



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Medicina
Departamento de Estudios Avanzados
Maestría en Ciencias de la Salud

**“Influencia del consumo de sacarosa sobre la microbiota
intestinal de pacientes con diabetes *mellitus* tipo 2”**

TESIS

Que para obtener el grado de
Maestra en Ciencias de la Salud

Presenta:

LN. Amapola De Sales Millán

Comité de Tutores

Directora: Dra. en I.M. Beatriz Elina Martínez Carrillo

Co-directora: Dra. en C.B.E. Roxana Valdés Ramos

Asesor: Dr. en C.B.S. José Félix Aguirre Garrido

Toluca, Estado de México

2020

INDICE

	No. página
Resumen y Summary	5
1. Antecedentes	7
1.1. <i>Diabetes mellitus tipo 2</i>	7
1.1.1 Epidemiología de la diabetes mellitus tipo 2	7
1.1.2 Definición y Etiología de la diabetes mellitus tipo 2	8
1.1.3 Fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2	8
1.1.4 Cuadro clínico y diagnóstico de la diabetes mellitus tipo 2	9
1.1.5 Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2	9
1.2. <i>Microbiota intestinal normal</i>	10
1.2.1. Definición de microbiota	10
1.2.2. Descripción de la microbiota intestinal normal	10
1.2.3. Componentes que intervienen en la composición de la microbiota intestinal	10
1.3. <i>Microbiota intestinal y diabetes mellitus tipo 2</i>	12
1.4. <i>Efectos de la sacarosa en la microbiota intestinal y la diabetes mellitus tipo 2</i>	14
2. Planteamiento del Problema	16
3. Hipótesis	17
4. Objetivos	18
5. Justificación	18
6. Material y Métodos	20
6.1. Diseño de estudio	20
6.2. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación	20
6.3. Procedimientos	22
6.4. Metodología	22
6.5. Variables de Estudio	28
6.6. Implicaciones Bioéticas	29
6.7. Recolección de Datos	31
6.8. Análisis Estadístico	32

7.	Referencias Bibliográficas	33
8.	Anexos	39
	8.1. Carta de envío del artículo	57
	8.2. Resumen del artículo	58

Aviso de autoría

Yo, **Amapola de Sales Millán**, autora responsable de la presente Tesis, la cual lleva como título “Influencia del consumo de sacarosa sobre la microbiota intestinal de pacientes con diabetes *mellitus* tipo 2”, y en representación de los coautores:

a) **Dra. en I.M. Beatriz Elina Martínez Carrillo**,

b) **Dra. en C.B.E. Roxana Valdés Ramos** y

c) **Dr. en C.B.S. José Félix Aguirre Garrido**

declaro que la información presentada en este documento es resultado de un protocolo de investigación del cual soy representante, y por tanto me responsabilizo legalmente por el contenido en caso de plagio, deslindando de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma del Estado de México.

Resumen:

Se calcula que existen más de 415 millones de individuos con diabetes *mellitus* tipo 2 (DMT2) a nivel mundial y se prevé que para 2040 esta cifra aumentará hasta alcanzar los 642 millones. Es evidente que la reducción en la sensibilidad a la insulina es una consecuencia de la disminución en la función de las células β pancreáticas, presente durante el desarrollo de la DMT2. La disminución de la capacidad para secretar y utilizar la insulina en DMT2 produce una incapacidad para metabolizar adecuadamente la glucosa proveniente de los hidratos de carbono de la dieta por lo que es indispensable reducir su consumo. En México, la población en general consume grandes cantidades de sacarosa en forma de azúcar de mesa y bebidas endulzadas, entre otros. Este consumo elevado genera diversos efectos en la salud, ya que además de producir obesidad, ocasiona elevaciones constantes en la glicemia sanguínea y alteraciones hormonales y metabólicas que condicionan la presencia de DMT2 a edades cada vez más tempranas. El consumo elevado de sacarosa, puede ser, por tanto, responsable de modificaciones importantes en las comunidades microbianas de la microbiota intestinal que induzcan la aparición temprana de DMT2. El objetivo del presente estudio estuvo basado en el análisis de la importancia del consumo de sacarosa dentro de la estructura y diversidad de la microbiota intestinal de pacientes con DMT2.

Se llevó a cabo una recolección de heces de 100 participantes del Hospital Dr. Nicolas San Juan de las cuales primero se extrajo el ADN bacteriano y luego se realizó secuenciación masiva del marcador molecular 16S ARNr. Para la información dietética se aplicó un cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (FCA). Los resultados de la dieta mostraron que los pacientes con DMT2 tenían un consumo energético de 1618 kcal por día y un consumo de 24 g por día de sacarosa; mientras que los pacientes sanos tuvieron un consumo energético de 2366 kcal por día y un consumo de 40 g por día de sacarosa. En cuanto a la microbiota intestinal se encontró a nivel de *phylum* en ambos grupos que Firmicutes y Bacteroidetes describen diferencias importantes en la microbiota intestinal. Los resultados de este estudio estarían siendo de utilidad para definir estrategias de ayuda para modular la microbiota intestinal a través de tratamientos no invasivos como intervención dietética para mejorar la tolerancia a la glucosa de las personas con prediabetes o DMT2.

Summary:

It is estimated that there are more than 415 million individuals with type 2 diabetes mellitus (T2DM) worldwide and it is expected that by 2040 this number will increase to 642 million. It is evident that the reduction in insulin sensitivity is a consequence of the decrease in the function of pancreatic β cells, present during the development of T2DM. The decrease in the ability to secrete and use insulin in T2DM produces an inability to properly metabolize glucose from carbohydrates in the diet, therefore it is essential to reduce its consumption. In Mexico, the general population consumes large amounts of sucrose in the form of sugar and sweetened beverages, among others. This high consumption generates various health effects, since in addition to producing obesity, it causes constant elevations in blood glucose, as well as hormonal and metabolic alterations that condition the presence of T2DM at increasingly younger ages. The high consumption of sucrose may therefore be responsible for important modifications in the microbial communities of the intestinal microbiota that induce the early appearance of T2DM. The objective of the present study was based on the analysis of the importance of sucrose consumption within the structure and diversity of the intestinal microbiota of patients with T2DM. A stool collection of 100 participants from the Dr. Nicolas San Juan Hospital was carried out, from which the bacterial DNA was obtained and 16S rRNA amplicon was analyzed by means of massive sequencing. For dietary information, a Food Consumption Frequency questionnaire (FCF) was applied. Dietary results showed that patients with T2DM had an intake of 1618 kcal per day and a consumption of 24 g per day of sucrose, while healthy patients had an intake of 2366 kcal per day and a consumption of 40 g per day of sucrose. **Regarding the intestinal microbiota, it was found at the *phylum* level in both groups that Firmicutes and Bacteroidetes showed important differences in the gut microbiota.** The results of this study would be useful to define strategies to help modulate the intestinal microbiota through non-invasive treatments such as dietary intervention to improve glucose tolerance in people with prediabetes or T2DM.

1. Antecedentes:

1.1. Diabetes mellitus tipo 2

1.1.1. Epidemiología de diabetes mellitus tipo 2

La Federación Internacional de Diabetes (IDF), en 2015, mostró que había más de 415 millones de personas con diabetes *mellitus* tipo 2 (DMT2) y se prevé que alcanzará los 642 millones para 2040. Una de las causas principales de muerte entre las personas con DMT2 son los padecimientos cardiovasculares y pudiera figurar un porcentaje mayor al 50% de fallecimientos a causa de DMT2 en algunos conjuntos de personas. En 2014, la DMT2 causó 4.9 millones de muertes y México ocupaba el sexto lugar a nivel mundial en número de personas con DMT2¹. En los últimos diez años la cantidad de personas que sufren DMT2 en México ha ido en aumento y recientemente se perfila en segundo lugar como causa de muerte en el país. Desde el año 2000, la DMT2 se convirtió en la causa principal de fallecimiento en mujeres y la causa segunda de fallecimiento en hombres, detrás de la cardiopatía isquémica, según los datos reportados en la Encuesta Nacional de Salud (ENSA, 2000). En 2003, la DMT2 causó el 12.6% del total de muertes en México, con una media de 66 años². Los resultados de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT 2012), reportan a 6.4 millones de mexicanos en edad adulta con diagnóstico de DMT2 (9.17%)³; los resultados de la ENSANUT 2018 muestran un incremento en el diagnóstico de DMT2 a 8.6 millones de personas y se estima un aumento del 12.3% para el 2025³.

En la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición Medio Camino (ENSANUT MC 2016), se observó mayormente personas con diagnóstico previo de DMT2 que tenían entre 60 y 79 años. El mayor aumento de DMT2 se observó en hombres de 60 a 69 años y en mujeres de 60 o más años⁴, al hacer la comparación de ENSANUT 2012 con ENSANUT MC 2016. Un 9.4% de las personas entrevistadas (10.3% mujeres y 8.4% hombres) reportaron que habían sido diagnosticadas con DMT2 por diagnóstico médico. Se reportó un pequeño aumento en la incidencia de DMT2 por previo diagnóstico médico comparado a los resultados preliminares de la ENSANUT 2018 (10.3%) a la ENSANUT 2012 (9.2%) y un aumento mayor con respecto a la ENSANUT 2006 (7.2%)⁵.

1.1.2. Definición y Etiología de diabetes *mellitus* tipo 2

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la DMT2 como un padecimiento crónico que se presenta cuando no se produce insulina suficiente en el páncreas o cuando el organismo no emplea de manera adecuada la insulina que produce⁶.

En la Norma Oficial Mexicana NOM 015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes *mellitus*, se define a la DMT2 como: “tipo de diabetes en la que se presenta resistencia a la insulina y en forma concomitante una deficiencia en su producción puede ser absoluta o relativa. Los pacientes suelen ser mayores de 30 años cuando se hace el diagnóstico, presentan obesidad y relativamente pocos síntomas clásicos”⁷.

La DMT2 se encuentra relacionada con poca o nula actividad física, obesidad y dieta inadecuada; sumado a lo anterior, en la mayoría de los casos incluye resistencia a la insulina. Se ha estudiado que perjudica con una frecuencia mayor a la población que padecen presión arterial alta, dislipidemia y obesidad en la parte media del cuerpo; un elemento característico del síndrome metabólico. De igual manera se sabe que tiende a manifestarse a nivel familiar, pero es una enfermedad compleja que podría ser la causa de varias mutaciones genéticas, y también por factores ambientales⁸.

1.1.3. Fisiopatología de diabetes *mellitus* tipo 2

La DMT2 es un desorden metabólico complejo asociado con un riesgo mayor de enfermedad micro y macrovascular, en donde su característica clínica principal es la hiperglucemia. Se sabe que cuando se desarrolla la hiperglucemia, se produce reducción de la sensibilidad a la insulina y por tanto existe disminución en la función de las células β del páncreas⁹. Varios grupos de estudio coinciden en que la resistencia a la insulina es la primera anomalía y que la disfunción de las células β se debe a un evento retardado que se desencadena debido a la creciente y prolongada demanda en su secreción por la resistencia a la insulina^{10, 11}. Sin embargo, otros estudios han sugerido que la disminución en la liberación de insulina se debe a una reducción de las células β como requisito previo a la progresión y manifestación de la hiperglucemia; haciendo evidente que la reducción en la sensibilidad a la insulina como consecuencia en una disminución en la función de las células β se encuentra presente al principio del desarrollo de la DMT2¹²⁻¹⁴. Por otro lado, se sugiere que el progreso de sobrepeso y obesidad pudiera estar siendo un factor importante en el progreso de la resistencia a la insulina, que en presencia de la suma de factores genéticos a la propensión de células β dañadas funcionalmente consiguiera estar desencadenando alteración en la tolerancia a la glucosa^{15, 16}.

1.1.4. Cuadro clínico y diagnóstico de diabetes *mellitus* tipo 2

De acuerdo con la OMS, los pacientes con DMT2 presentan un cuadro clínico que puede cursar con un incremento en el número de veces de orina (poliuria), sed (polidipsia), hambre (polifagia) y disminución del peso corporal sin explicación. También pueden sufrir parálisis en las extremidades, disestesias en los pies y visión difusa. Conjuntamente, tienden a padecer de infecciones periódicas o graves⁸. La Asociación Americana de Diabetes (ADA por sus siglas en inglés) toma en cuenta los criterios antes mencionados para el diagnóstico de DMT2, además de una medida aleatoria de la glucosa en plasma >200 mg/dl; una glucosa de ayuno con concentraciones >126 mg/dl o de 2 horas con concentraciones de glucosa >200 mg/dl después del consumo de 75 g de glucosa. Menciona que se debe tener en cuenta, que las lecturas de glucosa y la hemoglobina glucosilada (HbA1c) deben realizarse en un entorno de laboratorio, en lugar de utilizar un medidor de glucosa portátil o un dispositivo de medición de punto de atención, debido a la posibilidad de error con dichos dispositivos. Además, sugiere que es recomendable repetir las pruebas de glucosa en un día diferente¹⁷.

1.1.5. Tratamiento de diabetes *mellitus* tipo 2

La ADA, sostiene que el principal tratamiento para la mayoría de los pacientes con DMT2 deben ser los cambios en el modo de vida, alimentación y ejercicio. Sin embargo, menciona que cuando el cambio en los hábitos antes mencionados, por sí solos no ayudan a mantener las metas de las concentraciones de glucosa en sangre, se debe agregar metformina, como terapia farmacológica inicial de preferencia, siempre que sea tolerada y no esté contraindicada en el paciente con DMT2. Para pacientes recientemente diagnosticados que son marcadamente sintomáticos y que tienen concentraciones elevadas de glucosa en sangre, se debe considerar el tratamiento con insulina, con o sin otro fármaco. Si la monoterapia sin insulina a dosis máximas toleradas no logra o no mantiene el objetivo de conservar las concentraciones de glucosa durante 3 meses, se debe considerar añadir un segundo agente oral o un agonista del receptor GLP-1 (Péptido similar al glucagón tipo 1, por sus siglas en inglés) o insulina¹⁸. Además, la OMS, menciona otros criterios como complementación a lo anterior; se precisa efectuar un descubrimiento temprano y tratamiento oportuno de posibles complicaciones, a periodos de tiempo estipulados por las normas nacionales e internacionales: análisis optométricos, examen general de orina, cuidado de los pies y envío con el especialista de ser obligatorio; educación del paciente para reconocer los signos y síntomas de hipoglucemia e hiperglucemia; educación del paciente en cuanto a la dieta correcta que debe llevar, el ejercicio adecuado para su condición y el cuidado de los pies⁸.

