

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO MORELOS
FACULTAD DE NUTRICIÓN**

**“ANÁLISIS DE INTERVENCIONES CON INULINA COMERCIAL Y
ESTUDIO DE SÁCARIDOS COMERCIALIZADOS COMO INULINA DE
AGAVE UTILIZADOS EN UNA INTERVENCIÓN DE SUJETOS
MEXICANOS CON DIABETES.”**

Protocolo de investigación

**P R E S E N T A:
L.N. LILIA DALILA CRUZ MARTÍNEZ**

CO-DIRECTORAS DE PROYECTO:
Dra. Azucena Salazar Piña
Dra. María de los Ángeles Ramírez Cisneros

COMITÉ REVISOR:
Dra. America Ivette Barrera Molina
Dra. Ollin Celeste Martínez Ramírez
Dra. Margarita de Lorena Ramos
Dra. Ma. Yolanda Ríos Gómez

Cuernavaca, Morelos, México, diciembre 2020



- Los datos de la intervención fueron tomados del proyecto “Evaluación del efecto de la suplementación con inulina en el estado nutricional de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de sujetos voluntarios diagnosticados tratados en el Hospital General de Huitzoco, Guerrero”, a cargo de la Dra. Azucena Salazar de la Facultad de Nutrición, UAEM.
- El procesamiento estadístico de datos y los análisis químicos, cromatográficos y de Resonancia Magnética Nuclear se realizaron en el Centro de Investigaciones Químicas, UAEM dirigidos por la Dra. Ángeles Ramírez.
- Los análisis de *UPLC-QTOF* y RMN se realizaron en el laboratorio LANEM del CIQ, UAEM.
- Para la realización de este proyecto se recibió una beca CONACyT (número de becario 930388).

Agradecimientos

A la Dra. Ángeles que me apoyó incondicionalmente en todos los sentidos, que estuvo pendiente del proyecto, paciente para enseñarme con dedicación las bases y técnicas necesarias, siempre con tiempo y amabilidad para responder dudas e ingeniar como mejorar el proyecto, por ser un ejemplo a seguir.

A la Dra. Azucena por aceptarme como su estudiante, por su paciencia, por enseñarme el verdadero significado de la nutrición, por hacer que me encariñara con lo que empecé rechazando (las rutas metabólicas), por ser una gran profesora y una gran Doctora.

A la Dra. Yolanda que me aceptó nuevamente en su equipo de trabajo, brindando instrumentos, material, equipos y recursos para el desarrollo del proyecto, aclarando dudas y mostrando un enorme interés en cada paso.

A mi segunda familia, mis compañeros del laboratorio 323, por su valiosa amistad, por sus consejos y enseñanzas, por ser un excelente equipo de trabajo.

A mis padres Marcela y Filimón que fueron los que me impulsaron a seguir estudiando, que estuvieron optimistas y al tanto aún en los peores días. A papá, que siempre estuvo orgulloso, apoyándome incondicionalmente hasta el último momento, que me hizo prometerle que sin importar nada llegaría hasta el final.

A mi hermano Manuel que es parte fundamental en mi vida y educación, un guía ejemplar.

A César, mi fortaleza en todo momento, la persona que no me dejó caer, que me dio amor y confianza, que me motivó cuando más lo necesité, que gracias a su apoyo pude terminar esta etapa, el mejor compañero de vida.

A mamá y hasta el cielo para papá

A Manu

A César

RESUMEN

La prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles, como la Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2), ha incrementado, esta se caracteriza por un uso deficiente de insulina en el organismo, provocando hiperglucemias. Está relacionada con disbiosis de la microbiota intestinal (MI), como auxiliar para su tratamiento, se ha propuesto la suplementación de prebióticos. Los más usuales son fructanos de tipo inulina, como inulina, polisacárido de bajo aporte calórico, indigerible por sus enlaces β -1,2. Se ha reportado que el consumo de inulina modula la MI, mejora la tolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina y función de la barrera intestinal.

Las intervenciones o ensayos en animales suplementando inulina, reportan diferentes valores bioquímicos y antropométricos únicamente como promedios obtenidos, utilizando controles inadecuados (maltodextrina). En este trabajo se realizó el cálculo del tamaño de efecto (TE) de las variables informadas como estadísticamente significativas, sin embargo, se encontró que los TE en las variables reportadas son pequeños (en indicadores bioquímicos relacionados con el metabolismo lipídico) o nulos.

La muestra comercializada como inulina de agave utilizada en una intervención de sujetos mexicanos reporta diferencias en la población total en los indicadores bioquímicos y antropométricos triglicéridos, glucosa, colesterol, peso y circunferencia abdominal. El TE calculado en esta tesis mostró diferencia únicamente en triglicéridos ($P=0.007$, $TE=0.481$) sin comparar con placebo. Dado que la evolución de DMT2 es multifactorial se calcularon los TE por edad y sexo obteniendo un TE grande para triglicéridos en el grupo de 50-60 años ($p=0.039$, $TE=0.938$).

Para investigar el responsable de este efecto se analizó la muestra denominada inulina de agave utilizada en la intervención de sujetos diabéticos con las técnicas *UPLC-MS-QTOF* y resonancia magnética nuclear. Los resultados muestran que el suplemento está compuesto por monosacáridos y trisacáridos como componentes mayoritarios, no se encontró evidencia de la presencia de FTI.

ABSTRACT



The prevalence of chronic non-communicable diseases, including Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM), has increased. T2DM is characterized by not effectively using the insulin produced by the body, causing hyperglycemia. It is known that a dysbiosis in the intestinal microbiota (IM) is related to this condition, and as an aid to its treatment, the supplementation of prebiotics (functional part of food) has been proposed. The most common are inulin-type fructans, including inulin, a low-calorie polysaccharide with β -1,2 bonds that makes it indigestible. Inulin consumption has been reported to help modulate IM, improve glucose tolerance, insulin resistance, and intestinal barrier function.

The interventions and assays with animals had reported different biochemical and anthropometric results only with average values, using inadequate substance as control (maltodextrin). In the present work effect size (ES) was calculated for the statistical significant previously informed variables, however, the founded ES were all small (in biochemical markers related with lipid metabolism) or null.

The commercial sample known as agave inulin used in the intervention of Mexican population reported changes on the total sample for biochemical and anthropometric markers as TG, glucose, cholesterol, weight and abdominal circumference. The ES calculated in this thesis showed a difference only in triglycerides ($p= 0.007$, $ES= 0.481$) without comparing with placebo. Given that the evolution of T2DM is multifactorial, the ES were calculated by age and sex, obtaining a large ES for triglycerides in the 50-60 age group ($p= 0.039$, $ES= 0.938$) without comparing with placebo.

To investigate the responsible for this effect, the sample called agave inulin used in the intervention of diabetic subjects was analyzed by UPLC-MS-QTOF and nuclear

magnetic resonance techniques. The analysis show that the supplement is composed of monosaccharides and trisaccharides as major components, no evidence were found for inulin or ITF.

ÍNDICE GENERAL

Índice de figuras.....	XII
Índice de tablas	XIII
Lista de siglas, símbolos y abreviaturas.....	XIV
1 ANTECEDENTES	2
1.1 Diabetes Mellitus.....	2
1.2 Fisiopatología de la DMT2	4
1.3 Resistencia a la insulina.....	4
1.4 Diagnóstico y sintomatología de DMT2	5
1.5 Factores de riesgo y complicaciones de DMT2	5
1.6 Prevalencia de DMT2	6
1.7 Microbiota Intestinal y DMT2	7
1.8 Prebióticos.....	8
1.8.1 Fructanos de Tipo Inulina.....	10
1.8.2 Inulina	11
1.8.3 Efectos fisiológicos y metabólicos de Inulina	12
1.8.4 Métodos y técnicas de detección para inulina	17
2 JUSTIFICACIÓN	20
3 HIPÓTESIS	22
4 OBJETIVOS.....	24
4.1 Objetivo general.....	24
4.2 Objetivos específicos.....	24
5 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	26
5.1 Diseño de estudio	26
5.2 Universo de trabajo y muestra	27
5.3 Instrumento de investigación	29
5.4 Desarrollo del proyecto.....	30
5.4.1 Determinación de los tamaños de efecto en intervenciones y ensayos con inulina.....	30
5.4.3 Análisis de la muestra comercializada como inulina de agave utilizada en la intervención en sujetos mexicanos con DMT2 y de inulina con certificado de análisis.....	32
5.4.4 Avances en la metodología para el análisis de inulina o sus derivados en sangre	33
6 RESULTADOS	38
6.1 Determinación de los tamaños de efecto en intervenciones y ensayos con inulina.	38

6.2	Análisis de datos de la intervención con inulina comercializada como inulina de agave en sujetos mexicanos con DMT2	41
6.3	Análisis de muestras de inulina	45
6.3	Avances en la metodología para el análisis de inulina o sus derivados en sangre ..	47
7	DISCUSIÓN	50
8	CONCLUSIONES	60
9	REFERENCIAS	62
10	ANEXOS	66
10.1	Aprobación del Comité de Ética.....	66
10.2	Aprobación del Hospital General de Huitzuco, Guerrero.....	67
10.3	Carta de consentimiento informado	68
10.4	Cuestionario Internacional de Actividad Física	72
10.5	Test de Morisky-Green.....	73
10.6	Test de Haynes-Sackett.....	73
10.7	Recordatorio 24 horas para evaluación dietética.....	74
10.8	Operacionalización de variables de la intervención en sujetos mexicanos con DMT2	75
10.9	Histogramas de las variables originales y transformadas	76
10.10	Cuadro de causalidad	800
10.11	Certificación de inulina Sigma Aldrich.....	81
10.11	Espectros de RMN-1H con desplazamientos químicos	833

Índice de figuras

Figura 1. Descripción gráfica de Diabetes Mellitus 3
Figura 2. Determinación de suero necesario para análisis por <i>UPLC-MS-QTOF</i>35
Figura 3. Selección de artículos para análisis y cálculo de TE38
Figura 4. Sujetos incluidos en el análisis de datos41
Figura 5. Espectros de RMN- ¹ H (py- <i>d</i> ₅ , 600 MHz) de (A) muestra comercializada como inulina de agave y (B) inulina con certificado de análisis.47

Índice de tablas

Tabla 1. Efectos del consumo de inulina en animales y humanos14
Tabla 2. Rutas metabólicas alteradas durante el consumo de inulina16
Tabla 3. Protocolo de digestión química de inulina34
Tabla 4. Tamaños de efecto calculados de intervenciones o ensayos con inulina en animales y humanos39
Tabla 5. Análisis estadístico de muestras pareadas de sujetos con DMT243
Tabla 6. Análisis estadístico de muestras pareadas de sujetos con DMT2 por sexo43
Tabla 7. Análisis estadístico de muestras pareadas de sujetos con DMT2 por grupo de edad44
Tabla 8. Componentes mayoritarios de inulina con certificación de análisis45
Tabla 9. Componentes mayoritarios de la muestra comercializada como inulina de agave46

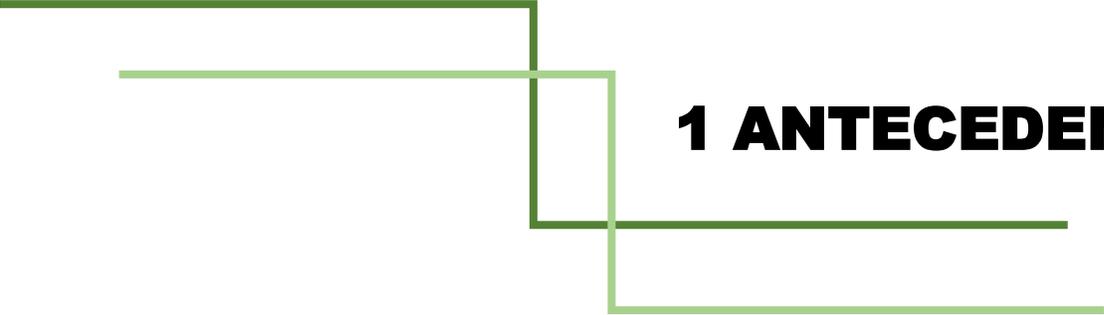
Lista de siglas, símbolos y abreviaturas

%	Porcentaje
<	Menor que
=	Igual
>	Mayor que
≥	Mayor o igual
↑	Aumento
↓	Disminución
°C	Grados Celsius
μ	Microgramos
2-AG	2-araquidonoilglicerol
Acetil- CoA	Acetil-Coenzima A
ADA	<i>American Diabetes Association</i> (Asociación Americana de Diabetes)
AG	Ácidos Grasos
AGCC	Ácidos Grasos de Cadena Corta
AKT	Proteína Quinasa β
ATP	<i>Adenosin triphosphate</i> (Adenosín Trifosfato)
AU	Ácido úrico
C.A.	Circunferencia abdominal
Cb1	Receptor Cannabinoide de Tipo 1
c-HDL	<i>High Density Lipoprotein cholesterol</i> (Colesterol-HDL)
CIQ	CIQ Centro de Investigaciones Químicas
c-LDL	<i>Low Density Lipoprotein cholesterol</i> (Colesterol-LDL)
CT	Colesterol Total
DM	Diabetes Mellitus
DMT1	Diabetes Mellitus Tipo 1
DMT2	Diabetes Mellitus Tipo 2
ECNT	Enfermedad Crónica No Transmisibles
EGI	Enfermedades Gastrointestinales
EM	Espectrometría de Masas
ENSANUT MC 2016	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016
EUA	Estados Unidos de América
F	Femenino
FOS	Fructooligosacáridos
FPG	<i>Fasting Plasma Glucose</i> (Glucosa en plasma en ayuno)
FTI	Fructanos de Tipo Inulina
g	Gramos
GLP-1	Péptido similar al glucagón-1
GLP-2	Péptido similar al glucagón-2
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HCO	Hidratos de Carbono

HOMA-IR	(<i>Homeostatic Model Assessment</i>) Índice de Resistencia a la Insulina
HPLC	(<i>High Performance Liquid Chromatography</i>) Cromatografía Líquida de Alta Eficacia
IL-10	Interleucina-10
IL-13	Interleucina-13
IL-6	Interleucina-6
IL-1a	Interleucina-1a
IL-1b	Interleucina-1b
IMC	Índice de Masa Corporal
INF-γ	Interferón gamma
IRS-1	Proteína IRS-1
IRS-2	Proteína IRS-2
Kcal	Kilocalorías
IL-13	Interleucina-13
LPS	Lipopolisacáridos
M	Masculino
m/z	Masa/carga
Mg	Miligramos
MHz	Mega Hertz
MI	Microbiota Intestinal
mL	Mililitros
mm	Milímetros
MO	Microorganismos
N	Población estudio
Ø	Inhibición
Ob1	Obesidad Grado 1
Ob2	Obesidad Grado 2
OGTT	<i>Oral Glucose Tolerance Test</i> (Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa)
OMS	Organización Mundial de la Salud
pH	Potencial de Hidrogeno
Prot	Proteína (s)
RI	Resistencia a la Insulina
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
Rpm	Revoluciones por minuto
SHC	Proteína transformadora SHC 1
SM	Síndrome Metabólico
Sp	Sobrepeso
TFRC	Receptor de Transferrina
TG	Triglicéridos
TNF-α	Factor de Necrosis Tumoral- α
UPLC	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografía de Líquidos de Ultra Alta Resolución)
\bar{X}	Promedio

β
 σ

Beta
Desviación estándar



1 ANTECEDENTES

1 ANTECEDENTES

1.1 Diabetes Mellitus

En la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino de 2016 (ENSANUT MC 2016), se señala a la inseguridad alimentaria (disponibilidad de alimentos de baja calidad y con elevado aporte calórico para el consumo humano) como factor crucial en la presencia de altos niveles de sobrepeso y obesidad, se sabe que 7 de cada 10 adultos y 3 de cada 10 niños presentan actualmente obesidad, lo que es un factor de riesgo para el padecimiento de enfermedades como la Diabetes Mellitus (DM) (1,2).

La DM es una Enfermedad Crónica No Trasmisible (ECNT) caracterizada por aumentos drásticos de glucosa a nivel sanguíneo (hiperglucemia), provocando un desequilibrio metabólico. La DM se divide principalmente en dos tipos, la causada por el funcionamiento deficiente del páncreas para producir insulina (hormona que regula glucosa en la sangre), denominada Diabetes Mellitus Tipo 1 (DMT1), o bien cuando la insulina producida por el organismo no es utilizada de forma adecuada, provocando disfunción celular, además de acumulación excesiva de glucosa intra y extra celular, se denomina Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2), este último tipo representa del 90 al 95% de los casos a nivel mundial, actualmente se presenta tanto en niños como en adultos y se relaciona con el diagnóstico de Síndrome

Metabólico (SM), ambos tipos de DM se representan en la **Figura 1**. La DMT1, no se puede prevenir, sin embargo, el consumo adecuado y equilibrado de la dieta y la implementación de actividad física frecuente pueden ayudar a prevenir la DMT2 así como a tratar y controlar ambos tipos de diabetes (3–6).

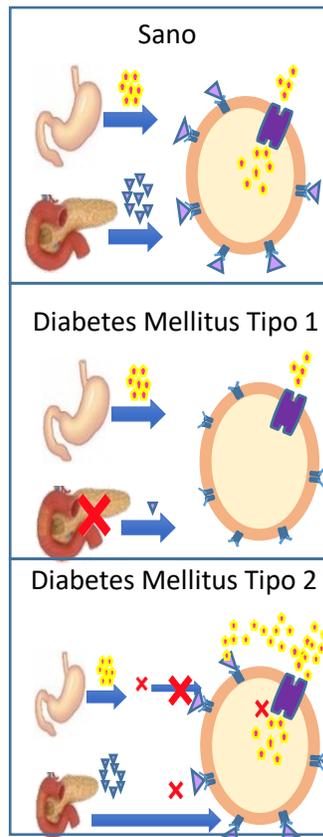


Figura1. Descripción gráfica de Diabetes Mellitus

● :glucosa ▲: insulina 📌: Receptor de insulina

En la DMT1, el páncreas no produce suficiente insulina para regular el consumo de glucosa, en la DMT2, los receptores de insulina no funcionan de forma adecuada provocando niveles elevados de glucosa intra- y extra-celular.

Modificado de: ADA. 2015.

1.2 Fisiopatología de la DMT2

La DMT2 se asocia con la sobrenutrición crónica, provoca susceptibilidad fisiológica y genética en los Receptores de Insulina (IR), también afecta su ruta de señalización, proceso conocido como Resistencia a la Insulina (RI). La insulina normalmente controla la homeostasis celular mediante la estimulación de la absorción de glucosa en los tejidos periféricos y al suprimir la liberación de lípidos almacenados del tejido adiposo. La secreción y la acción defectuosa de insulina conduce a múltiples anomalías metabólicas en la DMT2, incluida la hiperglucemia, debido a la absorción de glucosa estimulada por insulina y a la producción de glucosa hepática no controlada, y dislipidemia, que incluye la homeostasis perturbada de ácidos grasos, triglicéridos y lipoproteínas. Estos aumentos crónicos en los niveles circulantes de glucosa y lípidos pueden deteriorar aún más la secreción y la acción de la insulina y causar otras formas de daño tisular.

1.3 Resistencia a la insulina

La RI es una consecuencia directa de la exposición de los tejidos al tránsito de ácidos grasos libres asociada a la obesidad, lo que resulta en la acumulación de subproductos metabólicos tóxicos. La unión de la insulina a su receptor *IR* provoca su autofosforilación, lo que lleva a la unión de varias proteínas de armazón, incluidas las proteínas del sustrato del *IR*, pero también la proteína que contiene *Src-homology-2 (SHC)*, y el *protooncogen c (Cbl)*, entre otros. El *IR 1 (IRS1)* es el

mediador clave en la absorción de glucosa estimulada por insulina y la activación de las vías anabólicas en el músculo y el tejido adiposo, mientras que los efectos anabólicos de la insulina en el hígado están dirigidos principalmente por el Receptor de Insulina 2 (*IRS2*) (3-5,11).

1.4 Diagnóstico y sintomatología de DMT2

Se han propuesto múltiples parámetros para el diagnóstico de DMT2, la Asociación Americana de Diabetes (*ADA, American Diabetes Association*; por sus siglas en inglés), propone 4 factores cruciales: 1) Hemoglobina glicosilada (HbA1c) > 6.5 mg/dL o 48 mmol/L, 2) Glucosa en plasma en ayuno > 126 mg/dL o 7.0 mmol/L, 3) Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa (*OGTT, Oral Glucose Tolerance Test*; por sus siglas en inglés), valores antes de ingesta de 75 gr de glucosa > 100 mg/dL, dos horas después de la ingesta \geq 200 mg/dL, así como 4) El Índice de Masa Corporal (IMC) \geq 25 Kg/m². La DMT2 se caracteriza por la presencia de letargo, poliuria, polidipsia, pérdida de peso y vista, visión borrosa, susceptibilidad a infecciones, mareos, náuseas y alteraciones en parámetros bioquímicos, provocando consecuencias en la calidad de vida (3,6).

1.5 Factores de riesgo y complicaciones de DMT2

Existen distintos factores de riesgo como antecedentes heredo familiares, envejecimiento, edad > 45 años, hipertensión arterial, consumo elevado de

alimentos ricos en hidratos de carbono, sobrepeso, obesidad, sedentarismo, tabaquismo, niveles elevados de colesterol total (cT) y triglicéridos (TG), antecedentes de Diabetes Mellitus Gestacional, parto con feto > 4.5 Kg, los cuales han propiciado un aumento en la prevalencia de esta patología (mayor en países de bajos ingresos comparado con países de altos ingresos). Por otro lado, las complicaciones por DM pueden provocar muerte prematura, ataques cardíacos, accidentes cerebrovasculares, insuficiencia renal, dislipidemias, amputación de miembros inferiores, pérdida de visión, afecciones neurológicas, y disminución de la calidad y esperanza de vida (3,7,8).

