	
PD	60 ± 10.7	57.7 ± 8.5	54.8 ± 9.1	52.6 ± 10.1	57.3 ± 10.7	
Grasa, %						0.357
P	29.9 ± 9.5	28 ± 10	26.7 ± 11.6	24.3 ± 7.8	27 ± 9	
PD	22.9 ± 10.1	22.9 ± 6.5	27.3 ± 9.8	29.5 ± 10.3	24.8 ± 9.9	
Fibra Total, g						0.215
P	29.9 ± 14.7	27.9 ± 13.3	26.6 ± 15.4	29.5 ± 15.1	25.5 ± 17.8	
PD	22.5 ± 10.3	24.1 ± 10.7	24.5 ± 12.8	26.2 ± 10.5	25.1 ± 11.3	
Fibra soluble, g						0.411
P	3.3 ± 2.8	3.3 ± 2.8	2.7 ± 2.4	3.8 ± 3.5	3.1 ± 3.2	
PD	2.7 ± 2.0	3.6 ± 2.8	3.1 ± 2.7	5.5 ± 4.4	4.3 ± 2.8	
Fibra insoluble, g						0.821
P	10.5 ± 6.9	8.6 ± 5.3	9 ± 7.5	11.7 ± 10	8.2 ± 8.1	
PD	8.2 ± 5.8	9.5 ± 4.9	7.9 ± 2.8	10.2 ± 4.6	10.5 ± 3.6	
Grasa saturada, g						0.450
P	11 ± 4.2	14 ± 8.2	11.8 ± 6.6	11.6 ± 5.5	12.2 ± 6.8	
PD	8.4 ± 3.4	9 ± 5.1	12 ± 5.5	14.5 ± 6.6	11.8 ± 7.1	
Grasa monoinsaturada, g						0.162
P	21.6 ± 14.5	20.8 ± 16.6	20.3 ± 18.2	14.7 ± 9.7	13.2 ± 7.5	
PD	10 ± 4	12.9 ± 6.7	18 ± 13.7	18.8 ± 11.7	13.2 ± 8.6	
Colesterol, mg						0.280
P	163 ± 93.9	195 ± 145	184 ± 167	191 ± 124	236 ± 102	
PD	175 ± 150.7	141 ± 121	149 ± 95	191 ± 158	152 ± 130	

Los datos son expresados como promedio y desviación estándar, Análisis estadístico: Análisis estadístico ANOVA de medidas repetidas. **P** placebo; **PD** Portafolio dietario; **d** días.

Por otro lado, el apego a la toma de la bebida se cuantificó en base a los sobres vacíos que entregaba el participante y el promedio de los sobres que reportaba en su hoja de cotejo.

El promedio del porcentaje de apego para la toma del portafolio dietario fue de 90.1% y para el grupo del placebo fue de 87.9%. En la **Tabla 14** se muestra los porcentajes de apego al tratamiento dietario tanto para el grupo de portafolio dietario como de placebo a través del tiempo.

Tabla 14. Porcentaje de apego de la intervención

	Porcentaje de apego a la intervención			
	<i>Después 75 d</i>	<i>Después 105 d</i>	<i>Después 120 d</i>	<i>Promedio</i>
Portafolio Dietario, %	89.3 ± 10.1	88.7 ± 10.9	92.2 ± 8.6	90.1 ± 9.9
Placebo, %	87 ± 12	89.5 ± 11.1	87.2 ± 11.5	87.9 ± 11.4

10.8 Actividad física de los participantes

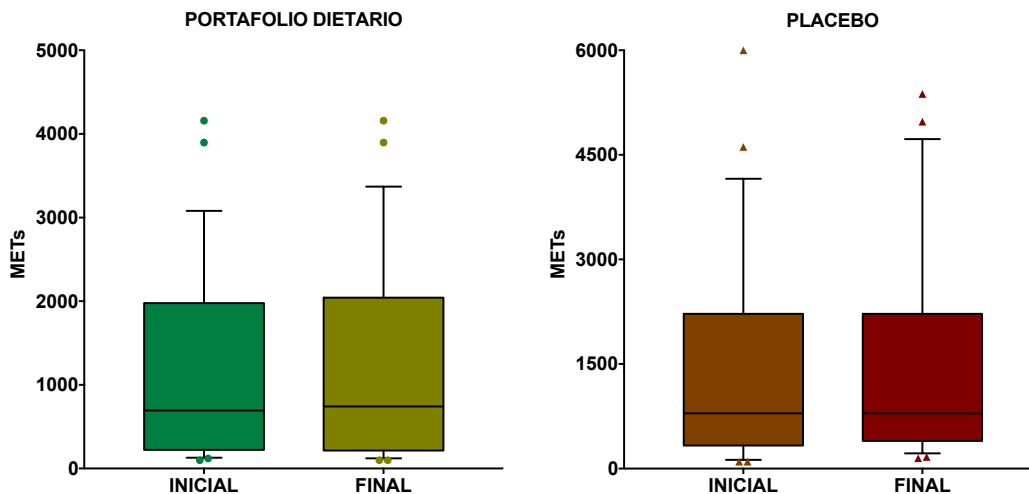
Para evaluar la actividad física de los participantes se les realizó el cuestionario internacional IPAQ antes y después de la intervención. No hubo diferencia de la actividad física en la visita inicial entre los grupos de tratamiento y tampoco se hubo cambio al final de la intervención **Figura 17**. Sin embargo, se puede observar que la mayoría de los participantes reportaron una actividad leve (< 600 METs) a moderada (600 – 3000 METs) y solo un porcentaje bajo tuvieron actividad intensa (>6000 METs) **Tabla 15**.

Tabla 15. Actividad física de los participantes.

Actividad física de los participantes						
	<i>PD inicial</i> <i>n= 28</i>	<i>PD final</i> <i>n= 25</i>	<i>p</i>	<i>P inicial</i> <i>n= 28</i>	<i>P final</i> <i>n= 25</i>	<i>p</i>
Actividad física, <i>METs</i>	693 (99 - 4158)	881 (99-4158)	0.463	792 (99 - 6186)	792 (148- 697)	0.287
*Nivel de actividad física			0.161			0.854
Leve <i>n (%)</i>	11 (39.2)	11 (39.2)		14 (56)	9 (36)	
Moderado <i>n (%)</i>	4 (50)	12 (42.8)		7 (28)	9 (36)	
Intenso <i>n (%)</i>	3 (10.8)	5 (17.8)		4 (16)	7 (28)	

Los datos están expresados como mediana (mínimo- máximo). Análisis estadístico para comparar inicial vs final: Wilcoxon. * Estos datos están expresados en porcentajes. Análisis estadístico χ^2 .

Figura 17. Actividad física de los participantes

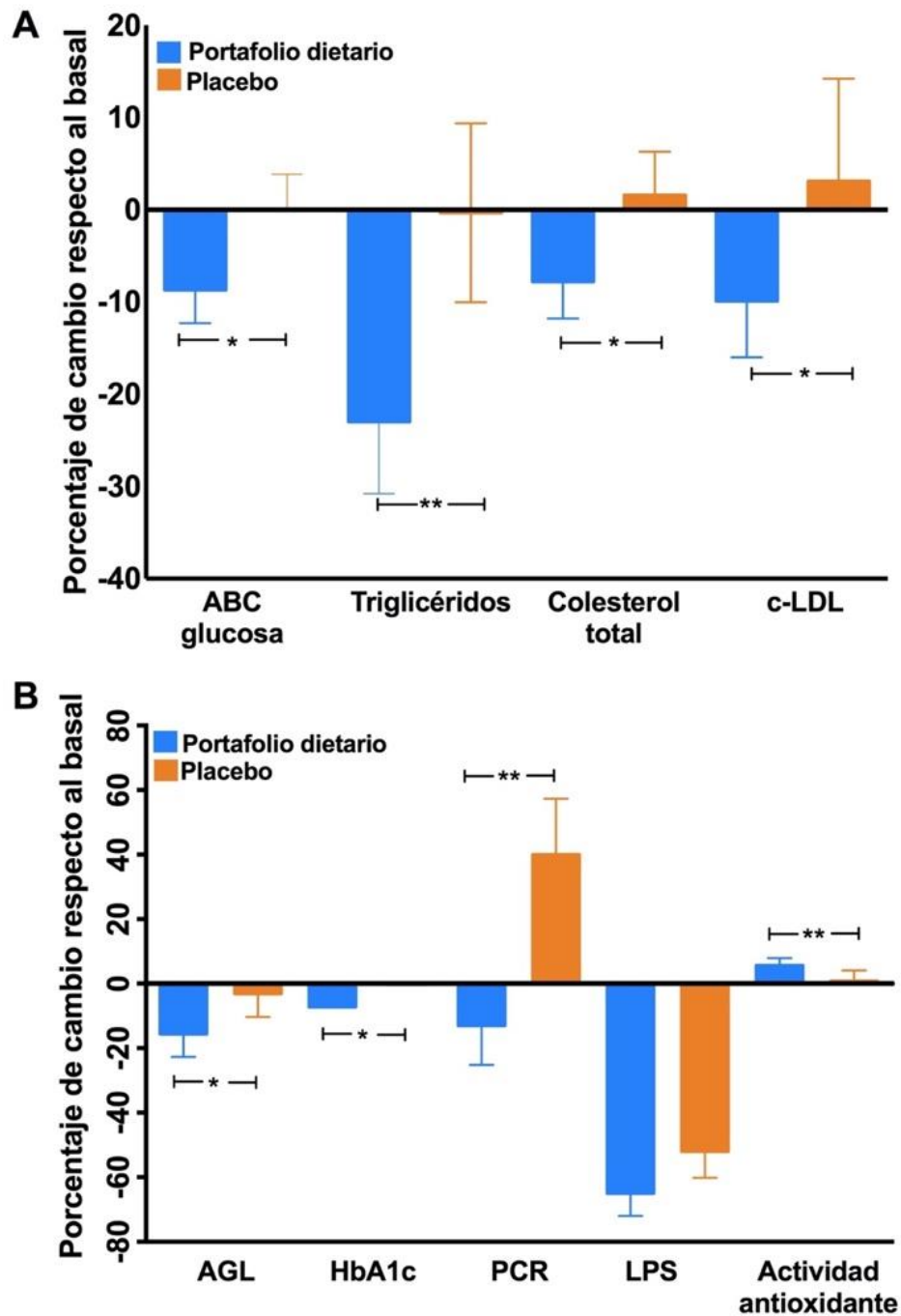


Actividad física en sujetos con DT2 antes y después de la intervención, en el grupo de portafolio dietario y en el grupo de placebo.