1.2. Microbiota intestinal normal

1.2.1. Definición de microbiota

En el proyecto del microbioma humano, se define a la microbiota como a todos los microorganismos que viven dentro y sobre los humanos¹⁹. El microbioma es el conjunto de microorganismos, sus genes y sus metabolitos en un nicho ecológico dado, por ejemplo, en el microbioma fecal de humanos se han identificado alrededor de 9.9 millones de genes microbianos. Se le llama metagenoma a todo el material genético presente en una muestra ambiental, en el caso de los humanos, es el conjunto del genoma humano y bacteriano, en general. El término patobiontes se refiere a los microorganismos endógenos benignos que tienen la capacidad, de provocar determinadas patologías, en condiciones de un ecosistema alterado (disbiosis). La disbiosis se presenta cuando existe un desequilibrio entre las células del cuerpo humano y las células microbianas (bacterias, en general) que lo habitan²⁰⁻²².

1.2.2. Descripción de la microbiota intestinal normal

Se le llama microbiota intestinal a la comunidad compleja dominada por bacterias que residen en el intestino. Las bacterias que representan una mayor proporción en la microbiota intestinal son: Firmicutes (*Ruminococcus*, *Lactobacillus* y *Clostridium*), bacterias Gram-positivas, consideradas como bacterias lipolíticas; fuertemente asociadas a la fermentación de mono y disacáridos, y Bacteroidetes (*Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae*), bacterias Gram-negativas, encargadas del metabolismo de proteínas y que, además, están fuertemente asociadas a la degradación de polisacáridos (pectina y almidón)²³⁻²⁵.

La microbiota mantiene la integridad del epitelio intestinal confiriendo protección ante la colonización por bacterias patógenas. Es esencial para la metabolización de polisacáridos que no pueden ser digeridos por el organismo (fibra) y para la permeabilidad de ácidos grasos de cadena corta derivados de la fermentación por bacterias²⁶. Por tanto, se propone que un ecosistema intestinal saludable se caracteriza por una alta riqueza y diversidad bacteriana, lo que refleja una estabilidad y capacidad de recuperación del ecosistema bacteriano²⁷.

1.2.3. Componentes que intervienen en la composición de la microbiota intestinal

La composición relativa entre el contenido de células de genes microbianos y de humanos, las células microbianas están representadas por un 70% a 90% del total de células que tiene el cuerpo humano, pero los genes microbianos son 1000 veces más abundantes que los genes humanos. El microbioma está caracterizado por la composición, la diversidad y la abundancia, mantenida por la competencia y la resistencia. La variación interindividual entre

genes humanos es de 0.5% y la variación entre genes microbianos es significativamente mayor, con un aproximado del 40%, apoyando un papel crítico en las interacciones entre microbiota y huésped en la salud y la fisiopatología²⁸.

Diversos análisis tanto en humanos y como en animales han confirmado que varios factores contribuyen y pueden alterar significativamente la composición de la microbiota intestinal, incluida la genética, el sexo, el modo de parto al nacer, el método de alimentación infantil, el uso de medicamentos, especialmente antibióticos, enfermedades y la dieta^{23, 29, 30}.

En adultos sanos, la composición de la microbiota intestinal puede ser estable por años. Sin embargo, la dieta juega un papel más dominante en la composición de la ecología microbiana. Estudios realizados en modelos animales alimentados con dietas bajas en grasas y altas en polisacáridos mostraron un incremento significativo de la abundancia relativa de Firmicutes, incremento de Verrucomicrobia y disminución de Bacteroidetes *versus* una dieta alta en lípidos y en azúcar^{31, 32}.

Diferentes estudios apoyan el concepto de que la dieta en apoyo mutuo con la microbiota intestinal, puede prevenir alteraciones metabólicas y enfermedades inflamatorias. La fibra dietética no absorbible juega un papel importante en este contexto^{30, 33}. Los polifenoles de la dieta, además de sus funciones sistémicas antimicrobianas y metabólicas, también desempeñan un papel importante en la inhibición de las bacterias intestinales. Mientras que el compuesto polifenólico quercetina es degradado por *Bacteroides distasonis*, *B. uniformis*, *B. ovatus*, *Enterococcus casseliflavus* y *Eubacterium ramulus*; la hesperetina que es un rutinosido que contiene aglicón, es degradada por la microbiota del colón. Este aglicón tiene una actividad inhibitoria contra vancomicina: *Staphylococcus aureus* y *Helicobacter pylori*³⁴.

En un análisis exploratorio de las diferencias en la microbiota intestinal asociada con sexo y estado hormonal, en mujeres premenopáusicas, posmenopáusicas y hombres; se encontró una proporción más alta de Firmicutes/Bacteroidetes en mujeres premenopáusicas que, en mujeres posmenopáusicas, quienes tenían niveles similares a los hombres. Los resultados sugieren que la diferencia en la composición de la microbiota intestinal entre los sexos y entre las mujeres de diferentes estados hormonales puede estar relacionada con el dimorfismo sexual³⁵. Por otro lado, se sabe que la divergencia en la microbiota intestinal entre hombres y mujeres podría tener un papel dominante en la definición de las diferencias de sexo en la prevalencia de enfermedades inflamatorias, metabólicas e intestinales³⁶.

1.3. Microbiota intestinal y diabetes *mellitus* tipo 2

La prevalencia de DMT2 está aumentando a nivel mundial. La creciente aceleración de esta enfermedad supera la tasa de variación genética, suprimiendo a los genes como factor primordial en la tendencia de dicha enfermedad. Las modificaciones en los contextos ambientales, como la dieta, la higiene, la utilización de antibióticos y algunas otras prácticas médicas, pudieran estar relacionándose con el creciente desarrollo de esta enfermedad. Estos factores pueden estar influenciando la composición y función de la microbiota de tal manera que tienen un impacto significativo en el sistema inmunitario y en el sistema metabólico, lo que contribuye al aumento del riesgo para desarrollar DMT2^{37, 38}.

La creciente evidencia sugiere que las interacciones microbiota-huésped pueden ser un factor ambiental que influye en el riesgo y la progresión de la DMT2³⁹. La relación entre la microbiota intestinal y el desarrollo de DMT2 se ha estado descubriendo de manera gradual⁴⁰. Un número creciente de diversos estudios indican que una disbiosis caracterizada por una menor diversidad y resistencia está asociada con la DMT2. Los mecanismos que pudieran estar desencadenando la enfermedad pueden estar relacionados con la traslocación de la microbiota intestinal a los tejidos, induciendo una inflamación crónica de bajo grado, característica de la DMT2⁴¹. Por otro lado, Pedersen *et al*⁴²., en su estudio dirigido a microbiota intestinal y enfermedades metabólicas, demostraron recientemente que la microbiota intestinal puede afectar el metaboloma sérico e inducir resistencia a la insulina a través de especies como *Prevotella copri* y *Bacteroides vulgatas*. Sin embargo, se cree que la metformina (fármaco antidiabético más utilizado) puede interferir en el análisis de los datos metagenómicos^{43, 44}.

En la caracterización de microbiota intestinal de pacientes adultos voluntarios con diabetes *mellitus* tipo 1 (DMT1) y DMT2, se encontraron dentro de los resultados de las pruebas microbiológicas en muestras fecales, discrepancias en cantidad y características particulares en la composición de la microbiota intestinal de ambos grupos. Especialmente visible en el análisis del perfil bacteriano para pacientes con DMT2. El *phylum* de bacterias predominante en ambos grupos fue: Firmicutes (grupo numeroso de bacterias Grampositivas), que incluye tanto los bacilos anaeróbicos (*Clostridium*) como los cocos aeróbicos o anaeróbicos facultativos (*Staphylococcus*). Otros *phyla* predominantes fueron: Bacteroidetes (Bacilos anaerobios *Bacteroides* Gramnegativos), Verrucomicrobia (Bacterias *Akkermansia* en forma de óvalo anaeróbico *Gramkicansia*) y Actinobacteria (Bacterias anaerobias Gram-positivas)⁴⁵. Otros estudios realizados en pacientes con DMT2 mostraron la posible existencia de una

firma de microbiota intestinal que promueve la inflamación intestinal y la posterior inflamación sistémica de bajo grado, que a su vez origina el desarrollo de la enfermedad^{23, 46}. Es bien sabido que hay presencia de un grado moderado de disbiosis en la microbiota intestinal de personas con DMT2 y que además, esta característica aumenta la dependencia de varias bacterias productoras de butirato, incluyendo *Clostridium* sp y *Faecalibacterium prausnitzii*, entre otras. Se identificaron patógenos más oportunistas como *Eggerthella lenta* y *Escherichia coli*; *Clostridium hathewayi*, *Clostridium ramosum*, *Clostridium symbiosum* y *Bacteroides caccae*. La microbiota del intestino se caracterizó funcionalmente por un aumento en el transporte de azúcares a la membrana, el transporte de aminoácidos de cadena ramificada, el metabolismo del metano, la degradación y el metabolismo de los xenobióticos y la reducción del sulfato. Además, hubo una disminución en el nivel de quimiotaxis bacteriana, biosíntesis de butirato, metabolismo de los cofactores y vitaminas^{24, 47, 48}.

La microbiota intestinal de pacientes con obesidad presenta incremento relativo de la población de Firmicutes *versus* Bacteroidetes, en tanto que la de pacientes con DMT2 presenta baja abundancia de Bacteroidetes y alta abundancia de Firmicutes; por lo que se cree que existe una relación estrecha entre la disbiosis de la microbiota intestinal y el exceso de tejido adiposo, sobre implicaciones metabólicas y desarrollo de DMT2^{46, 49-51}.

En las últimas décadas se ha tenido un amplio interés por utilizar a las bacterias para realizar diagnósticos sobre enfermedades específicas⁵². En 2013, un grupo de investigadores realizaron una validación e identificación de marcadores para DMT2, basados en la abundancia relativa de cada grupo de bacterias presentes en la microbiota intestinal, en donde encontraron que la abundancia de *Verrucomicrobiae* estaba significativamente disminuida en el grupo de prediabetes haciendo una comparación con el grupo de tolerancia normal a la glucosa. Esto indica que *Verrucomicrobiae* puede servir como un biomarcador para el diagnóstico a la progresión de intolerancia a la glucosa, o incluso puede ser una bacteria potencialmente beneficiosa en la prevención de la DMT2. La abundancia de *Betaproteobacteria* tuvo una mayor significancia en el grupo de prediabetes en paridad con el grupo de tolerancia normal a la glucosa y fue mayor en el grupo DMT2; lo que puede indicar un alto riesgo de presentar DMT2. La abundancia de *Clostridia* también fue relativamente mayor en el grupo de DMT2 que en los individuos con prediabetes, lo que sugiere que podría ser útil en el diagnóstico de DMT2⁵³. Sin embargo, todavía son necesarios estudios bien controlados para determinar si estas diferencias en la microbiota intestinal son la causa o el efecto de la DMT2.

1.4. Efecto de la sacarosa en la microbiota intestinal y la diabetes *mellitus* tipo 2

La composición de la microbiota intestinal está determinada en gran medida por factores ambientales, incluida la dieta. Se cree que los componentes dietéticos influyen en la composición de la microbiota intestinal al servir de nutrientes a un subconjunto de microorganismos, lo que favorece su expansión o disminución^{54, 55}.

La diversidad en la dieta de los mexicanos reportada por la ENSANUT MC 2016 mostró que un porcentaje elevado de adultos consumían cierto grupo de alimentos no aconsejables para consumo diario, en donde un porcentaje de 85.3 ingerían normalmente líquidos azucarados no lácteos, 38% botanas, dulces y postres y 45.6% cereales dulces⁴; en comparación con los resultados de la ENSANUT 2018 donde se observa que existió un aumento en la ingestión total diaria de energía y de hidratos de carbono (líquidos azucarados no lácteos 85.8%); ejemplo de una alimentación occidental (alta en hidratos de carbono simples y en grasas, baja en fibra). Existen tres tipos principales de hidratos de carbono: almidones (hidratos de carbono complejos), azúcares simples (azúcar de mesa o sacarosa) y fibra⁵⁶. El consumo de cantidades elevadas de sacarosa (28% de la energía) aumenta el consumo de energía, el peso corporal, la masa grasa y la presión arterial después de 10 semanas en sujetos con sobrepeso⁵⁷. Se sabe que los alimentos que contienen sacarosa pueden elevar la glucosa en sangre y que estas elevaciones no controladas (hiperglucemia) pueden desencadenar DMT2⁵⁸. En la DMT2 no dependiente de insulina; con las comidas con sacarosa (35g), el incremento medio de glucosa en plasma es significativamente mayor a los 45 minutos⁵⁹.

La glucosa y la fructosa derivadas de la sacarosa durante la digestión gástrica pueden llegar al colon (sede principal de la microbiota)⁶⁰, según un estudio realizado *in vitro* en ratones^{61, 62}. La importancia de estos hallazgos reside en la forma en que podrían llegar a producir una disbiosis en la microbiota intestinal, no sirviendo como fuente de energía para cierto tipo de bacterias patógenas, sino más bien alterando directamente algunos genes bacterianos, como sucede con *Bacteroides thetaiotaomicron*, en donde la fructosa y la glucosa son capaces de inactivar la producción de una proteína, que favorece el correcto desarrollo de la bacteria en la microbiota intestinal⁵⁵.