1.6 Prevalencia de DMT2

La prevalencia de DMT2 ha incrementado enormemente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2016 reportó mediante el informe mundial de Diabetes que, en 1980, la estimación de DMT2 en adultos era de 108 millones, cantidad que casi se cuadruplicó en 2014 con 422 millones de adultos afectados, se estima que para 2030 llegará a 592 millones. También se informó que durante 2012, la DMT2 provocó 1.5 millones de muertes, mientras que niveles elevados de glucosa provocaron 2.2 millones de muertes al incrementar los riesgos de enfermedades cardiovasculares y de otro tipo, así mismo se sabe que los grupos étnicos con mayor susceptibilidad a esta patología son los hispanos, afroamericanos e indios americanos (3,9,10).

En México, la ENSANUT MC 2016 reportó un incremento en la prevalencia total de DMT2 por diagnóstico médico con respecto a los resultados de la ENSANUT 2012 y 2006, este dato incrementó de 9.2 a 9.4 %. De acuerdo con el sexo, se registró un incremento de 0.6 % en mujeres y una disminución de 0.2 % en hombres de ≥ 20 años. Sin embargo, el grupo de ≥ 60 años fue susceptible a aumentar la prevalencia de diagnóstico, dato relacionado con el daño y estrés metabólico atribuido a la edad. Del total de personas con diagnóstico de DMT2, el 87.8 % asintió estar bajo tratamiento farmacológico para controlar los niveles de glucosa. Lo anterior refleja un aumento en el número de diagnósticos y por tanto, de complicaciones de la DMT2, por tal motivo la OMS la incluyó como unas de las cuatro ECNT para intervenir prioritariamente a nivel mundial (3,9,10).

1.7 Microbiota Intestinal y DMT2

La microbiota intestinal (MI) es un conjunto de microorganismos (MO) presentes en el organismo humano, entre ellos se encuentran diversos tipos de bacterias, hongos y levaduras. Se sabe que la MI posee más de mil especies distintas, entre las que predominan los grupos de *Firmicutes* y *Bacteroidetes* representando alrededor del 90 % de las bacterias totales (12–14). Lo ideal es que la MI se encuentre en relación simbiótica (de equilibrio) con el organismo, proporcionando beneficios metabólicos, nutricionales y de defensa para el huésped. Estudios realizados en animales y humanos reportan que la MI tiene un papel fundamental

en el desarrollo de patologías como obesidad y DM, debido a que los sujetos con los padecimientos anteriores tienden a presentar disbiosis intestinal (desequilibrio microbiano), provocando importantes alteraciones metabólicas, aumento en los niveles de inflamación y almacenamiento de lipopolisacáridos (LPS) lo que repercute de forma negativa en el estado glucémico (5,8,11,13).

Como alternativa de tratamiento se ha propuesto la implementación de probióticos (MO vivos) y prebióticos (parte funcional de alimentos), con el fin de mejorar el metabolismo de la glucosa, lípidos y reducción de LPS. Actualmente existen múltiples tratamientos farmacológicos para tratar la DMT2, pese a esto, el uso de tratamientos naturales para ayudar a controlar los parámetros y sintomatología de esta patología ha aumentado de forma relevante, debido a que en conjunto con los fármacos se sugiere que incrementan los beneficios para la salud, promoviendo la simbiosis microbiana. Diversos estudios han reportado la utilidad de estos alimentos, conocidos como alimentos funcionales o nutraceuticos, entre los más relevantes se conoce la alcachofa, achicoria, espica, té verde, entre otros (2,7,9,11,14,15).

1.8 Prebióticos

Los prebióticos son hidratos de carbono (HCO) no digeribles, que provienen de ingredientes o componentes alimentarios, regulan la MI (principalmente bacterias)

y de este modo son benéficos para la salud. Se sugiere que el consumo adecuado de prebióticos podría ayudar al tratamiento de inflamación, trastornos metabólicos y ECNT. En sujetos obesos y diabéticos se ha relacionado con la restauración de *Akkermansia muciniphila* (mejora la homeostasis), reducción de niveles de glucosa, TG y peso corporal. Algunos estudios en roedores reportan que la ingesta de estos prebióticos regula la síntesis de lípidos relacionada con ATP, la función inmunológica, el equilibrio hormonal, la saciedad y disminuye la RI, sin embargo, estos estudios se llevaron a cabo con un número de muestra pequeño y utilizando un placebo de sacáridos y tampoco reportan el tamaño de efecto (2,4,5,7,9,11,12,16).

Los prebióticos más estudiados son los fructooligosacáridos (FOS) y los fructanos de tipo inulina (FTI), estos últimos son de interés debido a que regulan los MO en animales y humanos. Se sugiere que los FTI mejoran la tolerancia a la glucosa, RI, la función de la barrera intestinal, disminuyen el peso corporal, acumulación de masa grasa e inflamación principalmente en sujetos con sobrepeso u obesidad. En estos estudios se encuentran algunas inconsistencias metodológicas como número de muestra pequeño, algunos utilizan derivados de azúcares como placebo, por ejemplo, maltodextrina, mientras que otros no lo evaluaron, en varios casos se reportan resultados sin significancia estadística, mínimos resultados positivos y/o con datos estadísticos incompletos (2,5,11).

1.8.1 Fructanos de Tipo Inulina

Son los prebióticos más consumidos en la actualidad, son polioligosacáridos de moléculas de fructosa (1-70 unidades) con una molécula de glucosa al final de la estructura, unidos por enlaces β -(1 \rightarrow 2), este tipo de enlace impide que sean digeridos a nivel gastrointestinal. Los FTI se encuentran en plantas como la raíz del poro, achicoria, cebolla, ajo, alcachofa y agave. Son utilizados como fibra dietética, se ha reportado que su consumo en roedores con sobrepeso u obesidad con disbiosis podría inducir la producción de ácido láctico benéfico para bifidobacterias y especies de *Lactobacillus* (7,9,14).

La ingesta de FTI se ha asociado con cambios a nivel metabólico como disminución del estrés oxidativo, glucosa sérica, ácidos grasos libres, así como marcadores genéticos relacionados con inflamación, entre ellos el factor de necrosis tumoral (*TNF- α*), receptor de transferrina *TFRC*), interleucina-1a (IL-1a), interleucina-1b (IL-1b) e interleucina-6 (IL-6). Así mismo, el consumo de FTI se asocia con el aumento del péptido YY o péptido tirosina-tirosina relacionado con la saciedad, y de citocinas antiinflamatorias como interleucina-13 (IL-13) e interleucina-10 (IL-10). Además, los prebióticos pueden aumentar el 2-araquidonoilglicerol (2-AG), relacionado con la disminución de endotoxemia metabólica e inflamación sistémica mediante la proliferación de *A. muciniphila*, tipo de bacteria que degrada la mucina intestinal (5,7,9,11).

1.8.2 Inulina

Inulina, es un término genérico utilizado para nombrar a los policasáridos o β -glucopiranosil-[D-fructofuranosil]_n-D-fructofuranósido. Este polisacárido de origen natural de alto peso molecular se encuentra presente en más de 36 mil especies de plantas, entre ellas achicoria de Jerusalén, diente de león, dalia y agave. Su enlace glucosa-fructosa es generalmente β -(1→2), y en el caso de la inulina de agave puede ser β -(2→6). Estos enlaces la hacen indigerible, de bajo aporte calórico y se le atribuyen propiedades de fibra dietética. La inulina tiene un grado de polimerización que varía de 2 a 60 unidades de fructosa, de acuerdo con esto hasta 15 monómeros se clasifica como de cadena corta, de 17 a 25 de cadena mediana y > 25 unidades, de cadena larga. Es osmorreguladora, soluble en agua, carece de sabor, olor y proporciona viscosidad, cualidades que mejoran las características organolépticas de múltiples alimentos, por lo que es utilizada por la industria alimentaria y farmacéutica como estabilizante, sustituto de grasas o harinas y para fortificar alimentos. Ha sido reconocida como un prebiótico alimenticio y como alimento funcional por el Consenso Europeo y el Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar de Japón, también en Estados Unidos de América se ha estudiado como auxiliar para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales (EGI), úlceras, colitis y para inhibir infecciones por *Clostridium difficile* (7,9,11,14).

1.8.3 Efectos fisiológicos y metabólicos de Inulina

Se ha reportado que la inulina puede cambiar la composición de la MI, induciendo el crecimiento de bifidobacterias (bacterias benéficas para el colon, saprófitas, anaeróbicas, Gram positivas, no motiles), incrementa la población de *Bacteroidetes* (bacterias Gram negativas, anaerobias, que radican en el tracto gastrointestinal, entre ellas *Clostridium coccooides*, *Eubacterium rectale*, *Bifidobacteria* o *Lactobacilli*, responsables de la producción de butirato), puede disminuir *Firmicutes* (bacterias Gram positivas) así como otras bacterias dañinas para el organismo. Estos cambios contribuyen a mejorar la homeostasis, endotoxemia metabólica, reducir el riesgo de padecer cáncer de colon, disminuir estreñimiento, diarrea (por absorción de sodio y agua) y esteatosis hepática. Múltiples investigaciones mencionan que la ingesta de 5-10 g/día de inulina debería ser suficiente para mostrar un efecto positivo en la MI, por otra parte, se han reportado efectos adversos (diarrea e inflamación) al ingerir dosis mayores a 20 g/día. Es importante mencionar que posee un índice glucémico de 0 y que aporta menos de la mitad de las kilocalorías (kcal) de monosacáridos (1.5 kcal/g en lugar de 4 kcal/g), por lo que su ingesta ha sido recomendada para sujetos diabéticos (5,9,11,14).

De acuerdo con estudios *in vitro* e *in vivo*, se sabe que el prebiótico inulina no es metabolizado por el tracto gastrointestinal superior, hasta ser fermentado por bacterias, produciendo lactato y ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en el intestino grueso, esta fermentación culmina con la producción de acetato,

propionato y butirato en el colon, aumenta la motilidad intestinal, la proliferación celular, absorción nutricional, flujo sanguíneo y grosor de la pared intestinal. Diversos autores han informado de los beneficios atribuidos al consumo de inulina en intervenciones en humanos (sanos y enfermos) y en animales, con diferentes dosis, así como tiempo de intervención. En la mayoría de los estudios, los valores de TG, colesterol total (CT) y colesterol LDL (C-LDL) se ven disminuidos, sin embargo, en algunos reportes no se observan cambios en cuanto a valores bioquímicos, como se muestra en la **Tabla 1**. Cabe mencionar que la maltodextrina se eligió como control en la mayoría de los estudios de manera errónea, pues esta se metaboliza rápidamente en el organismo incrementando los niveles de glucosa y el nivel de energía muscular (5,7,9,16).

Actualmente se sabe que el consumo de inulina, afecta algunas rutas metabólicas y provoca disminución en el proceso de gluconeogénesis, usando reservas de glucosa y ácidos grasos de cadena corta como fuente de energía (**Tabla 2**), esto a pesar de que su enlace β la hace indigerible, interrumpiendo la absorción habitual tras el consumo de HCO, para absorber los monómeros provenientes de los azúcares consumidos a nivel colónico.

Tabla 1. Efectos reportados del consumo de inulina en animales y humanos

Prebiótico usado	Placebo	Características de población	Diseño experimental	Dosis	Duración	Efectos reportados (p)	Referencias
Inulina	Dextrosa	Machos LDLR con dieta hipercalórica	Aleatorizado con placebo controlado	10 % de dieta	16 sem	=TG, C-HDL ↓TC, C-LDL	Mortensen et al. 2002
Inulina con diferentes grados de polimerización	Maltodextrina	Ratas con una dieta alta en grasa	Aleatorizado con placebo controlado	5 % de dieta	28 días	glicemia ↓TC, TG =	Han et al. 2013
Inulina	-	Sujetos con hipercolesterolemia	doble ciego, cruzado	20 g/día	3 sem	= CT, C-LDL, C-HDL, Glucosa ↓TG	Causey et al. 2000
Inulina	Maltodextrina	Sujetos con DMT2	Aleatorizado, doble ciego	10 g/día	12 sem	= CT, C-LDL, C-HDL, Glucosa, TG, hA1c.	Bonsu et al. 2012
Inulina	Maltodextrina	Sujetos sanos	Aleatorizado, doble ciego, con placebo controlado, cruzado	10 g/día	6 sem	= CT, C-LDL, C-HDL, glucosa ↓ TG	Letexier et al. 2003
Inulina mezclada con oligofruktosa	Maltodextrina	Sujetos sanos	Aleatorizado, doble ciego con placebo controlado	9 g/día	6 meses	=CT, C-LDL, C-HDL, TG, glucosa	Forcheron & Beylot. 2007
Inulina + maltrodextrina	Maltodextrina	Sujetos de sexo indistinto con SP u Ob	Intervención paralela, doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo	10g/día	12 semanas	$P < 0.05$ ↓ Lípidos en hígado	Anne Lundb y Hess, 2019
Leche de soya enriquecida con inulina	Leche de soya	Hombres ≤20 años	Ensayo controlado aleatorizado de doble ciego	10g de leche de soya con inulina	8 semanas	$P < 0.05$ ↑ Butirato, acetato. propionato	Noppadol Kietsiriroje et al, 2018

Inulina	Solución salina	Ratones hembra murinos db/db, de 4 semanas de edad, resistentes a la leptina	Ensayo experimental aleatorio en animales	5% (p / p)	6 semanas		Ke Li, 2019
Inulina mezclada con yogurt	Yogurt	Mujeres sanas de entre 48 y 67 años posmenopáusicas	Estudio de intervención paralelo de doble ciego	1.75g/ taza al día	2 semanas		Berit Adolphi, 2019
Inulina	Dieta estándar	40 Ratas macho Sprague-Dawley(4 semanas), se indujo hipercolesterolemia por dieta	Ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, de grupos paralelos realizado en un sitio único.	-	8 semanas		S.H. Al-Sheraji, 2015

Sem: Semanas, **TG:** triglicéridos, **CT:** Colesterol total, **C-HDL:** Colesterol HDL, **C-LDL:** Colesterol LDL, **HbA1c:** Hemoglobina glicosilada, ↓: disminuye. =: igual. **Modificada de:** dos Reis et al, 2015.

Las principales vías metabólicas afectadas son el metabolismo de lípidos (disminución en la esterificación de ácidos grasos y lipogénesis hepática, aumento de cetogénesis y β -oxidación), de proteínas (aumento de la fosforilación de proteínas y ornitina en el ciclo de la urea) y de glúcidos (inhibición de gluconeogénesis y aumento de glucólisis). Se ha reportado que las enzimas, hormonas y marcadores responsables de los cambios son: Acetil-Coenzima A (acetil-CoA), carboxilasa, ácido graso sintasa, enzima málica, ATP-citrato liasa, glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, 3-hidroximetil-3-glutaril-CoA enzima reductasa (disminución de lipogénesis), GLP-1, GLP-2 (ingesta de alimentos y metabolismo de lípidos), AKT e IS-2 (aumento de fosforilación de proteínas intracelulares),

aumento en producción de propionato SCFA, metil-malonil-CoA y succinil-CoA (inhibición de gluconeogénesis), aumento de butirato (esterificación de AG), y de citrato hepático (aumento de glucólisis), lo que se encuentra resumido en la **tabla 2** (16,18). Sin embargo, no hay evidencia sobre las moléculas que son absorbidas por el organismo, ni de la interacción que tienen a nivel metabólico para otorgar beneficios fisiológicos a nivel sistémico.

Tabla 2. Rutas metabólicas reportadas como alteradas durante el consumo de inulina

Ruta Metabólica	Especificación	Enzimas, proteínas y marcadores involucrados	Referencias
Proteínas	↑ Fosforilación de proteínas	AKT, IS-2, ↑ Ornitina,	dos Reis, 2015;
Lípidos	↓ Lipogénesis hepática	AG sintasa, enzima málica, ATP-citrato liasa, glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, 3-hidroximetil-3-hodroxiglutaril-CoA enzima reductasa	dos Reis, 2015; Dehghan, 2014
	↓ Esterificación AG	Acetil CoA carboxilasa, ↑ Butirato	
	↑ Cetogénesis		
	↑ β-oxidación		
Glúcidos	∅ Gluconeogénesis	Propionato SCFA, metil-malonil-CoA, succinil- CoA	
	↑ Glucolisis	Agote de citrato hepático	

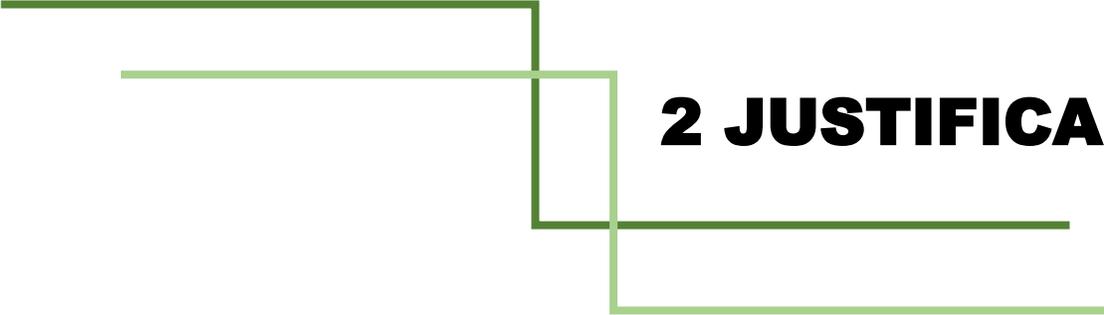
↑= Aumento, ↓= Disminución, ∅= Inhibición, **AG**= Ácidos grasos, **GLP-1**=Péptido similar al glucagón 1, **GLP-2**= Péptido similar al glucagón 2, **AKT**=Proteína quinasa B, **IRS-2**= Proteínas IRS-2.

1.8.4 Métodos y técnicas de detección para inulina

El potencial de los alimentos nutracéuticos para proveer principios activos al organismo ha generado interés por desarrollar métodos de análisis. Con la finalidad de analizar su composición e identificar las moléculas responsables de su potencial biológico, para ello, se han utilizado distintas técnicas de separación como extracción, evaporación, centrifugación, filtración, destilación y cromatografía. Esta última se basa en la separación de los compuestos con base en su polaridad, intercambio iónico, tamaño, entre otros. Las técnicas cromatográficas constan de 2 partes fundamentales: 1. Fase estacionaria, que puede ser normal o reversa usando gel de sílice con diferentes modificaciones. 2. Fase móvil, con la que se produce elución, puede ser un líquido o un gas (18).

Existen múltiples tipos de cromatografía, como la de líquidos de alta eficacia (*HPLC*, *High Performance Liquid Chromatography*; por sus siglas en inglés), cromatografía de partición, de intercambio iónico, de columna, de exclusión, de afinidad, etc. El proceso cromatográfico puede acoplarse a diferentes detectores, como espectrometría de masas (EM), ultravioleta, e índice de refracción, por mencionar algunos, la primera tiene mayor sensibilidad y puede detectar iones que se asocian a la masa molecular, así como a fragmentos de la estructura (18).

La EM es un método analítico útil para evaluar todo tipo de moléculas orgánicas incluidos los glúcidos mediante muestras de heces, sangre, orina o tejidos, entre otros. El espectro de masas muestra la abundancia relativa de las especies químicas (número de colisiones producidas) contra el peso exacto expresado como la relación masa/carga (m/z). En la gran mayoría de estudios reportados para análisis de inulina se realiza la hidrólisis completa de la misma, y solo se analizan los monómeros, por lo que refleja el contenido de HCO, pero no el contenido de inulina como tal. Recientemente se ha publicado un método para el análisis de inulina en heces de roedores por *HPLC* con detector de dispersión de luz evaporativa. Para detectar fructosa en este tipo de estudios se utiliza como fase estacionaria columnas SHONEX sugar KS-806 o de fase reversa de sílice C₁₈, a temperaturas entre 16-18°C, con un flujo de 1.2 mL/min de agua con disolventes orgánicos como etanol, metanol o acetonitrilo (16,18).

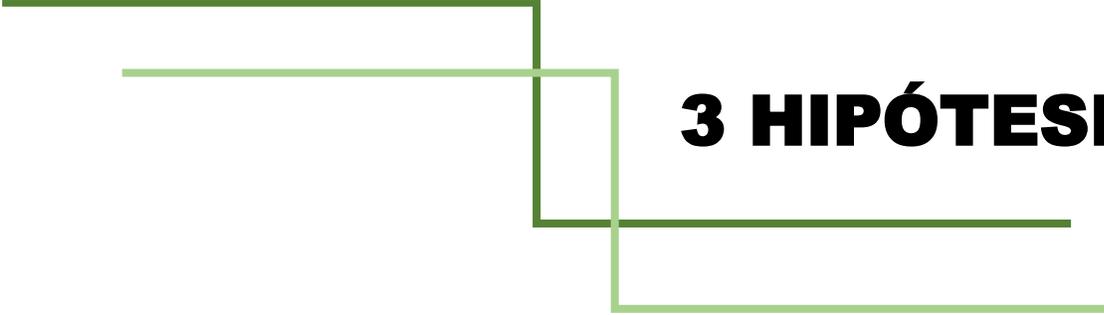


2 JUSTIFICACIÓN

2 JUSTIFICACIÓN

Debido a los malos hábitos alimenticios, sedentarismo y a la transición de hábitos saludables a poco saludables en gran parte de la población mundial, la prevalencia de ECNT como la DMT2 ha aumentado considerablemente. Esta última, además de impactar en el aumento de mortalidad, genera un incremento en los gastos económicos para su tratamiento, tanto para el paciente como para el sector salud. Se ha sugerido que la intervención nutricional con el prebiótico inulina regula el metabolismo de glucosa en sangre en sujetos diabéticos, así como la inflamación y los niveles de lípidos (triglicéridos, colesterol total, colesterol LDL), provocando pérdida de masa grasa. Sin embargo, los resultados tras el consumo de inulina no son concordantes en diversos indicadores bioquímicos, difiriendo en los resultados para cada variable. Además, se sabe que la inulina no se absorbe en el organismo y se sugiere que sus metabolitos de degradación pudieran ser absorbidos a nivel sistémico y sean los responsables de su efecto benéfico.