10.9 Parámetros bioquímicos, cambios después de la intervención

Los sujetos con DT2 que consumieron el PD mostraron una reducción en el porcentaje de cambio respecto al basal en ABC de glucosa (-8.7%), triglicéridos (-23%), colesterol total (-7.8%) y colesterol LDL (-9.9%) cuando fueron comparados con el grupo de placebo (**Figura 18A**). Sin embargo, no se observaron cambios en las concentraciones de c-HDL. Además, este grupo también mostró una reducción significativa en el porcentaje de cambio respecto al basal de AGL (-15.6%), HbA1c (-7.2%) y PCR (-13%) y un aumento en la capacidad antioxidante medida en plasma (+5.6%) al compararlo con el grupo de placebo. De manera interesante las concentraciones de LPS disminuyeron en ambos grupos (-65% en el grupo DP y en un -52% en el grupo P), lo que indica que la modificación en la dieta ayuda a reducir la endotoxemia metabólica mediada por LPS. (**Figura 18B**). No se mostraron cambios significativos después de la intervención y en comparación con el grupo de placebo en concentraciones de insulina, GIP, TMAO y sus metabolitos, glicerol y el perfil de aminoácidos.

Figura 18. Cambios en parámetros bioquímicos después de la intervención

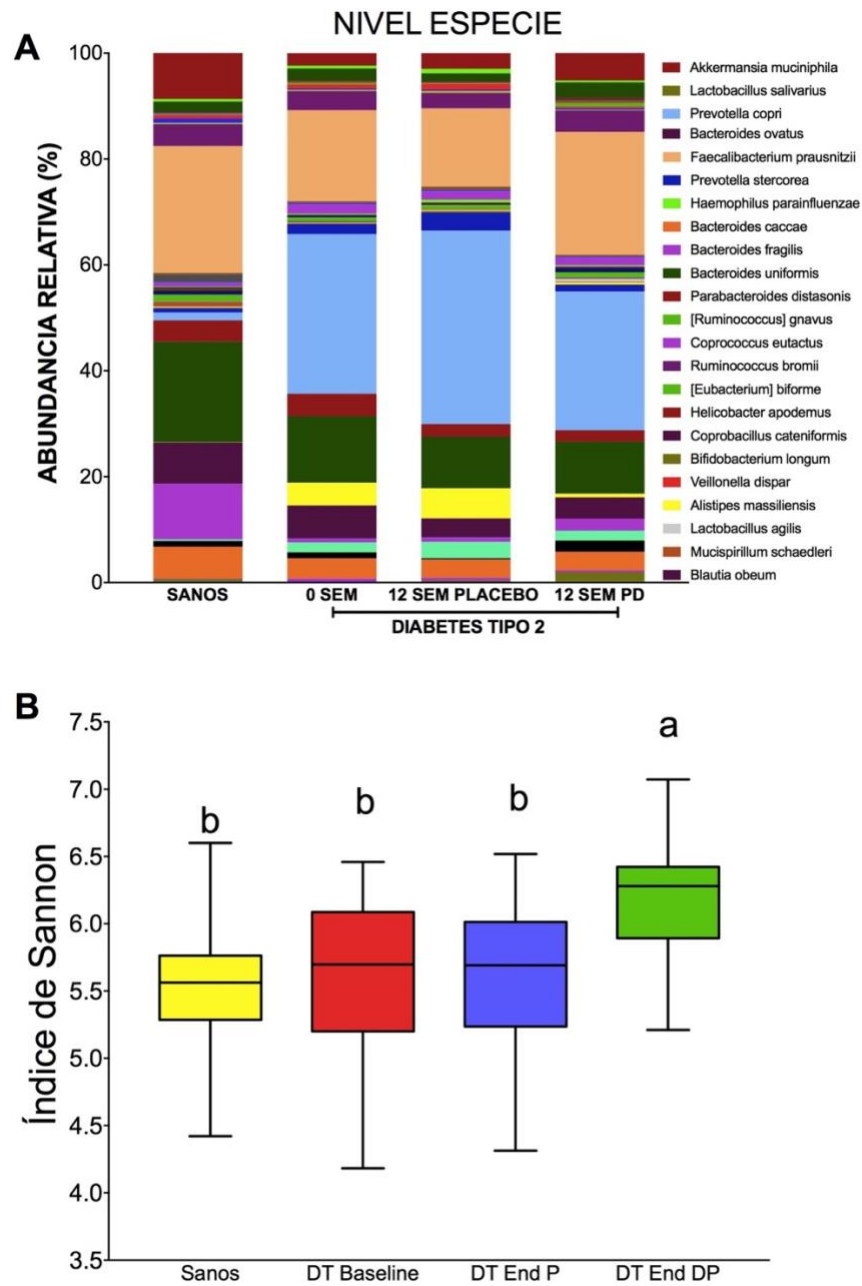


Porcentaje de cambio con respecto al basal de parámetros bioquímicos en sujetos con DT2 con PD (barras azules) vs P (barras naranjas). **A.** Área bajo la curva (ABC) de glucosa, triglicéridos séricos, colesterol total y colesterol LDL. **B.** Ácidos grasos libres (AGL), hemoglobina glucosilada (HbA1c), proteína C reactiva (PCR), lipopolisacárido (LPS) y actividad antioxidante. Las barras representan promedio \pm SEM, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ comparado con el grupo placebo.

10.10 Cambios en la composición de la microbiota Intestinal después de la intervención

Como demostramos anteriormente, la microbiota intestinal de sujetos sanos difiere significativamente de la de los sujetos con DT2. Tener un enfoque en el cambio de la composición de la microbiota intestinal podría ofrecer nuevas posibilidades para el tratamiento de la enfermedad. Nuestros resultados mostraron que el grupo de personas con DT2 que consumió el PD modificó la microbiota intestinal a nivel de especie. Después de 12 semanas de intervención aumentó la abundancia de *Faecalibacterium Prausnitzii* y *Akkermansia muciniphila* en aproximadamente un 34% y 125%, respectivamente, y redujo la abundancia de *Prevotella copri* en un 13%. De manera interesante, el consumo de PD estimuló la aparición de *Bifidobacterium longum* (**Figura 19A**) que se ha demostrado que mejora la señalización de la insulina⁹⁶. Finalmente, hubo un aumento de *Bacteroides fragilis*. De acuerdo con el índice de Shannon, no hubo diferencia en la alfa diversidad entre la población de sanos vs DT2 de manera basal, sin embargo, después de la intervención dietética con PD se observó un aumento de la diversidad medida por el índice de Shannon en este grupo. (**Figura 19B**).

Figura 19. Cambios en la composición de la microbiota intestinal después de la intervención



A. Composición de la microbiota intestinal después de 12 semanas de intervención con placebo y con PD, **B.** Alpha diversidad analizada por el índice de Shannon en sujetos con DT2 después del consumo de PD.

11 Discusión

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de una intervención dietaria específica para el control metabólico y cambios en la composición de la microbiota intestinal. Después de 3 meses del consumo del PD, los participantes con DT2 tuvieron una reducción estadísticamente significativa en parámetros bioquímicos relacionados al control metabólico. Esta evidencia científica confirma la eficacia y factibilidad de la combinación de estos 4 alimentos funcionales en conjunto con su plan de alimentación específico para esta población en donde pudimos observar una reducción en el perfil lipídico en porcentaje de cambio de -7.8% en las concentraciones de colesterol-LDL y -9.9% en concentraciones de colesterol total sin ver cambios en las concentraciones de colesterol-HDL. Resultados similares se observaron en el estudio de Keith et al⁷³ en donde se utilizó un portafolio dietario modificado (bajo en grasa, 8g/1000 kcal de fibra viscosa, 17g/1000kcal de proteína de soya y 22g/1000 kcal de almendras) en una población con DT2 observado una reducción de -19% en las concentraciones de LDL y sin cambios en colesterol-HDL, estos hallazgos respaldan el reporte de reducción del colesterol asociado con la soya^{71, 97, 98}.

Por otro lado, uno de los objetivos importantes en sujetos con DT2 es el control de la glucosa, ya que se asocia directamente con futuras complicaciones macro y microvasculares a través del aumento del estrés oxidativo⁹⁹. En nuestro estudio observamos una reducción significativa en el grupo de PD en las concentraciones de HbA1c -7.2% y además del porcentaje de cambio del ABC de glucosa -9.4%. Según lo reportado por López-Romero et al. el nopal reduce los picos de glucosa postprandiales en sujetos con DT2, por lo que este cambio después de la intervención podría atribuirse en gran parte al consumo del nopal, utilizamos 14 g de nopal deshidratado (que se secó a baja temperatura para mantener la actividad antioxidante) y según la literatura esta cantidad es equivalente a 300 g de nopal crudo¹⁰⁰. Además, la presencia de polifenoles (quercetina, isorhamentina y kaempferol) contribuye al aumento de la capacidad antioxidante del nopal reflejada

en nuestros datos en un aumento en el porcentaje de cambio de 5.6 % en el plasma de los sujetos que tomaron el PD.