En un estudio realizado en ratones, los perfiles inflamatorios de TNF- α , IL-6 y leptina aumentaron a los 3 días con una dieta alta en sacarosa (DAS)⁶³. A los 7 días, las concentraciones de IL-6 se mantuvieron significativamente incrementadas ($p = 0.05$), las de TNF- α y MCP-1 se incrementaron a los 14 días ($p < 0.05$) y a los 28 días las

concentraciones de IL-6 se incrementaron nuevamente ($p = 0.005$); mientras que las concentraciones de leptina mostraron una tendencia hacia la elevación ($p = 0.10$). En la composición de la microbiota del intestino, también se notaron cambios en la abundancia de *Bacteroides* y *Prevotella* spp., a los tres días de una DAS, que permanecieron disminuidas a los 14 y 28 días. Existió una disminución en *Clostridium* closter IV que se mantuvo durante todo el año. Finalmente, la abundancia relativa de *Methanobrevibacter* spp. disminuyó en DAS de 7 y 28 días y no se detectaron diferencias en la abundancia de *Bifidobacterium* spp., *Roseburia* spp. y *Akkermansia muciniphila*.

Hasta este punto, se sabe que el consumo excesivo de sacarosa trae complicaciones metabólicas e inflamatorias y además produce cambios en la microbiota intestinal. Sin embargo, hasta el momento no se sabe qué relación existe entre el consumo excesivo de sacarosa y los cambios en la microbiota intestinal de pacientes con DMT2 y las complicaciones que puede traer a la enfermedad.

2. Planteamiento del Problema:

La Organización Mundial de la Salud define a la diabetes *mellitus* tipo 2 (DMT2) como un padecimiento crónico que se presenta cuando no se produce insulina suficiente en el páncreas o cuando el organismo no emplea de manera adecuada la insulina que produce. La DMT2 es una de las mayores crisis de salud, afecta a 415 millones de adultos a nivel mundial. Las estadísticas revelan que dos de cada cuatro individuos con DMT2 tienen mayor riesgo de desarrollar enfermedades o complicaciones cardiovasculares. En México, la prevalencia de DMT2 es del 8 al 9% y se estima un incremento de 12.3% para el año 2025. La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT 2012) mostró que un 9.2% de los adultos mexicanos fueron diagnosticados con DMT2, respecto a la ENSANUT 2018 donde se observó un ligero aumento en la prevalencia.

Diferentes estudios demuestran que la hiperglicemia y la resistencia a la insulina de manera crónica, en ausencia de síntomas, causa daño a diversos tejidos, particularmente en la microcirculación de retina, riñones y nervios periféricos, donde las complicaciones de mayor gravedad pueden ser la ceguera, las amputaciones y la falla renal.

En los últimos años, algunos estudios sugieren que factores ambientales como una dieta alta en sacarosa, pudieran estar influenciando la composición y la función de la microbiota intestinal, teniendo como consecuencia un impacto negativo en el sistema inmunológico y en el metabolismo y contribuyendo al aumento en las complicaciones de la DMT2.

Sin embargo, aún no está clara la correlación entre el consumo de sacarosa y las modificaciones en la microbiota del intestino en la DMT2. Por tanto, se hace la pregunta de investigación:

Pregunta investigación: ¿Cuál es la influencia del consumo de sacarosa sobre la microbiota intestinal de pacientes con DMT2?

3. Hipótesis:

Hipótesis alterna: El elevado consumo de sacarosa ocasionará modificaciones en la estructura y diversidad de las comunidades bacterianas de la microbiota intestinal de pacientes con DMT2, comparada con los pacientes control sin DMT2.

Hipótesis nula: El elevado consumo de sacarosa no ocasionará modificaciones en la estructura y diversidad de las comunidades bacterianas de la microbiota intestinal de pacientes con DMT2, comparada con los pacientes control sin DMT2.

4. Objetivos:

General: Analizar la influencia del consumo de sacarosa sobre la estructura y diversidad de la microbiota intestinal de pacientes con DMT2.

Específicos:

- Determinar peso y estatura para calcular el IMC de pacientes con y sin DMT2.
- Obtener el tipo de dieta de cada paciente por medio de un cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos.
- Calcular el consumo de sacarosa de cada paciente a partir de la dieta.
- Obtener muestras de heces de los pacientes con y sin DMT2 para realizar la extracción de DNA de las comunidades bacterianas.
- Identificar a partir del DNA las diferencias de diversidad, composición y estructura entre la microbiota intestinal de los grupos con y sin DMT2.
- Realizar análisis bioinformático y estadístico para determinar el porcentaje de abundancia relativa entre los grupos con y sin DMT2.
- Comparar los grupos microbianos que dominan entre los grupos con y sin DMT2.

5. Justificación:

En México la prevalencia de DMT2 es del 8 al 9% y se estima un incremento al 12.3% para el año 2025.

La OMS reporta que la diabetes *mellitus* tipo 2 (DMT2) ha mostrado un incremento de 108 millones en 1980 a 422 millones de personas en 2014 y la prevalencia a nivel mundial en personas (mayores de 18 años) también aumentó del 4.7 por ciento en 1980 al 8.5 por ciento en 2014, especialmente en los países que tienen ingresos medios y bajos. La DMT2D es una enfermedad crónica que puede ocasionar pérdida de la vista, insuficiencia renal, infarto al miocardio, accidentes cerebrovasculares y amputaciones de los miembros inferiores.

Diferentes estudios dicen que puede existir una firma de microbiota intestinal que promueve la inflamación intestinal y posteriormente una inflamación sistémica de bajo grado, que a su vez promueve el desarrollo de la DMT2, influenciada por un alto consumo de sacarosa en la dieta.

Sin embargo, aún se necesitan más estudios principalmente en población mexicana acerca del consumo de sacarosa y las modificaciones en la estructura y diversidad bacteriana de la microbiota intestinal y su impacto a nivel metabólico y bioquímico, así como, la prevención de complicaciones causadas por la DMT2.

6. Material y Métodos:

6.1. Diseño de Estudio

Tipo de estudio

- Prospectivo
- Longitudinal
- Transversal
- De casos y controles

Universo

Pacientes que asistieron a consulta en el “Hospital General Dr. Nicolás San Juan” de Toluca, Edo. de México, durante los meses de agosto a septiembre de 2019.

Método de muestreo

Aleatorizada por conveniencia

Tamaño de muestra

La muestra estuvo constituida por un total de 100 participantes de ambos sexos (n=50 grupo control y n=50 grupo estudio) que cumplieran con los criterios de inclusión (**ANEXO 1**).

6.2. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

A) Grupo de Estudio

Criterios de inclusión:

- Hombre y Mujeres de 25 a 65 años de edad
- Derechohabientes del **Hospital General “Dr. Nicolás San Juan” de ISEM.**
- Con diagnóstico de DM2.
- Con normopeso.
- Pacientes que hubiesen autorizado participar en el proyecto, mediante firma de consentimiento informado **ANEXO 1.**

Criterios de exclusión:

- Pacientes con enfermedades concomitantes: Enfermedad renal (nefropatías, Insuficiencia Renal Crónica), neuropatías, miopatías, retinopatía diabética, artropatía de Charcot.
- Prescripción médica o consumo de algún medicamento (benzodiazepinas, barbitúricos, opioides) que limitase la elaboración de alguna valoración.
- Embarazo.

- Consumo crónico de alcohol, drogas o tabaco.
- Enfermedades autoinmunes, bacterianas o virales agudas o crónicas. Algún tipo de alergia a alimento, medicamento o animal.
- Hoja de consentimiento informado sin firma.

Criterios de eliminación:

- No asistir a las valoraciones programadas.
- Enfermedad o lesión durante el periodo de aplicación del estudio.

B) Grupo Control

Criterios de inclusión:

- Pacientes de ambos sexos de 25-65 años de edad.
- Familiares de derechohabientes de la **Hospital General “Dr. Nicolás San Juan” de ISEM.**
- Sin diagnóstico de DM2.
- Con normopeso.
- Clínicamente sanos.
- Pacientes que hubiesen autorizado participar en el proyecto, mediante firma de consentimiento informado **ANEXO 1.**

Criterios de exclusión:

- Pacientes con enfermedades autoinmunes, bacterianas o virales agudas o crónicas. Algún tipo de alergia a alimento, medicamento o animal.
- Prescripción médica o consumo de algún medicamento.
- Embarazo.
- Consumo de alcohol, drogas o tabaco.
- Hoja de consentimiento informado sin firma.

Criterios de eliminación:

- No asistir a las valoraciones programadas.
- Enfermedad o lesión durante el periodo de aplicación del estudio.

6.3. Procedimientos

Se reclutaron 100 pacientes adultos, de acuerdo con los criterios de inclusión; estos fueron elegidos al azar cuando acudieron a consulta a la clínica de diabetes del **Hospital General “Dr. Nicolás San Juan”** ubicado en Toluca, Edo, de México.

Después todos aquellos que cumplieron con los criterios de inclusión estuvieron invitados a participar en el estudio y firmaron el consentimiento informado. Los pacientes fueron clasificados en dos grupos, grupo control y grupo de estudio, cada uno de 50 individuos. Se les aplicó una Historia Clínica y un cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (FCA). Se les tomaron los datos antropométricos de peso y estatura, además de los datos clínicos de glucosa en suero. Se recolectaron las muestras de heces de cada paciente para su posterior procesamiento, almacenamiento y análisis bioinformático.

6.4. Metodología

Recolección de datos antropométricos y clínicos.

Todos aquellos voluntarios que cumplieron con los criterios de inclusión (**ANEXO 1**) estuvieron invitados a participar en el estudio. Firmaron el consentimiento informado. Fueron clasificados en dos grupos: grupo control y grupo de estudio, cada uno de 50 individuos. Posteriormente, se dio inicio con la recolección de datos personales del paciente mediante una ficha de identificación contenida en el formato de Historia Clínica (**ANEXO 2**) por interrogatorio directo y preguntas dicotómicas.

En una cita posterior, los pacientes se presentaron en ayuno, aseados, con ropa cómoda (pantalones y playera; corpiño para mujeres) y trajeron consigo un almuerzo. Se les midieron peso y estatura para el cálculo del Índice de Masa Corporal (IMC), ambos instrumentos de medición de la marca SECA®. Se realizó toma de glucosa en suero en ambos grupos de estudio. Previo a esta cita, el equipo de investigación realizó una estandarización para la toma de las medidas antropométricas, así como la aplicación de los instrumentos de evaluación FCA (**ANEXO 3**) e Historia Clínica.

Recolección de datos dietéticos.

Se aplicó un cuestionario de FCA mediante interrogatorio directo del investigador (Nutrióloga estandarizada).

Análisis de los datos dietéticos.

Se vaciaron los datos del cuestionario de FCA en Excel. Se realizó la estimación del consumo de energía y el conteo de sacarosa que **consumía** cada participante con base en la combinación del Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes y la Food List Database de la U. S. Departamento de Agricultura (USDA). Primero se creó una hoja de cálculo en Excel para estimar la cantidad de energía de los macronutrientes (hidratos de carbono, sacarosa, lípidos y proteínas) de cada alimento contenido en la FCA, para cada uno de los participantes del estudio. Cada alimento estuvo categorizado por grupo de alimento y su correspondiente equivalente. Después, se hizo una conversión de cada equivalente por cada 100 g de alimento encontrado en la Food List de la USDA, con el fin de calcular el contenido de sacarosa de cada alimento. Finalmente se realizó una estimación de las calorías y los gramos de los macronutrientes consumidos por día, de cada uno de los participantes.

Análisis de datos antropométricos y dietéticos.

Se realizó el vaciamiento de los datos de peso, estatura, glucosa y de la dieta en el paquete estadístico SPSS® versión 22, para su análisis. De acuerdo con el análisis de los datos se formaron diferentes subgrupos de estudio con relación a su IMC y consumo de sacarosa. Quedando de la siguiente manera (**Tabla 1**) para su estudio posterior, relacionado con la microbiota intestinal.

Tabla 1. Grupos de estudio

Grupo	Subgrupo por IMC	Subgrupo por consumo de sacarosa
Control (CO)	Control Normopeso (CNW)	Control Normopeso Alto consumo de Sacarosa (CNWHS)
		Control Normopeso Bajo consumo de Sacarosa (CNWLS)
	Control Sobrepeso (COW)	Control Sobrepeso Alto consumo de Sacarosa (COWHS)
		Control Sobrepeso Bajo consumo de Sacarosa (COWLS)
Estudio (T2D)	Diabetes <i>Mellitus</i> Tipo 2 Normopeso (DNW)	Diabetes <i>Mellitus</i> Tipo 2 Normopeso Alto consumo de Sacarosa (DNWHS)
		Diabetes <i>Mellitus</i> Tipo 2 Normopeso Bajo consumo de Sacarosa (DNWLS)
	Diabetes <i>Mellitus</i> Tipo 2	Diabetes <i>Mellitus</i> Tipo 2

	Sobrepeso (DOW)	Sobrepeso Bajo consumo de Sacarosa (DOWLS)
--	--------------------------	---

Recolección de heces.

Los 100 participantes proporcionaron una muestra fecal en su cita, previa recolección en casa. La recolección fue en un frasco de recolección estéril con un tiempo no mayor a 24 horas antes de su visita al estudio, siguiendo las instrucciones del (**ANEXO 4**). Luego, las muestras se procesaron para su almacenamiento dentro de las primeras horas de entrega.

Análisis de microbiota fecal.

Para su análisis, las muestras de heces de los participantes se procesaron en una campana microbiológica estéril en cuatro alícuotas de 0.5 a 1.0 g de heces y se almacenaron en tubos Eppendorf estériles de 1.5 ml a -70°C para su posterior análisis por lotes⁶⁴.

Extracción de ADN.

Para la extracción de DNA se utilizaron 150 mg de cada una de las muestras de heces de los participantes en el estudio, siguiendo las instrucciones proporcionadas en el protocolo del Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit de la marca ZYMO RESEARCH; con modificaciones en los tiempos de lisis mecánica (de 10 a 15 min con disruptor) y ciclos de enfriamiento. De igual manera se tuvieron en cuenta algunas condiciones adicionales de las muestras antes de comenzar a procesarlas.

Las condiciones con las que se procesaron las muestras se mencionan a continuación:

- Descongelamiento lento en hielo
- Homogeneización o batido de las heces
- Exclusión de materiales diferentes a la materia fecal como restos de comida, entre otros.

Las condiciones antes mencionadas fueron de suma importancia debido a que las primeras muestras de extracción no cumplían con estas características y por tanto no se obtuvo el éxito esperado en la extracción del DNA de buena calidad. Una vez listas las muestras bajo las condiciones antes mencionadas, se procedió a realizar la extracción del DNA con el Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Miniprep.