Por lo anteriormente mencionado en este estudio se realiza una revisión bibliográfica de intervenciones y ensayos en animales suplementados con inulina, incluyendo una intervención de sujetos mexicanos con DMT2, para los que en este proyecto se realizó el cálculo del tamaño de efecto de cada variable y determinar los parámetros bioquímicos y/o antropométricos que tuvieron un cambio tras el consumo de inulina, así como, analizar una muestra de inulina comercial utilizada en la intervención en sujetos mexicanos con DMT2 y su posible parte funcional.

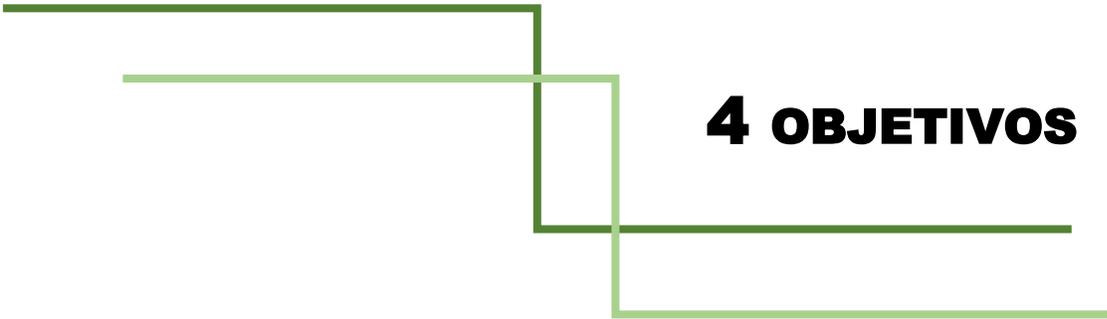


3 HIPÓTESIS

3 HIPÓTESIS



Las intervenciones realizadas con inulina tanto a nivel mundial como en población mexicana mostrarán cambios en variables bioquímicas y/o antropométricas que podrán relacionarse con inulina y/o su parte funcional, mientras que el análisis de inulina comercial utilizada en una de estas intervenciones revelará su parte funcional que podrían ser sacáridos derivados de la misma que se absorben a nivel plasmático.



4 OBJETIVOS

4 OBJETIVOS

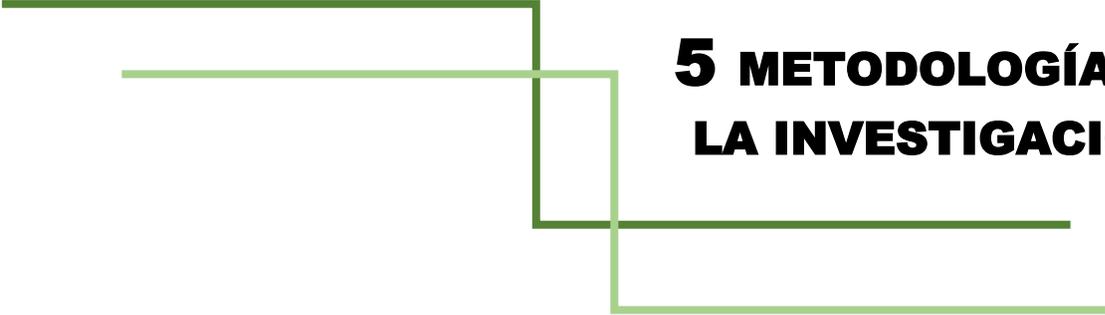


4.1 Objetivo general

Examinar los resultados reportados de intervenciones con inulina y analizar una muestra de inulina comercial utilizada en una intervención para identificar los posibles sacáridos responsables de los efectos informados.

4.2 Objetivos específicos

- Calcular el tamaño de efecto de las variables reportadas de intervenciones y ensayos en animales suplementados con inulina.
- Capturar, analizar, filtrar y limpiar la base de datos de una intervención con inulina en pacientes mexicanos con DMT2 para el cálculo del tamaño de efecto.
- Desarrollar un método de análisis para poli-oligosacáridos de tipo inulina por *UPLC-MS*.
- Analizar una muestra de inulina comercial utilizada en la intervención en sujetos mexicanos con DMT2.
- Deducir la posible implicación de los compuestos encontrados en la inulina comercializada como inulina de agave con los parámetros bioquímicos de la intervención en sujetos mexicanos con DMT2.



5 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

5 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN



Existen diferentes estudios de intervenciones y ensayos *in vivo* con inulina que reportan diversos efectos en variables bioquímicas y antropométricas, sin embargo, la estadística para validar estos efectos no es completamente adecuada por lo que, en este estudio se recopilieron los datos para realizar el cálculo de tamaño de efecto y verificar el efecto real de las intervenciones y ensayos. Dado que este proyecto es continuación de la tesis “Evaluación del efecto de la suplementación con inulina en el estado nutricional de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de sujetos voluntarios diagnosticados en el Hospital General de Huitzuco, Guerrero” (21), se realizó el análisis estadístico detallado con los datos completos de esta intervención incluyendo el cálculo del tamaño de efecto. Adicionalmente se realizó un análisis por *UPLC-QTOF* y RMN de la muestra de inulina utilizada en la intervención de sujetos mexicanos previa a este trabajo para determinar los sacáridos posibles responsables de los efectos de su consumo.

5.1 Diseño de estudio

- Se determinó el tamaño de efecto de las variables incluidas en estudios de intervenciones y ensayos con inulina reportadas previamente en sujetos o roedores con DMT2, SM y detonantes de las enfermedades anteriores como HTA (hipertensión arterial), sobrepeso, obesidad y dislipidemias.

- Se realizó el análisis estadístico completo de las variables incluidas en la intervención en sujetos mexicanos con DMT2, incluyendo el cálculo del tamaño de efecto.
- Se analizaron dos muestras mediante las técnicas *UPLC-MS-QTOF* y RMN, una comercializada como inulina de agave utilizada en la intervención en sujetos mexicanos y una muestra de inulina con certificado de análisis.

5.2 Universo de trabajo y muestra

- Los artículos obtenidos de la búsqueda en SciFinder de 2010 a 2019 en los que se realizó una intervención o ensayo en roedores con el prebiótico inulina.
- Los expedientes clínicos previamente obtenidos de la intervención con inulina en sujetos mexicanos aprobado por el comité de ética de los Servicios de Salud de Guerrero, así como el hospital General de Huitzucó Guerrero (**Anexos 10.1 y 10.2** respectivamente). Los sujetos que decidieron participar firmaron una carta de consentimiento informado (**Anexo 10.3**). Al finalizar el reclutamiento, se contó con 67 sujetos con DMT2 (21).
- La muestra comercializada como inulina de agave (marca EDULAG) utilizada en la intervención de sujetos mexicanos con DMT2 (21) y una muestra de inulina con certificado de análisis de Sigma Aldrich con número de catálogo I2255 (# lote SLBT3666).

5.2.1 Criterios de selección

Criterios de Inclusión.

- Estudios publicados en el periodo de 2010 a 2019, encontrados en el buscador SciFinder con las palabras clave: *intervention*, *inulin* y *prebiotic*.
- Sujetos con un rango de edad de 30 a 70 años, con un IMC entre 25 Kg/m² a 39.9 Kg/m² (sobrepeso u obesidad), sin estar bajo tratamiento nutricional. Las personas diabéticas (≥ 12 meses de evolución) debían estar bajo tratamiento farmacológico con base en hipoglucemiantes orales (≥ 6 meses).
- Muestra comercializada como inulina de agave utilizada en una intervención de sujetos mexicanos con DMT2 e inulina de Sigma Aldrich.

Criterios de exclusión

- Artículos con rango de publicación anterior al establecido.
- Sujetos con glucotoxicidad >250 mg/dL, sujetos con antecedentes de enfermedades gastrointestinales, tiroideas, pancreáticas, embarazo o lactancia, consumo de pre o probióticos (≥ 2 semanas pre-intervención), antibióticos, antiácidos, hipolipemiantes, antidiarréicos, antiinflamatorios, hipoglucémicos inyectables, alcohol, laxantes e ingesta diaria de fibra >30 g/día.
- Inulina con humedad o visualmente alterada.

Crterios de eliminación

- Artículos distintos a intervenciones y ensayos con inulina o que no mostraron información suficiente para obtener tamaño de efecto.
- Sujetos que no asistieron a la toma de muestras sanguíneas o valoración antropométrica. Valores atípicos externos de las variables bioquímicas o antropométricas (*outliers*).

5.3 Instrumento de investigación

- Buscador SciFinder
- Cuestionarios sociodemográficos, resultados de análisis bioquímicos y antropométricos pre- y pos-intervención, recordatorios de 24 h, cuestionarios de apego al tratamiento médico y de suplementación de la intervención con inulina en sujetos mexicanos con DMT2 (21) y programa SPSS V. 25.
- Cromatógrafo de líquidos de ultra alta resolución acoplado a espectrómetro de masas de cuadrupolo con tiempo de vuelo (*UPLC-MS-QTOF*) y espectrofotómetro de resonancia magnética nuclear JEOL de 600 MHz.

5.4 Desarrollo del proyecto

5.4.1 Determinación de los tamaños de efecto en intervenciones y ensayos con inulina

Se examinaron los artículos obtenidos como se detalla en la sección universo de muestra, eliminando aquellos que presentaron algún punto como criterio de exclusión y eliminación.

La información se organizó en una tabla descriptiva (**Tabla 1**) incluyendo todas las variables reportadas para las cuales en este trabajo se obtuvo el tamaño de efecto en el programa Excel, los TE se reportan en la **tabla 4** de la sección de resultados.

5.4.2 Análisis estadístico de los datos de intervención en sujetos mexicanos

Se realizó la captura de datos en Excel para posteriormente exportarlos al programa SPSS v.25, donde se realizó el análisis de la siguiente manera:

- 1) Se codificaron las variables como categóricas (sexo y categoría de riesgo para cada variable) y numéricas (indicadores antropométricos como edad, IMC, circunferencia abdominal e indicadores bioquímicos como ácido úrico, glucosa, c-LDL, c-HDL, CT y TG).
- 2) Exploración de variables, se revisó que los datos fueran exportados sin errores mediante la selección y cotejo de 10 sujetos al azar, se revisaron los valores generales de cada variable para asegurar que estuvieran dentro de rangos

típicos en humanos, se eliminaron las variables con valores fuera de rango. Se obtuvieron los histogramas y se revisó la normalidad de su distribución. Se identificaron las variables que requerían transformación.

- 3) Transformación de variables, se realizó la transformación de variables para ajustar a una distribución normal.
- 4) Identificación de valores atípicos (*outliers*), se detectaron los valores atípicos tanto internos como externos de todas las variables (originales o transformadas), se decidió eliminar los valores atípicos externos y los sujetos que presentaran 3 o más de estos valores.
- 5) Exploración de variables originales y transformadas, se realizaron histogramas para revisar nuevamente la normalidad de los datos.
- 6) Estadística descriptiva, se obtuvieron promedio y desviación estándar para todas las variables originales o transformadas.
- 7) Identificación del efecto de la intervención con inulina comercial en sujetos mexicanos con DMT2. Se compararon las medias pre- y pos- intervención con un análisis *t-student* para muestras pareadas obteniendo el valor de significancia estadística y se calculó el tamaño de efecto.
- 8) Se categorizaron las variables edad, sexo, bioquímicas y antropométricas, estas últimas dos de acuerdo con los valores recomendados por la OMS como sin riesgo, riesgo leve, riesgo alto, valor óptimo, normal, límite alto, límite elevado o muy elevado (**Anexo 10.8**).
- 9) Se repitieron los puntos 5 al 7 para cada grupo.

5.4.3 Análisis de la muestra comercializada como inulina de agave utilizada en la intervención en sujetos mexicanos con DMT2 y de inulina con certificado de análisis.

Análisis de muestras por UPLC-MS-QTOF

Se pesó 1 mg de cada muestra por separado, se agregó 1 mL de agua grado masas, se mezcló por 30 segundos en un *Vórtex* y posteriormente cada mezcla se filtró utilizando un filtro de jeringa de PTFE de 0.2 μm y se colocó en viales ámbar de 1.5 mL con certificado grado masas.

Se utilizó un cromatógrafo Agilent 1260 Infinity II acoplado a un espectrómetro de masas Agilent 6545A, se utilizó una columna sorbax C₁₈ de 2.1 x 10 cm de 1.8 μm de tamaño de partícula. La elución se llevó a cabo con un flujo de 0.25 mL/min de agua-metanol grado masas, ambos con 0.01% de formiato de amonio, iniciando con una proporción 90% - 10% realizando un gradiente para obtener 100% de metanol en el minuto 4, manteniendo este flujo por 2 minutos más y posteriormente regresando a condiciones iniciales. La detección se llevó a cabo con una fuente ESI, en modo negativo con un rango de m/z de 100 - 3000 con 175 y 3000 V en el fragmentor y voltaje de capilar, respectivamente. Las muestras se analizaron en modo *scan* y modo *MS-MS*.

Ambas muestras se analizaron por duplicado y se analizó también un blanco.

Análisis por Resonancia Magnética Nuclear

Se tomaron 20 mg de cada muestra, se disolvieron en 600 μ L de piridina deuterada. Se analizaron en un equipo JEOL de 600 MHz, con sonda de detección inversa de dos canales de radiofrecuencia $^1\text{H}/^{15}\text{N}$ - ^{31}P PFG (3mm). Se adquirieron los espectros de RMN de ^1H .

5.4.4 Avances en la metodología para el análisis de inulina o sus derivados en sangre

Digestión química de inulina

Se pesaron individualmente 13 muestras de 50 mg de muestra comercializada como inulina de agave utilizada en la intervención en sujetos mexicanos con DMT2. Se preparó una solución de ácido clorhídrico con un pH similar al estomacal (pH=2.4) y se verificó con un potenciómetro previamente calibrado.

A cada tubo con inulina se agregaron 0.5 mL de HCl (pH 2.4) y se agitaron vigorosamente hasta homogeneizar la mezcla, posteriormente, los tubos se colocaron en un agitador térmico (Thermomixer comfort) a 37 °C y 300 rpm simulando condiciones en el organismo humano en temperatura, movimientos peristálticos y oscilatorios. Se interrumpió la digestión de las muestras a diferentes tiempos considerando las diferencias que el ser humano tiene para este proceso

(**Tabla 3**). Para continuar con la digestión y simular el paso de los alimentos a nivel intestinal, en los diferentes tiempos la muestra de reacción fue neutralizada con una solución saturada de carbonato sódico agregando gota a gota y agitando en un *vortex* hasta la ausencia de desprendimiento de CO₂, el cual es generado por la reacción de neutralización, para cada muestra se verificó el pH de 7 con tiras medidoras. Una vez neutralizadas, las muestras fueron colocadas nuevamente en el agitador térmico de acuerdo con los tiempos indicados en la **tabla 3** simulando el proceso intestinal. Las muestras fueron conservadas a -20°C.

Tabla 3. Protocolo de digestión química de inulina

Digestión química en intestino delgado (Muestra)	Neutralizar (pH 7)	Tiempo para reservar y congelar muestras (horas)
1	1 hora	1
1.5	1.5 horas	1.5
2	2 horas	2
2.5	2.5 horas	2.5
3	3 horas	3
3.5	3.5 horas	3.5
4	4 horas	4
5		5
6		6
7		7
8		8
9		9
10		10

La digestión química de inulina se realizó controlando pH, temperatura y movimientos similares al proceso digestivo.

Pre-tratamiento de muestras sanguíneas

Se obtuvieron 5 mL de sangre de dos voluntarios, extraída por personal capacitado del Centro Médico Universitario de la UAEM. La sangre fue depositada en 5 tubos Eppendorf (1mL por tubo). Las muestras se dejaron en reposo por 30 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 minutos, como paso siguiente se extrajo el sobrenadante obteniéndose el suero. Las muestras de suero fueron desproteinizadas con el método de Wang con ligeras modificaciones (11), los volúmenes de trabajo se ajustaron considerando la disponibilidad de muestras de suero de la intervención de sujetos mexicanos con DMT2 y el volumen mínimo necesario para el equipo *UPLC-MS-QTOF* (**Figura 2**).

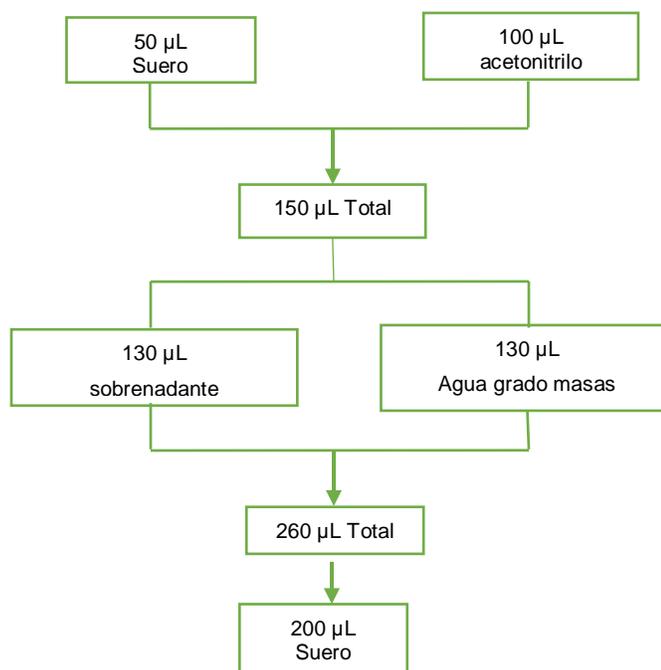
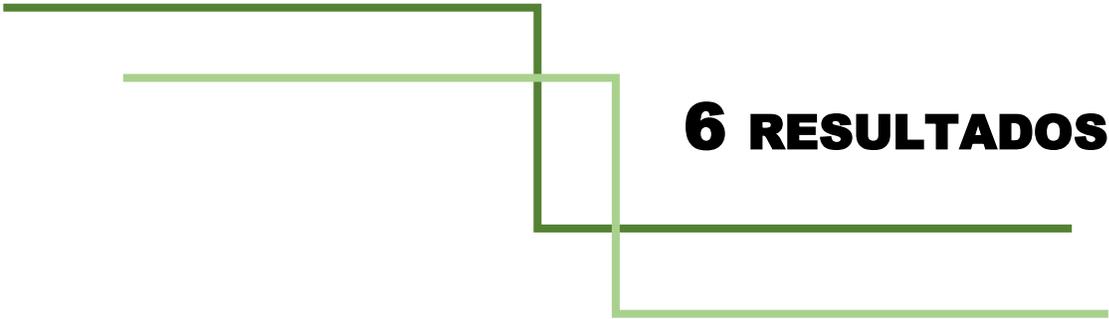


Figura 2: Determinación de suero necesario para análisis por *UPLC-MS-QTOF*.

Se tomaron por duplicado 50 μL de las muestras de suero, se colocaron en tubos *Eppendorf* independientes. El resto del suero se congeló a -20°C . A cada muestra se agregaron 100 μL de acetonitrilo grado masas como agente desproteinizante y se agitaron durante 1.5 minutos en un *vortex*, posteriormente se centrifugaron a 10,000 rpm por 4 minutos. Se tomaron 130 μL del sobrenadante, se agregaron 130 μL de agua grado masas y se mezclaron por 30 segundos en un *vortex*. Se centrifugaron nuevamente a 3500 rpm durante 10 minutos. Se tomaron 200 μL y se colocaron en viales grado masas, las muestras se resguardaron a -20°C hasta su uso (**Figura 2**).



6 RESULTADOS

6 RESULTADOS

6.1 Determinación de los tamaños de efecto en intervenciones y ensayos con inulina.

Se obtuvieron 96 artículos de la búsqueda bibliográfica, después de su revisión de acuerdo con los criterios de exclusión y eliminación se redujeron a 11 (**Figura 3**), para los cuales, se calcularon los TE de cada una de las variables reportadas (**Tabla 4**).