Las estrategias dietéticas en sujetos con DT2 se han relacionado con efectos positivos sobre los marcadores de inflamación como la concentración de LPS¹⁰¹, nuestros datos mostraron que los sujetos con DT2 tuvieron concentraciones elevadas de LPS de aproximadamente 55 veces en comparación con sujetos sanos, lo cual claramente nos indica una inflamación de bajo grado, y estos resultados se asociaron con la disbiosis en la microbiota intestinal, además de lo reportado de que los sujetos con DT2 desarrollan endotoxemia metabólica mediada por LPS¹⁰². También se ha documentado que este LPS depende de la permeabilidad de la barrera intestinal que está en parte regulada por la microbiota intestinal. Después de la intervención pudimos observar una mayor reducción en las concentraciones séricas de LPS en los sujetos que consumieron PD, pero esto no fue significativo, esto puede ser debido al hecho de que los dos grupos llevaban una dieta diseñada para el control metabólico en esta población¹⁰³. No obstante, en metabolitos relacionados con inflamación se observó una reducción significativa en PCR del -13% en el grupo que consumió el PD, similar a la reportada por Jenkins et al (-29%) donde informan una disminución en este metabolito tanto en el grupo PD como en el grupo que usó estatinas⁶⁵.

Interesantemente en nuestra población de estudio, los sujetos con DT2 además de hiperglucemia e hiperinsulinemia también mostraron una concentración elevada de GIP, esta incretina induce la expresión de citocinas, la lipólisis y la resistencia a la insulina en adipocitos humanos¹⁰⁴, también observamos concentraciones altas de AGL en plasma como resultado de la lipólisis del tejido graso, que a su vez inhibe la captación de glucosa estimulada por insulina en los músculos y de igual manera conduciendo a RI¹⁰⁵. A pesar de estos datos, después de la intervención con alimentos funcionales observamos una reducción de -15.6% en el porcentaje de cambio de las concentraciones de AGL sin cambios en las concentraciones de GIP e insulina.

Por otro lado, el análisis de PCoA reveló que la microbiota intestinal de los sujetos con DT2 fue diferente desde nivel de phyla hasta nivel de especie al compararla con la de los sujetos sanos. Las principales especies con mayor abundancia en sujetos con DT2 fueron *P. copri*, *B. plebeius* y *B. eggerthii*, mientras que en sujetos sanos fueron *B. fragilis*, *A. muciniphila* y *B. uniformis*. De hecho, *P. copri*, es una bacteria productora de LPS que se ha relacionado con una inflamación de bajo grado que altera la función de barrera y desencadena la inflamación sistemática, además de aumentar la síntesis de AACR, el LPS y la R.I²⁰.

También pudimos observar una abundancia menor en el grupo de DT2 de 2 especies muy importantes *F. prausnitzii* y *A. muciniphila* cómo se ha documentado en otras publicaciones la disminución de abundancia de estas especies en personas con DT2^{26,106,107}. La primera especie es considerada un componente prototípico anti-inflamatorio por que induce la IL-10 regulando las respuestas de las células T en el intestino. Estudios previos también han demostrado que *F. prausnitzii* podría mejorar la función de barrera intestinal al estimular la síntesis de proteínas de mucina y uniones estrechas^{108,109} y *A. muciniphila* es caracterizada como una bacteria degradadora de mucina que reside en la capa de moco, varios informes han demostrado recientemente que *A. muciniphila* podría desempeñar un papel clave en la integridad de la capa mucosa y tiene el potencial de reducir la inflamación¹¹⁰. Notablemente, después del consumo de PD con alimentos funcionales observamos un aumento en la alfa diversidad y particularmente con una disminución en la abundancia de *P. copri* y un aumento en *F. prausnitzii* y *A. muciniphila*.

Los resultados del presente trabajo demostraron que una combinación de diferentes alimentos funcionales puede modificar la microbiota intestinal que a su vez mejora el metabolismo de carbohidratos y lípidos y reduce la endotoxemia metabólica, así como se ha descrito por Everard A. et al. en donde la suplementación dietética con fibras, aumentan la abundancia de *A. muciniphila*¹¹¹ y con ello mejora funciones metabólicas, incluyendo endotoxemia metabólica. Sin embargo, consideramos que

es necesario tener una intervención dietética a más largo plazo para revertir la disbiosis de la microbiota intestinal y mejorar otros metabolitos relacionados con la resistencia a la insulina y el riesgo cardiovascular. También en el presente estudio, demostramos que los sujetos con DT2 mostraron un aumento significativo en los niveles plasmáticos de AACR, HbA1c, *P. copri*, RI y una asociación significativa entre LPS y AACR en plasma. Se ha sugerido que una concentración elevada de AACR se asocia con el desarrollo de RI y posiblemente la microbiota intestinal sea otra fuente independiente de elevación de los niveles séricos de AACR en la DT2.

Interesantemente, otro aminoácido involucrado en la regulación de la permeabilidad intestinal, es la glutamina, la cual mostró una alta variabilidad en el plasma de sujetos con DT2. Aproximadamente el 30% de los sujetos tenían una concentración de glutamina inferior a 100 μ M que se asoció con una concentración de LPS en un 41.4% mayor que los sujetos con una concentración de glutamina >100 μ M, lo que indica una disminución de la integridad intestinal. La privación de glutamina exagera la producción de citocina proinflamatoria, mientras que la suplementación con glutamina limita la respuesta inflamatoria in vitro y protege la mucosa intestinal en diferentes modelos de lesión intestinal¹¹².

Una de las limitaciones importantes del estudio para poder ver cambios en otras variables como el AUC de la insulina, la concentración de LPS fue el tiempo de seguimiento, junto con una tendencia a disminuir el apego a la dieta y a la intervención, pero quizás la más importante fue el tiempo de evolución de DT2. Como se ha informado un deterioro progresivo del control glucémico a pesar de la intervención dietética, se atribuye a la pérdida progresiva de la función de las células β pancreáticas¹¹³. Dentro de otras limitaciones que pudieron influir para encontrar significancia estadística en las variables mencionadas con anticipación, se encuentra el tamaño de la muestra y las pérdidas de los participantes en el seguimiento durante el estudio, a pesar de que no fueron diferentes entre grupos.

12 Conclusiones

Con los resultados de este protocolo podemos concluir que el grupo de sujetos con DT2 presentan una marcada diferencia en la composición de la microbiota intestinal conocida como disbiosis intestinal, en donde se puede ver un incremento de bacterias benéficas. Todos estos cambios en la microbiota intestinal tienen una repercusión en el perfil metabólico en donde también observamos concentraciones elevadas de aminoácidos en especial AACR, TMAO, glucosa, HbA1c, insulina, AGL y perfil de lípidos.

El consumo de la combinación de alimentos funcionales (nopal, proteína de soya, semilla de chía e inulina) por 3 meses mostró una disminución HbA1c, ABC de glucosa, TG, Colesterol total, C-LDL, AGL, PCR y un aumento de la actividad antioxidante en plasma al compáralo con el grupo de placebo en sujetos con DT2. Después del consumo de estos alimentos funcionales se observó un aumento en la alfa diversidad, de manera muy interesante a nivel de especie en la microbiota intestinal observamos un incremento de *Faecalibacterium Prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila*, *Bifidobacterium longum* y *Bacteroides fragilis*; bacterias catalogadas como benéficas. Estos datos sugieren que el consumo de estos alimentos funcionales podría mejorar el control metabólico por la vía de un restablecimiento en la disbiosis de la microbiota intestinal en sujetos con DT2.

13 Anexos

Anexo 1. Historia Clínica.



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

DM2 **ID** _____ **FECHA:** _____
NOMBRE: _____ **FECHA DE NAC:** _____
EDAD: _____ **EDO.CIVIL** _____ **OCUPACIÓN:** _____
TELEFONO: _____ **CÉLULAR:** _____
MAIL: _____
PESO MÁXIMO: _____ **PESO MÍNIMO:** _____ (1 año) **AÑO DE DIAGNÓSTICO DM2:** _____

¿QUÉ MEDICAMENTOS ESTA TOMANDO Y DOSIS?

ESTILO DE VIDA. EJERCICIO: __ SI NO TIPO: _____ TIEMPO: _____

FRECUENCIA: _____

FUMA: SI NO ¿CUÁNTO? _____ ¿HACE CUANTO TIEMPO? _____

ALCOHOL: SI NO ¿CUÁNTO? _____ (a la semana)

MUJERES ¿ESTA EMBARAZADA? SI NO ¿PERIODO DE LACTANCIA? SI NO

MÉTODO ANTICONCEPTIVO _____

ANTROPOMETRÍA Y CLÍNICA

Estatura		Masa grasa (%)	
Peso		Masa magra (Kg)	
Cintura		FUM	
Cadera		Presión arterial	
P.A			X=

Anexo 2. Recordatorio de 24 horas.



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


ID: _____
RECORDATORIO DE 24 HORAS

Visitas Pre-consulta 1 2 3 4 5

Día: Lunes Martes Miércoles Jueves Viernes Sábado Domingo

HORA Y LUGAR DE CONSUMO	ALIMENTOS (Ingredientes de los platillos)	Cantidad
Desayuno Hora: _____ Lugar: _____		
Colación Hora: _____ Lugar: _____		
Comida Hora: _____ Lugar: _____		
Colación Hora: _____ Lugar: _____		
Cena Hora: _____ Lugar: _____		

**R
E
C
O
R
D
A
T
O
R
I
O
D
E
2
4
H
O
R
A
S**

Ninguna actividad física moderada  **Vaya a la pregunta 5**

4. Habitualmente, ¿cuánto tiempo en total dedicó a una actividad física **moderada** en uno de esos días?

_____ **horas por día** _____ **minutos por día**

No sabe/No está seguro

Piense en el tiempo que usted dedicó a **caminar** en los **últimos 7 días**. Esto incluye caminar en el trabajo o en la casa, para trasladarse de un lugar a otro, o cualquier otra caminata que usted podría hacer solamente para la recreación, el deporte, el ejercicio o el ocio.

5. Durante los **últimos 7 días**, ¿En cuántos **caminó** por lo menos **10 minutos** seguidos?

_____ **días por semana**

Ninguna caminata  **Vaya a la pregunta 7**

6. Habitualmente, ¿cuánto tiempo en total dedicó a caminar en uno de esos días?

_____ **horas por día** _____ **minutos por día**

No sabe/No está seguro

La última pregunta es acerca del tiempo que pasó usted **sentado** durante los días hábiles de los **últimos 7 días**. Esto incluye el tiempo dedicado al trabajo, en la casa, en una clase, y durante el tiempo libre. Puede incluir el tiempo que pasó sentado ante un escritorio, visitando amigos, leyendo, viajando en ómnibus, o sentado o recostado mirando la televisión.

