



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Doctorado en Ciencias Biomédicas

Nutrición Personalizada para la Predicción de la Respuesta Glucémica Postprandial a una Estrategia Dietaria

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE DOCTORA EN
CIENCIAS

P R E S E N T A

M. en C. María del Rocío Guizar Heredia

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Armando R. Tovar Palacio

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Comité tutor

Dra. Martha Guevara Cruz, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y
Nutrición Salvador Zubirán

Dra. Andrea Sachi Díaz-Villaseñor, Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

Ciudad Universitaria, CDMX.

Octubre, 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Índice

1. Introducción	2
2. Antecedentes	3
2.1 Glucemia posprandial	3
2.1.1 Implicaciones en la respuesta glucémica posprandial	5
2.1.2 Predicción de la respuesta glucémica posprandial	6
2.1.3 Variabilidad interindividual a la respuesta glucémica posprandial	6
2.2 Nutrición personalizada	11
2.3 Microbiota intestinal	12
2.4 Proteína dietaria y la microbiota intestinal	13
2.4.1 Efecto de la microbiota intestinal sobre la respuesta glucémica posprandial	14
2.4.2 Asociación entre la proteína dietaria, la microbiota intestinal y el metabolismo de la glucosa	19
3. Planteamiento del problema	20
4. Justificación	21
5. Hipótesis	21
6. Objetivo General	22
6.1 Objetivos Particulares	22
7. Metodología	22
7.1 Diseño del estudio transversal	22
7.2 Criterios de selección	23
7.3 Variables del estudio	24
Cuantitativa continúa	26
Cuantitativa continúa	26
Cuantitativa continua	26
Cuantitativa continua	26
Cuantitativa continua	26
7.4 Maniobra de la consulta	27
7.5 Técnicas utilizadas y mediciones	27
7.6 Categorización y definición de glucemia	29
7.7 Clasificación de la curva de respuesta de glucosa	30
7.8 Cálculo tamaño de muestra	30
7.9 Análisis estadístico	31

7.10 Preceptos éticos para la investigación en humanos.....	32
7.11 Diseño del estudio clínico.....	32
7.12 Criterios de selección.....	32
7.13 Variables del estudio.....	33
Cuantitativa continúa	35
Cuantitativa continúa	35
Cuantitativa continua	36
Cuantitativa continua	36
Cuantitativa continua	36
7.14 Maniobra de la consulta	36
7.15 Técnicas utilizadas y mediciones.....	39
7.16 Cálculo del tamaño de muestra.....	42
7.17 Análisis estadístico.....	42
7.18 Preceptos éticos para la investigación en humanos.....	44
8. Resultados	45
8.1 Resultados estudio transversal	45
8.1.1 Descripción de la población de estudio.....	45
8.2 Resultados estudio clínico.....	52
8.2.1 Descripción de la población de estudio.....	52
9. Discusión.....	60
9.1 Estudio transversal	60
9.2 Estudio clínico.....	60
10. Conclusión.....	60
10.1 Estudio transversal.....	60
11. Bibliografía	60

Abreviaturas

≥	Mayor o igual que
<	Menor que
%	Porcentaje
±	Más menos
α	Alfa
β	Beta
σ	Sigma
μL	Microlitro
μM	Micromol
μUI/mL	Micro unidades internacionales sobre mililitros
°C	Grados centígrados
2 h	Dos horas
8 h	Ocho horas
ADN	Ácido desoxirribonucleico,
AMPc	Adenosin monofosfato cíclico
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
ARNr	Ácido ribonucleico ribosomal
ASV	Variantes de secuencias de amplicones
AUC	Area under the curve
dAUC	Daytime area under the curve
nAUC	Nighttime area under the curve
tAUC	Total area under the curve
BMI	Body mass index
c-HDL	Colesterol de lipoproteinas de alta densidad
c-LDL	Colesterol de lipoproteína de baja densidad
cm	Centímetros
cm ³	Centímetros cúbicos
CONGA	continuous overall net glycemic action
CT	Colesterol total
CTOG	Curva de tolerancia a la glucosa
CV	Coeficiente de variación
DADA2	Amplicones divisivos 2
DE	Desviación estándar
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
ELISA	Enzimoimmunoanálisis de adsorción
FMOC	Cloroformiato 9-Fluorenilmetil
g	Gramos
GIP	Polipéptido intestinal gástrico
GLP-1	Péptido similar al glucágon
GPR41/43	Receptores acoplados a proteína G
HCL	Ácido clorhídrico
HbA1c	Hemoglobina glucosilada
HOMA-IR	Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia

IMC	Índice de Masa Corporal
INCMNSZ	Instituto Nacional de Ciencias Médicas Y Nutrición Salvador Zubirán
IRS-1	Sustrato 1 del receptor de insulina
ISNN	Sociedad Internacional de Nutrigenética y Nutrigenómica
Kg	Kilogramos
MAGE	mean amplitude of glycemic excursions
MG	Masa grasa
mg/dL	Miligramo sobre decilitro
min	Minutos
mL	Mililitro
mM	Milimolar
mmHg	Milímetros de mercurio
mmol/L	Milimol sobre litro
MODD	mean of daily differences
mUI/mL	Mili unidades internacionales sobre mililitros
mTOR	Diana de rapamicina en células de mamífero
N	Normal
Na ₂ HPO ₄	Fosfato de disodio
NADP	Nicotiamida-Adenina Dinucleotido
NADPH	Nicotiamida-Adenina Dinucleotido fosfato
NFC	Near Field Communication
ng/mL	Nanogramos sobre mililitros
nm	Nanómetro
OGTT	Oral glucose tolerance test
OPA	o-ftalaldehído
PAD	Presión arterial diastólica
PAS	Presión arterial sistólica
PCR	Proteína C reactiva
r	Coeficiente de correlación
rpm	Revoluciones por minuto
S6K1	Proteína ribosomal S6 cinasa 1
TAR	Time above range
TBR	Time below range
TG	Triglicéridos
TGR5	Receptor 5 acoplado a proteína G de la membrana de Takeda
TIR	Time in range
TLR	Receptores tipo toll
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
WC	Waist circumference

Resumen

Una concentración de glucosa posprandial de 2 horas superior a 140 mg/dL se asocia a un mayor riesgo de diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular. Una curva de tolerancia a la glucosa es el método más utilizado para detectar la prediabetes o la diabetes tipo 2; sin embargo, su uso en la práctica clínica es limitado debido al periodo de medición de la prueba. Por lo tanto, el objetivo del estudio fue evaluar la disglucemia, mediante una evaluación pronóstica de la composición corporal, parámetros bioquímicos y clínicos como predictores de una glucemia posprandial anormal de 2 h. Los participantes se sometieron a una exploración física en la que se obtuvieron sus medidas antropométricas y se tomó una muestra de sangre para análisis bioquímicos y hormonales. Todos los pacientes se sometieron a una curva de tolerancia oral a la glucosa de 75 g tras 8 h de ayuno, y se midieron los niveles de glucosa e insulina. Los resultados se compararon estadísticamente dividiendo la glucosa posprandial a las 2 h de los participantes en los siguientes grupos: normoglucemia, <140 mg/dL; prediabetes, de 140 a 199 mg/dL; y diabetes tipo 2, ≥200 mg/dL. De los 381 participantes, 220 pertenecían al grupo de normoglucemia, 131 al de prediabetes y 30 al de diabetes. Interesantemente, el 53.4% del grupo normoglucemia presentó una curva de tipo monofásico y un índice QUICKI de 0.32. Posteriormente, se realizaron modelos de regresión lineal asociativos de glucemia posprandial de 2 h y se obtuvieron 4 modelos. El mejor modelo tuvo un coeficiente de determinación de 0.747 ($p < 0.001$) e incluyó las variables hemoglobina glucosilada, proteína C reactiva, masa grasa corporal y colesterol total. Por otro lado, el objetivo del segundo estudio fue evaluar el efecto de una ingesta aguda alta en proteína sobre la variabilidad glucémica, la composición de la microbiota intestinal y el perfil de aminoácidos en sujetos sanos. Al evaluar la variabilidad glucémica encontramos que el área bajo la curva a lo largo del día disminuyó más en mujeres, mientras que en los hombres hubo una menor variabilidad glucémica medida con los índices de amplitud media de las excursiones glucémicas (MAGE, por sus siglas en inglés), de acción glucémica neta global continua (CONGA, por sus siglas en inglés) y de medias absolutas de las diferencias diarias (MODD, por sus siglas en inglés). Además, encontramos diferencias en el perfil de aminoácidos de acuerdo con el sexo tras la suplementación con proteína.

1. Introducción

La glucosa posprandial, en referencia a las concentraciones de glucosa en plasma después de comer, se ha implicado en la etiología de enfermedades metabólicas asociadas con la obesidad, incluida la diabetes tipo 2 y las enfermedades cardiovasculares. Las concentraciones elevadas de glucosa posprandial pueden contribuir a un control glucémico subóptimo (1). Debido a esto es importante contar con herramientas basadas en parámetros de fácil accesibilidad en la práctica clínica que puedan ayudar a predecir alteraciones en el metabolismo de la glucosa, pues es necesario un control glucémico eficaz para mantener la salud del individuo y prevenir enfermedades crónicas.