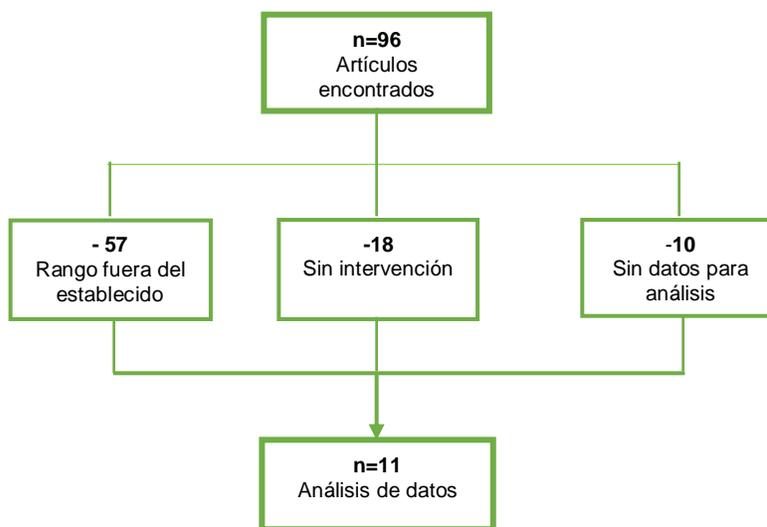


Figura 3. Selección de artículos para análisis y cálculo de TE
- = menos, n = Total de artículos.

En estas 11 publicaciones se reportan intervenciones en humanos o ensayos en animales que utilizaron el prebiótico inulina o inulina combinada con maltodextrina u oligofruktosa, mientras que en los grupos placebo se administró maltodextrina o

dieta libre de prebiótico, cabe mencionar que no todos los estudios realizaron evaluación del grupo placebo. El consumo de inulina varió de 10 a 20 g al día, sin embargo, la dosis diaria no estaba controlada en todos los casos, el consumo fue por la mañana y por la noche en el caso de intervenciones, y para los animales una vez al día.

Tabla 4. Tamaños de efecto calculados de intervenciones o ensayos con inulina en animales y humanos

Título	Tamaño de efecto			Control
	Pequeño (0.2 - 0.49)	Mediano (0.5 – 0.79)	Grande (> 0.8)	
Anne Lundby Hess, 2019 .	Peso: 0.4 % Grasa: 0.4 CT: 0.4 cHDL: 0.4 cLDL: 0.2 Glucosa: 0.4 HOMA-IR: 0.2 Hgb: 0.2 ASAT: 0.4 Sistólica: 0.4 Diastólica: 0.4 Pulso: 0.3 H. en aliento: -0.2 Heces diarias: 0.4	IMC: 0.5 Cir. Abd: 0.5 Grasa visceral: 0.5 Cir. Cad: 0.6 Altura sagital: 0.7 ALAT: 0.6		Inadecuado
Noppadol Kietsiroje et al, 2018	GLP-1: -0.3 AUC-GLP1: -0.2 AUC-insulin: -0.2 AUC-plasma: 0.2 Glucosa: 0.2			Inadecuado
Ke Li, 2019	BAP (U/l): -0.3 Ca ^{ion} (mg/l): 0.4 *DPD/Creat (Imol/mol): -0.4	TAP (U/l): -0.5	PTH (ng/l): -0.9 *Ca/Creat (mg/g): 0.8 *P/Creat(mg/g): -0.9 Ca ^{ion} (mg/l): -3.7 **P/Creat(mg/g): -4.9	Inadecuado
Berit Adolphi, 2019	Butirato: -0.3 Acetato: -0.2 Propionato: -0.2			No se utilizó
Noppadol Kietsiroje et al, 2018	Movimientos intestinales/ semana 3: 0.389 4: 0.255 Sentimientos: 0.364	Movimientos intestinales/ semana 1: 0.571 2: 0.484 Todas las categorías: 0.514 Intensidad de síntomas: 0.545 Efecto en la vida diaria: 0.492 Estreñimiento en la vida: 0.464 Satisfacción: 0.749		Inadecuado

Parvin Dehghan, et al. 2013	Ingesta de Prot: -0.2 GSH-Px: -0.2	Ingesta de HCO: 0.5 Fibra dietética: -0.5 SOD: -0.6 Catalasa: -0.6 MDA: 0.6	Ingesta de Kcal: 1.1 Grasa total: 0.8 FPG: 0.9 HbA1c: 0.9 Insulina en ayuno:1.3 HOMA-IR: 1.3 TAC: -1.0	Inadecuado
Parvin Dehghan, 2014	Fibra dietética: 0.3 IL-10: -0.3	Kcal: 0.4 Ingesta total de grasa: 0.5 hs-CRP: 0.5 TNF- α : 0.6 IFN- γ : 0.7	FPG: 0.9 LPS: 0.8	Inadecuado
Parvin Dehghan, 2014	Ingesta de Prot: -0.2 GSH-Px: -0.2	Ingesta de CHO: 0.5 Fibra dietética: -0.5 SOD: -0.6 Catalasa: -0.6 MDA: 0.6	Ingesta de Kcal: 1.1 Grasa total: 0.8 FPG: 0.9 HbA1c: 0.9 Insulina en ayuno:1.3 HOMA-IR: 1.3 TAC: -1.0	Inadecuado
Natalia Drabinska, 2018	Cisteína: 0.2	Isoleucina: -0.7 Ácido α -Aminobutirato: -0.6 Prolina-hidroxiprolina: 0.5	Alanina: .4.7 Glicina: -1.2 Serina: -1.6 Prolina: -3.4 Asparagina: -2.6 Glutamina: -2.0 Ácido Glutámico: -10.1 Tirosina: -3.2 Valina: -1.1 Leucina: -1.1 Treonina: -3.0 Metionina: -2.6 Fenilalanina: -1.6 Lisina: -5.8 Triptófano: -1.0 Histidina: -3.2 Ornitina: -5.1 4-hidroxiprolina: -0.9	Inadecuado
Natalia Drabinska, 2018	Ca sérico: -0.4			No se utilizó
Abed Ghavami, 2018	CC: 0.3 CCad: 0.3 FPG: 0.3 HbA1c: 0.2 TC: 0.4 HDL-C: -0.4 LDL-C: 0.3 Kcal: -0.2 HCO: -0.2 Prot: -0.3			Inadecuado

HCO: Hidratos de carbono, **Prot:** Proteínas, *:día, **: noche, **HbA1c:** Hemoglobina glucosilada, **CT:** colesterol total, **HDL-C:** colesterol HDL, **LDL-C:** colesterol LDL, **Kcal:** kilocalorías, **CC:** circunferencia de cintura, **CCad:** Circunferencia de cadera, **hs-CRP:** proteína C reactiva de alta sensibilidad, **TNF- α :** factor de necrosis tumoral alfa, **IFN- γ :** interferón gama, **IL-1, TE:** Tamaño de efecto, pequeño (0.2-0.4), mediano (0.5-0.79), grande (\geq 0.8).

6.2 Análisis de datos de la intervención con inulina comercializada como inulina de agave en sujetos mexicanos con DMT2

De los 67 sujetos que participaron en el estudio, únicamente 39 cumplieron con los criterios de inclusión, para los cuales se generó la base de datos (**Figura 4**). Una vez capturada la información de la intervención referida, se revisaron los valores generales de cada variable para asegurar que estuvieran dentro de rangos típicos en humanos, eliminando las lecturas de hueso, % agua, % músculo, % grasa y grasa visceral, por no cumplir con este criterio.

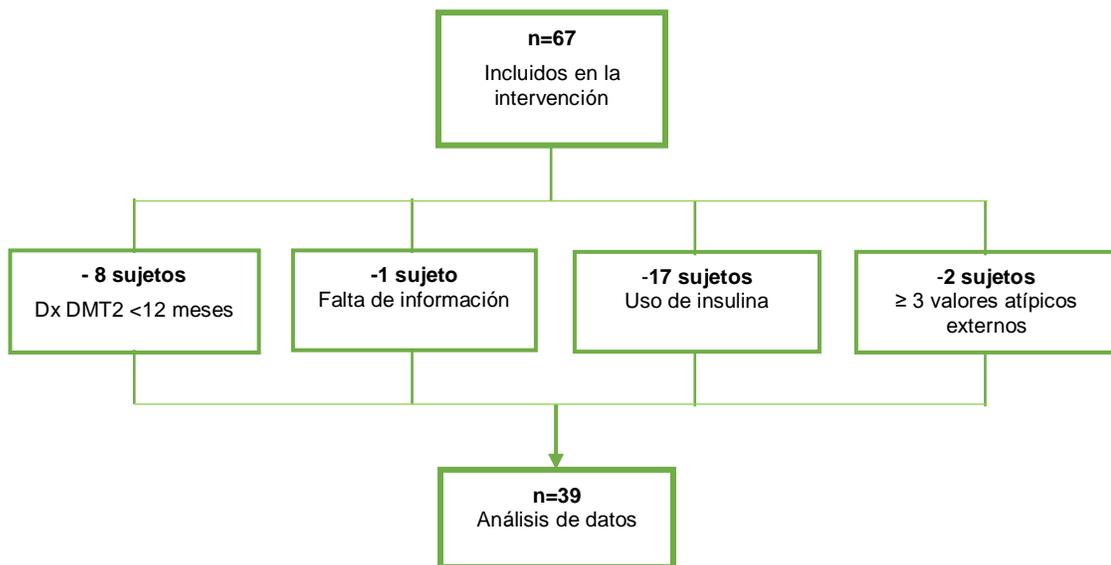


Figura 4. Sujetos incluidos en el análisis de datos
N: población estudio, **Dx:** Diagnostico, **-:** Menos, **=** igual, **TG:** triglicéridos, **cHDL:** colesterol HDL.

Se graficaron los histogramas de cada variable para corroborar la normalidad de los datos (**Anexo 10.10**), las variables IMC, peso, glucosa, TG, CT, c-HDL y c-LDL presentan asimetría positiva, por lo que fueron recalculadas mediante la obtención de su Log_{10} , obteniendo una mejor normalidad.

Se identificaron los valores atípicos internos y externos, eliminando estos últimos (9 para glucosa y 1 para TG, cabe mencionar que para 19 sujetos no se contaba con el valor pos-intervención de c-HDL. Se encontraron 2 sujetos que fueron eliminados por presentar valores atípicos externos en 3 o más variables.

Las variables originales y transformadas sin valores atípicos externos se graficaron nuevamente en forma de histograma para verificar su distribución (**Anexo 10.10**). Se realizó estadística descriptiva incluyendo promedio, desviación estándar y un análisis *t-student* para muestras pareadas, así como el cálculo del tamaño de efecto para todas las variables originales o transformadas como se muestra en la **tabla 5** (cabe mencionar que las intervenciones en humanos se presentan normalmente un efecto placebo de 0.2 a 0.4), este mismo análisis se realizó para las variables recategorizadas por sexo (**Tabla 6**) y grupo de edad (**Tabla 7**).

Tabla 5. Análisis estadístico de muestras pareadas de sujetos mexicanos con DMT2.

Variables		Media	DE	Promedio	t	Sig. (bilateral)	Tamaño de efecto
Antropométricas	Log ₁₀ CA	-.01363	.05074	.00813	-1.678	.102	0.101
	Log ₁₀ IMC	.00803	.01807	.00289	2.775	.009	0.127
Bioquímicas	Log ₁₀ AU	-.01523	.08593	.01376	-1.107	.275	0.065
	Log ₁₀ c-HDL	-.00893	.07374	.01369	-.652	.519	0.197
	Log ₁₀ c-LDL	.00438	.19089	.03057	.143	.887	0.110
	Log ₁₀ CT	.01253	.07921	.01268	.988	.329	0.162
	Log ₁₀ Glucosa	.04059	.12758	.02043	1.987	.054	0.279
	Log ₁₀ TG	.09884	.21110	.03380	2.924	.006	0.481

DMT2: Diabetes Mellitus Tipo 2, **CA:** circunferencia abdominal, **IMC:** Índice de masa corporal, **AU:** ácido úrico, **cHDL:** colesterol HDL, **cLDL:** colesterol LDL, **CT:** colesterol total, **TG:** triglicéridos, $P < 0.05$, **t:** prueba *t-student*, Tamaño de efecto, pequeño (0.2-0.49), mediano (0.5-0.79), grande (≥ 0.8).

Tabla 6. Análisis estadístico de muestras pareadas de sujetos mexicanos con DMT2 por sexo.

Variables		Sexo	Media	DE	t	Sig. (bilateral)	Tamaño de efecto
Antropométricas	Log ₁₀ CA	Femenino	-1.61538	.65044	-8.954	.000	0.043
		Masculino	.04000	.20000	1.000	.327	0.138
	Log ₁₀ IMC	Femenino	.23077	.43853	1.897	.082	0.196
		Masculino	.21053	.41315	3.141	.003	0.102
Bioquímicas	Log ₁₀ UA	Femenino	.00000	.33806	.000	1.000	-0.121
	Log ₁₀ c-HDL	Masculino	-.09091	.61016	-.699	.492	0.212
	Log ₁₀ c-LDL	Femenino	-.63636	.67420	-3.130	.011	-0.255
		Masculino	-.15385	.73170	-1.072	.294	-0.031
	Log ₁₀ CT	Femenino	-.15385	.55470	-1.000	.337	0.042
		Masculino	.23077	.81524	1.443	.161	0.232
	Log ₁₀ Glucosa	Femenino	.16667	.38925	1.483	.166	0.329
		Masculino	.04545	.48573	.439	.665	0.268
	Log ₁₀ TG	Femenino	.08333	1.08362	.266	.795	0.426
		Masculino	.23077	.99228	1.186	.247	0.524

DMT2: Diabetes Mellitus Tipo 2, **CA:** circunferencia abdominal, **IMC:** Índice de masa corporal, **AU:** ácido úrico, **cHDL:** colesterol HDL, **cLDL:** colesterol LDL, **CT:** colesterol total, **TG:** triglicéridos, $P < 0.05$, **t:** prueba *t-student*, Tamaño de efecto, pequeño (0.2-0.49), mediano (0.5-0.79), grande (≥ 0.8).

Tabla 7. Análisis estadístico de muestras pareadas de sujetos mexicanos con DMT2 por grupo de edad.

Variables		Grupo de edad (años)	Media	DE	t	Sig. (bilateral)	Tamaño de efecto
Antropométricas	Log ₁₀ CA	30-50	.4583	2.2306	.712	.491	0.058
		51-60	1.1154	1.3868	2.900	.013	0.096
		61-70	1.0643	1.7109	2.328	.037	0.188
	Log ₁₀ IMC	30-50	-.00253	.00953	-.918	.378	-0.039
		51-60	.01126	.01101	3.688	.003	0.155
		61-70	.01408	.02476	2.128	.053	0.338
Bioquímicas	Log ₁₀ AU	30-50	-.00001	.07398	-.001	1.000	-0.011
		51-60	-.00667	.10150	-.237	.817	-0.001
		61-70	-.03622	.08174	-1.658	.121	-0.264
	Log ₁₀ c-HDL	30-50	.02602	.07451	.924	.391	0.339
		51-60	-.03248	.09209	-1.058	.321	-0.320
		61-70	-.01146	.05587	-.739	.474	-0.175
	Log ₁₀ c-LDL	30-50	.00193	.06304	.106	.917	0.032
		51-60	.03792	.32621	.419	.682	0.093
		61-70	-.02466	.05369	-1.719	.109	-0.247
	Log ₁₀ CT	30-50	.00553	.07981	.240	.815	0.161
		51-60	.01372	.09282	.533	.604	0.115
		61-70	.01742	.07017	.929	.370	0.216
	Log ₁₀ Glucosa	30-50	.04352	.12464	1.210	.252	0.273
		51-60	.02824	.16586	.614	.551	0.212
		61-70	.04954	.09376	1.977	.070	0.383
	Log ₁₀ TG	30-50	.00457	.14571	.109	.915	0.067
		51-60	.18853	.28222	2.409	.033	0.938
		61-70	.09637	.15009	2.402	.032	0.429

DMT2: Diabetes Mellitus Tipo 2, **CA:** circunferencia abdominal, **IMC:** Índice de masa corporal, **AU:** ácido úrico, **cHDL:** colesterol HDL, **cLDL:** colesterol LDL, **CT:** colesterol total, **TG:** triglicéridos, $P < 0.05$, **t:** prueba *t-student*, Tamaño de efecto, pequeño (0.2-0.49), mediano (0.5-0.79), grande (≥ 0.8).

6.3 Análisis de muestras de inulina

Los cromatogramas de las réplicas para cada muestra de inulina se encontraron consistentes. Se realizó la búsqueda por fórmula molecular para inulina conteniendo de 0 a 24 unidades de fructosa (1-25 monosacáridos), este procesamiento muestra que la inulina comercializada como inulina de agave utilizada en la intervención en sujetos mexicanos contiene como componente mayoritario un trisacárido, seguido de un monosacárido, mientras que se confirma que la muestra de inulina con certificado de análisis corresponde a FTI, sus componentes mayoritarios son inulina con un total de 17 y 18 unidades de monosacáridos **Tabla 8**. Con la finalidad de identificar otros componentes presentes en la muestra comercializada como inulina de agave, se realizó la búsqueda por características moleculares y posterior identificación con la librería Metlin_Metabolites_AM, permitió determinar que la muestra comercializada como inulina de agave está constituida principalmente por monosacáridos y trisacáridos diferentes a inulina, los más abundantes se presentan en la **Tabla 9**.

Tabla 8. Componentes mayoritarios de inulina con certificado de análisis		
Nombre	Altura	Área
FTI con cadena de 17 unidades (C ₁₀₂ H ₁₇₂ O ₈₆)	4444840	20427537
FTI con cadena de 18 unidades (C ₁₀₈ H ₁₈₂ O ₉₁)	34721	1700351

Tabla 9. Componentes mayoritarios de la muestra comercializada como inulina de agave.

Nombre	Altura	Área
β -D-Xilopiranosil-(1 \rightarrow 4)- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-L-arabinosa	8134959	107885630
β -D-Fucosa	4869956	43577266
L-Galactosa-1-fosfato	2679455	16216708
6-Cinamoil-1-galoilglucosa	2786075	13639200
1-O,2-O,6-O-Trigaloil- β -D-glucosa	905079	8624409
6-Galoilglucosa	1603798	8441738
1,2,3,4,6-Pentakis-O-galoil- β -D-glucosa	1114003	7169945
1-Cafeoil- β -D-glucosa	408128	6289988
GDP-3,6-dideoxi-D-galactosa	807228	5130162
1-O,6-O-Digaloil- β -D-glucosa	611937	4504261
1,2,3,6-Tetrakis-O-galoil- β -D-glucosa	286639	3605513
α -L-Arabinofuranosil-(1 \rightarrow 2)-[α -D-mannopiranosil-(1 \rightarrow 6)]-D-manosa	453858	3536284
2-O- α -L-Fucopiranosil-galactosa	303195	3235545
6-Cinamoil-1-galoilglucosa	447648	2842356
α -D-Glucosil-(1,3)-D-manosa	369049	2465227
3-O-(3,6-Anhidro- α -D-galactopiranosil)-D-galactosa 4-O-sulfato	121962	1926319
6-Galoilglucosa	302071	1844920
β -Glucosa	126970	1573433
2-O- β -D-Galactopiranosil-D-xilosa	158402	1409125

Por otra parte, los espectros de RMN-¹H para ambas muestras (**Figura 5**) presentan señales características para hidrógenos sobre carbono base de oxígeno consistentes con HCO, sin embargo, únicamente la inulina con certificado de análisis (**Figura 5B**) concuerda con las señales reportadas para este tipo de polioligosacáridos, mientras que la muestra comercializada como inulina de agave (**Figura 5A**) presenta señales que no son consistentes con FTI sino con mezclas de sacáridos simples (**Anexo 10.11**). Las señales que comparten ambos espectros, son señales simples con δ de 8.74, 7.58 y 7.22 ppm corresponden al disolvente utilizado (py-*d*₅).

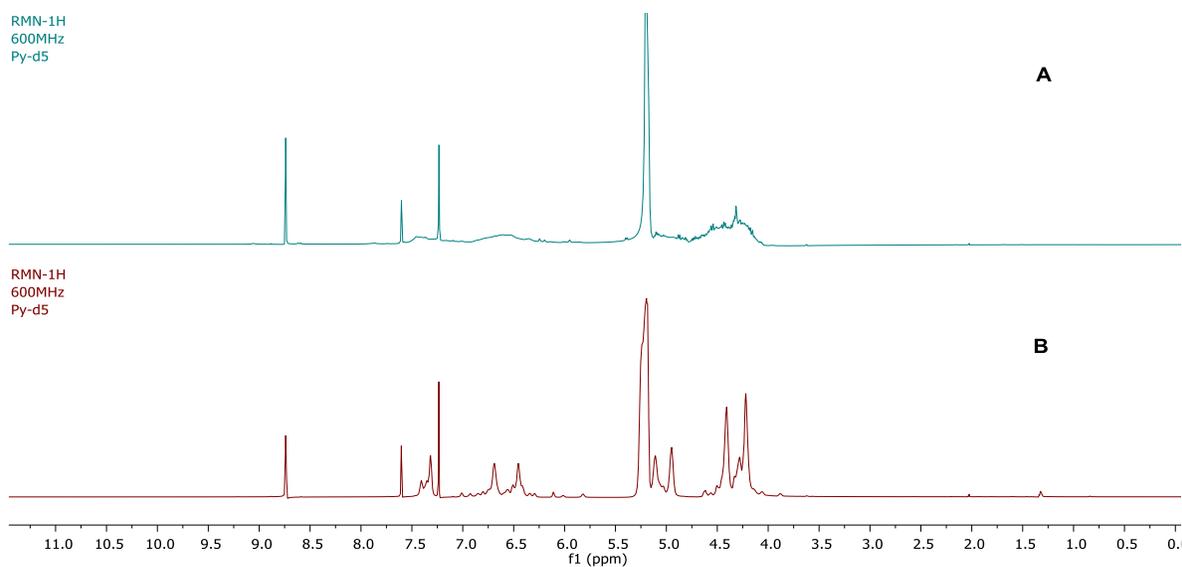


Figura 5. Espectros de RMN-¹H (py-d₅, 600 MHz) de (A) muestra comercializada como inulina de agave y (B) inulina con certificado de análisis.