7. Durante los **últimos 7 días** ¿cuánto tiempo pasó **sentado** durante un **día hábil**?

_____ **horas por día** _____ **minutos por día**

No sabe/No está seguro

Anexo 4. Seguimiento de visitas.



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

ID: _____

SEGUIMIENTO DE VISITAS

NOMBRE: _____

Medidas antropométricas

Talla: _____ año de nacimiento: _____

Visita	Fecha	Peso	cintura	cadera	Masa grasa (%)	Masa magra (kg)
1						
2						
3						
4						
5						

Presión arterial

Visita	1	2	3	4	≈
1					
2					
3					
4					
5					
6					

S E G U I M I E N T O
D E
V I S I T A S

Visita	Plan de alimentación	# de sobres entregados	medicamento	Observaciones
1				FUM:
2				FUM:
3				FUM:
4				FUM:
5				FUM:

Anexo 5. Ejemplos de menús del plan de alimentación.

0002 A	1	2	3	4	5	6	7
DESAYUNO 1 leche 2 fruta 3 cereal 2 AOA 3 aceite 2 verdura	1 licuado de plátano (1 tza de leche descremada 1 plátano) 1 sincronizada (2 Tortillas 30g de queso Oaxaca 30g de pechuga de pavo, medio aguacate y jitomate) 5 galletas marías	1 tza de leche descremada 1 mango 2 claras de huevo 40g de queso panela 2 cdas de aceite 1 reb de pan de caja con una cdita de margarina 12 galletas de animalitos	Sandwich con 2 rebs de pan, 2 rebs de tocino sin freir, 2 cdas de mayonesa light jitomate y lechuga al gusto. 6 cdas de queso cottage con 2 tzas de melon con papaya. 1 tza de leche descremada	80g de queso panela asado con champiñones 2 tortillas 1 plátano 1 tza de leche descremada 1 pan tostado con 1 cdita de margarina con mermelada con splenda	4 claras de huevo 2 tortillas 2 rebs de tocino sin freir 5 pzas de galletas marías licuado de 1 tza de leche descremada con 1 plátano	3 quesadillas con tortilla de maíz (30g de requesón 30g de pechuga de pavo, 2/3 de aguacate) 1 tza de leche descremada 1 1/2 tza de fresas con 2 cdas de crema y splenda	1 tza de leche descremada 1 1/2 tza de papaya 4 claras de huevo con espinacas y champiñones con 2 cdas de aceite, dos rebanadas de pan 5 galletas maria
COMIDA 2 AOA 1 leguminosa 3 cereales 2 verdura 4 aceite 2 fruta	60 g de pechuga de pollo asada 1/2 tza de lentejas 1/2 tza de arroz 2 tortillas 1 tza de coliflor y 2 cdas de chicharos con 2 cdas de mayonesa light 1 de pza de plátano con 2 cdas de crema light y splenda	1/2 lata de atún en agua con 2 cdas de mayonesa light y lechuga y 35g de chicharos 2 paq de galletas saladas 1/2 tza de arroz 1/2 tza de jicama y 1/2 de pepino 4 pzas. de duraznos	90g de filete de pescado a la Veracruzana 6 aceitunas, pimiento y jitomate, 30g de chicharos cocidos. 2/3 pza. de aguacate 1 tza de arroz 1 tortilla 1 tza de aoeja cocida 1 tza de ajo crujido 2 guayabas	Tacos de pollo (60 g de pollo deshebrado y 3 tortillas) 2 cdas de crema light 1/2 tza de garbanzos Ensalada (1 tza de lechuga 1 jitomate 1/2 tza de zanahoria) con 2 cdas de aderezo bajo en grasa 2 naranjas	60g de ternera de res 1/2 tza de habas cocidas 1 1/2 pza de jitomate asado 1/2 tza de calabaza asada 1 tza de pasta 1/2 bolillo 2/3 de aguacate 1 mango	Ensalada (1/2 tza de aguacate, 1/2 tza de pepino 1/2 tza de lebrócoli 1/2 tza de zanahoria 1/2 tza de elote 30g de jamón y 40g de queso panela) 1/2 tza de arvejo, 1 manzana en cuadritos) 3 paq de galletas saladas o habaneras 1/2 plátano	90 g de carne de res en puntas 1 jitomate (cebolla Chile) 1 tza de verdolagas con 1 cda de aceite 1/2 tza de pepino 2/3 de aguacate 2 tortillas 1/2 tza de arroz 1/2 tza de frijoles 1 pera
CENA 3 aceite 1 AOA 3 Cereales 2 Verdura 1 fruta 1 leche	40 g de queso panela asado 3 tortillas 1/2 tza de brócoli con 2 cdas de crema light 1 vaso de leche light 1 manzana	Torta (1 bolillo, 2 cdas de mayonesa, 1/3 pza de aguacate 1 reb de jamón y 30 g de queso panela) 1/2 tza de zanahoria. licuado con 1 tza de leche descremada con 1 tza de papaya	1/2 tza de aceitunas cocidas 3 cdas de queso cottage con 6 cdas de granola con 1 tza de fruta picada 1 vaso de leche light	40g de queso panela asado Con 1 tza de ejotes en salsa verde 3 tortillas 2/3 de aguacate y licuado de plátano con 1/2 plátano 1 tza de leche light	Sandwich (2 rebs de pan, 1 reb de pechuga de pavo 20g de queso panela, jitomate y lechuga) 1/2 tza de calabacitas asadas con 2 cdas de mantequilla 240 ml de leche y 2 tunas	1/2 tza de verdolagas 30g de ternera 2 tortillas 2/3 aguacate 1 vaso de leche light 1 manzana	2 quesadillas (2 tortillas maíz, 30g queso Oaxaca). 5 galletas marías. 1/2 tza de champiñón cocido 1 cda crema light 2/3 aguacate licuado con 1 tza de leche light y 1 tza de fresas rebanadas con splenda al gusto.

Recuerde consumir de 1.5 a 2 litros de agua natural al día.

001A	1	2	3	4	5	6	7
DESAYUNO 1 aceite 2 cereales 1 fruta 1 leche 1 aceite con proteína	2 tortillas de maíz con 1/3 aguacate. Licuado (1 tza de papaya, 240 ml de leche descremada, 3 nueces).	2/3 de bolillo sin migajón con 1 cda de queso urrío. Licuado (1/2 plátano con 240 ml de leche descremada y 10 almendras).	1 tza de leche descremada con 1/2 tza de central sin azúcar, 3 nueces picadas y 1 manzana picada. 1 reb de pan tostado con una cdita de mantequilla.	2 reb de pan tostado con 1/3 de aguacate 240 ml de leche descremada. 10 almendras. 2 naranjas en gajos.	2/3 de bolillo sin migajón licuado con 1 tza de queso crema y 3 nueces picadas. 1 tza de leche descremada. 1 tza de miel picado.	Licuado (1 manzana mediana, 240 ml de leche descremada, 1/2 de tza de almendras natural y 10 almendras). 1 tortilla de maíz con 2 cdas de guacamole.	1 tza de fresa rebanadas con 1 cda de urrío, 1/2 tza de amendo y 3 nueces oaxacas 240 ml de leche descremada.
COMIDA 3 aceite 2 fruta 2 cereales 2 AOA 1 leguminosa 1 aceite con proteína	1 tza de verduras cocidas con aceite de jitomate. 60g de singa de pollo (guisada con 1 cdita de aceite). 1/2 de tza de frijoles cocinados con 1 cdita de aceite, 1/3 de aguacate. 2 tortillas de maíz. Agua de mango (1 mango mediano). 1 manzana 10 almendras.	1 tza de pasta. 2 calabacitas chicas (30g cda) de carne de res magra en caldo de jitomate (1 cdita de aceite). 1/2 de tza de frijoles de la olla. Ensalada: 1 tza de zanahoria rallada, 3 nueces picadas y 2 cdas de aceite de oliva. 1 Pera	1/2 tza de arroz blanco con 1 cdita de mantequilla. 60g Bisteque de res guisado con 1 cdita de aceite 1/3 de aguacate. 1/2 de tza de lentejas. Agua de naranja (2 naranjas). 1 tza de zanahoria picada. 1 1/2 cdas de pepitas de calabaza sin sal.	60g de filete de pescado cocinado con 1 cdita de aceite 1/2 tza de arroz blanco. 1 tza de ejotes cocidos con 2 cditas de mantequilla. 1/2 de tza de copa de haba. Agua de fresa (1 tza de fresa y 2 naranjas). 13 cacahuates sin sal (17g)	Ensalada de atún: 1 tza de pasta cocida, 60g de atún en agua (2/3 de lata), 1/3 de aguacate, 1 jitomate picado, 1/2 tza de pepino picado, 1 1/2 tza de lechuga, 1 cdita de mayonesa, 1 cdita de crema, 7 nueces de la india picadas, 1/2 de tza de chicharo. Agua de melón: 1 tza de melón 1 tortaja en gajos	Omelette: 1 huevo, 40g de queso panela, 1/2 tza de for de calabaza, cocinado con 1 cdita de aceite. 1/2 de tza de frijoles de la olla. 2 cdas de guacamole. 2 tortillas de maíz. Ensalada: 1 1/2 tza de lechuga, 1 jitomate, 3 nueces molidas, 1 cdita de aceite de oliva 1 1/2 tza de papa picada	1 tza de sopa de fideo. Calabacitas rellenas: 2 calabacitas (carne de res magra molida (60g) cocinada con jitomate, cebolla y 2 cdas de aceite. 1/2 de tza de sopa de ensalada. 1/3 pza de aguacate. 1 Pera. 7 nueces de la india
CENA 1 aceite 1 verdura 2 cereal 1 fruta 1 aceite con proteína	1 tza de sopa de verduras 2/3 de bolillo sin migajón 1 tza de fresas con 1 cda de urrío y 3 nueces picadas.	1 1/2 tza de champiñones rebanados con 1 cdita de aceite. 2 tortillas de maíz. 1 tza de papaya con 3 nueces picadas.	Sandwich vegetariano (2 reb de pan, 1 cdita de mayonesa, 1/2 jitomate, 1/2 tza de pimiento asados). 13 cacahuates sin sal (12g). Agua de melón (1 tza de melón).	Pasta con crema de brócoli: 1 tza de pasta cocida, 1 tza de crema y 1/2 tza de brócoli cocido. 4 cdas de semillas de girasol. 1 manzana.	Crema de chile poblano: 2/3 de chile poblano y 1 cda de urrío. 2/3 de bolillo sin migajón. 1 tza de papaya. 10 almendras.	1 tza de ejotes cocidos con 1 cdita de mantequilla. 1/2 tza de arroz blanco. 7 nueces de la india. 3 guayabas.	Ensalada (1 1/2 tza de lechuga, 1/2 jitomate, 1 tza de pasta cocida, 1 manzana picada, 10 almendras rebanadas y 1 1/2 cda de vinagre).