Electroforesis en gel.

Para la electroforesis se elaboró gel de agarosa al 1% (100 ml de Buffer TAE 1X por 1 g de agarosa). Para cargar la muestra en dicho gel se utilizaron 3 µl de DNA extraído por 1 µl de buffer de carga 6X y un marcador de peso molecular de aproximadamente 23 mil pb (Lambda DNA/HindIII) como referencia. Seguido de lo anterior, se realizó una electroforesis a 110 Volts durante 35 minutos. Una vez terminada la electroforesis, se procedió a teñir el gel con solución de Syber Green durante 90 minutos para su posterior análisis en un fotodocumentador. Las posiciones de las muestras y el marcador se muestran en el (ANEXO 5), se lograron observar bandas definidas para cada una de las muestras procesadas.

Finalmente, se realizaron pruebas de calidad (concentración y pureza) a cada muestra de DNA extraído, mediante un espectrofotómetro de absorción molecular con la relación $A_{280}/A_{260} \geq 1.8$ para pureza y 20 ng/ml para concentración (Tabla 2). Obteniendo un total de 40 muestras de DNA de buena calidad. Con la finalidad de que cada muestra cumpliera con las condiciones mínimas requeridas para la secuenciación masiva.

Tabla 2. Relación de la pureza y concentración del DNA metagenómico de las muestras de heces.

Grupo Control Normopeso (12)			Grupo de Estudio Normopeso (12)		
Muestra	Pureza 260/280	Concentración ng/µl	Muestra	Pureza 260/280	Concentración ng/µl
M13	1.77	110	DM1	1.85	84
M15	1.77	73	DM2	1.90	111
M23	1.75	125	DM5	1.84	165
M29	1.92	130	DM8	1.78	47
M32	1.89	116	DM9	1.92	95
M33	1.89	88	DM16	1.90	20
M34	1.82	54	DM17	1.92	89
M37	1.86	36	DM19	1.72	92
M38	1.90	141	DM27	1.90	47
M43	1.92	112	DM38	1.80	75
M45	1.83	66	DM50	1.84	39
M46	1.91	128	DM51	1.74	24
Grupo Control Sobrepeso (8)			Grupo de Estudio Sobrepeso (8)		
Muestra	Pureza 260/280	Concentración ng/µl	Muestra	Pureza 260/280	Concentración ng/µl
M6	1.79	86	DM6	1.95	21
M16	1.85	58	DM20	1.96	133
M17	1.95	69	DM21	1.93	103
M19	1.78	111	DM22	1.88	147
M25	1.89	92	DM23	1.88	124
M30	1.89	135	DM28	1.75	56
M48	1.88	35	DM42	1.82	116

M49	1.70	40	DM43	1.92	97
TOTAL = 20			TOTAL = 20		
MUESTRAS TOTALES = 40					

Prueba de Amplificación del gen 16S rRNA mediante PCR.

En la amplificación del gen 16S rRNA se utilizó PCR Master Mix (**Tabla 3**) para las 40 muestras con sus respectivas diluciones 1:10 y 1:100, resultando un total de 48 reacciones para amplificación.

Tabla 3. Lista de reactivos con las cantidades necesarias para 1 reacción de PCR con un volumen total de 25 ml.

Reactivo	1x
H ₂ O	7.5 ml
PCR Master Mix	12.5 ml
Primer 27F	2 ml
Primer 149R	2 ml
DNA	1 ml

Luego de la amplificación de las muestras se realizaron varios geles de agarosa al 1% que incluían las 48 reacciones y un marcador de peso molecular de aproximadamente 3000 pb (1Kb), se realizó electroforesis a cada gel, con las condiciones anteriormente descritas. Después, se procedió a teñir y revelar cada gel en el foto-documentador para ver si la región 16S había sido susceptible de ser amplificada (1500 pb). Finalmente, de acuerdo con los resultados de las reacciones que amplificaron para el gen 16S rRNA (**ANEXO 6**), se encontraban listas 40 muestras para la secuenciación masiva de las regiones V4-V5 de dicho amplicón.

Secuenciación masiva.

Secuenciación Illumina por amplicones de la región V4-V5 del gen 16s rRNA.

Las 40 muestras resultantes con DNA metagenómico fueron enviadas al servicio de secuenciación del Centro de Genómica Comparativa y Bioinformática Evolutiva (CGBE) de la Universidad de Dalhousie, Canadá. El tipo de secuenciación masiva que fue solicitada fue Illumina MiSeq (300 + 300 pb PE)⁶⁵.

Análisis bioinformático de las secuencias.

Los datos del 16S rRNA **se procesaron** con el software MOTHUR v. 1.39.5, siguiendo el *pipeline* recomendado por el desarrollador del MiSeq SOP. Una vez **realizada** la calidad de las secuencias, se eliminaron todas las secuencias con ambigüedades y se estableció una longitud máxima de 8 homopolimeros. De igual manera se realizó una remoción de las secuencias quiméricas y de los linajes de eucariotas, mitocondrias, cloroplastos, unknown y unclassified. Posteriormente **se examinó** la diversidad de las secuencias por unidades taxonómicas operacionales (OTU) considerando lecturas de calidad con una disimilitud del 3% y curvas de rarefacción calculadas en una similitud del 97% con el flujo de diversidad alfa de Mothur. El número de OTUs observadas y los índices de riqueza de Chao1, diversidad de Simpson inversa, diversidad de Shannon y uniformidad de Pielou. Finalmente, **se determinó** la composición de las comunidades bacterianas mediante la diversidad beta. La abundancia **se expresó** como un porcentaje con respecto al número total de secuencias en cada muestra (abundancia relativa)⁶⁶. El archivo generado por Mothur fue analizado posteriormente mediante el software de Análisis Estadístico de Prueba de Perfiles Metagenómicos (STAMP, por sus siglas en inglés) y los resultados arrojados, fueron representados mediante gráficos.

Análisis estadístico.

El análisis de componentes principales (ACP o PCA) se realizó con STAMP, se aplicó a los datos para reducir una gran cantidad de información a un pequeño número de dimensiones ortogonales de tal manera que representen tanta variación del conjunto de datos como sea posible. Este análisis transforma una serie de variables posiblemente correlacionadas (por ejemplo, taxones de bacterias) en un número de variables no correlacionadas nombradas componentes principales. La ecuación resultante con las cargas (coeficientes) de las variables en cada componente permitió calcular una puntuación por muestra de heces. En términos gráficos, una variable se denota por un vector, mientras que una puntuación de las heces se representa por un punto o figura. Finalmente, se compararon los datos de cada una de las

muestras en cada variable mediante ANOVA de una vía, utilizando el método de Tukey-Kramer, con una $p < 0.05$; para crear intervalos de confianza del 95% de las diferencias entre las medias de cuatro niveles taxonómicos: *Phyla*, Clase, Orden y Género, de cada una de las muestras de heces por grupos (CO-T2D) y subgrupos (CNW, COW, DNW, DOW, CNWLS, CNWHS, COWLS, COWHS, DNWLS, DNWHS y DOWLS).

6.5. Variables de Estudio

Independientes					
Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Tipo de variable	Escala de medición	Análisis Estadísticos
Edad	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento	Se obtendrá a partir de la fecha de nacimiento del paciente en años.	Cuantitativa discreta	Edad en años	Medidas de tendencia central y dispersión
Sexo	Condición de tipo orgánica que diferencia al hombre de la mujer.	Se obtendrá referido del paciente	Nominal Dicotómica	0. Mujer 1. Hombre	Frecuencias Porcentajes
Índice de Masa Corporal	Relación entre el peso y la altura para categorizar el peso de las personas en desnutrición, bajo peso, normopeso, sobrepeso u obesidad.	Determinar peso promedio en el grupo de estudio.	Cualitativa Ordinal	0. Normopeso con tendencia al sobrepeso (IMC 18.5 a 24.9). 1. Sobrepeso con tendencia a obesidad (IMC 25.0 a 29.9)	Frecuencias Porcentajes
DMT2	Trastorno metabólico caracterizado por hiperglucemia en el contexto de resistencia a la insulina.	Determinar tiempo de la enfermedad en el grupo de estudio	Cualitativa Nominal	0. Reciente (1-5 años). 1. No reciente (6-10 años).	Frecuencias Porcentajes
Casos	Grupo de estudio con la enfermedad (1:1).	Pacientes de 25 a 65 años de edad con diagnóstico de DM2.	Cualitativa Nominal	0. Con diagnóstico reciente (1-5 años). 1. Con diagnóstico no reciente (6-10 años).	Frecuencias Porcentajes
Controles	Grupo de estudio sin la enfermedad (1:1).	Pacientes de 25 a 65 años de edad sin diagnóstico de DM2.	Cualitativa Nominal	0. De familia nuclear (hermano (a), mamá (a), papá (a), hijo (a)). 1. De familia extensa (abuelo (a), tío (a), primo (a), sobrino (a)).	Frecuencias Porcentajes
Sacarosa	Disacárido formado por glucosa y fructuosa	Determinar la frecuencia de consumo de	Catagórica	0. Bajo (menos de 35 g)	Frecuencias

		sacarosa en la dieta habitual para ser categorizada.	dicotómica	1. Alto (más de 35 g)	Porcentajes
Dependientes					
Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Tipo de variable	Escala de medición	Análisis Estadísticos
Microbiota	Conjunto de microorganismos que se encuentran generalmente asociados a tejidos sanos (piel, mucosas, etc.) del cuerpo humano. Los microorganismos residen en estos lugares de forma más o menos permanente y algunas veces realizan funciones específicas.	Secuenciación masiva para la obtención de la diversidad bacteriana.	Cualitativa Nominal	0. Bacteroidetes 1. Firmicutes 2. Actinobacteria 3. Proteobacteria 4. Otros	Frecuencias Porcentajes
Glucosa	Monosacárido regulado por la insulina del páncreas.	Determinar concentraciones (mg/dL) de glucosa en sangre para ser categorizadas.	Categorica policotómica	0. Glucosa sanguínea alta (más de 125 mg/dL) 1. Nivel saludable de glucosa sanguínea (de 70 a 100 mg/dL) 2. Glucosa sanguínea moderadamente alta (de 100 a menos de 125 mg/dL)	Frecuencias Porcentajes

6.5 Implicaciones Bioéticas

La presente investigación se apegó totalmente al reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud en México y Estado de México.

Se llevaron a cabo los lineamientos establecidos en las disposiciones de la declaración de Helsinki.

Este proyecto formo parte del protocolo **“CONSUMO DE SACAROSA Y LA PRESENCIA DE UNA RESPUESTA DE TIPO ALERGICA INFLAMATORIA CRÓNICA EN PACIENTES CON DM2 Y OBESIDAD”** que fue sometido a valoración para su aprobación por el comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina de la UAEMéx y se registró como **APROBADO (ANEXO 7 copia)**.

Se brindó información detallada y oportuna sobre el proyecto de investigación a las autoridades competentes del hospital, así como a los participantes en el proyecto de investigación.

La participación fue voluntaria y por ninguna razón los procedimientos tuvieron costos ni se brindó apoyo económico ni de ningún tipo.

El proyecto de investigación se llevó a cabo durante el ciclo escolar 2019-B en las instalaciones del hospital.

El procesamiento de las muestras se realizó en el laboratorio de nutrición de la Facultad de Medicina de la UAEMéx y en el laboratorio del departamento de Biotecnología Ambiental de la Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma.

Se realizó y se brindó a cada participante una carta de consentimiento informado que estuvo debidamente firmada por el mismo y un testigo, para su participación voluntaria en el proyecto. Todos los datos obtenidos, así como resultados de los participantes fueron confidenciales en todo momento.

La información que se dio a conocer a los participantes fue de manera verbal y por escrito, de forma específica y particular dentro de las instalaciones del hospital en día y fecha acordados.

Ninguna evaluación implicó gastos para los participantes.

La toma de mediciones antropométricas (peso, estatura y signos vitales) fue realizada por especialistas estandarizados.

Este estudio se consideró una investigación con riesgo menor al mínimo.

6.6 Recolección de Datos

Se obtuvieron muestras de heces, Historia Clínica y cuestionarios de FCA de los 100 participantes del proyecto, para su procesamiento.

Para el estudio de la microbiota intestinal se utilizó la muestra fecal que llevaron los participantes en su cita para el estudio.

El estudio de la dieta se realizó por medio de un cuestionario de FCA.

Se elaboró una base de datos en SPSS, para llevar un registro de los participantes; en la cual se incluyó nombre y folio del paciente, número de contacto, así como los formatos y muestras de heces entregados.

6.7 Análisis Estadísticos

Se **utilizó** estadística descriptiva que **incluyó** medias, medianas, desviaciones estándar, frecuencias y porcentajes para describir los datos antropométricos, clínicos y dietéticos.

Posteriormente **se compararon** las diferencias intra e intergrupos por medio de análisis de varianza (ANOVA) para identificar modificaciones en las variables de estudio y así poder contrastar las hipótesis. **Se tomó** una $p < 0.05$ de dos colas para indicar significancia estadística.

Los cambios en la abundancia relativa taxonómica y los datos de diversidad sobre la microbiota intestinal **se analizaron** estadísticamente mediante el software STAMP, anteriormente descrito.