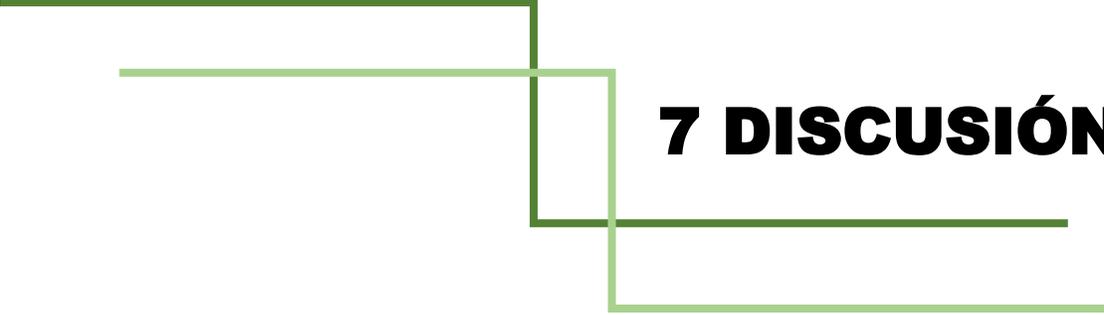
6.3 Avances en la metodología para el análisis de inulina o sus derivados en sangre

Digestión química de inulina

Se obtuvieron las muestras de la simulación de digestión de FTI, sin embargo, dado que esta se realizó con la muestra comercializada como inulina de agave que corresponde a sacáridos simples, en el organismo estos son absorbidos de manera normal. No se realizó la digestión con la inulina con certificado de análisis.

Desproteinización de muestras

Se obtuvieron las muestras desproteinizadas de suero de los voluntarios, este procedimiento puede ser utilizado como pretratamiento para el análisis de muestras de suero en ensayos biológicos o intervención.



7 DISCUSIÓN

7 DISCUSIÓN



Existe un gran interés en el estudio de prebióticos, principalmente para aprovechar los beneficios que pudieran aportar al organismo, sin embargo, en la mayoría de estudios realizados con FTI se encuentran inconsistencias metodológicas que llevan a una interpretación errónea.

En este estudio se analizaron artículos de intervenciones o ensayos con inulina, se obtuvieron los efectos para cada variable reportada, del mismo modo se obtuvo el TE de las variables de una intervención con inulina en sujetos mexicanos con DMT2, posteriormente se analizó la inulina utilizada en este estudio para identificar a los sacáridos posibles responsables de su efecto.

Únicamente en los ensayos realizados con animales se tiene un control de dieta, mientras que las intervenciones carecen de él. Varios estudios no evalúan el control negativo o placebo, para estudios similares en humanos se ha reportado que el efecto placebo es ≥ 0.4 . Mientras que los estudios con inulina que si lo evaluaron seleccionaron maltodextrina u oligofruktosa, estas moléculas son polímeros de HCO al igual que la inulina, sin embargo, la selección es químicamente inadecuada ya que la unión de los residuos de azúcares en el caso de inulina es de tipo β , lo que la hace no absorbible a nivel de intestino delgado, en el caso de maltodextrina u oligofruktosa la unión entre los residuos de azúcares es de tipo α , tanto humanos

como murinos (animales que se han utilizado para este tipo de ensayo) poseen enzimas α -glucosidasas, lo que lleva a la hidrólisis de dímeros y polímeros de HCO con enlace α hasta sus monómeros o HCO simples, que son absorbidos de forma normal por el tracto gastrointestinal, lo que aumenta los niveles de glucosa, afecta la concentración de AGCC como consecuencia de la fermentación producida por las bacterias (bacteroidetes) a nivel colónico y finalmente altera el metabolismo lipídico (TG, CT, c-LDL, c-HDL) (4-5).

Adicionalmente, los resultados no cuentan con la estadística adecuada, algunos artículos no reportan desviación estándar, en la mayoría de estudios no se calculó el tamaño de muestra y trabajaron con grupos pequeños, otros estudios no reportan la significancia estadística, mientras que otros, tomaron como válidos valores > 0.05 . Para los estudios que reportan cambios en las variables analizadas (significancia con valor de $p \leq 0.05$), el cálculo del TE realizado en este proyecto indica efecto pequeño, mientras que en el único estudio cuyos autores reportaron el TE también fue muy pequeño, además, el control utilizado fue maltodextrina (18).

Dos Reus (16), Hanet *et al.* (18) y Letexier *et al.* (11), realizaron una compilación de artículos donde se evaluó la ingesta de inulina en animales y humanos, presentando tablas donde se indica la disminución de los niveles de indicadores bioquímicos como triglicéridos, colesterol y glucosa, sin embargo, no se analizó la significancia estadística ni el TE, a diferencia este trabajo, donde se realizó la compilación y análisis crítico de los resultados previos.

Los datos de las variables reportadas en los ensayos e intervenciones previas (2010-2019) fueron utilizados para el calcular el TE, aunque diversos artículos mencionan que la suplementación con inulina regula los niveles de glucosa, el TE calculado no comprueba dicho efecto, solo para un estudio se obtuvo un valor de TE pequeño (0.2) en el indicador glucosa (19), sin embargo, el control usado no fue el adecuado (maltodextrina), en un estudio adicional (20), se obtuvo un TE mínimo en los AGCC (butirato con TE 0.3, acetato y propionato con TE 0.2), que diversos autores aseguran se ven alterados tras el consumo de inulina, regulando los niveles lipídicos, pero este estudio también utilizó un control no adecuado (maltodextrina).

De manera contrastante, el TE calculado para los estudios de Dehghan *et al.* en mujeres diabéticas (18-19), muestra un efecto grande en los indicadores bioquímicos relacionados con el metabolismo de glucosa e insulina como hemoglobina glucosilada (TE 0.9, $p < 0.05$), insulina en ayuno e índice HOMA-IR (TE 1.3 y $p < 0.05$ para ambos), sin embargo, el prebiótico utilizado fue oligofruktosa enriquecida con inulina y el placebo fue maltodextrina, que es absorbible y provoca el aumento de los niveles de glucosa a nivel sistémico. Así mismo, para el estudio realizado en 2014 por el mismo autor en mujeres diabéticas con endotoxemia metabólica, los cálculos de TE indican un efecto mediano para marcadores relacionados con la inflamación como proteína C reactiva de alta sensibilidad (hs-CRP), TNF- α e interferón gamma (IFN- γ). La hs-CRP mostró un TE de 0.5 con un \bar{X} inicial de -5.5 ($\sigma = 1.0$) y un \bar{X} final de -3.9 ($\sigma = -0.3$), el indicador TNF- α , tuvo un TE

de 0.6 con un \bar{X} inicial de 0.5 ($\sigma=3.2$) y un \bar{X} final de 3.2 ($\sigma=-1.3$), por último, IFN- γ mostró un TE de 0.7 con un \bar{X} inicial y final de -0.3 con σ de 1.0 y -0.03 respectivamente usando un valor de $p<0.05$. Se obtuvo un TE grande en los indicadores de FPG y LPS. El indicador FPG mostró un TE de 0.9 con un \bar{X} de 9.0 ($\sigma=20.8$) y un \bar{X} final de -19.2 ($\sigma=32.7$), mientras que el indicador LPS tuvo un TE de 0.8 con un \bar{X} basal de 0.5 ($\sigma=4.8$) y un \bar{X} final de -6.0 ($\sigma=-37$) ambos indicadores utilizaron un valor de $p<0.05$. El resultado de su TE posiblemente se relaciona con el metabolismo lipídico, pese a que estos datos reflejan efectos positivos tras la suplementación de inulina, vale la pena mencionar que el control utilizado fue inadecuado y no hubo un control de dieta.

Por otra parte, para los resultados de la intervención con inulina comercializada como inulina de agave en sujetos mexicanos con DMT2, se obtuvo una significancia estadística únicamente en las variables TG e IMC en la población total con la prueba *t-student* a dos colas para muestras pareadas (**Tabla 5**). El \bar{X} pre-intervención de TG fue de 198 mg/dL ($\sigma=155$) y el \bar{X} pos-intervención de 103.6 mg/dL ($\sigma=73.8$), mientras que los datos de la variable transformada (\log_{10}) fueron $p=0.006$, $\sigma=0.211$ y $\bar{X}= 0.033$ con un TE mediano de 0.481, aunque para demostrar la validez del TE reportado para esta variable se necesita comparar con un grupo placebo. Por otra parte, los promedios pre- y pos- intervención de IMC fueron 30 ($\sigma=3.7$) y 30 ($\sigma=4$) respectivamente, los resultados de la transformación de esta variable (\log_{10}) fueron $p=0.009$, $\sigma=0.018$, $\bar{X}=0.002$, con los cuales se observa que no hay efecto de la intervención (TE=0.027).

Dado que la DMT2 es un padecimiento multifactorial, las variables de este estudio se analizaron por categorías con el propósito de identificar si presentaban TE únicamente en alguno de los grupos por sexo y edad.

Al analizar los datos categorizados por sexo (**Tabla 6**), la variable que mostró significancia estadística para el grupo masculino fue IMC ($p=0.003$, $\sigma=0.413$, $\bar{X} \log_{10}=0.007$) con un promedio basal de 31 ($\sigma=3.9$) y un promedio final de 30 ($\sigma=4.0$), pese a que el valor de significancia estadística es relevante, la variable presenta un efecto muy pequeño, el cual carece de significancia biológica ($TE=0.102$). Los indicadores con significancia estadística para el sexo femenino fueron CA y c-LDL, la primera presentó $p=0.000$, $\sigma=0.650$, $\bar{X} \log_{10}=0.180$, $TE=0.043$ con un \bar{X} basal de 101 ($\sigma=9.7$) y \bar{X} final de 100 ($\sigma=9.7$), mientras que para c-LDL se obtuvo $p=0.011$, $\sigma=0.674$, $\bar{X} \log_{10}=0.203$ y un TE de -0.255 , con un \bar{X} basal de 112 ($\sigma=24.2$) y un \bar{X} final de 120 ($\sigma=37.1$), de acuerdo con los resultados, únicamente el valor de c-LDL mostró un TE pequeño que podría relacionarse con la disminución de su concentración a nivel sistémico, regulando el metabolismo lipídico, sin embargo, para poder sustentar este resultado hace falta comparar con placebo, que siga teniendo el mismo TE y evaluar un grupo al menos de 168 sujetos.

Por otro lado, al analizar el TE por sexo (**Tabla 6**), se identificó que el grupo masculino tuvo efectos pequeños en los indicadores c-HDL ($TE=-0.212$, \bar{X} inicial=48, $\sigma=7.1$, \bar{X} final=50, $\sigma=9.8$), CT ($TE=0.232$, \bar{X} inicial=201, $\sigma=37.6$, \bar{X} final=193, $\sigma=30.7$) y glucosa ($TE=0.268$, \bar{X} inicial=54, $\sigma=85.5$, \bar{X} final=136, $\sigma=50.4$),

mientras que el grupo de mujeres presentó efectos pequeños en los indicadores c-LDL (TE=-0.255, \bar{X} inicial=112, σ =24.2, \bar{X} final=120, σ =37.1), y glucosa (TE=0.9, \bar{X} inicial=165, σ =64, \bar{X} final=144, σ =60.9), no obstante los datos anteriores podrían ser afectados por el efecto placebo (normalmente=0.4). Adicionalmente, ambos grupos presentaron un efecto mediano en el indicador TG sin comparar con placebo, 0.426 en sexo femenino (\bar{X} inicial=165, σ =93.6, \bar{X} final=129, σ =73.3) y 0.524 en sexo masculino (\bar{X} inicial=217, σ =106.8, \bar{X} final=170, σ =72.5), pese a esto, la muestra mínima necesaria para validar estos resultados, si al comparar con placebo se conservara el TE sería de 62 y 41 sujetos, respectivamente.

La categorización por grupos de edad se realizó por intervalos de 10 años, el grupo de 30 a 40 años contaba con una muestra <10% de la población total, por tanto, se integró con el grupo 41 a 50 años, este primer grupo (30-50 años), no mostró significancia estadística en ningún indicador (**Tabla 7**), pero presentó un TE pequeño en los indicadores bioquímicos c-HDL (TE=0.339, \bar{X} inicial=49, σ =3.5, \bar{X} final=47, σ =9.6) y glucosa (TE=0.273, \bar{X} inicial=154, σ =64.9, \bar{X} final=138, σ =54.1), estos resultados también podrían verse sesgados por el efecto placebo.

El grupo de 51 a 60 años mostró significancia estadística en los indicadores CA (p =0.013, TE=0.096, \bar{X} inicial=98, σ =11.3, \bar{X} final=97, σ =11.9), IMC (p =0.003, TE=0.155, \bar{X} inicial=29, σ =4.4, \bar{X} final=28, σ =4.6) y TG (p =0.033, TE=0.938, \bar{X} inicial=232, σ =126.7, \bar{X} final=143, σ =64.2) (**Tabla 7**), como se observa, únicamente TG mostró un tamaño de efecto relevante, el mayor de la intervención, que si fuera

conservado al comparar con placebo, la muestra mínima para avalar dicho efecto sería de 14 sujetos, similar a la muestra evaluada en esta intervención para este grupo de edad (13 sujetos). Esto posiblemente puede asociarse a que el deterioro metabólico en esta edad puede ser reversible, también podría proponerse que la microbiota colónica posiblemente se regula tras el consumo de inulina (7), o bien, podría relacionarse con un menor tiempo de diagnóstico de DMT2.

Por otro lado, para este mismo grupo de edad, los indicadores c-HDL ($p=0.321$, $TE=-0.320$, \bar{X} inicial=48, $\sigma=12.6$, \bar{X} final=53, $\sigma=17$) y glucosa ($p=0.551$, $TE=0.212$, \bar{X} inicial=174, $\sigma=85.4$, \bar{X} final=158, $\sigma=58.6$) presentaron efectos pequeños (**Tabla 7**), sin comparar con placebo, si este efecto se conservara, el número de muestra mínimo para comprobar estos TE sería de 108 y 243 sujetos respectivamente.

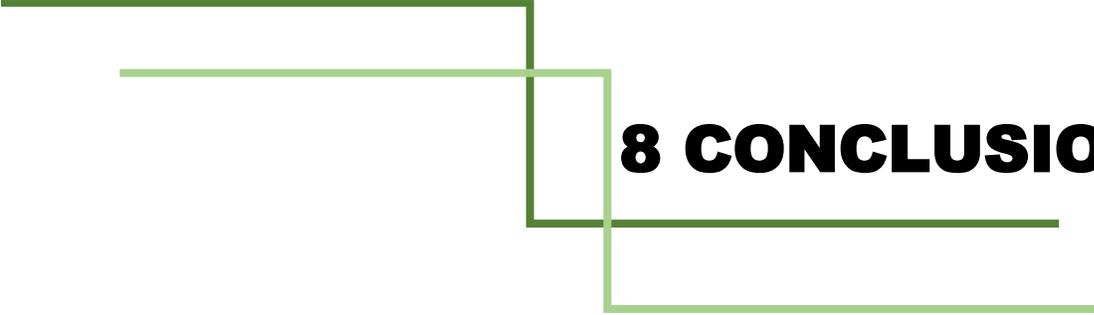
El último grupo de edad (61-70 años), tuvo significancia estadística en CA ($p=0.037$, $TE=0.188$, \bar{X} inicial=100, $\sigma=5.8$, \bar{X} final=98, $\sigma=5.5$) y TG ($p=0.032$, $TE=0.429$, \bar{X} inicial=175, $\sigma=79.9$, \bar{X} final=144, $\sigma=67.2$), pese a esto, solo TG tuvo un efecto mediano, que si se conserva al comparar con placebo, necesitaría una muestra de 61 sujetos para avalar el TE (**Tabla 7**). Al analizar los datos se observó que en comparación con los otros grupos de edad, este último aparentemente tuvo efecto en mayor número de parámetros, sin embargo, los efectos fueron pequeños y sin comparar con placebo en IMC ($TE=0.338$, $p=0.053$, \bar{X} inicial=30, $\sigma=2.3$, \bar{X} final=29, $\sigma=3.0$), AU ($TE=-0.264$, $p=0.121$, \bar{X} inicial=5, $\sigma=1.4$, \bar{X} final=5, $\sigma=1.3$), CT ($TE=0.216$, $p=0.370$, \bar{X} inicial=201, $\sigma=37.7$, \bar{X} final=193, $\sigma=36.1$), c-LDL ($TE=-0.247$,

$p=0.109$, \bar{X} inicial=115, $\sigma=26.5$, \bar{X} final=121, $\sigma=24.2$) y glucosa ($TE=0.383$, $p=0.070$, \bar{X} inicial=146, $\sigma=85$, \bar{X} final=121, $\sigma=44.7$). Los TE con signo negativo, sugerirían un beneficio para el sujeto, pues se ve regulado el indicador de c-LDL (que se considera como colesterol malo) así como los niveles de AU, sin embargo, los valores de TE quedan dentro del rango que puede presentar el efecto placebo, por lo que es necesario evaluar este grupo para validar estos resultados.

Por otra parte, los espectros de RMN de la muestra comercializada como inulina de agave, utilizada en la intervención de sujetos mexicanos con DMT2 y la muestra de inulina con certificado de análisis presentan señales para hidrógenos sobre carbono base de oxígeno (δ 3.5 – 5.5 ppm), sin embargo, para compuestos de tipo polimérico, como es el caso de inulina, las señales tienden a ser anchas esta última característica únicamente se observa en el espectro de inulina con certificado de análisis. El espectro de la muestra comercializada como inulina de agave presenta señales múltiples, que se alcanzan a distinguir como las correspondientes a HCO simples en mezclas complejas.

El análisis por *UPLC-MS-QTOF* concuerda con los resultados obtenidos en RMN. Los compuestos mayoritarios de la muestra comercializada como inulina de agave utilizada en la intervención en sujetos mexicanos son HCO de cadena corta de entre 1 y 3 monosacáridos, entre ellos, β -D-fucosa que, de acuerdo con Dos Reis, podría interactuar con la ruta de la fructosa y síntesis de ácidos grasos, otros componentes como 6-cinamoil-1-galoilglucosa, 6-galoilglucosa, 1,2,3,4,6-pentakis-

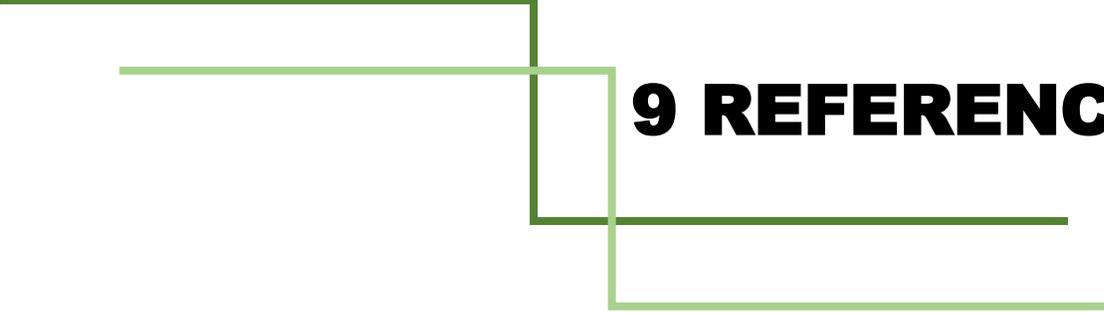
O-galoil- β -D-glucosa, 1-cafeoil- β -D-glucosa, 1-O,6-O-digaloil- β -D-glucosa, 1,2,3,6-tetrakis-O-galoil- β -D-glucosa, 6-cinamoil-1-galoilglucosa, β -glucosa y 6-galoilglucosa podrían interaccionar con la glucólisis y la lipogénesis hepática (16), mejorando el uso tanto de glucosa plasmática como de los ácidos grasos libres, esto es consecuencia de la inhibición de la gluconeogénesis.



8 CONCLUSIONES

8 CONCLUSIONES

- Las intervenciones o ensayos con inulina reportados presentan errores metodológicos como uso de placebo inadecuado o falta de él. Para los parámetros en los que reportan cambios después de la intervención o ensayo, los tamaños de efecto sin comparar con placebo son pequeños y algunos no alcanzan significancia estadística, por lo que no se pueden avalar los cambios en variables bioquímicas y/o antropométricas reportados previamente.
- En la intervención realizada en sujetos mexicanos con DMT2 con la muestra comercializada como inulina de agave, se obtuvo un efecto en la población total únicamente para triglicéridos (sin comparar con grupo placebo, TE=0.481), el cambio más grande se observó para el grupo de edad entre 50 y 60 años (TE=0.938), sin embargo, es necesario evaluar un grupo placebo adecuado, recalculando el TE para verificar que se conserva y recalculando el tamaño de la muestra necesario para comprobar este cambio.
- La muestra utilizada en la intervención de sujetos diabéticos comercializada como inulina de agave está realmente constituida por monosacáridos y trisacáridos y no contiene inulina en sus 19 constituyentes mayoritarios.