Recuerde consumir de 1.5 a 2 litros de agua natural al día.

Anexo 7. Bitácora de Alimentos.

ID: _____
BITACORA DE ALIMENTOS



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

Visita:

Pre-visita 1 2 3 4 5

Día:

Lunes Martes Miércoles Jueves Viernes Sábado Domingo

<i>HORA Y LUGAR DE CONSUMO</i>	<i>ALIMENTOS (Ingredientes de los platillos)</i>	<i>Cantidad</i>
<i>Desayuno</i> Hora: _____ Lugar: _____		
<i>Colación</i> Hora: _____ Lugar: _____		
<i>Comida</i> Hora: _____ Lugar: _____		
<i>Colación</i> Hora: _____ Lugar: _____		
<i>Cena</i> Hora: _____ Lugar: _____		

Anexo 8. Cuestionario de Efectos Adversos.

CUESTIONARIO EFECTOS ADVERSOS

NOMBRE: _____
FECHA: _____
VISITA: _____

ID DEL PACIENTE: _____

PROTOCOLO: _____

ESTE CUESTIONARIO DEBERÁ SER CONTESTADO POR EL NUTRIÓLOGO O MÉDICO EN BASE ENCARGADO

Eventos adversos	1	2	3	4	5
Diarrea. Definición. Desorden caracterizado por la expulsión constante de heces acuosas y sueltas.	Aumenta la defecación hasta -4 al día; así como un ligero aumento en las secreciones del estoma.	Aumenta la defecación entre 4 - 6 por día; moderado aumento en las secreciones del estoma.	Aumenta la defecación hasta -7 por día; incontinencia; se indica hospitalización; severo aumento en las secreciones del estoma; tareas cotidianas limitadas.	Consecuencias al grado de amenaza de muerte; intervención de urgencia.	Muerte
Sequedad bucal. Definición. Desorden caracterizado por sensación y falta de flujo salival en la cavidad bucal.	Sintomático (ej. saliva espesa y boca reseca) sin presentar alguna alteración en la dieta; flujo de saliva -0.2 ml/min.	Presencia de síntomas moderados; alteración de ingesta oral (ej. dilución con agua, lubricantes, dieta blanda); flujo salival entre 0.1 - 0.2 ml/min.	Deficiencia de alimentación por vía oral; nutrición parenteral (NP); flujo salival.	-	-
Dipepsia. Definición. Trastorno caracterizado por la presencia de sensibilidad, irritabilidad y dolor en el estómago causado por una digestión deficiente. Incluye síntomas como ardor estomacal, distensión, náusea y vómito.	Presencia de síntomas leves; ausencia de intervención.	Síntomas moderados; se indica intervención clínica.	Síntomas severos; se indica intervención quirúrgica.	-	-
Difagia. Definición. Trastorno caracterizado por la dificultad de deglutir.	Sintomática; capacidad para consumir dieta regular.	Sintomática; alteración en la alimentación y deglución.	Severa alteración en la alimentación y deglución; nutrición enteral (NE); nutrición parenteral (NP) o indicación de hospitalización.	Consecuencias al grado de amenaza de muerte; intervención de urgencia.	Muerte

Eventos adversos	1	2	3	4	5
Dolor esofágico. Definición. Trastorno caracterizado por presencia de molestias e incomodidad en la región del esófago.	Dolor leve o ligero.	Dolor moderado; tareas cotidianas limitadas.	Presencia de severo dolor; tareas cotidianas limitadas.	-	-
Esofagitis. Definición. Trastorno caracterizado por la presencia de inflamación en el esófago.	Asintomático; observaciones clínicas; ausencia de intervención.	Sintomático; alteración en la alimentación y deglución; se indica la toma de suplementos.	Sintomático; alteración en la alimentación y deglución; alimentación por sonda; nutrición parenteral (NP) o indicación de hospitalización e intervención.	Consecuencias al grado de amenaza de muerte; intervención de urgencia.	Muerte.
Incontinencia fecal. Definición. Trastorno caracterizado por la dificultad para controlar la salida de heces, así como el gas intestinal.	En algunas ocasiones, uso de pañal.	Uso de pañal diario.	Síntomas severos; se indica intervención quirúrgica.	-	-
Flatulencias. Definición. Trastorno caracterizado por la presencia excesiva de gas en el tubo digestivo.	Síntomas ligeros; no se indica intervención.	Síntomas moderados; constantes; secuelas psicológicas.	-	-	-
Hemorragia gástrica. Definición. Trastorno caracterizado por sangrado en la pared gástrica.	Síntomas ligeros; no se indica intervención.	Síntomas moderados; se indica intervención médica o una cauterización menor.	Transfusión, intervención radiológica, endoscópica o quirúrgica.	Consecuencias al grado de amenaza de muerte; intervención de urgencia.	Muerte.
Úlcera gástrica. Definición. Trastorno caracterizado por una lesión circunscrita, inflamada y necrótica en la superficie mucosa del estómago.	Asintomático; observaciones clínicas; ausencia de intervención.	Sintomático; sistema GI alterado; intervención quirúrgica; tareas cotidianas limitadas.	Severa alteración del sistema GI; nutrición enteral (NE); nutrición parenteral (NP); indicación de hospitalización e intervención; áreas cotidianas limitadas; incapacitado.	Consecuencias al grado de amenaza de muerte; intervención de urgencia.	Muerte.
Gastritis. Definición. Trastorno caracterizado por la inflamación del revestimiento del estómago.	Asintomático; observaciones clínicas; ausencia de intervención.	Sintomático; sistema GI alterado; intervención quirúrgica; tareas cotidianas limitadas.	Severa alteración del sistema GI; nutrición enteral (NE); nutrición parenteral (NP) o indicación de hospitalización e intervención.	Consecuencias al grado de amenaza de muerte; intervención de urgencia.	Muerte.

Consecuencias adversas	1	2	3	4	5
Reflujo gastroesofágico crónico. Definición. Trastorno caracterizado por el reflujo de los contenidos gástricos (estómago y/o duodeno) hacia el esófago. Esto puede irritar el esófago, causando acidez.	Síntomas ligeros; no se indica intervención.	Síntomas moderados; se indica intervención médica o una cauterización menor.	Síntomas severos; se indica intervención quirúrgica.	-	-
Dolor abdominal. Definición. Trastorno caracterizado por sensación de incomodidad en el área del estómago.	Dolor leve o ligero.	Dolor moderado; tareas cotidianas limitadas.	Dolor severo; tareas cotidianas limitadas.	-	-
Gastroparesia. Definición. Trastorno caracterizado por una parálisis de los músculos de la pared estomacal, lo que resulta una vaciado tardío del contenido estomacal.	Ligera náusea, rápida saciedad e inflamación, capacidad de ingerir dieta normal.	Síntomas moderados; capacidad de mantener una nutrición con pocas modificaciones en la dieta y el estilo de vida; probabilidad de intervención farmacológica.	Pérdida de peso; intervención médica; incapacidad de nutrición oral.	-	-
Gingivitis. Definición. Trastorno caracterizado por sensación de incomodidad, en el área gastrointestinal.	Síntomas ligeros.	Presencia de dolor moderado que interfiere con alimentación oral.	Dolor severo; incapacidad de recibir alimentación oral.	-	-
Dolor de labio. Definición. Trastorno caracterizado por la sensación de incomodidad en el labio.	Síntomas ligero.	Síntomas moderados; tareas cotidianas limitadas.	Dolor severo; tareas cotidianas limitadas.	-	-
Malabsorción. Definición. Trastorno caracterizado por una absorción inadecuada de nutrientes en el intestino delgado. Síntomas incluyen incomodidad abdominal, distensión y diarrea.	-	Dieta alterada; se indica intervención oral.	Incapacidad de una alimentación adecuada; NR.	Consecuencias al grado de amenaza de muerte; intervención de urgencia.	Muerte.

Evento adverso	1	2	3	4	5
Mucositis oral. Definición. Trastorno caracterizado por la inflamación de la mucosa oral.	Asintomático o síntomas ligeros, ausencia de intervención.	Dolor moderado; sin intervención con consumo oral, dieta modificada.	Dolor intenso; afecta el consumo oral.	Consecuencias al grado de amenaza de muerte; intervención de urgencia.	Muerte.
Náusea. Definición. Trastorno caracterizado por malestar en el estómago acompañado de la sensación de vomitar.	Pérdida de apetito sin alteración en hábitos alimenticios.	Consumo oral disminuye sin pérdida de peso; deshidratación y malnutrición.	Consumo inadecuado de calorías orales; nutrición parenteral (NP) u hospitalización.	-	-
Dientes en la boca. Definición. Trastorno caracterizado por la sensación de quemazón u hormigueo en la boca, lengua y labios.	Ligera incomodidad, no hay intervención en el consumo oral.	Dolor moderado; sin intervención con consumo oral.	Dolor severo; se indica NE o NR.	-	-
Hemorragia oral. Definición. Trastorno caracterizado por sangrado por la boca.	Síntomas ligeros; no se indica intervención.	Síntomas moderados; se indica intervención médica o una cauterización menor.	Transfusión, intervención radiológica, endoscópica o quirúrgica.	Consecuencias al grado de amenaza de muerte; intervención de urgencia.	Muerte.
Dolor oral. Definición. Trastorno caracterizado por la sensación de incomodidad en boca, lengua y labios.	Leve dolor.	Sintomático; tareas cotidianas limitadas.	Dolor severo; tareas cotidianas limitadas.	-	-
Dolor rectal. Definición. Trastorno caracterizado por incomodidad en la zona rectal.	Leve dolor.	Dolor moderado; tareas cotidianas limitadas.	Síntomas severos; tareas cotidianas limitadas.	-	-
Úlcera rectal. Definición. Trastorno caracterizado por la inflamación y una lesión necrótica erosiva en la superficie mucosa del recto.	Asintomático, observaciones clínicas, ausencia de intervención.	Sintomático; sistema GI alterado (ej. alteración en los hábitos dietarios, vómito, diarrea).	Alteración severa del sistema GI; NP; intervención quirúrgica o endoscópica; hospitalización.	Consecuencias al grado de amenaza de muerte; intervención de urgencia.	Muerte.