7. Referencias Bibliográficas:

1. Federación Internacional de diabetes, A.C. IDF Diabetes Atlas, 7^o edición, 2015.
2. Encuesta Nacional de Salud 2000. Tomo 2. La Salud de los Adultos. Instituto Nacional de Salud Pública.
3. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Resultados Nacionales 2012. Instituto Nacional de Salud Pública.
4. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición Medio Camino 2016. Informe Final de Resultados. Instituto Nacional de Salud Pública.
5. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Instituto Nacional de Salud Pública.
6. Organización Mundial de la Salud. Sitio Web Mundial. Temas de Salud. Diabetes. 2018.
7. NORMA Oficial Mexicana 015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. Secretaria de Gobernación. Diario Oficial de la Federación. Diabetes Tipo 2.
8. Organización Mundial de la Salud. Temas de Salud. Diabetes acción en línea. Qué es la diabetes. 2018.
9. Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *Lancet*. 2014;383(9922):1068–1083. doi:10.1016/S0140-6736(13)62154-6
10. Kruszynska YT, Olefsky JM. Cellular and molecular mechanisms of non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Investig Med*. 1996 Oct;44(8):413-28.
11. DeFronzo, Ralph A and Eleuterio Ferrannini. “Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease.” *Diabetes Care* 14 **3** (1991): 173-94.
12. Steven E. Kahn, The Importance of β -Cell Failure in the Development and Progression of Type 2 Diabetes, **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, Volume 86, Issue 9, 1 September 2001, Pages 4047–4058, <https://doi.org/10.1210/jcem.86.9.7713>**
13. Mitrakou A, Kelley D, Mokan M *et al*. Role of Reduced Suppression of Glucose Production and Diminished Early Insulin Release in Impaired Glucose Tolerance. *N Engl J Med* 1992; 326:22-29; doi: 10.1056/NEJM199201023260104
14. Porte, Daniel. β -cells in type II diabetes mellitus. *Diabetes* Feb 1991, 40 (2): 166-180; doi: 10.2337/diab.40.2.166

15. James C. Beard, W. Kenneth Ward, Brad J. Wallum, Daniel Porte, JR, Relationship of Islet Function to Insulin Action in Human Obesity, **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Volume 65, Issue 1, 1 July 1987, Pages 59–64, <https://doi.org/10.1210/jcem-65-1-59>
16. Olefsky J, Farquhar JW, Reaven G, Relationship Between Fasting Plasma Insulin Level and Resistance to Insulin-Mediated Glucose Uptake in Normal and Diabetic Subjects, *Diabetes* Jul 1973; 22 (7): 507-513; doi: 10.2337/diab.22.7.507
17. Michael J. Fowler, MD. Diagnosis, Classification, and Lifestyle Treatment of Diabetes. ADA. *Clinical Diabetes* 2010 Mar; 28(2): 79-86. <https://doi.org/10.2337/diaclin.28.2.79>
18. Diabetes Care, American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. Type 2 Diabetes. *Pharmacologic Therapy* Jan 2016;39(1):S1-S106.
19. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project. *Nature*. 2007;449(7164):804–810. doi:10.1038/nature06244
20. Lederberg, Joshua, and Alexa T. Mccray. "Ome Sweet `Omics--A Genealogical Treasury of Words." *The Scientist*, Gale Academic OneFile, 2 Apr. 2001;15(7):8.
21. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. Defining the human microbiome. *Nutr Rev*. 2012;70(Suppl 1):S38–S44. doi:10.1111/j.1753-4887.2012.00493.x
22. Chang Christopher, Lin Henry. Dysbiosis in gastrointestinal disorders. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. Elsevier. 2016;30(1): 3-15.
23. Wen L, Duffy A. Factors Influencing the Gut Microbiota, Inflammation, and Type 2 Diabetes. *J Nutr*. 2017;147(7):1468S–1475S. doi:10.3945/jn.116.240754
24. Harsch I, Konturek P. The Role of Gut Microbiota in Obesity and Type 2 and Type 1 Diabetes Mellitus: New Insights into “Old” Diseases. *Med Sci*. 2018. 6(2):32.
25. Vieira-Silva S, Falony Gwen, Darzi Youssef, Lima-Mendez G, Garcia Yunta R, Okuda Shujiro, *et al*. Species function relationships shape ecological properties of the human gut microbiome. *Nature Microbiology*. 2016. 16088.
26. John K, Mullin E. *The Gut Microbiome and Obesity*. Springer Science. 2016. doi: 10.1007/s11912-016-0528-7.
27. Vandeputte D, Kathagen G, D’hoë K, Vieira-Silva S, Valles-Colomer M, *et al*. Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load. *Springer Nature*. Vol. 551(7681). 2017. doi: 10.1038/nature24460.
28. Qin J, Li R, Raes J, *et al.*; MetaHit Consortium. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010;464:59–65

29. The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012; 486 (7402): 207-14. doi: 10.1038/nature11234.
30. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, *et al*. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *NIH Public Access. Nature*. 2014; 505(7484), 559–563.
31. Carmody RN, Gerber GK, Luevano JM, Gatti DM, Somes L, Svenson KL. Article Diet Dominates Host Genotype in Shaping the Murine Gut Microbiota. *Cell Host Microbe*. 2015; 17, 72–84.
32. Bridgewater, L.C., Zhang, C., Wu, Y. *et al*. Gender-based differences in host behavior and gut microbiota composition in response to high fat diet and stress in a mouse model. *Sci Rep* 7, 10776 (2017). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11069-4>
33. Doré J, Blottière H. The influence of diet on the gut microbiota and its consequences for health. **ScienceDirect. Elsevier**. 2015. 32, 195-199. doi: 10.1016/j.copbio.2015.01.002.
34. Dueñas M, Muñoz-González I, Cueva C, Jiménez-Girón A, Sánchez-Patán F, Santos-Buelga C, Moreno-Arribas MV, Bartolomé B. A survey of modulation of gut microbiota by dietary polyphenols. *Biomed Res Int*. 2015;2015:850902.
35. Santos-Marcos J, Rangel-Zuñiga O, Jimenez-Lucena R, Quintana-Navarro G, *et al*. Influence of gender and menopausal status on gut microbiota. *Maturistas, ISSN*. 2018;116, 43-53. doi: 10.1016/j.maturistas.2018.07.008.
36. Haro C, Rangel-zú OA, Alcalá-díaz JF, Gómez- F, Pérez-martínez P, Delgado-lista J, *et al*. Intestinal Microbiota Is Influenced by Gender and Body Mass Index. *Plos One*. 2016;11(5), 1–16. doi: 10.5061/dryad.j0q5m.Funding.
37. Boyle JP, Thompson TJ, Gregg EW, Barker LE, Williamson DF. Projection of the year 2050 burden of diabetes in the US adult population: dynamic modeling of incidence, mortality, and prediabetes prevalence. *Popul Health Metr* 2010;8:29.
38. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, *et al*. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 [published correction appears in *Lancet* 2013;381:628]. *Lancet* 2012;380:2095–2128.
39. Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Saydah S, *et al*. SEARCH for Diabetes in Youth Study .. Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009. *JAMA* 2014;311:1778–1786.

40. Qin, J., Li, Y., Cai, Z. *et al.* A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012;490, 55–60. <https://doi.org/10.1038/nature11450>
41. R. Burcelin, Gut microbiota and immune crosstalk in metabolic disease. *Mol Metab*, 2016;5 (9):771-781.
42. H.K. Pedersen, V. Gudmundsdottir, H.B. Nielsen, T. Hyotylainen, T. Nielsen, B.A. Jensen, *et al.*, MetaHIT Consortium, Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. *Nature*, 2016;535 (7612):376-381.
43. Mardinoglu, J. Boren, U. Smith. Confounding effects of metformin on the human gut microbiome in type 2 diabetes. *Cell Metab*, 2016;23 (1):10-12.
44. Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, *et al.* Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota [published correction appears in *Nature*. 2017 May 3;545(7652):116]. *Nature*. 2015;528(7581):262–266. doi:10.1038/nature15766.
45. Salamon D, Sroka-Oleksiak A, Kapusta P, Szopa M, Mrozińska S, Ludwig-Słomczyńska AH, *et al.* Characteristics of gut microbiota in adult patients with type 1 and type 2 diabetes based on next-generation sequencing of the 16S rRNA gene fragment. *Polish archives of internal medicine*. 2018 **Jun 30**;128(6):336-343. doi: 10.20452/pamw.4246.
46. Patterson E, Ryan PM, Cryan JF, *et al.* Gut microbiota, obesity and diabetes. *Postgraduate Medical Journal* 2016;92:286-300. doi:10.1136/postgradmedj-2015-133285.
47. Qin, J., Li, Y., Cai, Z. *et al.* A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012;490, 55–60. <https://doi.org/10.1038/nature11450>.
48. Maria J, Geraldo G, Costa JDA, Cássia R De, Alfenas G. Systematic Review. *Metabolism*. **Elsevier**. 2016;68:133–44.
49. Rosenbaum M, Knight R, Leibel RL, Science C, Jolla L. HHS Public Access. 2016;26(9):493–501. doi: 10.1016/j.tem.2015.07.002.
50. Radilla-Vázquez RB, Parra-Rojas I, Martínez-Hernández NE, Márquez-Sandoval YF, Illades-Aguiar B, Castro-Alarcón N. Gut microbiota and metabolic endotoxemia in young obese mexican subjects. *Obes Facts*. 2016;9(1):1–11. doi: 10.1159/000442479.
51. Chang C, Lin H. Dysbiosis in gastrointestinal disorders. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2016;30(1):3–15.
52. Cani D. Human gut microbiome: hopes, threats and promises. *Open Acces. BMJ*. 2018;67. doi: 10.1136/gutjnl-2018-316723.

53. Zhang X, Shen D, Fang Z, Jie Z, Qiu X, Zhang C. Human Gut Microbiota Changes Reveal the Progression of Glucose Intolerance. 2013;8(8). doi: 10.1371/journal.pone.0071108.
54. Guy E. Townsend II, Weiwei Han, Nathan D. Schwalm III, Varsha Raghavan, Natasha A. Barry, Andrew L. Goodman, and Eduardo A. Groisman Dietary sugar silences a colonization factor in a mammalian gut symbiont. PNAS. 2019;116 (1) 233-238.
55. Sonnenburg E, Smits A, Tikhonov M, Higginbottom S, Wingreen N & Sonnenburg J. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations. Nature. 2016;529, 212-215.
56. Alimentos y Actividad Física. Comprensión de los carbohidratos. ¿Qué son los carbohidratos? American Diabetes Association®. 2014.
57. Raben A, Vasilaras T, Moler A, Astrup A. Sucrose compared with artificial sweeteners: different effects on ad libitum food intake and body weight after 10 wk of supplementation in overweight subject. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 2002;76:721–729.
58. Wong J, Jenkis D. Carbohydrate Digestibility and Metabolic Effects. **The Journal of Nutrition**, 2007;137:2539S–2546S.
59. Akgün Suat and Ertel Norman. The Effects of Sucrose, Fructose, and High-Fructose Corn Syrup Meals on Plasma Glucose and Insulin in Non-insulin-dependent Diabetic Subjects. *Diabetes Care*, 1985. 8(3): 279-283.
60. Jang C, Hui S, Lu W, Cowan A, Morscher R, Lee G *et al.* The Small Intestine Converts Dietary Fructose into Glucose and Organic Acids. *Cell Metabolism*. 2018;27:351-361.e3
61. Dahlqvist A and Thomson D. The digestion and absorption of sucrose by the intact rat. *Jornal of Physiology*. 1963. 167(2): 193-209.
62. Davidson R and Leese H. Sucrose absorption by the rat small intestine in vivo and in vitro. **The Jornal of Physiology**, 1977 May 01; 267 (1): 237-248.
63. Collins K, Paul H, Hart D, Reimer R, Smith I, Rios J *et al.* A High-Fat High-Sucrose Diet Rapidly Alters Muscle Integrity, Inflammation and Gut Microbiota in Male Rats. *Scientific Reports*. 2016;6 (37278)
64. Ramírez-Saad H, Akkermans W, Akkermans ADL. DNA extraction from actinorhizal nodules. Chap. 1.4.4. In: Akkermans ADL, van Elsas JD, de Bruijn F (eds) *Manual molecular microbial ecology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1996. pp 1–11.

65. Sánchez-Marañón M, Miralles I, Aguirre Garrido JF, Anguita-Maeso M, Millán V, Ortega Raul, *et al.* Changes in the soil bacterial community along a pedogenic gradient. *Scientific Reports.* 2017; 7:14593.

8. Anexos:

Anexo 1. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO.
FACULTAD DE MEDICINA.
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Dirigido a: Derechohabientes del Hospital General “Dr. Nicolás San Juan” con diagnóstico de DM2.

Título de proyecto: “Consumo de sacarosa y la presencia de una respuesta de tipo alérgica inflamatoria crónica en pacientes con diabetes mellitus 2”.

Nombre del investigador principal: Dra. Beatriz Elina Martínez Carrillo.

No. de oficio por el comité de ética de la facultad: Octubre 18 de 2018/ 015/2018.

No. de oficio de probación por el comité de ética del hospital: 205C0101110100T/056I/EI/128/2019

ESTIMADO PARTICIPANTE:

Usted ha sido invitado a participar en el presente proyecto de investigación, el cual es desarrollado por el cuerpo académico de nutrición y salud de la facultad de medicina en colaboración con la Universidad Autónoma del Estado de México. El estudio se realizará en días hábiles (días entre semana) en fecha y hora acordada, dentro de las instalaciones de este hospital.

Si usted decide participar en este estudio, es importante que considere la siguiente información. Siéntase libre de preguntar cualquier asunto que no le quede claro.

El objetivo del presente estudio es conocer sus niveles de glucosa (azúcar) antes y después de consumir alimentos, los tipos de alimentos que consume y conocer tanto en muestra de heces fecales como en niveles de sangre cifras de triglicéridos, colesterol, y glucosa, así como diversos factores que pueden ocasionar inflamación y otros, con esto además se evalúa el nivel de apego (cumplimiento) al tratamiento, sumado al nivel de espiritualidad (concepto diferente e independiente de la religión que profesé). Le pedimos participar en este estudio, ya que usted forma parte de los derechohabientes de este hospital.

PROCEDIMIENTO:

Se llevará a cabo el estudio en las instalaciones de este hospital, para lo cual se le indicará un horario y día específico en una hoja de resumen que se le entregará después de aceptar participar. Su participación constará de acudir en UNA OCASIÓN para las pruebas y una más para la entrega de resultados.

CITA 1.

- Deberá presentarse en ayuno, y deberá traer consigo un lunch. Así mismo deberá traer el vaso recolector con la muestra fecal para entregar al investigador (recuerde que debe entregarla dentro de las primeras 24 horas de su recolección). Se le agradece presentarse aseado y con ropa cómoda: pants y playera en caso de hombres y para mujeres pants, playera y un corpiño.
- Se iniciará pidiéndole que descubra su brazo derecho, se le tomará una muestra de sangre en ayuno mediante dextróstix y con una jeringa:

-Se le colocará una liga arriba de su codo para generar presión sanguínea y se le pedirá que abra y cierre su puño. Se soltará la liga. Se ocupará una jeringa y tubo para almacenar muestras de sangre **en ayuno**.