9 REFERENCIAS

9 REFERENCIAS

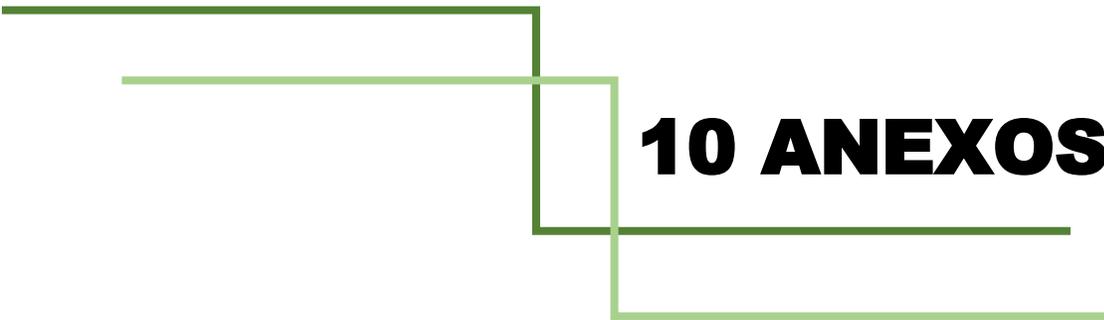
1. Rojas, Rosalba; Jiménez, Alejandra; Álvarez; Contento, Cristina; Uribe Rebeca; Levy, Teresa; Dommarco J. ENSANUT MC 2016, México. Inst Nac Salud Pública. 2016;149.
2. Dewulf EM, Cani PD, Claus SP, Fuentes S, Puylaert PGB, Neyrinck AM, et al. Insight into the prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type fructans in obese women. *Gut*. 2012;gutjnl-2012.
3. (OMS) OM de la S. Informe Mundial sobre la Diabetes. World Heal Organ [Internet]. 2016;4. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254649/9789243565255-spa.pdf?sequence=1>
4. Ning C, Wang X, Gao S, Mu J, Wang Y, Liu S, et al. Chicory inulin ameliorates type 2 diabetes mellitus and suppresses JNK and MAPK pathways in vivo and in vitro. *Mol Nutr Food Res*. 2017;61(8):1–30.
5. Valenlia KB, Morshedi M, Saghafi-Asl M, Shahabi P, Abbasi MM. Beneficial impacts of *Lactobacillus plantarum* and inulin on hypothalamic levels of insulin, leptin, and oxidative markers in diabetic rats. *J Funct Foods*. 2018;46(January):529–37.
6. Association AD. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*. 2017;40(January):S11–24.
7. Liu F, Prabhakar M, Ju J, Long H, Zhou HW. Effect of inulin-type fructans on blood lipid profile and glucose level: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Clin Nutr*. 2017;71(1):9–20.
8. Mitchell CM, Davy BM, Halliday TM, Hulver MW, Neilson AP, Ponder MA, et al. The effect of prebiotic supplementation with inulin on cardiometabolic health: Rationale, design, and methods of a controlled feeding efficacy trial in adults at risk of type 2 diabetes [Internet]. Vol. 45, *Contemporary Clinical Trials*. Elsevier B.V.; 2015. 328-

337 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cct.2015.10.012>

9. Slavin J. Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Nutrients*. 2013;5(4):1417–35.
10. Geurts L, Neyrinck AM, Delzenne NM, Knauf C, Cani PD. Gut microbiota controls adipose tissue expansion, gut barrier and glucose metabolism: Novel insights into molecular targets and interventions using prebiotics. *Benef Microbes*. 2014;5(1):3–17.
11. Dehghan P, Gargari BP, Jafar-Abadi MA, Aliasgharzadeh A. Inulin controls inflammation and metabolic endotoxemia in women with type 2 diabetes mellitus: A randomized-controlled clinical trial. *Int J Food Sci Nutr*. 2014;65(1):117–23.
12. Kellow NJ, Coughlan MT, Savige GS, Reid CM. Effect of Dietary Prebiotic Supplementation on Advanced Glycation, Insulin Resistance and Inflammatory Biomarkers in Adults with Pre-diabetes. *BMC Endocr Disord* [Internet]. 2014;55. Available from: http://www.medscape.com/viewarticle/830299_1
13. Gotteland M. El papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de la obesidad y de la diabetes de tipo-2. *Rev Chil Endocrinol Diabetes*. 2013;6(4):155–62.
14. Roshanravan N, Mahdavi R, Alizadeh E, Jafarabadi MA, Hedayati M, Ghavami A, et al. Effect of Butyrate and Inulin Supplementation on Glycemic Status, Lipid Profile and Glucagon-Like Peptide 1 Level in Patients with Type 2 Diabetes: A Randomized Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Horm Metab Res*. 2017;49(11):886–91.
15. Chandalia M, Garg A, Lutjohann D, von Bergmann K, Grundy SM, Brinkley LJ, et al. Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Clin Nutr* [Internet]. 2017;49(1):55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cct.2015.10.012>
16. dos Reis SA, Lopes da Conceição L, Diniz Rosa D, dos Santos Dias MM, Gouveia Peluzio M do C. Mechanisms used by inulin-type fructans to improve the lipid profile. *Nutr Hosp*. 2015;31(2).
17. Kellow NJ, Coughlan MT, Savige GS, Reid CM. Effect of dietary prebiotic supplementation on advanced glycation, insulin resistance and inflammatory biomarkers in adults with pre-diabetes: a study protocol for a double-blind placebo-controlled randomised crossover clinical trial. *BMC Endocr Disord*. 2014;14(1):55.
18. Tsurumaki M, Kotake M, Iwasaki M, Saito M, Tanaka K, Aw W, et al. The application

of omics technologies in the functional evaluation of inulin and inulin-containing prebiotics dietary supplementation. *Nutr Diabetes*. 2015;5(11):e185.

19. Zhang N, Geng F, Hu Z-H, Liu B, Wang Y-Q, Liu J-C, et al. Preliminary study of urine metabolism in type two diabetic patients based on GC-MS. *Am J Transl Res*. 2016;8(7):2889.
20. Madrigal L, Sangronis E. La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales.
21. Torres F. Evaluación del efecto de la suplementación con inulina en el estado nutricional de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de sujetos voluntarios diagnosticados con DMT2 tratados en el Hospital General de Huitzuco, Guerrero. 2019;1:74
22. Petkova, N. T., Sherova, G., & Denev, P. P. (2018). Characterization of inulin from dahlia tubers isolated by microwave and ultrasound-assisted extractions. *International Food Research Journal*, 25(5).



10 ANEXOS

10 ANEXOS

10.1 Aprobación del Comité de Ética



GOBIERNO DEL ESTADO DE
GUERRERO
1913-1932

**COMITÉ DE INVESTIGACIÓN DE LOS SERVICIOS
ESTATALES DE SALUD GUERRERO**



Secretaría
de Salud

DICTAMEN DE APROBACIÓN

Nombre de los investigadores principales: L.N. Fernando Torres Romero.

Título del proyecto: "Evaluación del efecto de inulina sobre inflamación sistémica de bajo grado y estado de nutrición de pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2 del Hospital General de Huitzuco, Guerrero, en el periodo abril 2018 a julio 2019."

Nombre y lugar de adscripción del investigador principal: Facultad De Nutrición, Universidad Autónoma Del Estado De Morelos.

Le informamos que una vez realizada la evaluación de los documentos enviados a este Comité, se ha verificado que cumplen con el rigor metodológico y científico, por lo que han sido **APROBADOS** por el Comité de Investigación de los Servicios Estatales de Salud del estado de Guerrero y han sido inscritos en el Libro de Registros de Protocolos del Departamento de investigación en Salud/SES Guerrero con el número de folio **08160718**, los siguientes documentos:

- **Protocolo de investigación y anexos**

Nota: La revisión del presente proyecto de investigación está basado en la "Guía de evaluación de protocolos de investigación por el comité de investigación de los Servicios Estatales de Salud de Guerrero", con fundamento en la Guía Nacional para la integración y funcionamiento de los comités de ética en investigación, que emite la Comisión Nacional de Bioética 2013-2016 y el Reglamento de la Ley General de Salud, en materia de investigación en salud (artículo 17).

Le recordamos que usted puede apelar esta decisión enviando las inconformidades que estime convenientes antes de 7 días hábiles a la recepción del dictamen. Sino recibimos noticias suyas antes de ese plazo, el comité dará por archivado el proyecto, y cualquier reclamación posterior deberá hacerse en forma de una nueva petición por medio de la "Solicitud de evaluación de protocolos de investigación".

M.C. M.S.P. Omar Viveros Islas
Nombre y firma del presidente (a) del CISS

16/07/2018
Fecha

10.2 Aprobación del Hospital General de Huitzuco, Guerrero.



GOBIERNO DEL ESTADO DE
GUERRERO
2015 - 2021



Secretaría
de Salud

DEPENDENCIA: SECRETARÍA DE SALUD
SECCIÓN: HOSPITAL GENERAL DE HUITZUCO
ÁREA: ENSEÑANZA
Oficio No. SSA/HGH/21032018/000

Huitzuco de los Figueroa a 21 de marzo del 2018

ASUNTO: El que se indica.

Dra. Azucena Salazar Piña
Profesora Investigadora de Tiempo Completo
Facultad de Nutrición UAEM

Por medio de la presente, manifiesto mi interés y autorización para que el proyecto titulado: **"Evaluación del efecto de inulina sobre inflamación sistémica de bajo grado y estado de nutrición de pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2 del Hospital General de Huitzuco, Guerrero"**, se lleve a cabo en el Hospital General de Huitzuco. Dicho proyecto de investigación lo está desarrollando el L.N. Fernando Torres Romero, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición; todas las actividades realizadas dentro del nosocomio estarán supervisadas por la Dra. Alejandra Astudillo Rodríguez y el Dr. J. Félix Adaya Castro.

Cabe mencionar que la realización de este proyecto incluye únicamente el uso de expedientes de los pacientes participantes, así como pruebas bioquímicas al inicio y al final de la intervención con inulina, la cual será proporcionada por el Laboratorio de Investigación A de la Facultad de Nutrición.

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.



Atentamente,

Dr. J. Félix Adaya Castro
Director del Hospital General de Huitzuco



10.3 Carta de consentimiento informado



Universidad Autónoma Del Estado De Morelos

Facultad De Nutrición



Secretaría
de Salud



Carta de consentimiento informado para participación en protocolo de investigación

Evaluación del efecto de inulina sobre inflamación sistémica de bajo grado y estado de nutrición de pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2 del Hospital General de Huitzuc, Guerrero, en el periodo de abril 2018 a julio 2019.

Cuerpo Académico “Nutrición Experimental, Poblacional Y Clínica”
Enfermedades Crónicas No Transmisibles Relacionadas Con La Nutrición

Sede donde se realizará el estudio:

Facultad de nutrición UAEM / Hospital General Huitzuc

Nombre del participante:

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación en ciencias de la nutrición. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con la absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto. Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregara una copia firmada y fechada.

El L.N. Fernando Torres Romero está realizando un proyecto de investigación con el objetivo de evaluar el efecto de un alimento funcional (inulina) sobre la inflamación sistémica de bajo grado y el estado de nutrición en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, con el propósito de evidenciar el efecto benéfico a la salud del uso de la inulina como un coadyuvante en el tratamiento de esta enfermedad. El estudio se estará realizando en el Hospital General de Huitzuc Guerrero.

Justificación:

La diabetes es una enfermedad crónica de causas múltiples que de no tratarse adecuadamente ocasiona la pérdida de calidad de vida para quien la padecen, así como para sus familiares, y complicaciones de salud graves, como infarto del corazón, ceguera, falla renal, amputación de las extremidades inferiores y muerte prematura.

La diabetes se ha convertido en una epidemia y en un reto de salud global. Estimaciones de la Organización Mundial de la Salud indican que, a nivel mundial, de acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes, China, India, Estados Unidos, Brasil, Rusia y México, son –en ese orden– los países con mayor número de personas con diabetes. Según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), durante 2015: en total, 98,521 personas murieron por este mal, convirtiéndola en la principal causa de muertes en nuestro país.

Algunos prebióticos, como la inulina, han demostrado un efecto modulador de microbiota, el cual tiene un impacto sobre la inflamación sistémica de bajo grado, esto ayudaría a mejorar el estado de salud de pacientes con diabetes mellitus tipo 2, ya que se ha demostrado este efecto por parte de una microbiota mejor equilibrada.

Este estudio permitirá que en un futuro otros pacientes o poblaciones en general puedan beneficiarse del conocimiento obtenido logrando reducir la morbimortalidad por este padecimiento.

Objetivo del estudio:

A usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivo general estudiar la influencia del consumo de inulina sobre la inflamación sistémica de bajo grado y sus posibles beneficios en el control de glucemia en sangre y estado general de nutrición. Y como objetivos particulares:

1. Evaluar el estado de nutrición de los pacientes
2. Conteo de marcadores de inflamación
3. Evaluación de actividad física
4. Intervención con la inulina

procedimiento del estudio:

Si usted acepta participar en el estudio, ocurra lo siguiente:

Se le medirán indicadores antropométricos: peso, talla, circunferencia de cintura y cadera, medición de pliegues cutáneos de brazo y determinación de porcentaje de grasa y musculo utilizando una báscula de bioimpedancia. Se le realizara una evaluación bioquímica: en donde se le extraerán 10 ml de sangre para determinar glucosa en ayuno, triglicéridos, colesterol total y colesterol de bajo y alta densidad a igual que marcadores de inflamación. También, se le aplicaran cuestionarios para evaluar su dieta, actividad física y adherencia al tratamiento, con una duración aproximada de 10 minutos cada uno.

Le aclaramos que las mediciones antropométricas, la extracción de sangre y los cuestionarios, serán realizados por personal capacitado, se realizarán en dos ocasiones, una al principio del estudio y otra al final y se llevarán a cabo en el mismo hospital. Solo el cuestionario dietético lo tendrá que contestar en casa 3 veces por semana durante 3 semanas no consecutivas.

Riesgos asociados al estudio:

Los riesgos potenciales que implican su participación en este estudio son mínimos. Durante la extracción de muestra de sangre puede presentar dolor en el momento y un pequeño moretón después de la toma de muestra, el material que se utilizará será nuevo y estéril.

Confidencialidad:

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

Aclaraciones:

Usted no recibirá ningún beneficio directo por su participación en este estudio, sin embargo, si usted acepta participar, además de estar colaborando en el desarrollo de estrategias para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2, su estado de nutrición será evaluado minuciosamente por personal capacitado y de ser afirmativa la hipótesis de investigación presentará beneficios a su salud.

Usted no recibirá ningún pago por participar en el estudio, y tampoco implicará algún costo para usted.

La participación en este estudio es absolutamente voluntaria. Usted está en plena libertad de negarse a participar o de retirar su participación del mismo en cualquier momento. Su decisión de participar o de no participar no afectará de ninguna manera la forma en cómo le tratan en el Hospital General de Huitzuco Guerrero.

Si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación con respecto al proyecto, por favor comuníquese con la Dra. Azucena Salazar Piña, investigadora responsable de la investigación, al siguiente número telefónico: 7772678327.

Si usted acepta participar en el estudio, le entregaremos una copia de este documento que le pedimos sea tan amable de firmar.

Consentimiento para su participación en el estudio

Si considera que no hay duda ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado.

Yo, _____

he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en este estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo voluntariamente participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Nombre del participante:

Fecha:

Día/Mes/Año

Firma: _____

Nombre completo y firma de testigo 1:

Fecha:

Día/Mes/Año

Firma: _____

Nombre completo y firma de testigo 2:

Fecha:

Día/Mes/Año

Firma: _____

Nombre de la persona que obtiene el consentimiento:

Fecha:

Día/Mes/Año

Firma: _____

Carta De Revocación Del Consentimiento

Título del protocolo:

Nombre completo del participante:

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este protocolo de investigación por las siguientes razones:

Firma del participante: _____

Nombre completo de testigo:

Firma de testigo: _____

10.4 Cuestionario Internacional de Actividad Física

CUESTIONARIO INTERNACIONAL DE ACTIVIDAD FÍSICA (IPAQ)

Nos interesa conocer el tipo de actividad física que usted realiza en su vida cotidiana. Las preguntas se referirán al tiempo que destinó a estar activo/a en los últimos 7 días. Le informamos que este cuestionario es totalmente anónimo.

Muchas gracias por su colaboración

1.- Durante los últimos 7 días, ¿en cuántos realizo actividades físicas intensas tales como levantar pesos pesados, cavar, ejercicios hacer aeróbicos o andar rápido en bicicleta?	
Días por semana (indique el número)	
Ninguna actividad física intensa (pase a la pregunta 3)	<input type="checkbox"/>
2.- Habitualmente, ¿cuánto tiempo en total dedicó a una actividad física intensa en uno de esos días?	
Indique cuántas horas por día	
Indique cuántos minutos por día	
No sabe/no está seguro	<input type="checkbox"/>
3- Durante los últimos 7 días, ¿en cuántos días hizo actividades físicas moderadas tales como transportar pesos livianos, o andar en bicicleta a velocidad regular? No incluya caminar	
Días por semana (indicar el número)	
Ninguna actividad física moderada (pase a la pregunta 5)	<input type="checkbox"/>
4.- Habitualmente, ¿cuánto tiempo en total dedicó a una actividad física moderada en uno de esos días?	
Indique cuántas horas por día	
Indique cuántos minutos por día	
No sabe/no está seguro	<input type="checkbox"/>
5.- Durante los últimos 7 días, ¿en cuántos días caminó por lo menos 10 minutos seguidos?	
Días por semana (indique el número)	
Ninguna caminata (pase a la pregunta 7)	<input type="checkbox"/>
6.- Habitualmente, ¿cuánto tiempo en total dedicó a caminar en uno de esos días?	
Indique cuántas horas por día	
Indique cuántos minutos por día	
No sabe/no está seguro	<input type="checkbox"/>
7.- Durante los últimos 7 días, ¿cuánto tiempo pasó sentado durante un día hábil?	
Indique cuántas horas por día	
Indique cuántos minutos por día	
No sabe/no está seguro	<input type="checkbox"/>

10.5 Test de Morisky-Green

Test de Morisky-Green
Evaluación del cumplimiento terapéutico
Este test será implementado por el investigador

Nombre: _____ **Código de identificación:** _____

1. ¿Olvida alguna vez tomar los medicamentos para tratar su enfermedad?
Sí No
2. ¿Toma los medicamentos a las horas indicadas?
Sí No
3. Cuando se encuentra bien, ¿deja de tomar la medicación?
Sí No
4. Si alguna vez le sienta mal, ¿deja usted de tomarla?
Sí No

10.6 Test de Haynes-Sackett

Evaluación del nivel de cumplimiento terapéutico
Este test será implementado por el investigador

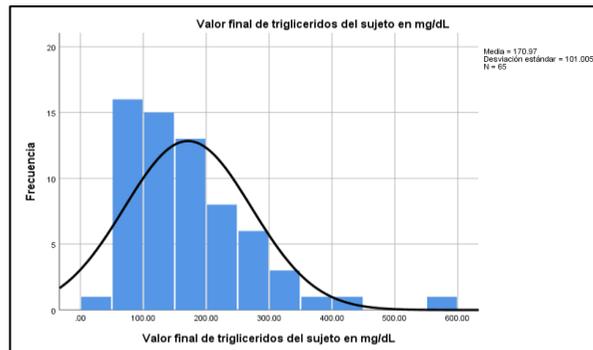
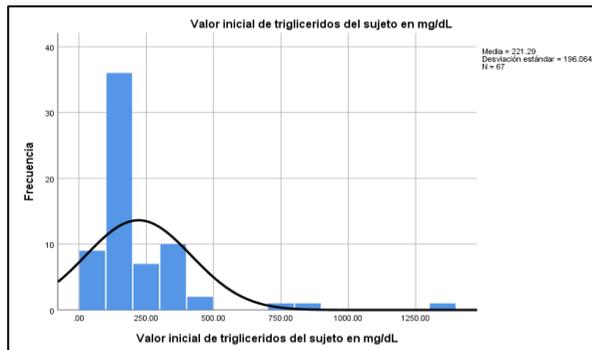
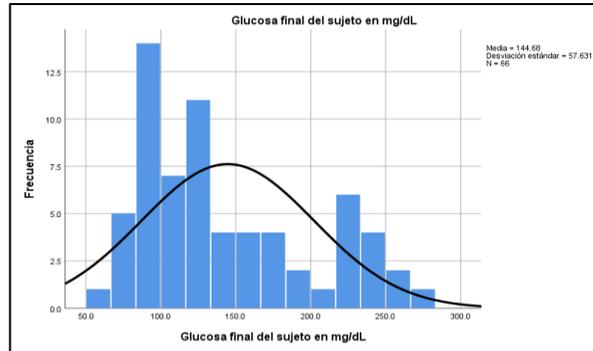
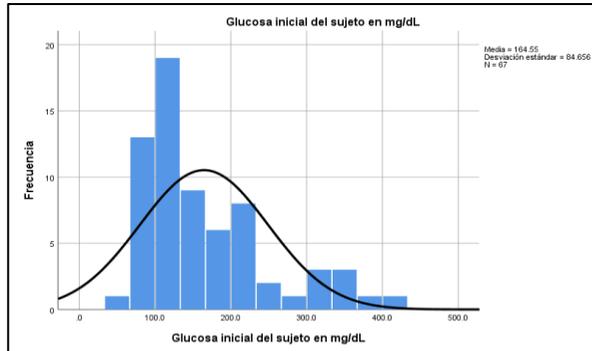
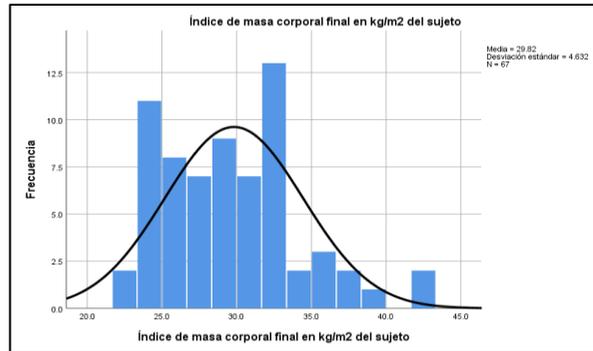
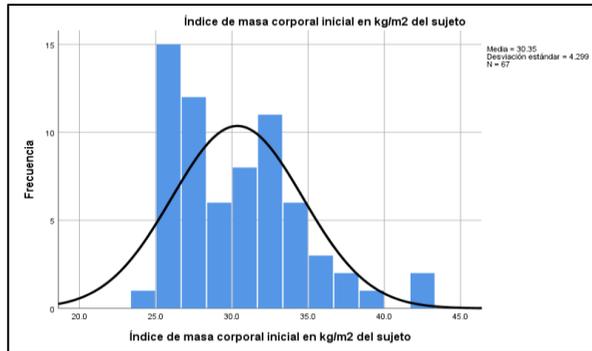
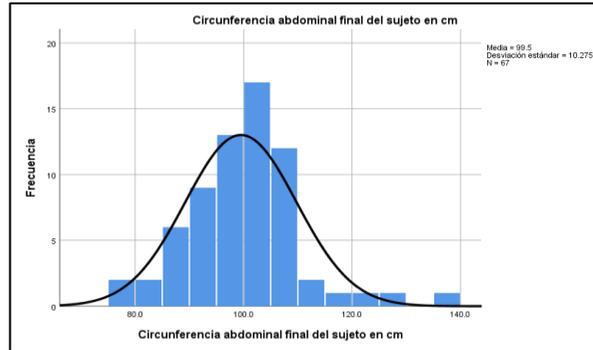
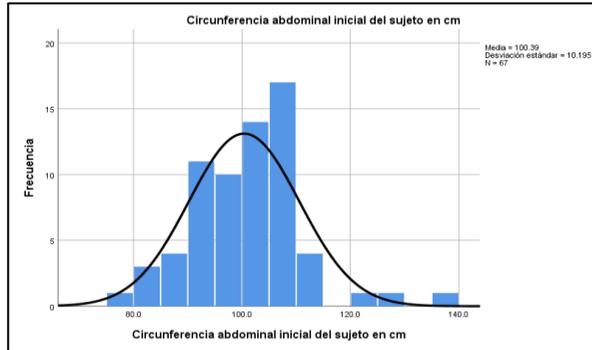
Nombre: _____ **Código de identificación:** _____