ANEXO 9. Formato de apegos de la bebida (placebo o PD).



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

ID: _____ VISITA No: _____

NOMBRE: _____

BITÁCORA DE TOMA DE SOBRES

**Además de esta bitácora de toma de sobres, deberá llevar los sobres vacíos en la próxima consulta.*

¿Cómo se prepara la bebida?

1. Vierta 250 ml de agua natural para el DESAYUNO y 300 ml de agua natural para la COMIDA en un vaso, termo o contenedor para beber.
2. Abra el sobre que contiene la bebida. (se especifica cual es el DESAYUNO y el de la COMIDA, no intercambiar).
3. Vierte el contenido del sobre en el vaso con agua.
4. Revuelve hasta que se diluya bien.
5. Bébalo despacio, 5 minutos antes de tu comida.



✓ Marcar con una palomita si es que usted tomó los sobres en desayuno y comida.

MES: _____, anotar el día (fecha) en que comienza a tomar los sobres: _____

Día	1	2	3	4	5	6	7
Sem 1	Desayuno <input type="checkbox"/>	Desayuno <input type="checkbox"/>	Desayuno <input type="checkbox"/>	Desayuno <input type="checkbox"/>	Desayuno <input type="checkbox"/>	Desayuno <input type="checkbox"/>	Desayuno <input type="checkbox"/>
	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>
Sem 2	8 Desayuno <input type="checkbox"/>	9 Desayuno <input type="checkbox"/>	10 Desayuno <input type="checkbox"/>	11 Desayuno <input type="checkbox"/>	12 Desayuno <input type="checkbox"/>	13 Desayuno <input type="checkbox"/>	14 Desayuno <input type="checkbox"/>
	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>
Sem 3	15 Desayuno <input type="checkbox"/>	16 Desayuno <input type="checkbox"/>	17 Desayuno <input type="checkbox"/>	18 Desayuno <input type="checkbox"/>	19 Desayuno <input type="checkbox"/>	20 Desayuno <input type="checkbox"/>	21 Desayuno <input type="checkbox"/>
	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>
Sem 4	22 Desayuno <input type="checkbox"/>	23 Desayuno <input type="checkbox"/>	24 Desayuno <input type="checkbox"/>	25 Desayuno <input type="checkbox"/>	26 Desayuno <input type="checkbox"/>	27 Desayuno <input type="checkbox"/>	28 Desayuno <input type="checkbox"/>
	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>
Sem 5	29 Desayuno <input type="checkbox"/>	30 Desayuno <input type="checkbox"/>	31 Desayuno <input type="checkbox"/>			Número de sobres reportados: _____	
	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>	Comida <input type="checkbox"/>			Número de sobres vacíos: _____	

BITÁCORA DE TOMA DE SOBRES

Anexo 10. Infografía de recolección de toma de muestras fecales



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

INSTRUCTIVO PARA TOMA DE MUESTRAS FECALES

El kit proporcionado contiene:

- ✓ 1 charola para recolección de muestra
- ✓ 4 tubos de recolección de muestra con cuchara
- ✓ 1 hielera para el transporte de tubos
- ✓ 1 par de guantes
- ✓ 1 gel para congelarse
- ✓ Bolsa para desecho



PROCEDIMIENTO:

<p>1</p> <p>baño ó banco</p>	<p>2</p> <p>baño ó banco</p>
<p>Poner la charola de recolección sobre la tapa de la taza del baño o en algún banco.</p>	<p>Dejar caer las heces sobre la charola. ¡NO PERMITIR QUE SE MOJEN!</p>
<p>3</p>	<p>4</p>
<p>Con los guantes puestos abrir el primer tubo de recolección y tomar la muestra de heces con la cuchara incluida en el tubo, procurando que esta se llene completamente.</p>	<p>Llenar con las heces las cucharas de los 3 tubos restantes, introducir la cuchara al tubo y cerrar los tubos. Guardar las muestras en la hielera y meterla al refrigerador.</p>
<p>5</p>	<p>NOTAS IMPORTANTES</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. NO DEJAR QUE LA MUESTRA SE MOJE POR NINGÚN MOTIVO. 2. LLENAR LAS CUCHARAS DE LOS 4 TUBOS PROPORCIONADOS. 3. PONER PREVIAMENTE A CONGELAR EL GEL PARA SU TRANSPORTE.

12 Literatura citada

- ¹ Norma oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, para la prevención, tratamiento y control de la Diabetes Mellitus.
- ² Atlas de la diabetes de la Federación Internacional de Diabetes (FID), 6ta edición, 2013. www.idf.org/diabetesatlas. Consultado octubre 2015).
- ³ Encuesta Nacional de Salud y Nutrición; ENSANUT 2012. Resultados.
- ⁴ Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de medio camino 2016. ENSANUT 2016. Informe final de resultados. Capítulo 5 Salud. Historia de enfermedades crónicas.
- ⁵ Instituto Nacional de Estadística y Geografía INEGI. www.inegi.org.mx. Estadísticas, Poblaciones hogares y viviendas, mortalidad, causas de defunción, total 2013. Sitio actualizado 18 de Septiembre 2015. (Consultado Octubre 2015).
- ⁶ Barraza LM, Guajardo BV, Picó J, García R, Hernández C, Mora F, Athié J, Crable E, Urtiz A. Carga económica de la diabetes mellitus en México, 2013. México D.F Funsalud 2015.
- ⁷ DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Med Clin Am* 88 (2004) 787:835.
- ⁸ Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, Peters A.L, Tsapas A, Wender R, Matthews D.R. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach. Position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia* 2012; 55:1577–1596.
- ⁹ Nathan DM. Clinical practice. Initial management of glycemia in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 2002; 347(17):1342-9.
- ¹⁰ Lebovitz H. E. Insulin resistance: definition and consequences. *Exp. Clin. Endocrinol Diabetes* 2001; 109(Suppl 2): S135-S148.
- ¹¹ DeFronzo RA, Ferrannini E, Simonson DC. Fasting hyperglycemia in noninsulin-dependent diabetes mellitus: contributions of excessive hepatic glucose production and impaired tissue glucose uptake. *Metabolism* 1989; 38: 387–395.
- ¹² DeFronzo RA, Gunnarsson R, Björkman O, Olsson M, Wahren J. Effects of insulin on peripheral and splanchnic glucose metabolism in noninsulin-dependent (type II) diabetes mellitus. *J Clin. Invest* 1985; 76:149–155.
- ¹³ Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414:813-20.
- ¹⁴ Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine* 2007. 3rd Ed, Oxford University Press, Oxford.
- ¹⁵ Bonora E, Corrao G, Bagnardi V, Ceriello A, Montanari P, Meigs JB. Prevalence and correlates of post-prandial hyperglycaemia in a large sample of patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2006; 49:846–54.
- ¹⁶ Wang T.J, Larson M.G, Vasan R.S, Cheng S, Rhee E.P. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nature Medicine* 2011; 17(4): 448- 454.
- ¹⁷ Lynch C.J, Adams S.H. Branched-chain amino acids in metabolic signalling and insulin resistance. *Nat. Rev. Endocrinol*. 2014; 10: 723-736.
- ¹⁸ Metges CC. Contribution of microbial amino acids to amino acid homeostasis of the host. *J Nutr* 2000; 130:1857Se1864S.
- ¹⁹ Pedersen HK, Gudmundsdottir V, Nielsen HB, et al. Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. *Nature* 2016; 535:376e381.
- ²⁰ Wilson Tang W.H, Wang Z, Li X.S, Fan Y, Li D.S, Yuping Wu, Hazen S.L. Increased Trimethylamine N-Oxide Portends High Mortality Risk Independent of Glycemic Control in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Clinical Chemistry*. 2017, 63 (1):297–306.
- ²¹ Griffin J.L, DPhil; Wang X, Stanley E. Does Our Gut Microbiome Predict Cardiovascular Risk? A Review of the Evidence from Metabolomics. *Circ Cardiovasc Genet*. 2015; 8:187-191.
- ²² Koeth R. A, Wang Z, Levison B.S, Buffa J.A, Orge E, Sheehy B.T, Britt E.B, Fu X, Wu Y, Lin L, Smith J.D, DiDonato J.A, Chen J, Li H, Wu G.D, Lewis J.D, Warriar M, Brown J.M, Krauss R.M, Tang W.W, Bushman F.D,

Lusis A.J, Hazen S.L. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nature Medicine* 2013. 7: 576-586

²³ Patterson E, Ryan P, Cryan J, Dinan t, Ross P, Fitzgerald G, Stanton C, Gut microbiota, obesity and diabetes. *Postgrad Med J* 2016; 0:1–15.

²⁴ Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome - wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*, 2012; 490-560.

²⁵ Wang T.J, Cai G, Qiu Y, Fei N, Zhang M, Pang X, et al. Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers. *ISME J.* 2012. 6, 320 – 329.

²⁶ Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* 2008; 57:1470–81.

³¹ Corona AJ, Salinas AC, Martínez RR, Ávila HM. Diabetes mellitus tipo 2 y frecuencia de acciones para su prevención y control 2013. *Salud pública de México.*Vol. 55.

³² Krishnamurti U, Steffes M.W. Glycohemoglobin: A Primary Predictor of the Development or Reversal of Complications of Diabetes Mellitus. *Clinical Chemistry* 2001, 47:7 1157–1165.