-En su dedo índice derecho se le dará un piquetito para obtener una gota de sangre y conocer su nivel de glucosa **en ayuno** (dextróstix).

Tiempo estimado de ambas tomas de sangre: 5 minutos.

● La playera y el corpiño permitirán la toma de circunferencia de cintura con una cinta métrica y simultáneamente se determinará peso y talla. Se le tomará también su presión arterial. **Tiempo estimado: 5 minutos.**

● En seguida de las tomas de sangre en ayuno, de medirlo, pesarlo y tomarle su presión arterial, se le dará un momento **para desayunar. Tiempo estimado: 20 minutos.**

● Posterior al desayuno, un especialista se acercará a usted y le realizará una serie de preguntas relacionadas con su salud donde **usted deberá contestar únicamente si o no. Tiempo estimado: 10 minutos**, así mismo, una nutrióloga le preguntará acerca de los alimentos que ha consumido con más frecuencia en el último mes. **Tiempo estimado: 10 minutos.**

En seguida habrá dos pláticas:

● Plática sobre espiritualidad y apego al tratamiento. **Tiempo estimado: 15 minutos.**

● Al término de la primera plática, se aplicará un cuestionario para conocer su nivel de apego al tratamiento y su nivel de espiritualidad. **Tiempo estimado: 15 minutos.**

● Plática sobre diabetes mellitus tipo 2 y explicación de las llamadas dos días entre semana y uno en fin de semana para recabar información acerca de los alimentos consumidos en 24hrs durante un mes (Diario de alimentación). **Tiempo estimado: 35 minutos.**

● Por último, se dará otro piquetito en el dedo índice izquierdo, con la finalidad de **conocer su nivel de glucosa posterior al consumo de alimentos. Tiempo estimado: 3 minutos.**

BENEFICIOS:

En esta carta de consentimiento informado, se solicita su número telefónico. En días próximos se le dará una **cita dentro de este hospital**, en fecha y hora a acordar, para **darle a conocer los resultados de sus medidas antropométricas, glucosa, hemoglobina glucosilada y perfil de lípidos (triglicéridos y colesterol).**

CONFIDENCIALIDAD: Toda la información que usted proporcione para el estudio será **de carácter estrictamente confidencial**, será utilizada únicamente por el equipo de investigación del proyecto y no está disponible para ningún otro propósito. Usted quedará identificado (a) con un número de folio y no con su nombre. Los **resultados de este estudio serán publicados con fines absolutamente científicos** y se presentarán de tal manera que no podrá ser identificado (a).

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA/RETIRO: su **participación** en este estudio es **totalmente voluntaria**. Usted está en plena libertad de negarse a participar o de retirarse en cualquier momento. La decisión de participar o no, **no implicará ningún tipo de consecuencia o le afectará de ninguna manera como derechohabiente del servicio de salud de este hospital.**

RIESGOS POTENCIALES/ COMPENSACIÓN: No existe un riesgo potencial que implique su participación en este estudio. Si alguna de las preguntas le hicieran sentir incómodo(a) tiene el derecho de no responderla. **Habrán un médico presente** durante el proceso de los cuestionarios y toma de muestras sanguíneas. **Usted no recibirá ningún pago** económico o material por participar en el estudio y **tampoco implicará algún costo extra** para usted.

AVISO DE PRIVACIDAD SIMPLIFICADO: Los investigadores principales de este estudio, Dra. Beatríz Elina Martínez Carrillo, Dr. en H. Arturo García Rillo, M.C.S. Flor de María Cruz Estrada, Lic. N. Amapola de Sales Millán, son responsables del resguardo de los datos personales que se proporcionen, así como los resultados, los cuales serán protegidos conforme a lo dispuesto por la **Ley General de Protección de Datos Personales**. Los **datos obtenidos en esta investigación serán utilizados exclusivamente para las finalidades expuestas en este documento**. Usted puede solicitar la corrección de sus datos o que sus datos se eliminen de las bases. En cualquiera de estos casos, le pedimos dirigirse a alguno de los investigadores responsables del proyecto a la siguiente dirección de correo:

martinez_elina9@hotmail.com

dr_rillo@hotmail.com

flordemariacruzest@gmail.com

dsmn.amapola@gmail.com

El **aviso de privacidad Integral** estará publicado de manera visible y permanente en el sitio donde se llevarán a cabo las mediciones, tomas de muestra sanguínea y aplicación de cuestionarios dentro del Hospital General “Dr. Nicolás San Juan” del ISEM.

Números para contactar: si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación con respecto al proyecto, por favor comuníquese con alguno de los investigadores responsables del proyecto de lunes a viernes en un horario de 9am a 10am:

Dra. Beatríz Elina Martínez Carrillo: 044 7222 67 2188

M.C.S. Flor de María Cruz Estrada: 044 7227 08 49 18

Lic. N. Amapola de Sales Millán: 044 7223 94 68 13

Si usted acepta participar en el estudio, le pedimos sea tan amable de firmar a continuación:

Declaración de la persona que da el consentimiento

Se me ha leído esta Carta de consentimiento.

Me han explicado el estudio de investigación incluyendo el objetivo, los posibles riesgos y beneficios, y otros aspectos sobre mi participación en el estudio.

He podido hacer preguntas relacionadas a mi participación en el estudio, y me han respondido satisfactoriamente mis dudas.

Si usted entiende la información que se la ha dado en este formato y está de acuerdo, entonces se le solicita indique su consentimiento para participar en este estudio.

Registre su nombre y firma a continuación:

PARTICIPANTE:

Nombre: _____

Firma: _____

Fecha/hora: _____

Teléfono de contacto: _____

TESTIGO

Nombre: _____

Firma: _____

Relación con el (la) participante: _____

Fecha/hora: _____

Anexo 2. FORMATO DE HISTORIA CLÍNICA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

HISTORIA CLÍNICA					
UNIDAD MÉDICA: HOSPITAL GENERAL "DR. NICOLÁS SAN JUAN" DEL ISEM.					EXPEDIENTE:
FECHA DE ELABORACIÓN:	HORA DE ELABORACIÓN:		TIPO DE INTERROGATORIO: DIRECTO: _____ MIXTO: _____		
I. FICHA DE IDENTIFICACIÓN					
NOMBRE DEL PACIENTE (APELLIDO PATERNO, APELLIDO MATERNO Y NOMBRE (S))			FECHA DE NACIMIENTO:	EDAD:	
SEXO: F / M	OCUPACIÓN:	ESCOLARIDAD:	TEL. DE CONTACTO:		
DOMICILIO:					
FACTORES DE RIESGO (medicamentos orexigénico: algunos antidepresivos, antihistamínicos, algunas hormonas esteroideas; en caso de sanos, Dx previo de prediabetes; acantosis nigricans)					
II. SIGNOS VITALES, ANTROPOMETRÍA Y TOMA DE GLUCOSA					
T/A	TEMPERATURA: °C		FREC. C: x'		
PESO:	TALLA:	IMC:	ICADERA:	ICINTURA:	ICC:
GLUCOSA PREPRANDIAL:		GLUCOSA POSTPRANDIAL:			
III. ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES					
PADRE VIVO _____ EDAD _____	ENFERMEDADES: OBESIDAD HTA DIABETES OTRAS: _____	ALERGIAS ALIMENTOS _____ MEDICAMENTOS _____ ANIMALES _____ OTROS _____	ESCOLARIDAD/ OCUPACIÓN ACTUAL		PADRE FINADO _____ CAUSA: _____
MADRE VIVA _____ EDAD _____	ENFERMEDADES: OBESIDAD HTA DIABETES OTRAS: _____	ALERGIAS ALIMENTOS _____ MEDICAMENTOS _____ ANIMALES _____ OTROS _____	ESCOLARIDAD/ OCUPACIÓN ACTUAL		MADRE FINADA _____ CAUSA: _____
OTROS FAMILIARES CON ENFERMEDADES ALÉRGICAS, OBESIDAD, DMII, ENFERMEDADES AUTOINMUNES, HIPERTRIGLICERIDEMIA (HERMANOS, TIOS, ABUELOS TANTO MATERNOS COMO PATERNOS)					
IV. ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLÓGICOS					
HABITA CASA PROPIA SI ___ NO ___	DE MATERIALES PERDURABLES SI ___ NO ___		CUENTA CON TODOS LOS SERVICIOS BÁSICOS INTRADOMICILIARIOS SI ___ NO ___		
MASCOTAS SI ___ NO ___	HACINAMIENTO SI ___ NO ___	HÁBITOS HIGIÉNICOS SI ___ NO ___		HÁBITOS DIETÉTICOS SI ___ NO ___	
V. ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS					
INFECCIONES RESPIRATORIAS POR AÑO DE 1 A 2 _____ VECES DE 3 A 4 VECES _____		ENFERMEDADES EXANTEMÁTICAS (VARICELA, SARAMPIÓN O RUBÉOLA) SI ___ NO ___		INTERNAMIENTOS EN EL TRANCURSO DE SU VIDA DE 0 A 2 _____ 3 O MÁS _____	
MOTIVO DEL INTERNAMIENTO ENFERMEDAD, DESCOMPENSACIÓN, ACCIDENTE EMBARAZO _____			HEMOTRANSFUSIONALES SI ___ NO ___	OTROS:	
VI. PADECIMIENTO ACTUAL					
TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE DMII DE 1 A 5 AÑOS _____ DE 6 A 10 AÑOS _____		TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE HTA DE 1 A 5 AÑOS _____ DE 6 A 10 AÑOS _____		TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE LA OBESIDAD DE 1 A 5 AÑOS _____ DE 6 A 10 AÑOS _____	
TIPO DE TRATAMIENTO QUE RECIBE					
SOLO INSULINA SI ___ NO ___	INSULINA + HIPERTENSIVO SI ___ NO ___	INSULINA+HIPERTENSIVO+ TRIGLICERIDOS Y COLESTEROL SI ___ NO ___		OTROS SI ___ NO ___ MOTIVO:	

VII. INTERROGATORIO POR APARATOS Y SISTEMAS						
CARDIOVASCULAR						
CANSANCIO AL REALIZAR ACTIVIDADES COTIDIANAS SI___ NO___		CANSANCIO SIN RAZÓN APARENTE SI___ NO___			FATIGA AL COMER SI___ NO___	CIANOSIS SI___ NO___
DIAGNÓSTICO DE SOPLOS O TRASTORNOS CARDÍACOS SI___ NO___		TIPO DE PATOLOGÍA CARDÍACA:				
		TIEMPO DE EVOLUCIÓN:				
RESPIRATORIO						
HA PRESENTADO RESPIRACIONES RÁPIDAS SI___ NO___			HA PRESENTADO RESPIRACIONES LENTAS SI___ NO___		SONIDOS AL RESPIRAR SI___ NO___	
APNEA DEL SUEÑO SI___ NO___	CONSTIPACIÓN SIN RAZÓN APARENTE SI___ NO___	SINUSITIS SI___ NO___	RINITIS SI___ NO___	INFECCIONES DE GARGANTA FRECUENTES SI___ NO___	ESCURRIMIENTO NASAL SI___ NO___	COSQUILLEO O COMEZÓN FRECUENTE EN GARGANTA O NARÍZ SI___ NO___
GASTROINTESTINAL						
DIARREA EN LOS ÚLTIMOS 3 MESES SI___ NO___	DIARREA CON MOCO O SANGRE SI___ NO___	ESTREÑIMIENTO FRECUENTE SI___ NO___	EVACUACIONES EN 24 HORAS DE 1 A 2 MAS DE 2		VÓMITOS FRECUENTES SI___ NO___	
INFLAMACIÓN INTESTINAL FRECUENTE SI___ NO___	COLITIS FRECUENTE SI___ NO___	GASTRITIS SI___ NO___	REFLUJO SI___ NO___			
GENITOURINARIO						
COLOR DE LA ORINA TRANSPARENTES AMARILLO/OTRO	MICCIONES EN 24 HORAS 2-4 VECES 5-10 VECES		SANGRE EN ORINA SI___ NO___	TENESMO VESICAL SI___ NO___	IVU SI___ NO___ CUÁNTAS EN 6 MESES	
ARDOR O COMEZÓN ANTES O DESPUES DE ORINAR SI___ NO___						
HEMÁTICO Y LINFÁTICO						
PALIDÉZ DE TEGUMENTOS SI___ NO___	DIAFORESIS SI___ NO___	PETEQUIAS SI___ NO___	VARICES SI___ NO___	ÚLCERAS VARICOSAS SI___ NO___	ÚLCERAS POR PRESIÓN SI___ NO___	
EQUIMOSIS SI___ NO___	HEMATOMAS SI___ NO___	SANGRADOS FRECUENTES SI___ NO___	ADENOMEGALIAS SI___ NO___	LINFEDEMA SI___ NO___	OTROS:	
ENDÓCRINO						
ALTERACIONES EN EL PESO SI___ NO___	POLIDIPSIA SI___ NO___	POLIURIA SI___ NO___	POLIFAGIA SI___ NO___	LETARGIA SI___ NO___	INTOLERANCIA AL FRÍO O CALOR SI___ NO___	OTROS
SISTEMA NERVIOSO						
SOMNOLENCIA SI___ NO___	PÉRDIDA DE FUERZA SIN RAZÓN APARENTE SI___ NO___		CEFALEAS SI___ NO___	PARESIAS/PARESTESIAS SI___ NO___	NEUROPATÍAS SI___ NO___	
DOLOR IRRADIADO A BRAZOS SI___ NO___	DOLOR IRRADIADO A MIEMBROS PÉLVICOS SI___ NO___	MIGRAÑAS SI___ NO___	OTROS:			
MÚSCULO-ESQUELÉTICO						
FALTA DE MOVIMIENTO SI___ NO___	MOVIMIENTOS INVOLUNTARIOS SI___ NO___	CONTRACTURA O ESPASMO MUSCULAR SI___ NO___		ATROFIA MUSCULAR SI___ NO___		
REFIERE DOLOR EN ALGUNA PARTE DEL CUERPO SI___ NO___		ZONA MUSCULAR ARTICULAR	LIMITACIÓN DEL MOVIMIENTO SI___ ARTICULAR___ MUSCULAR___ NO___			
PIEL, MUCOSAS Y ANEXOS						
CON ALTERACIONES:						
SIN ALTERACIONES:						
FUMA: SI NO CANTIDAD: DIA SEM MARCA HIGIENE BUCAL: SI NO VECES AL DÍA: MARCA:						

Anexo 3. FORMATO DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO.
FACULTAD DE MEDICINA.