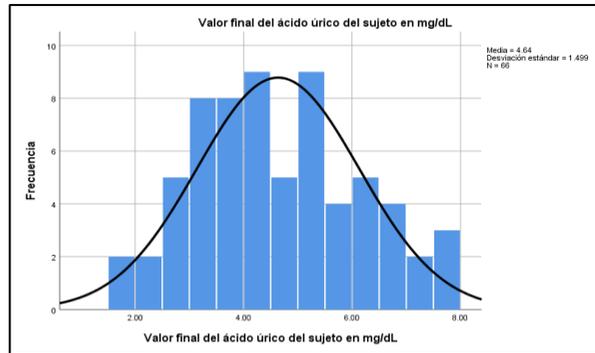
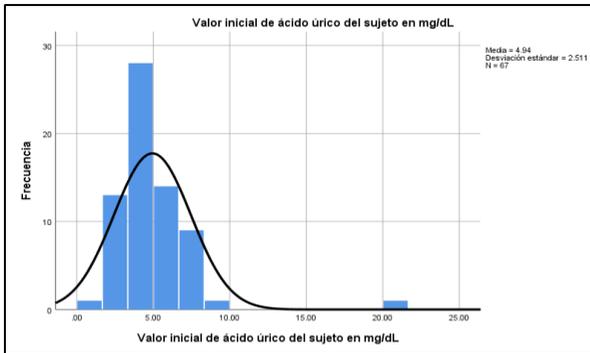
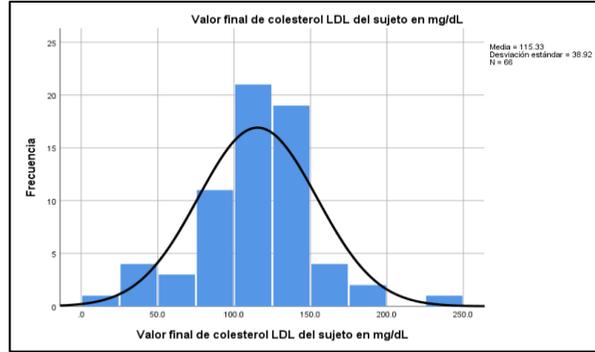
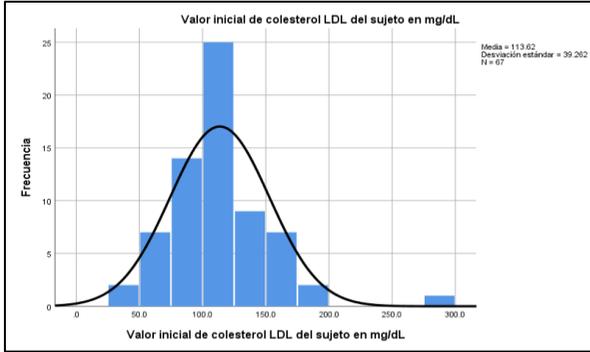
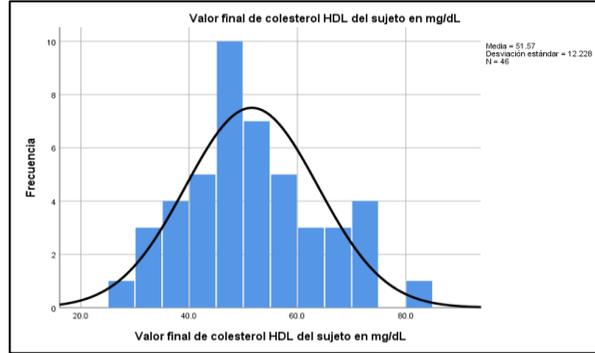
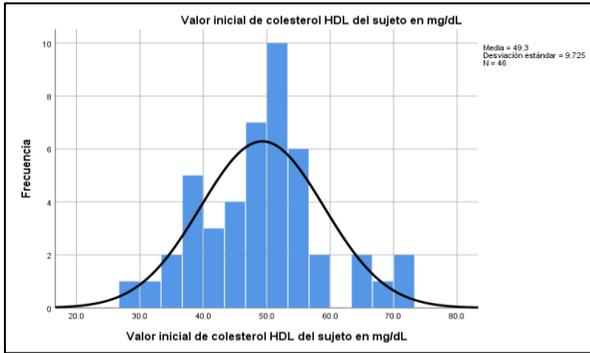
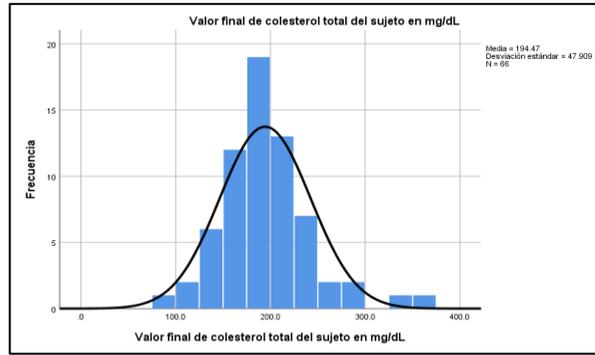
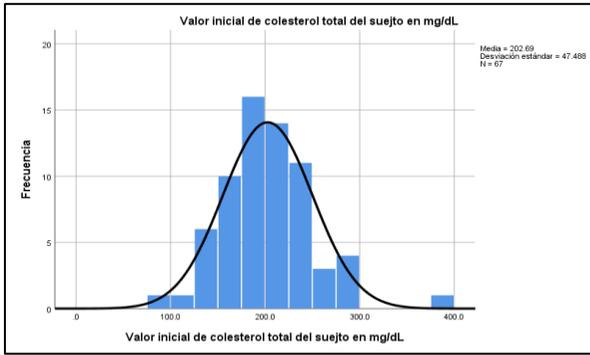
1. La mayoría de las personas, por una u otra razón, tienen dificultad en tomar comprimidos. ¿Tiene usted dificultad en tomar todos los suyos?
Sí No
2. Para los que respondan que no tienen dificultad, se insiste: ¿los toma?
Todos los días Muchos días Algunos días
3. Muchas personas tienen dificultad en seguir los tratamientos. ¿Por qué no me comenta cómo le va a usted? (recoger lo que diga el paciente)

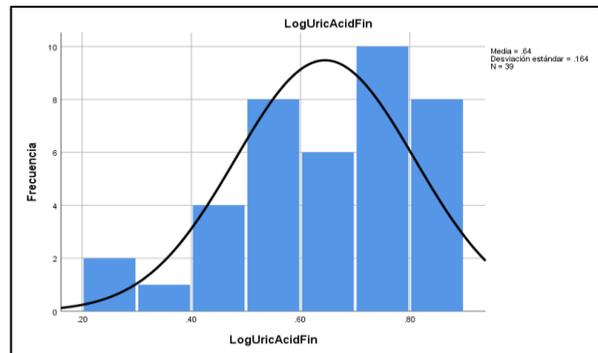
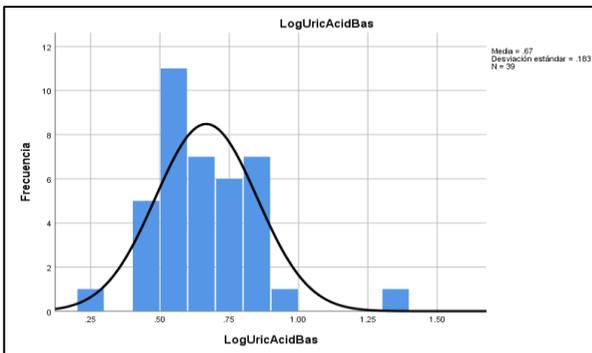
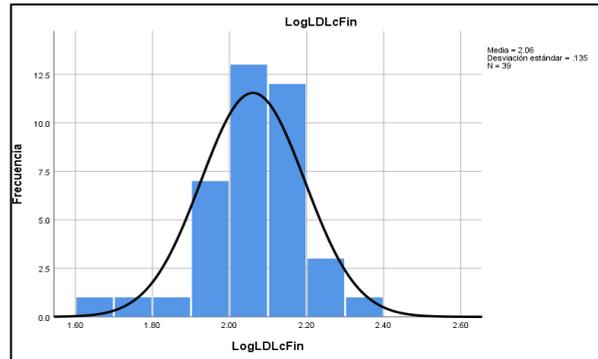
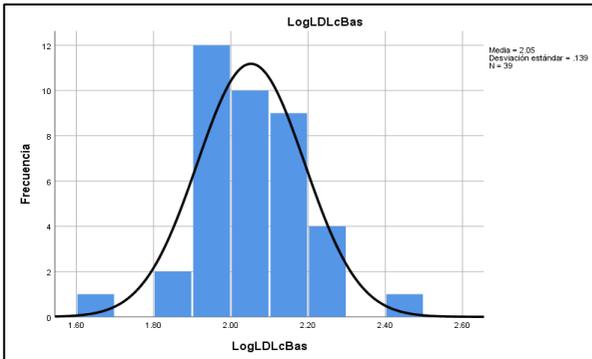
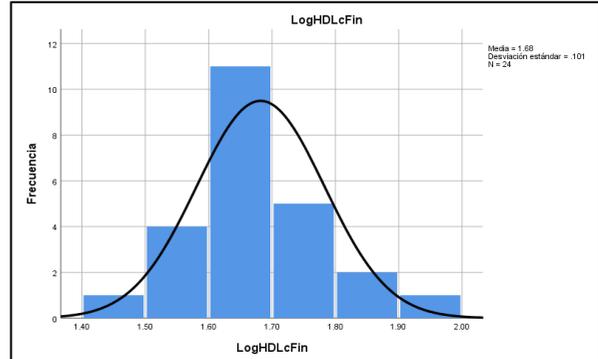
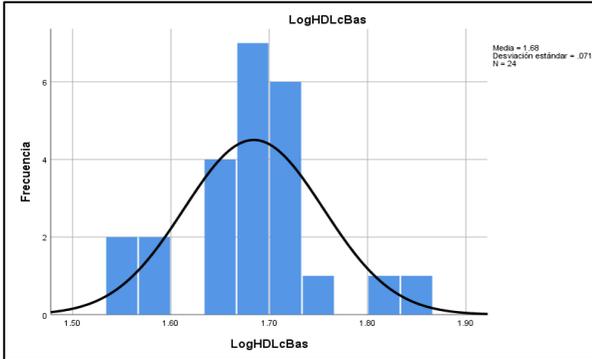
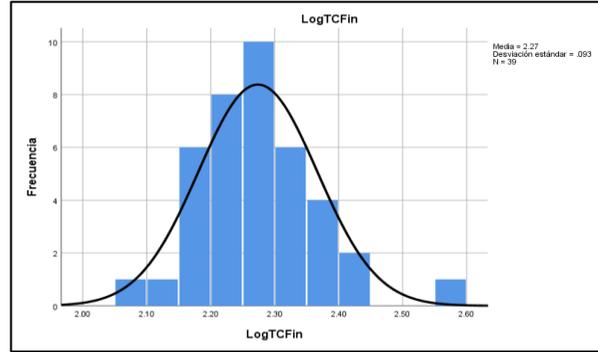
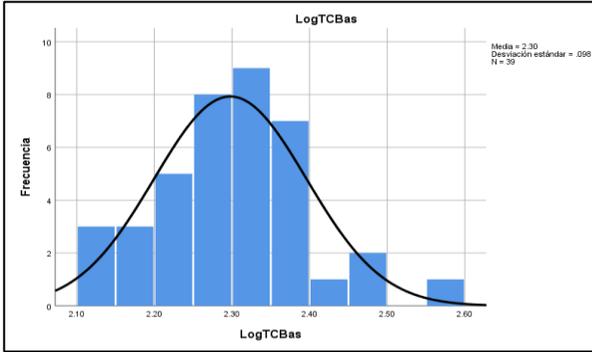
10.8 Operacionalización de variables de la intervención en sujetos mexicanos con DMT2

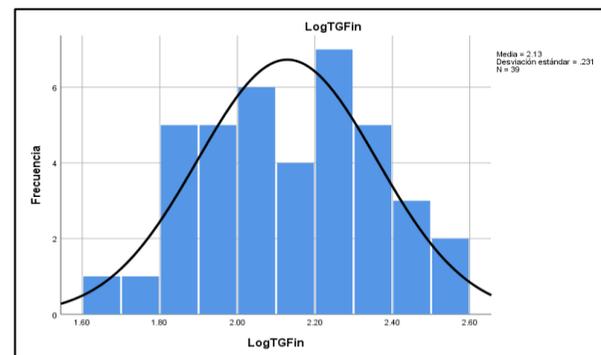
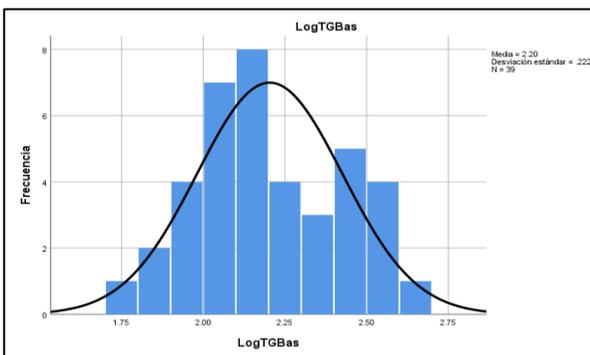
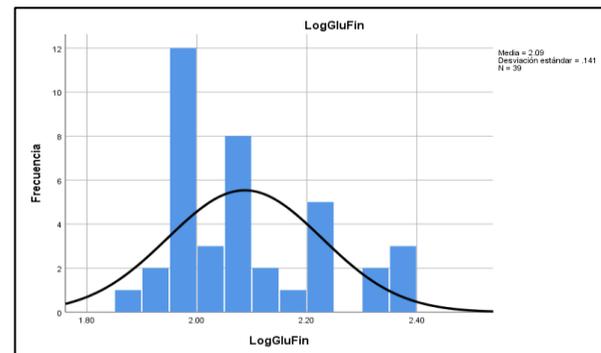
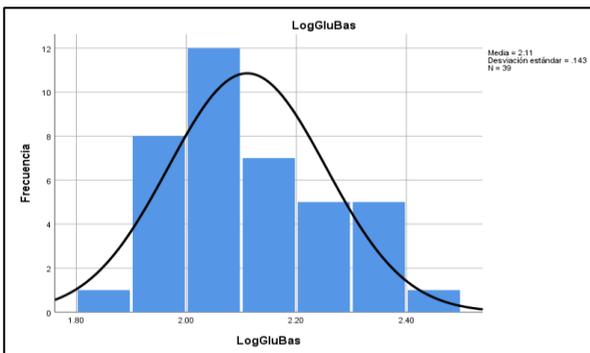
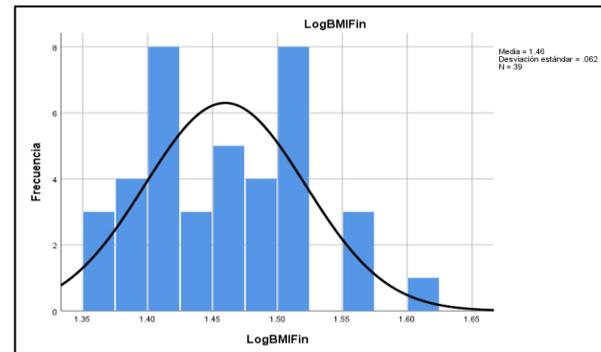
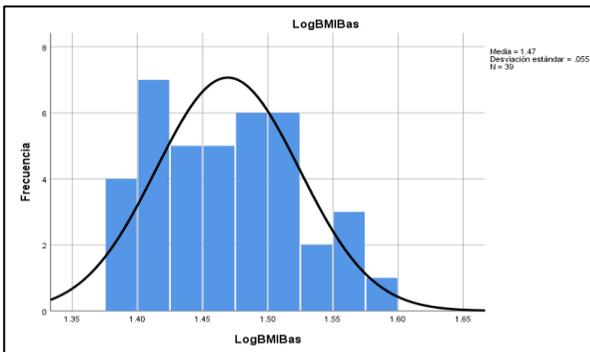
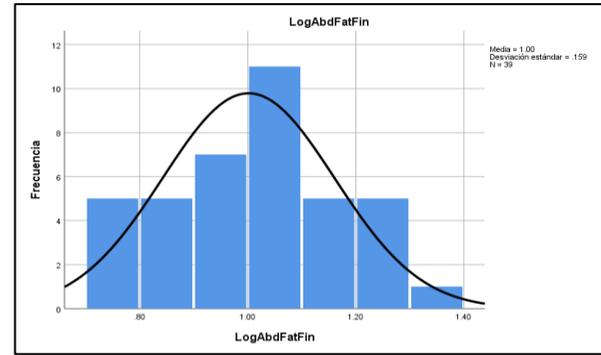
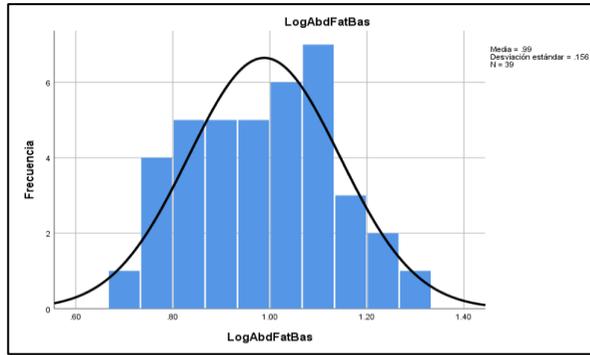
Operacionalización de variables						
Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Indicador/ Instrumento	Indicadores	Variable	Escala de medición
Inulina	La inulina es un prebiótico de polímero de fructosa unidos por enlaces β (2 \rightarrow 1)	Consumo por sujetos con DMT2 de 10g al día por 2 meses.	Test: Morisky-Green y Haynes-Sackett	Consumo de los gramos ingeridos durante todo el tratamiento.	Cuantitativa	Discreta
Estado nutricional	Estado nutricional es la situación en la que se encuentra una persona en relación con la ingesta y adaptaciones fisiológicas que tienen lugar tras el ingreso de nutrientes.	Datos obtenidos por medición antropométrica, bioimpedancia y análisis bioquímico	Estadiómetro Cinta Métrica Báscula de bioimpedancia Muestras sanguíneas	IMC (kg/m²) OMS 18.5-24.9 Normal 25.0-29.9 Sobrepeso 30.0-34.9 Obesidad I 35.0-39.9 Obesidad II \geq 40 Obesidad III	Categoría	Ordinal
				Masa Grasa (%) Nieman DC <i>Mujeres:</i> \leq 5 Muy bajo 6-15 bajo aceptable 16- 24 alto aceptable \geq 25 obesidad <i>Hombres:</i> \leq 8 Muy bajo 9-23 bajo aceptable 24-31 alto aceptable \geq 32 obesidad		Ordinal
				Masa muscular (%) <i>Mujeres:</i> 24-30 Normal >30 Elevado <i>Hombres:</i> 33-39 Normal >39 Elevado		Ordinal
				Perímetro abdominal (cm) <i>Mujeres:</i> <80 Saludable sin riesgo \geq 80 Riesgo incrementado \geq 88 Riesgo sustancialmente incrementado <i>Hombres:</i> <90 Saludable sin riesgo \geq 94 Riesgo incrementado \geq 102 Riesgo sustancialmente incrementado		Ordinal
				Glucosa (mg/dl) Normal: 70-130 Elevada: >130-250 Glucotoxicidad: >250		Categoría
				Triglicéridos (mg/dl) Adecuado: <150 Límite alto: >150-199 Elevado: 200-499 Muy elevado: >500		Categoría
				Colesterol Total (mg/dl) Adecuado: <200 Límite alto: 200-239 Elevado: >240		Categoría
				Colesterol HDL (mg/dl) Bajo: <40 Benéfico: \geq 60 Normal: 40-59		Categoría
				Colesterol LDL (mg/dl) Óptimo: < 100 Adecuado: 100-129 Límite alto:130-159 Elevado: 160-189 Muy elevado: \geq 190		Categoría
				Ácido úrico (mg/dl) <i>Hombre:</i> 2.5-8.0 Normal <i>Mujer:</i> 1.5-6.0 Normal		Categoría