El estudio de la variabilidad de la respuesta glucémica que existe tras el consumo de los mismos alimentos en las mismas porciones es un tema que cada vez está tomando mayor relevancia. Las intervenciones en el estilo de vida respaldadas por pautas dietéticas se utilizan ampliamente en la literatura. Las organizaciones de salud utilizan esta evidencia que respalda la adopción de patrones dietarios saludables para crear pautas para el público en general o para poblaciones con patologías específicas (2). El uso de estrategias como el índice glucémico o la carga glucémica, si bien han sido buenas alternativas principalmente en patologías relacionadas al metabolismo de la glucosa como la diabetes tipo 2, no toman en cuenta los hábitos y cultura de la alimentación de una persona, como las porciones de los alimentos, la mezcla y composición de estos y los horarios en los que se consumen, pero lo más importante es que los individuos que siguen estas recomendaciones diferirán en sus respuestas debido a la variabilidad que existe en cuanto al fenotipo, la genética (3) y otros factores como la microbiota intestinal.

Actualmente se sabe que la microbiota intestinal puede estar modificada por múltiples factores como la dieta, y dentro de los componente de la dieta que pueden impactar en su composición está la proteína dietaria. Sin embargo, poco se ha estudiado sobre el efecto de un aumento en el consumo de proteína principalmente en sujetos no atletas aparentemente sanos sobre la composición de la microbiota intestinal y como esto puede impactar en la variabilidad glucémica. Por lo tanto, el

objetivo de esta tesis es exponer algunos resultados que muestran 1) qué parámetros antropométricos, clínicos, bioquímicos y hormonales se asocian mejor con una predicción de una glucemia posprandial alterada a las 2 horas y 2) cómo se modifica la glucemia posprandial tras el consumo agudo de una suplementación de proteína en sujetos sanos no atletas y las modificaciones sexo dependientes a nivel metabólico y de la microbiota intestinal.

2. Antecedentes

2.1 Glucemia posprandial

La palabra posprandial significa después de una comida; por lo tanto, las concentraciones de glucosa posprandial se refieren a las concentraciones de glucosa en plasma después de comer. En condiciones normales estas concentraciones comienzan a elevarse a los 10 minutos de haber consumido el alimento, llegando a su pico máximo entre los 60 y 90 minutos y disminuyendo a concentraciones basales a las 2-3 horas siguientes (1,4). Según los criterios 2023 de la Asociación Americana de Diabetes, la glucosa posprandial en sujetos normoglucémicos debe ser menor a 140 mg/dL (5), por lo que concentraciones por encima de esto se consideran ya una alteración en la salud, como prediabetes o diabetes tipo 2.

La aparición de glucosa en sangre luego del consumo de alimentos es un fenómeno fisiológico normal que depende de diversos factores, entre ellos, la velocidad de entrada de glucosa en el torrente sanguíneo, la cantidad de la glucosa absorbida, la velocidad de desaparición de esta del torrente sanguíneo debido a la absorción tisular y la regulación hepática de la liberación de esta molécula (6). No obstante, la velocidad con la que la glucosa regresa a sus concentraciones basales depende de otro tipo de factores.

Anteriormente se creía que la respuesta glucémica posprandial se determinaba únicamente por la cantidad y el tipo de hidratos de carbono absorbidos a través de la dieta, así como la secreción de las hormonas insulina y glucagón, y sus efectos coordinados sobre el metabolismo de la glucosa en el hígado y los tejidos periféricos (7–9).

La insulina y el glucagón regulan el metabolismo de la glucosa en presencia y ausencia de los alimentos. Cuando hay un consumo de alimentos se libera insulina a partir de las células β pancreáticas junto con una disminución en paralelo en la secreción de glucagón por medio de las células α pancreáticas; lo que conlleva a un aumento en la captación de glucosa en tejidos sensibles a insulina como el hígado y el músculo esquelético, dando lugar a la glucogenogénesis e inhibiendo la producción hepática de glucosa o gluconeogénesis. Por otro lado, cuando hay bajas concentraciones de glucosa en sangre, como en un estado de ayuno, se activa la liberación de glucagón suprimiendo la síntesis de insulina dando paso a la gluconeogénesis y a la glucogenólisis para así regresar a una homeostasis glucémica al organismo (10).