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD.

FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS.

LUGAR: HOSPITAL GENERAL “DR. NICOLÁS SAN JUAN” DEL ISEM.

FECHA _____ No. DE REGISTRO _____ NOMBRE _____
EDAD _____ TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE DMII _____ OTRAS ENFERMEDADES _____

Instrucciones: Para cada alimento, marcar con una cruz el cuadro que indica la frecuencia de consumo durante el MES pasado. En caso de que haya varias respuestas, subrayar la de consumo más frecuente.

Productos lácteos	CONSUMO MEDIO DURANTE EL MES PASADO								
	NUNCA	MES	A LA SEMANA			AL DÍA			
			1-3	1	2-4	5-6	1	2-3	4-6
Un vaso de leche entera									
Un vaso de leche descremada o light									
Un vaso de leche semidescremada									
Una cucharada de queso crema									
Una rebanada de queso Oaxaca									
Una rebanada de queso fresco									
Un helado de leche con barquillo									
Un helado de leche sin barquillo									
Una taza de yogurt									
Productos lácteos fermentados (yakult, soful, etc.)									
Margarina que agregue al pan (una untada)									
Mantequilla que agregue al pan (una untada)									
Otro especifique _____									
Huevo, Carnes y Embutidos	CONSUMO MEDIO DURANTE EL MES PASADO								
	NUNCA O CASI NUNCA	MES	A LA SEMANA			AL DÍA			
			1-3	1	2-4	5-6	1	2-3	4-6
Un huevo									
Una pieza de pollo									

Una rebanada de tocino									
Una salchicha									
Una rebanada de jamón									
Una rebanada de jamón de pavo									
Un bistec de hígado o hígado de pollo									
Una porción de chorizo o longaniza									
Un platillo con carne de puerco									
Un platillo de cecina de res o de puerco									
Un platillo con atún (en lata)									
Un platillo con sardina (en lata)									
Una porción de pescado fresco (huachinango, róbalo, mojarra, salmón, etc.)									
Una porción de pulpos/calamar/camarón									
Un pedazo de chicharrón									
Un plato de barbacoa									
Una porción de pescado seco (bacalao, charales, etc.)									
	CONSUMO MEDIO DURANTE EL MES PASADO								
Frutas	NUNCA O CASI NUNCA	MES	A LA SEMANA			AL DÍA			
		1-3	1	2-4	5-6	1	2-3	4-6	6+
Un plátano									
Media taza de ciruelas									
Un durazno									
Una manzana									
Un vaso de jugo de naranja									
Media taza de uvas									
Media taza de fresas									
Una rebanada de melón									
Una rebanada de sandía									
Un mango									
Una mandarina									
Una pera									
Una rebanada mamey									
Una tuna									
Un zapote									
Una rebanada de papaya									
Una rebanada de piña									

Una guayaba									
Media taza de pasitas									
Media taza de cacahuates									
Un cuarto de taza de nueces									
Un cuarto de taza de almendras									
Un vaso de jugo de frutas frescas									
Verduras	CONSUMO MEDIO DURANTE EL MES PASADO								
	NUNCA O CASI NUNCA	MES	A LA SEMANA			AL DÍA			
		1-3	1	2-4	5-6	1	2-3	4-6	6+
Media taza de coliflor									
Media taza de espinacas									
Media taza de calabacitas o chayote									
Una hoja de lechuga									
Un jitomate en salsa o guisado									
Un jitomate crudo o en ensalada									
Un nopal									
Medio aguacate									
Media taza de flor de calabaza									
Un betabel									
Una rebanada de cebolla cruda o cocida									
Media taza de ejotes									
Media taza de chícharos									
Un plato de sopa de verduras									
Una cucharada de salsa picante									
Una cucharada de chiles de lata									
Un platillo con chile seco									

¿En su casa ponen el salero en la mesa durante las comidas? Si _____ No _____

¿Agrega sal a sus alimentos antes de probarlos? Si _____ No _____

Cereales, Leguminosas y Harinas	CONSUMO MEDIO DURANTE EL MES PASADO								
	NUNCA O CASI NUNCA	MES	A LA SEMANA			AL DÍA			
		1-3	1	2-4	5-6	1	2-3	4-6	6+
Una rebanada de pastel									
Una pieza de pan dulce									
Una galleta dulce									
Una tablilla de chocolate									
Una cucharada de mermelada, miel o ate									

Una tortilla de maíz									
Una tortilla de harina									
Cereales, Leguminosas y Harinas (Continuación)	CONSUMO MEDIO DURANTE EL MES PASADO								
	NUNCA O CASI NUNCA	MES	A LA SEMANA			AL DÍA			
		1-3	1	2-4	5-6	1	2-3	4-6	6+
Un bolillo									
Una rebanada de pan blanco de caja (ej. Bimbo blanco)									
Una rebanada de pan integral de caja (ej. Bimbo blanco, etc)									
Una galleta salada									
Un palto de arroz									
Un plato de avena									
Un plato de sopa de pasta									
Una bolsita de churritos, papas, frituras, etc.									
Un taco al pastor									
Una memela, quesadilla o sope									
Un plato de pozole									
Un plato de habas verdes									
Un plato de lentejas									
Un plato de frijoles									
Una cucharada de sañivado de trigo									
Un elote									
Una papa									
Una taza de cereal									
En primer lugar, en segundo lugar									
Bebidas	CONSUMO MEDIO DURANTE EL MES PASADO								
	NUNCA O CASI NUNCA	MES	A LA SEMANA			AL DÍA			
		1-3	1	2-4	5-6	1	2-3	4-6	6+
Un refresco embotellado de cola									
Un refresco embotellado de sabor									
Un refresco embotellado dietético									
Un vaso de agua de sabor (fruta natural)									
Un vaso de agua de sabor (en polvo preparada)									
Un vaso de agua de sabor (dietética)									
Un vaso de jugo industrializado									
Una taza o botella de té									

Otra: (especifique)									
Una taza de café con leche									
Una taza de café sin leche									
Una taza de atole con leche									
Una taza de atole sin leche									
Una taza de chocolate con leche									
Una taza de chocolate sin leche									
Otra: (Especifique)									
Una copa de vino									
Una cerveza									
Una copa de brandy									
Una copa de whisky									
Una copa de tequila									
Una copa de ron									
Una copa de aguardiente									
Un vaso de pulque									
Otra: (Especifique)									
ALIMENTOS INDUSTRIALIZADOS	CONSUMO MEDIO DURANTE EL MES PASADO								
	NUNCA O CASI NUNCA	MES	A LA SEMANA			AL DÍA			
A) Frutas enlatadas		1-3	1	2-4	5-6	1	2-3	4-6	6+
Duraznos en almíbar									
B) Verduras enlatadas									
Champiñones									
Chícharos									
Granos de elote									
Puré de tomate									
Verduras mixtas									
Zanahorias									
C) Leguminosas enlatadas									
Frijoles enteros									
Frijoles refritos									
D) Cereales y tubérculos									
Cereal de caja									
Maíz palomero al horno de microondas									
Pan de caja									


Sopa instantánea									
E) Aceites y Grasas									
Aderezo									
F) Lácteos									
Leche saborizada									
Queso crema									
G) Alimentos libres de energía									
Caldo de pollo									
Consomé de pollo									
Cubo consomé									
Salsa de soya									
H) Comida rápida									
Barras integrales									
Hamburguesa									
Nugget de pollo									
Palomitas de maíz de microondas									
Papas a la francesa									
Pizza									
Sándwich empaquetado									

¿Consume algún multivitamínico? Si ___ No ___ Tipo _____ Frecuencia _____

¿Consume algún suplemento o complemento Si ___ No ___ Tipo _____ Frecuencia: _____

¿Qué cantidad de agua consume en el día? _____ ml

Anexo 4. FORMATO PARA RECOLECCIÓN DE HECES



UAEM | Universidad Autónoma
del Estado de México

FORMATO PARA RECOLECCIÓN DE HECES

Instrucciones para el paciente:

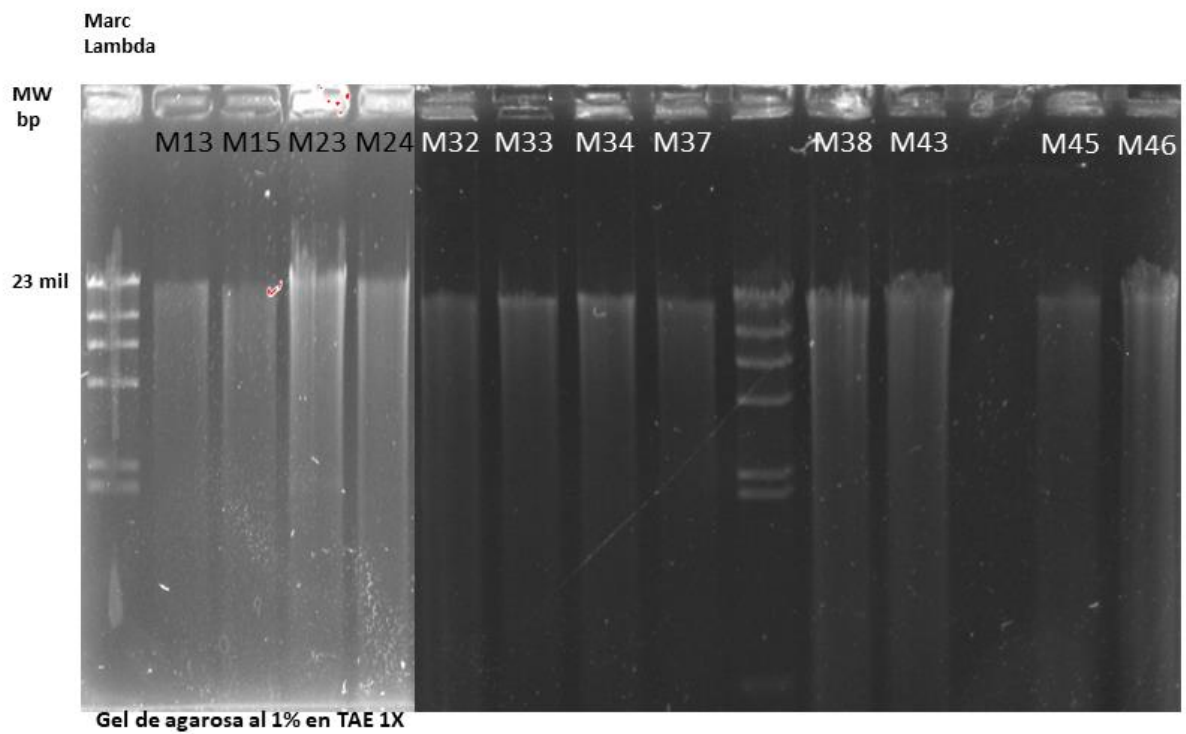
1. Lávese las manos con agua y jabón antes y después de la recolección de la muestra de heces (popo)
2. Recolecte la muestra en una superficie como bolsa de plástico o en papel periódico, cuidando no orinar en la muestra para evitar contaminación.
3. Coloque una porción equivalente a 1 o 2 cucharas soperas de la muestra recolectada en el frasco estéril y tape bien el frasco.
4. Coloque el frasco con la muestra en una bolsa de plástico, ciérrela y métala en otra bolsa de plástico para aislarla higiénicamente.
5. Coloque el frasco de la muestra dentro del refrigerador hasta que la entregue.
6. Entregue la bolsa con el frasco de la muestra dentro de las primeras 24 horas de su recolección.

Para cualquier pregunta o cita para recolección de heces, llame al número celular: 7223946813

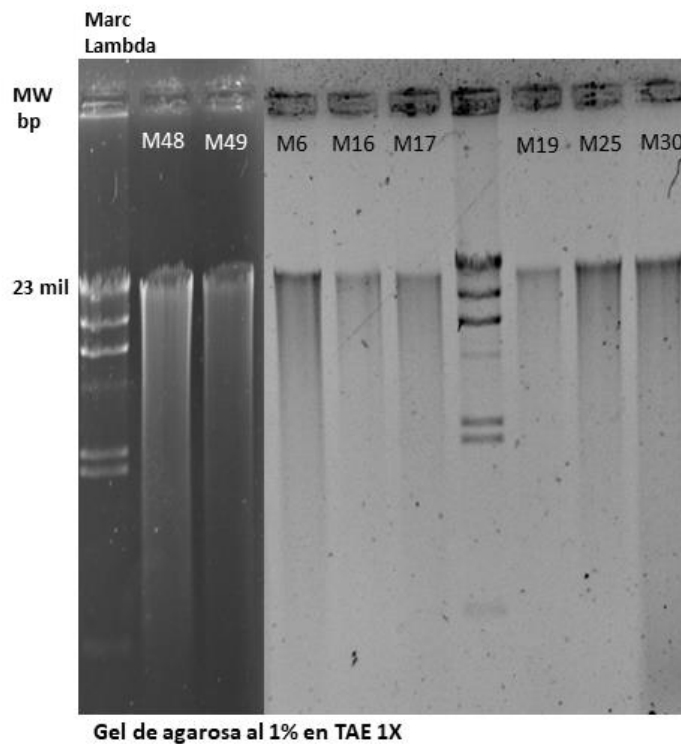
¡GRACIAS POR SU TIEMPO Y COLABORACIÓN!