10.9 Histogramas de las variables originales y transformadas

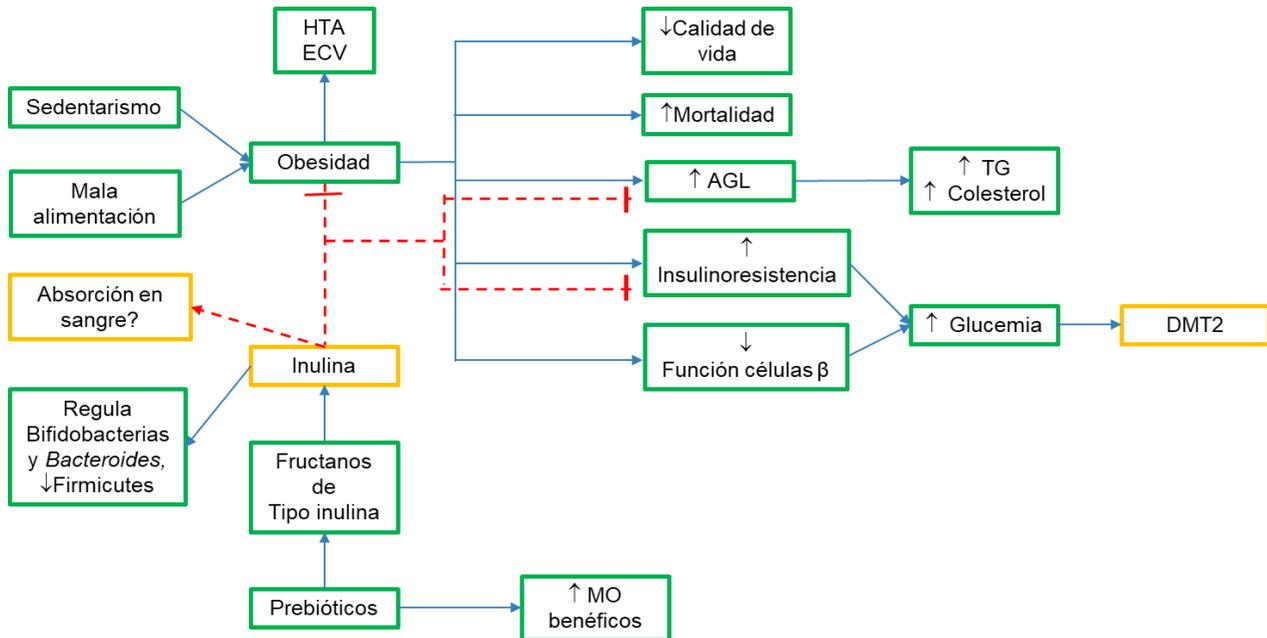








10.9 Cuadro de causalidad



HTA: Hipertensión arterial, **ECV:** Enfermedades Cardio Vasculares, **MO:** Microorganismos, **AGL:** Ácidos Grasos Libres, **DMT2:** Diabetes Mellitus Tipo 2.

10.10 Cuadro de causalidad

SIGMA-ALDRICH®

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

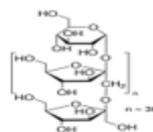
Website: www.sigmaaldrich.com

Email USA: techserv@sial.com

Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of AnalysisProduct Name:
Inulin from chicory

Product Number:	I2255
Batch Number:	SLBT3666
Brand:	SIGMA
CAS Number:	9005-80-5
MDL Number:	MFC00131407
Quality Release Date:	23 MAR 2017



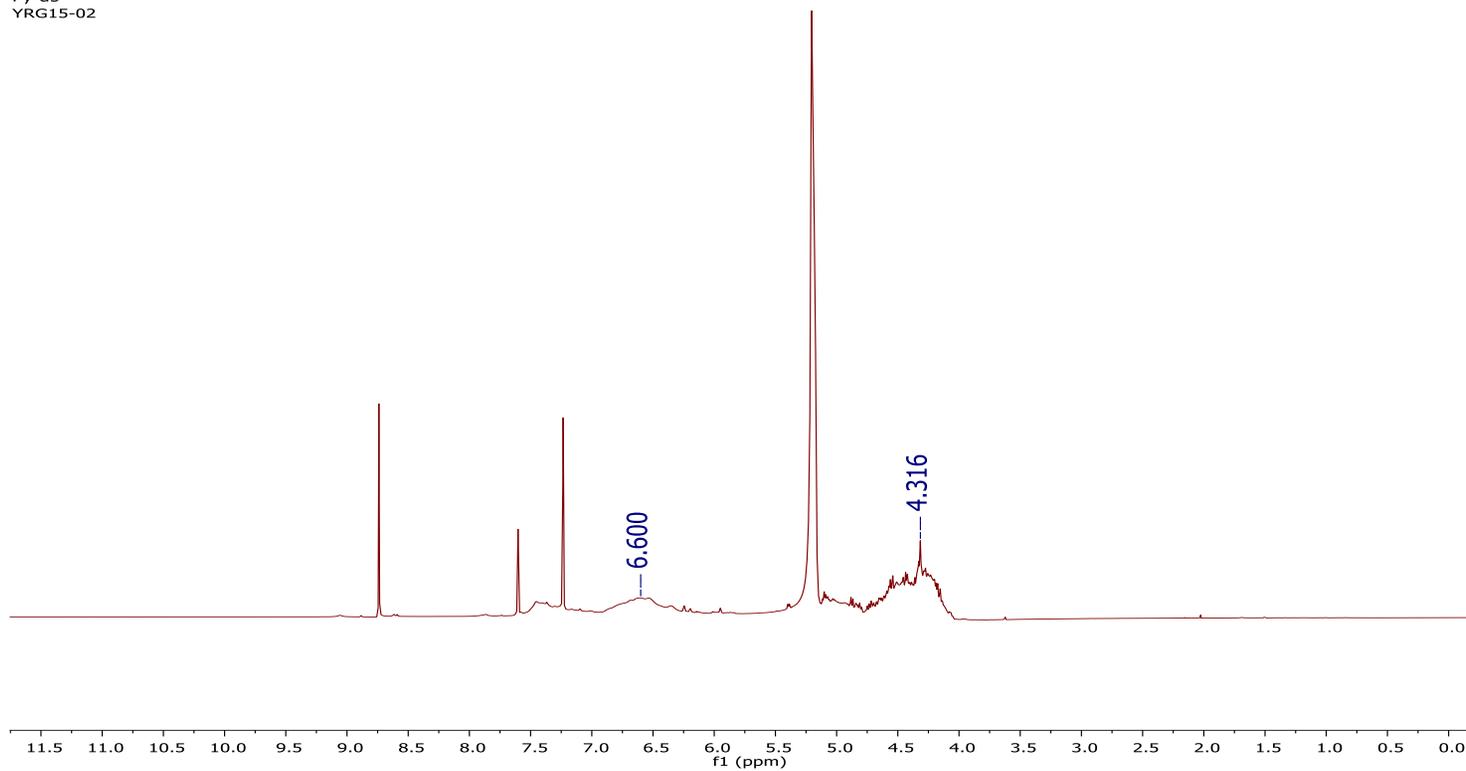
Test	Specification	Result
Appearance (Color)	White	White
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color)	Colorless	Colorless
Solubility (Turbidity) 100 mg/mL, H ₂ O	Clear to Hazy	Very Slightly Hazy
Water (by Karl Fischer)	< 15 %	4 %
Free Glucose by enzymatic assay	< 0.05 %	0.00 %
Free Fructose by enzymatic assay	< 0.05 %	0.01 %
Ratio Fructose: Glucose (> = 20:1)	Conforms	Conforms

Rodney Burbach, Manager
Analytical Services
St. Louis, Missouri US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

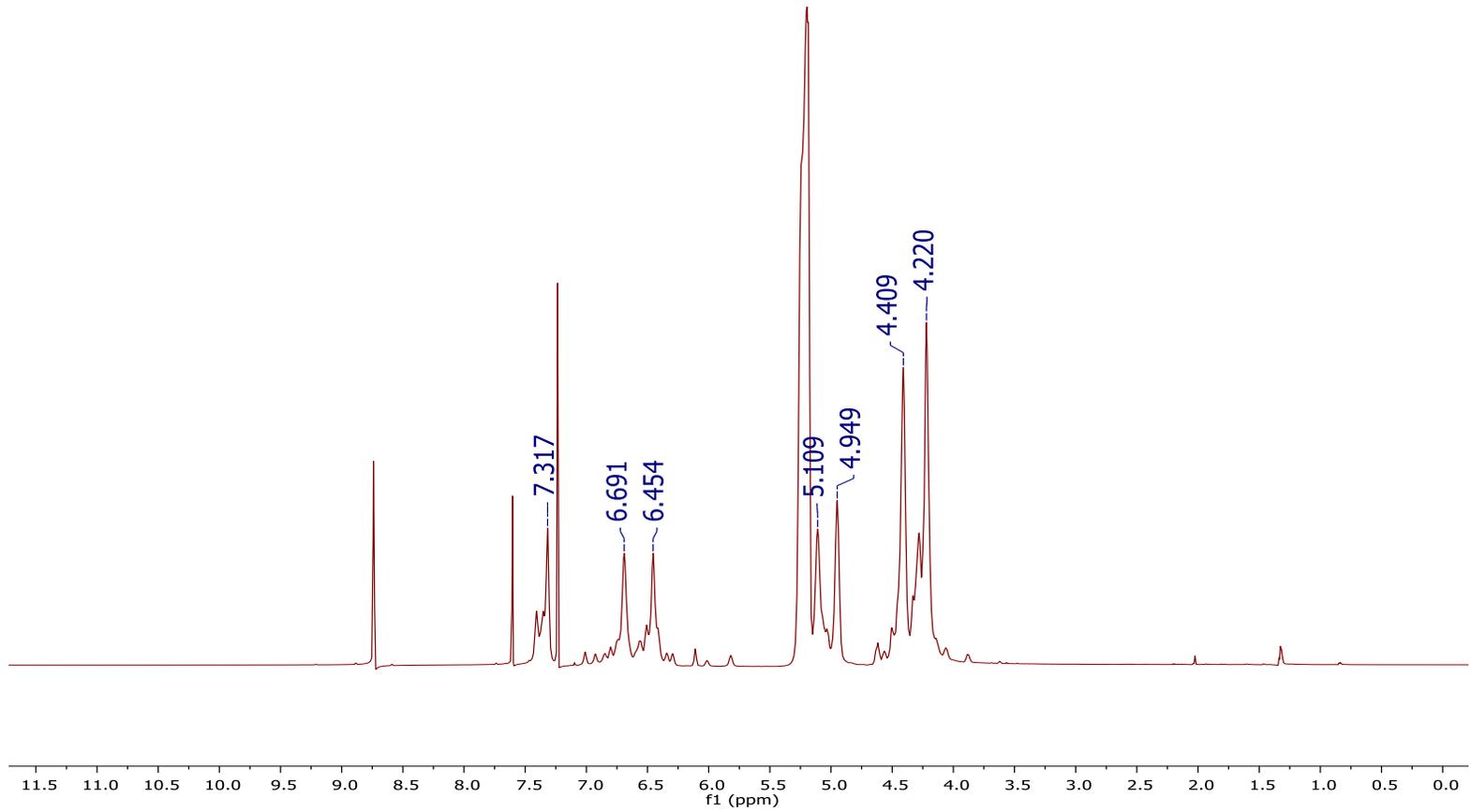
10.9 Espectros de RMN-1H con desplazamientos químicos

MUESTRA COMERCIALIZADA COMO INULINA DE AGAVE
RMN-1H
600MHz
Py-d5
YRG15-02



RMN-1H de muestra comercializada como inulina de agave, py-d₅, 600 MHz.

INULINA CON CERTIFICADO DE ANÁLISIS
RMN-1H
600MHz
Py-d5
YRG15-03



RMN-¹H de inulina con certificado de análisis, py-d₅, 600 MHz.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE NUTRICIÓN

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

Voto Sinodal.

COMISIÓN ACADÉMICA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por Lilia Dalila Cruz Martinez, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10022625, y que lleva por título “**ANÁLISIS DE INTERVENCIONES CON INULINA COMERCIAL Y ESTUDIO DE SÁCARIDOS COMERCIALIZADOS COMO INULINA DE AGAVE UTILIZADOS EN UNA INTERVENCIÓN DE SUJETOS MEXICANOS CON DIABETES.**”, ha sido revisado asatisfacción, me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el jurado de examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva darle a la presente.

A t e n t a m e n t e

Dra. América Ivette Barrera Molina
SINODAL PRESIDENTE.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE

ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

AMERICA IVETTE BARRERA MOLINA | Fecha:2020-11-14 23:49:56 | Firmante

MfklaiSY+IIVNmKF9kHpgOJ7CN9XVFSrhcPAN0moZRqc3ZpDdxFiuHQ2IFJ/HEzkePqWGVUHY6bMUxbjyVnExj4FTMdlCWIBbtxFQ2ofdM/v3P+8TDVpxkMWeb8sr9UnBDsT4w+81m12jk8KMHn8ISYRH6EuCrjWWMXhffTzpayg1w2E713DbJB7k7zaeG8WrT19ktbzok7ZQ/Yk1OzKUbBqjSkx2asyvSp56romTbzhl1WXbXXVHduFjinuJeqpn2K6cMd4lTr50EhL+hFc1aqFBOELJ7nb32uVlzK3EPZu4/zRndsg+OTTu5ycBkrrJvGzStpwUB6WXjdOH/Q==



Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

Yp2gW6

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Eq3ou8WSAFgRugfWCzswrMdyYYxD7qwd>



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

Voto Sinodal.

**COMISIÓN ACADÉMICA DE
LA MAESTRÍA EN CIENCIAS
DE LA NUTRICIÓN
PRESENTE**

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por Lilia Dalila Cruz Martínez, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10022625, y que lleva por título **“ANÁLISIS DE INTERVENCIONES CON INULINA COMERCIAL Y ESTUDIO DE SÁCARIDOS COMERCIALIZADOS COMO INULINA DE AGAVE UTILIZADOS EN UNA INTERVENCIÓN DE SUJETOS MEXICANOS CON DIABETES.”**, ha sido revisado a satisfacción, me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el jurado de examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva darle a la presente.

A t e n t a m e n t e

Dra. Ollin Celeste Martínez Ramírez

SINODAL SECRETARIO .



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2

(COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE

ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

OLLIN CELESTE MARTINEZ RAMIREZ | Fecha:2020-11-30 11:15:06 | Firmante

brgVlz5s+rzv4Ykpm/ol9w3B3H0SPQtubq5US8LdA29bg56Wf2RVfjpx+3VGn2aj3iNZGwPU92QALTNdOhSbea+V1LWvtvZzqhUCri4JBOaRz6zoW6FtH5jMichyO7xAh4PIf
u6u4CkKRTcZSTO6rQzGdkZRkuSO8A8BZQSYUKE3ntYWF76t1sx7u9qFhA8+8Dx6DFskgSsbvMF1n5AD/tUEa4SkEfbdB4uxoNlii5I6b29OGt9ZcX1UL2+rrNwFsgIXn1fa
nk4/y671yWUSOqLjBpS+Xnlu3HYWRV+59MO3qVTFZuGzOhnbsMCMV6ezLsdbw6f+wKfTtXHi9S1YQ==



Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica oescaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

[5if1x](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/JynFv1lwQrBUqMaY8x0lpp8LJIONIhRz>



MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

Voto Sinodal.

COMISIÓN ACADÉMICA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por Lilia Dalila Cruz Martinez, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10022625, y que lleva por título “**ANÁLISIS DE INTERVENCIONES CON INULINA COMERCIAL Y ESTUDIO DE SÁCARIDOS COMERCIALIZADOS COMO INULINA DE AGAVE UTILIZADOS EN UNA INTERVENCIÓN DE SUJETOS MEXICANOS CON DIABETES.**”, ha sido revisado a satisfacción, me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el jurado de examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva darle a la presente.

A t e n t a m e n t e

Dra.Margarita de Lorena Ramos García
SINODAL VOCAL .



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el

27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE

ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MARGARITA DE LORENA RAMOS GARCIA | Fecha:2020-11-30 11:21:18 | Firmante

aY8oX6TEwK8kDd+n0AiZmA5R19KGY2rDqbaXJD0pxu/o5CMzkJOWciP/larJYLqnD6YsBV3pUArAgaQM1jMcAWOI moDVkYBdq18WYN3DfqKfvZwt35/mLmZjhHgbSrsc/XCbs5I
SE4fyGTGgHRW48z+xgoz7z506JPYpYhSMac26FjP9Z0/PQHUU0Y2sHFu6QLQLupR38C4i4roiS/GcBh47Bdv1XbAXSiHfvrazY+XXaViKXbGOAu/RNrtXuQAIGOBZjiefB2q923
mNkfak1Im0UHXg9c7+JPln0IP4QHov4P5YrQSh/fkDvWa883kYpE3ZKioH+d0FN8biJQ==



Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

WEeTYh

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/j8O1PbdbA4DrRKNFXCisOdZirfXMhsID>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE NUTRICIÓN

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

Voto Sinodal.

COMISIÓN ACADÉMICA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por Lilia Dalila Cruz Martinez, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10022625, y que lleva por título **“ANÁLISIS DE INTERVENCIONES CON INULINA COMERCIAL Y ESTUDIO DE SÁCARIDOS COMERCIALIZADOS COMO INULINA DE AGAVE UTILIZADOS EN UNA INTERVENCIÓN DE SUJETOS MEXICANOS CON DIABETES.”**, ha sido revisado a satisfacción, me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el jurado de examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva darle a la presente.

A t e n t a m e n t e

Dra.Ma.Yolanda Rios Gomez
SINODAL Suplente .





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MA. YOLANDA RIOS GOMEZ | Fecha:2020-11-30 12:09:08 | Firmante

GcMYo2zfKK91xdSz71b+0ZSHhfkfSmRdR5HtNnl2RKGFuvaNmcFn9gl8P59fe/ffITvyymMd8yA27bp0s7P2kZa59gMzqlx0Et4qvCF88jetENHfrxubucgh4lzofJhgAzhrEfVm1VVYfxBgT7Wf6wVZ+t8X4+EhanfvO56+rOrL+boo5L6mpdnyvCRHHEU72xhQWubQtgUzHN+aY2+5fUNNFoBqZiPDzYkgBTv52eXEKlax+NwKJrogrij7e0LN2Je1frvllKYmxLZ6XQDOR6EqloFhK9M/AZEtysUHarRcY1rRWYbHohGeYoyR8tCL6Vrwe+Ckn7APUUXbjwL7aw==



Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

NEXg2R

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/0e6giwr1tf3rjllxnouDe2XZ71QBdl4>





MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

Voto Sinodal.

COMISIÓN ACADÉMICA DE
LA MAESTRÍA EN CIENCIAS
DE LA NUTRICIÓN
PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por Lilia Dalila Cruz Martinez, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10022625, y que lleva por título “**ANÁLISIS DE INTERVENCIONES CON INULINA COMERCIAL Y ESTUDIO DE SÁCARIDOS COMERCIALIZADOS COMO INULINA DE AGAVE UTILIZADOS EN UNA INTERVENCIÓN DE SUJETOS MEXICANOS CON DIABETES.**”, ha sido revisado a satisfacción, me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el jurado de examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva darle a la presente.

Atentamente

Dra. Maria de los Angeles Ramirez Cisneros
SINODAL Suplente .



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el

27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE

ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MARIA DE LOS ANGELES RAMIREZ CISNEROS | Fecha:2020-11-30 06:18:42 | Firmante

ZRW2QQZP0XZTDFjasqkPtwU7EZAzNuC9QP+bj7grWtIYLZNe7hmBxaZVZQ3dHG3OQURaNLJSrZWWVl6Avvr9Myw1h24Ky0hRI47bEI6e7KFyc1q7NmOFb/cm8ikfgxsBEXb

Cc1NUdoSjF/nSw/NPIXSnPqQI08FxtldxSEH1b78zDy8vjMd+/Pa5Nsmt95R2v/gFjmCqBzLXWqzDTK9zpmVV5KrQrGMD5QXCjQnLBQqfu3SYRGe4yyFB/DLgGfYxoAWzVXiWH GuBHq8Tbt754x8a08ICEkG5asdxGoBs8X4z47FDNzDTtk789uDNEt4ZG1x9pq9Q05xfsbk2fHQ==



Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

K
5
F
d
x
3

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/bNfOuwcfSiVCrziWqYAycaYrUH0PI8wa>