³³ Nathan DM, Kuenen J, Borg R, Zheng H, Schoenfeld D, Heine RJ. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care* 2008; 31: 1473-1478.

³⁴ Stratton IM, Adler AI, Neil HAW, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, Hadden D, Turner RC, Holman RR, on behalf of the UK Prospective Diabetes Study Group. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000, 321: 405-412.

³⁵ UKPDS Group. Effect of intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352:837-53.

³⁶ Diabetes UK. Evidence-based nutrition guidelines for the prevention and management of diabetes. 2011

³⁷ American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes. 2015

³⁸ Hasler CM. Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. *J Am Diet Assoc.* 2009; 109:735-746.

³⁹ Jamison JR. In: *Clinical Guide to Nutrition and Dietary Supplements in Disease Management.* London: Churchill Livingstone; 2003.

⁴⁰ Attele AS, Arous YP, Xie JT, Wu Ja, Zhang L, Dey L, Pugh W, Rue PA; Polonsky KS, Yuan CS. 2002 Antidiabetic effects of Panax ginseng berry extract and the identification of an effective component. *Diabetes* 51:1851-1858.

⁴¹ Zhu P and Wang C. Effect of oat on blood glucose, serum lipid and insulin in aged patients with type-2 diabetes mellitus. *Parent. Enteral Nutr*, 15:301-302(2008).

⁴² Khan A, Safdar M, Ali Khan MM, Khattak KN, Anderson RA. Cinnamon improves glucose and lipids of people with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2003; 26(12):3215-8.

⁴³ Romero LP, Ontiveros PE; Nava AA, Manjarrez VN; Tovar AR, Chaverri PJ, Torres N. The Effect of Nopal (*Opuntia Ficus Indica*) on Postprandial Blood Glucose, Incretins, and Antioxidant Activity in Mexican Patients with Type 2 Diabetes after Consumption of Two Different Composition Breakfasts. *J Acad Nutr Diet.* 2014; 114:1811-1818.

⁴⁴ Jenkins DJ, Josse AR, Wong JM, Nguyen TH, Kendall CW. The portfolio diet for cardiovascular risk reduction. *Curr Atheroscler Rep.* 2007;9(6):501–507

⁴⁵ Jenkins DJ, Kendall CW, Mehling CC, Parker T, Rao AV, Agarwal S, Novokmet R, Jones PJ, Raeini M, Story JA, Furumoto E, Vidgen E, Griffin LC, Cunnane SC, Ryan MA, Connelly PW. Combined effect of vegetable protein (soy) and soluble fiber added to a standard cholesterol-lowering diet. *Metabolism.* 1999; 48(6):809-16.

⁴⁶ Jenkins DJ, Kendall CW, Faulkner D, Vidgen E, Trautwein EA, Parker TL, Marchie A, Koumbridis G, Lapsley KG, Josse RG, Leiter LA, Connelly PW. A dietary portfolio approach to cholesterol reduction: combined effects of plant sterols, vegetable proteins, and viscous fibers in hypercholesterolemia. *Metabolism.* 2002; 51(12):1596-604.

⁴⁷ Jenkins DJ, Kendall CW, Marchie A, Faulkner D, Vidgen E, Lapsley KG, Trautwein EA, Parker TL, Josse RG, Leiter LA, Connelly PW. The effect of combining plant sterols, soy protein, viscous fibers, and almonds in treating hypercholesterolemia. *Metabolism.* 2003; 52(11):1478-83.

- ⁴⁸Jenkins DJ, Kendall CW, Marchie A, Faulkner DA, Wong JM, de Souza R, Emam A, Parker TL, Vidgen E, Lapsley KG, Trautwein EA, Josse RG, Leiter LA, Connelly PW. Effects of a dietary portfolio of cholesterol-lowering foods vs lovastatin on serum lipids and C-reactive protein. *JAMA*. 2003; 23; 290(4):502-10.
- ⁴⁹Cicero AF, Minardi M, Mirembe S, Pedro E, Gaddi A. Effects of a new low dose soy protein/beta-sitosterol association on plasma lipid levels and oxidation. *Eur J Nutr*. 2004; 43(5):319-22.
- ⁵⁰Jones PJ, Raeini-Sarjaz M, Jenkins DJ, Kendall CW, Vidgen E, Trautwein EA, Lapsley KG, Marchie A, Cunnane SC, Connelly PW. Effects of a diet high in plant sterols, vegetable proteins, and viscous fibers (dietary portfolio) on circulating sterol levels and red cell fragility in hypercholesterolemic subjects. *Lipids*. 2005; 40(2):169-74.
- ⁵¹Yoshida M, Vanstone CA, Parsons WD, Zawistowski J, Jones PJ. Effect of plant sterols and glucomannan on lipids in individuals with and without type II diabetes. *Eur J Clin Nutr*. 2006; 60(4):529-37.
- ⁵²Lukaczer D, Liska DJ, Lerman RH, Darland G, Schiltz B, Tripp M, Bland JS. Effect of a low glycemic index diet with soy protein and phytosterols on CVD risk factors in postmenopausal women. *Nutrition*. 2006; 22(2):104-13.
- ⁵³Torres N, Guevara CM, Granados J, Alarcón VG, Palacios GB, Barragan RV, Quiroz OG, Islas FM, Tovar AR. Reduction of serum lipids by soy protein and soluble fiber is not associated with the ABCG5/G8, apolipoprotein E, and apolipoprotein A1 polymorphisms in a group of hyperlipidemic Mexican subjects. *Nutr Res*. 2009; 29(10):728-35.
- ⁵⁴Guevara-Cruz M, Tovar A.R, Aguilar-Salinas C.A, Medina-Vera I, Gil-Zenteno L, Hernández-Viveros I, López-Romero P, Ordaz-Nava G, Canizales-Quinteros S, Guillen Pineda L.E, Torres N. A Dietary Pattern Including Nopal, Chia Seed, Soy Protein, and Oat Reduces Serum Triglycerides and Glucose Intolerance in Patients with Metabolic Syndrome. *J. Nutr*. 2012; 142: 64–69.
- ⁵⁵Ramprasath VR, Jenkins DJ, Lamarche B, Kendall CW, Faulkner D, Cermakova L, Couture P, Ireland C, Abdulnour S, Patel D, Bashyam B, Srichaikul K, de Souza RJ, Vidgen E, Josse RG, Leiter LA, Connelly PW, Frohlich J, Jones PJ. Consumption of a dietary portfolio of cholesterol lowering foods improves blood lipids without affecting concentrations of fat soluble compounds. *Nutr J*. 2014 Oct 18; 13:101.
- ⁵⁶Keith M, Kuliszewski MA, Liao C, Peeva V, Ahmed M, Tran S, Sorokin K, Jenkins DJ, Errett L, Leong-Poi H. A modified portfolio diet complements medical management to reduce cardiovascular risk factors in diabetic patients with coronary artery disease. *Clin Nutr*. 2015; 34(3):541-8.
- ⁵⁷D.J.A. Jenkins a,b,c,d,e, *, P.J. Jones f, J. Frohlich g, B. Lamarche h, C. Ireland a,c, S.K. Nishi a,c, K. Srichaikul c,i, P. Galange c,i, C. Pellini c,i, D. Faulkner a,c, R.J. de Souza c,e,j, J.L. Sievenpiper a,c,d, A. Mirrahimi c, V.H. Jayalath a,c, L.S. Augustin c, B. Bashyam a,c, L.A. Leiter a,b,c,d,e, R. Josse b,d,e, P. Couture k, V. Ramprasath f, C.W.C. Kendall a,c,l. The effect of a dietary portfolio compared to a DASH-type diet on blood pressure. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* (2015) 25, 1132-1139.
- ⁵⁸López-Romero P, Tovar AR, Torres, N. Secretion of intestinal hormones is regulated by the consumption of nopal. *The FASEB Journal* 2008, 22:701.706.
- ⁵⁹López-Romero P, Ontiveros PE; Nava AA, Manjarrez VN; Tovar AR, Chaverri PJ, Torres N. The Effect of Nopal (*Opuntia Ficus Indica*) on Postprandial Blood Glucose, Incretins, and Antioxidant Activity in Mexican Patients with Type 2 Diabetes after Consumption of Two Different Composition Breakfasts. *J Acad Nutr Diet*. 2014; 114:1811-1818.
- ⁶⁰Fрати-MAC, Riva FH, Andraca AR, Torres MC. Effects of nopal (*Opuntia sp.*) on serum lipids, glycemia and body weight. *Arch Invest Med* 1983, 14:117-125.
- ⁶¹Ramos MS, Nava AA, Tovar AR, Chaverri PJ, Romero LP, Torres NT. *Opuntia ficus indica* (nopal) attenuates hepatic steatosis and oxidative stress in obese Zucker (fa/fa) rats. *J Nutr*. 2012; 142(11):1956-63.
- ⁶²Young VR. Soy protein in relation to human protein and amino acid nutrition. *J Am Diet Assoc* 1991, 91(7):828-835.
- ⁶³Tovar AR, Ascencio C, Torres NT. Soy protein, casein, and regulate histidase gene expression by modulating serum glucagon. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002, 283(5):E1016-1022.
- ⁶⁴Noriega LL, Tovar AR, Gonzalez GM, Hernández PR, Escalante B, Santillán DP, Torres NT. Pancreatic Insulin Secretion in Rats Fed a Soy Protein High Fat Diet Depends on the Interaction between the Amino Acid Pattern and Isoflavones. *J. of Biological chemistry* 2007; 282-28.
- ⁶⁵Ascencio C, Torres NT, Acosta IF, Gómez PFJ, Hernández PR, Tovar AR. Soy protein affects serum insulin and hepatic SREBP-1 mRNA and reduces fatty liver in rats. *J Nutr*. 2004; 134(3):522-9.
- ⁶⁶Torre VI, Ramos BV, VE, Cervantes CM, Torres NT. Soy Protein Ameliorates Metabolic Abnormalities in Liver and Adipose Tissue of Rats Fed a High Fat Diet. *J Nutr* 2008, 138:462-468.