Anexo 5. IMAGÉNES DE GELES DE EXTRACCIÓN DE DNA

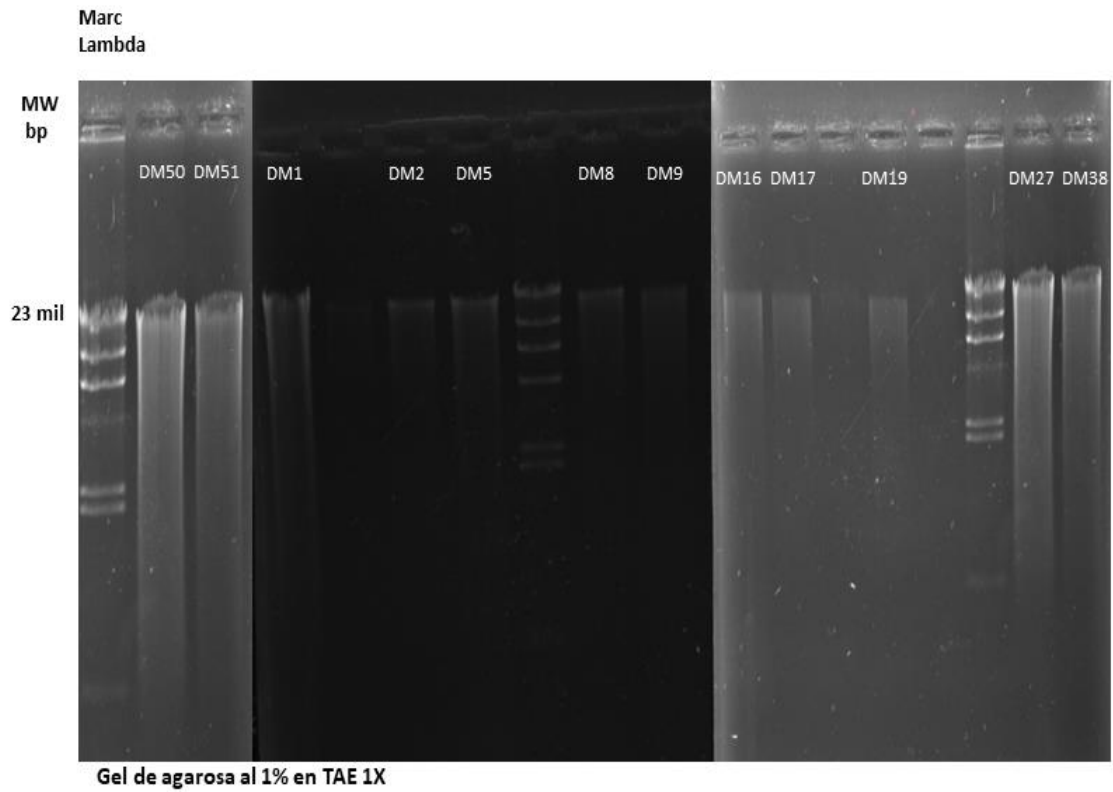
Electroforesis extracción DNA – Pacientes Control “Sanos” (Normopeso)



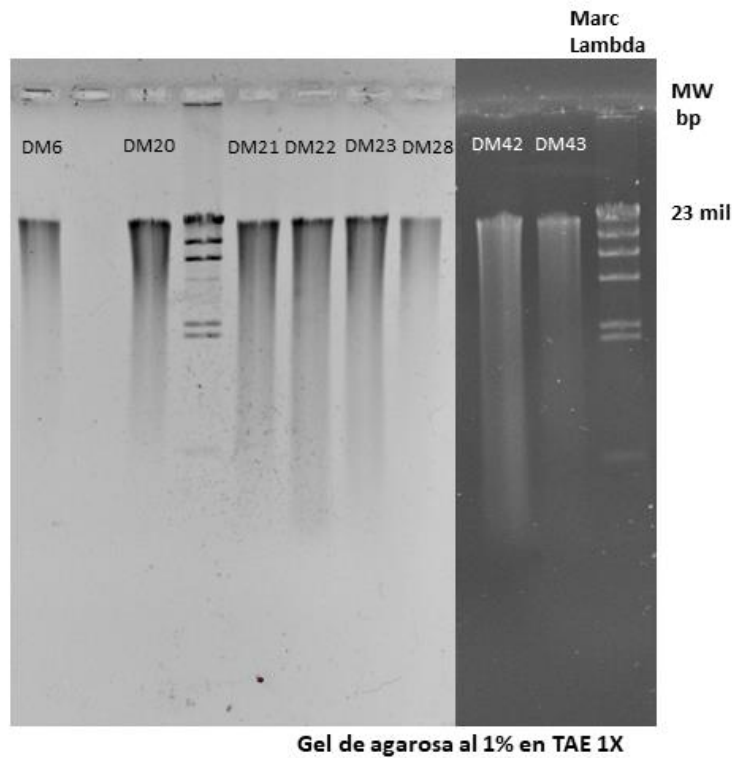
Electroforesis extracción DNA – Pacientes Control “Sanos” (Sobrepeso)



Electroforesis extracción DNA – Pacientes Estudio “DMT2” (Normopeso)

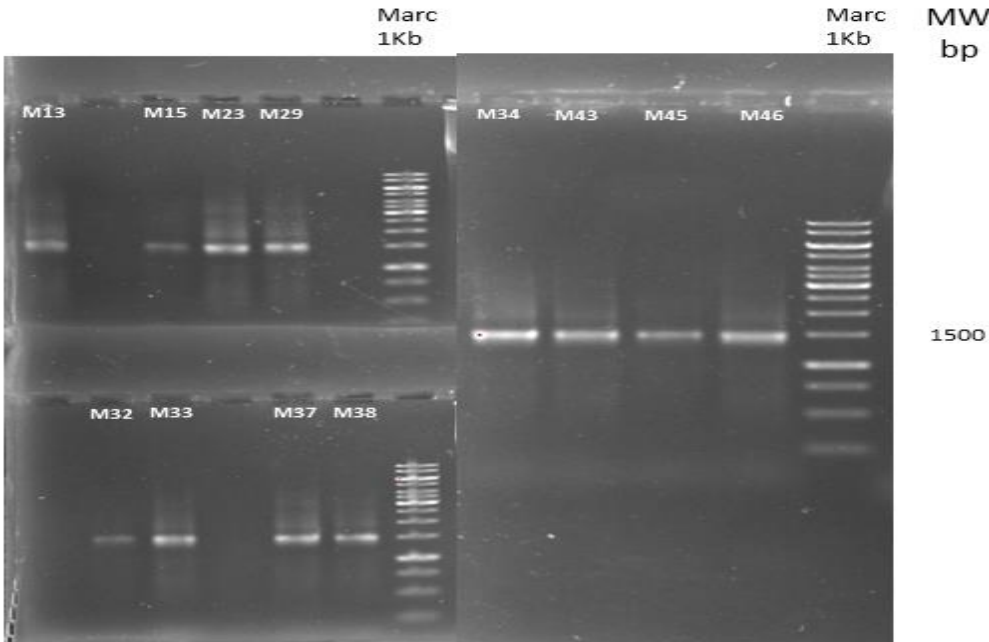


Electroforesis extracción DNA – Pacientes Estudio “DMT2” (Sobrepeso)



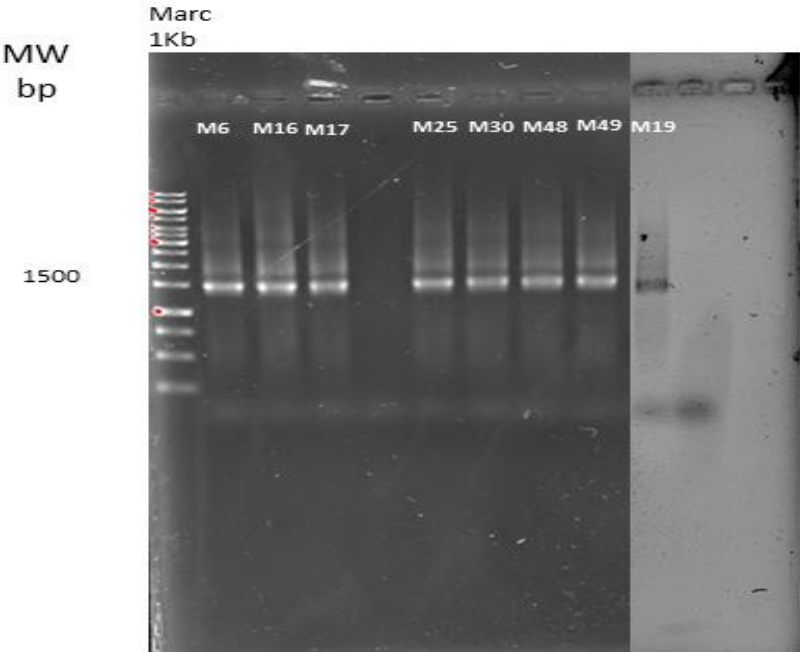
Anexo 6. IMÁGENES DE GELES DE ELECTROFORESIS DE PCR DEL GEN 16S

Amplificación PCR 16S- Pacientes Control "SANOS"



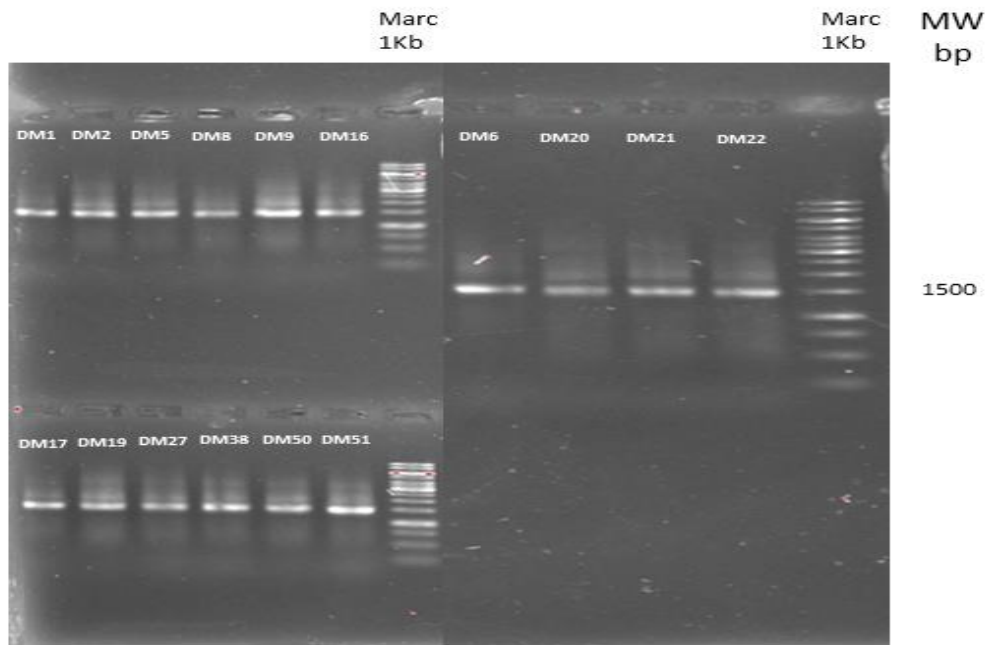
Gel de agarosa al 1% en TAE 1X

Amplificación PCR 16S- Pacientes Control "SANOS"



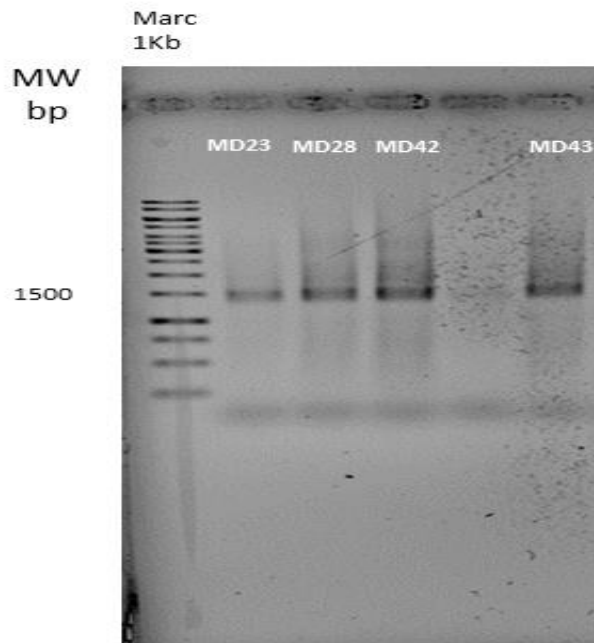
Gel de agarosa al 1% en TAE 1X

Amplificación PCR 16S- Pacientes Estudio "DMT2"



Gel de agarosa al 1% en TAE 1X

Amplificación PCR 16S- Pacientes Estudio "DMT2"



Gel de agarosa al 1% en TAE 1X

Anexo 7. CARTA DE APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

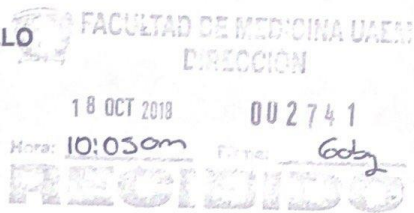


Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Medicina

Comité de Ética en Investigación
Oficio No. 015/2018

Toluca, México a 18 de octubre de 2018

DRA. BEATRIZ ELINA MARTINEZ CARRILLO
INVESTIGADOR PRINCIPAL



PRESENTE

Por este medio le envié un cordial saludo, y en respuesta a su Solicitud de Evaluación del Proyecto de Investigación "**CONSUMO DE SACAROSA Y LA PRESENCIA DE UNA RESPUESTA DE TIPO ALERGICA INFLAMATORIA CRÓNICA EN PACIENTES CON DM2 Y OBESIDAD**" el Comité de Ética en Investigación dictamina como **APROBADO** el proyecto antes mencionado.

Sin otro particular por el momento, agradezco su atención dada a la presente.

ATENTAMENTE
PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO

"2018, Año del 190 Aniversario de la Universidad Autónoma del Estado de México"

DR. RICARDO PAULINO GALLARDO DÍAZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

c.c.p. M. EN S.P. SALVADOR LÓPEZ RODRÍGUEZ /DIRECTOR DE LA FACULTAD DE MEDICINA
c.c.p. Archivo.

Jesús Carranza, esq. Paseo Tollocan s/n
Col. Moderna de la Cruz, C.P. 50000
Toluca, Estado de México
Tel. (722) 217 35 52
www.uaemex.mx/fmedicina



8.1 Carta de envío del artículo

8.2 Resumen del artículo