- ⁶⁷Tovar AR, Villalvazo IT, Ochoa M, Elías AL, Ortíz V, Salinas AC, Torres NT. Soy protein reduces hepatic lipotoxicity in hyperinsulinemic obese Zucker fa/fa rats *J Lipid Res* 2005, 46(9):1823-1832.
- ⁶⁸Granillo GM, Steffensen KR, Granados O, Torres NT, Korach AM, Ortíz V, Salinas AC, Jakobsson T, Villaseñor DA, Valdes LA, Pando HR, Gustafsson JA, Tovar AR. Soy protein isoflavones differentially regulate liver X receptor isoforms to modulate lipid metabolism and cholesterol transport in the liver and intestine in mice. *Diabetologia* (2012) 55:2469–2478.
- ⁶⁹Meshcheriakova VA, Plotnikova OA, Sharafetdinov KhKh, Iatsyshina TA. The use of the combined food products with soy protein in diet therapy for patients with diabetes mellitus type 2. *Vopr Pitan.* 2002; 71(5):19-24.
- ⁷⁰Jayagopal V, Albertazzi P, Kilpatrick SE, Howarth ME, Jennings PE, Hepburn DA, Atkin SL. Beneficial Effects of Soy Phytoestrogen Intake in Postmenopausal Women With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 25:1709–1714, 2002.
- ⁷¹Vázquez OA, Guerrero CL, Bentacur AD. Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*salvia hispanica* L.) *Food Science and Technology* 2008, LWT - Food Science and Technology 2009; 42, 168–173
- ⁷²Kesavulu MM, Apparao CH, Kumar EG, Harinarayan CV. Effect of omega-3 fatty acids on lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab* 2002, 28:20-26.
- ⁷³Sirtori CR, Manzato E, Mancini M, Rivellesse A, Paolietti R, Pazzucconi F, Pamparana F, Stragliotto E. One-year treatment with ethyl esters of n-3 fatty acids in patients with hypertriglyceridemia and glucose intolerance: Reduced triglyceridemia, total cholesterol and increased HDL-C without glycemic alteration. *Atherosclerosis* 1998, 137:419-427.
- ⁷⁴Friedberg JM, Heine RJ, Grobbee DE. Fish oil and glycemic control in diabetes. A meta-analysis. *Diabetes Care* 1998, 21:494-500.
- ⁷⁵Nagao K, Yanagita T. Bioactive lipids in metabolic syndrome. *Prog Lipid Res.* 2008; 47(2):127-46.
- ⁷⁶Vuksan V, Jenkins AL, Dias AG, Lee AS, Jovanovski E, Rogovik AL, Hanna A: Reduction in postprandial glucose excursion and prolongation of satiety: possible explanation of the long-term effects of whole grain Salba (*Salvia Hispanica* L.). *Eur J Clin Nutr*, 64(4):436-438.
- ⁷⁷Williams C.M, Jackson K.G. Inulin and oligofructose: effects on lipid metabolism from human studies. *British Journal of Nutrition.* 2002; 87 (Suppl. 2), S261–S264.
- ⁷⁸Davidson MH, Maki KC. Effects of dietary inulin on serum lipids. *J Nutr.* 1999; 129(7 Suppl):1474S-7S.
- ⁷⁹Healey G, Murphy R, Butts C, Brough L, Whelan K, Coad J. Habitual dietary fibre intake influences gut microbiota response to an inulin-type fructan prebiotic: a randomised, double-blind, placebo-controlled, cross-over, human intervention study. *Br J Nutr.* 2018; 8:1-14.
- ⁸⁰Vandeputte D, Falony G, Vieira-Silva S, Wang J, Sailer M, Theis S, Verbeke K, J Raes J. Prebiotic inulin-type fructans induce specific changes in the human gut microbiota. *Gut* 2017; 66:1968–1974.
- ⁸¹Crawford P. Effectiveness of Cinnamon for Lowering Hemoglobin A1C in Patients with Type 2 Diabetes: A Randomized, Controlled Trial. *J Am Board Fam Med* 2009; 22:507–512.
- ⁸²ISO 26642:2010 Food products - Determination of the glycaemic index (GI) and recommendation for food classification.
- ⁸³Lohman TG, Roche FA, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. Champaign, IL: Human Kinetics Books, ©1988.
- ⁸⁴HHM: Manual de encuestas de dietas, Perspectivas en salud pública en México. D.F 1996.
- ⁸⁵Holm PI, Ueland PM, Kvalheim G, Lien EA. Determination of choline, betaine, and dimethylglycine in plasma by a high-throughput method based on normal-phase chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2003; 49:286-94. 22 32.
- ⁸⁶Yan J, Jiang X, West AA, Perry CA, Malysheva OV, Devapatla S, et al. Maternal choline intake modulates maternal and fetal biomarkers of choline metabolism in humans. *Am J Clin Nutr* 2012; 95:1060-71.
- ⁸⁷Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M, et al. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res* 41: e1. 2016.
- ⁸⁸Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature methods* 2010. 7: 335-336.
- ⁸⁹Lozupone C, Knight R. UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 2005. 71: 8228-8235.

-
- ⁹⁰Sánchez-Tapia M, Aguilar-López M, Pérez-Cruz C, Pichardo-Ontiveros E, Wang M, Donovan SM, Tovar AR, Torres N. Nopal (*Opuntia ficus indica*) protects from metabolic endotoxemia by modifying gut microbiota in obese rats fed high fat/sucrose diet. *Sci Rep.* 2017; 5;7(1):4716.
- ⁹¹Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett W.S, Huttenhower C. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology* 2011, 12: R60.
- ⁹²Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, Falony G, Le Chatelier E, Sunagawa S, et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature.* 2015;528(7581):262-6.
- ⁹³Pedersen HK, Gudmundsdottir V, Nielsen HB, Hyötyläinen T, Nielsen T, Jensen BA, et al. Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. *Nature.* 2016;535(7612):376-81.
- ⁹⁴Van der Hulst RR, van Kreel BK, von Meyenfeldt MF, Brummer RJ, Arends JW, Deutz NE, et al. Glutamine and the preservation of gut integrity. *Lancet.* 1993;341(8857):1363-5.
- ⁹⁵Achamrah N, Dechelotte P, Coeffier M. Glutamine and the regulation of intestinal permeability: from bench to bedside. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2017;20(1):86-91.
- ⁹⁶Gomes AC, Bueno AA, de Souza RG, Mota JF. Gut microbiota, probiotics and diabetes. *Nutr J.* 2014;13:60.
- ⁹⁷Jenkins DJ, Kendall CW, Faulkner DA, Nguyen T, Kemp T, Marchie A, et al. Assessment of the longer-term effects of a dietary portfolio of cholesterol-lowering foods in hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 2006; 83:582-91.
- ⁹⁸Pipe EA, Gobert CP, Capes SE, Darlington GA, Lampe JW, Duncan AM. Soy protein reduces serum LDL cholesterol and the LDL cholesterol: HDL cholesterol and apolipoprotein B:apolipoprotein A-I ratios in adults with type 2 diabetes. *J Nutr* 2009;139(9):1700-6.
- ⁹⁹Stratton I.M, Adler A.I, Neil A.W, Matthews d.R, Manley S.E, Cull C.A, Hadden D, Turner R.C, Holman RR on behalf of the UK Prospective Diabetes Study Group Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000; 321:405-12
- ¹⁰⁰López-Romero P, Pichardo-Ontiveros E, Avila-Nava A, Vázquez-Manjarrez N, Tovar A.R, Pedraza-Chaverri J, Torres N. The Effect of Nopal (*Opuntia Ficus Indica*) on Postprandial Blood Glucose, Incretins, and Antioxidant Activity in Mexican Patients with Type 2 Diabetes after Consumption of Two Different Composition Breakfasts. *J Acad Nutr Diet.* 2014; 114:1811-1818.
- ¹⁰¹Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM, et al. (2007) Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292, E740–E747.
- ¹⁰²Gomes JMG, Costa JA, Alfenas RCG. Metabolic endotoxemia and diabetes mellitus: A systematic review. *Metabolism.* 2017;68:133-44.
- ¹⁰³Conlon M.A and Bird a.R. The Impact of Diet and Lifestyle on Gut Microbiota and Human Health. *Nutrients* 2015, 7, 17-44.
- ¹⁰⁴Timper K, Grisouard J, Sauter NS, Herzog-Radimerski T, Dembinski K, Peterli R, et al. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide induces cytokine expression, lipolysis, and insulin resistance in human adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2013;304(1):E1-13.
- ¹⁰⁵Boden G, Shulman GI. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Eur J Clin Invest.* 2002;32 Suppl 3:14-23
- ¹⁰⁶Zhang X, Shen D, Fang Z, et al. Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. *PLoS One* 2013;8: e71108.
- ¹⁰⁷Remely M, Aumueller E, Merold C, et al. Effects of short chain fatty acid producing bacteria on epigenetic regulation of FFAR3 in type 2 diabetes and obesity. *Gene* 2014; 537:85–92.
- ¹⁰⁸Wrzosek, L. et al. *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Faecalibacterium prausnitzii* influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. *BMC Biol.* 11, 61 (2013).
- ¹⁰⁹Martín, R. et al. *Faecalibacterium prausnitzii* prevents physiological damages in a chronic low-grade inflammation murine model. *BMC Microbiology.* 15, 67 (2015).
- ¹¹⁰Everard A, Belzer C, Geurts L, et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110: 9066–71.

¹¹¹ Everard A, Lazarevic V, Derrien M, et al. Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice. *Diabetes* 2011; 60:2775–86.

¹¹² Achamrah N, Dechelotte P, Coeffier M. Glutamine and the regulation of intestinal permeability: from bench to bedside. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2017;20(1):86-91.

¹¹³ Franch-Nadal J, Roura-Olmeda P, Benito-Badorrey B, Rodriguez-Poncelas A, Coll-de-Tuero G, Mata-Cases M. on behalf of the GEDAPS (Primary care Group for the study of Diabetes). Metabolic control and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus patients according to diabetes duration. *Family Practice*, 2015,32- 1.