Además de las hormonas pancreáticas, el contenido de macronutrientes en los alimentos consumidos también influye sobre la regulación de la glucemia posprandial (8,11). Por décadas, el contenido de hidratos de carbono en los alimentos ha jugado un papel importante en la modulación de la glucosa posprandial, principalmente en aquellas patologías asociadas al metabolismo de la glucosa, como la diabetes tipo 2. Además, la magnitud y el momento más alto de la concentración de glucosa tras el consumo de alimentos dependen también del momento en el que se consumió el alimento, la cantidad y la composición de la comida (1).

Actualmente la evidencia indica que tanto la proteína dietaria como las grasas, también participan en esta respuesta al modificar el tiempo de tránsito gastrointestinal y al estimular la secreción de insulina y glucagón (12), generando la homeostasis del metabolismo de la glucosa como se mencionó previamente. Estudios clínicos han mostrado que la proteína dietaria disminuye la respuesta glucémica dos a tres veces más que la grasa (13), además de aumentar las concentraciones de insulina y del péptido similar al glucagón-1 (GLP1, por sus siglas en inglés), asociado a la secreción de insulina (14).

Muchos estudios metabólicos han demostrado que las fuentes dietarias de hidratos de carbono varían mucho en su tasa de absorción y por lo tanto en sus efectos

sobre las concentraciones de glucosa e insulina en sangre (15). La mayoría de las intervenciones dietarias se han enfocado en reducir las concentraciones de glucosa modificando la cantidad de calorías o de hidratos de carbono, o basándose en el índice glucémico de los alimentos. Sin embargo, la efectividad de estas estrategias varía entre individuos (16–18), lo que sugiere que otros factores podrían estar involucrados en la respuesta glucémica posprandial.

2.1.1 Implicaciones en la respuesta glucémica posprandial

Las fluctuaciones en las concentraciones de glucosa posprandial pueden ser particularmente importantes en la etiología de enfermedades crónicas (15). Hiperglucemias posprandiales constantes, junto con una concentración elevada de insulina, provocan un estado metabólico y hormonal perjudicial, aumentando la generación de estrés oxidativo e inflamación (19). Es por esto por lo que la respuesta glucémica posprandial ha demostrado ser un predictor importante de enfermedad cardiovascular (20), así como un importante factor de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo 2 (1), así como otras comorbilidades.

La glucosa posprandial forma parte de aproximadamente el 70% de las hiperglucemias en el día (7). Las glucemias posprandiales suelen estar acompañadas de un aumento en la insulina posprandial en sujetos sanos; sin embargo, en aquellas personas con trastornos en el metabolismo de la glucosa la secreción de insulina tras la ingestión de alimentos puede ser ineficiente ocasionando hiperglucemias posprandiales (11). En condiciones normales las hiperglucemias posprandiales se presentan tras haber consumido una cantidad considerable de alimentos; de manera que, un estado de hiperglucemia posprandial constante puede contribuir a la toxicidad glucémica a nivel celular y tisular (10).

Resultados del estudio de Framingham con una población de 3370 sujetos sugieren que por cada aumento de 40 mg/dL en las concentraciones de glucosa a las 2 horas desde el estado basal, el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular incrementó en un 12% (21). Mientras que, en un estudio realizado por Monnier y cols., se observó que la respuesta glucémica posprandial correlacionó de manera lineal con la hemoglobina glucosilada (HbA1c) ($r = 0.63$; $p < 0,001$), y que un punto

de corte de 150 mg/dL de la glucosa posprandial tiene un valor predictivo del 80 % para un control deficiente de la HbA1c (22). Además, se ha propuesto que concentraciones de glucosa elevadas de forma temprana, seguida de disminuciones tardías de las concentraciones de glucosa por debajo de los niveles basales (hipoglucemia reactiva) y un aumento en las concentraciones de ácidos grasos libres se asocian con el desarrollo de resistencia a la insulina (15).

2.1.2 Predicción de la respuesta glucémica posprandial

En 1981, el Dr. Jenkins D. y cols., (23) propusieron el primer método para “predecir” las concentraciones de glucosa en sangre a partir de determinar el efecto de los hidratos de carbono contenidos en diferentes alimentos. Este índice se estima a través del incremento del área bajo la curva con una cantidad estándar de hidratos de carbono, frecuentemente 50 g de hidratos de carbono, comparado contra un alimento estándar como el pan blanco o la glucosa pura (15,24). No obstante, a lo largo de los años el índice glucémico al basarse en la determinación de un único alimento ha creado controversia acerca de su uso en un conjunto de alimentos.

Por otra parte, la carga glucémica vino a complementar el concepto de índice glucémico al tomar en cuenta las porciones del alimento (25), pero de igual forma basándose únicamente en la carga de hidratos de carbono dentro de los alimentos, lo que limita su aplicabilidad a la vida cotidiana.

A pesar de ser herramientas con una larga historia en la investigación científica, su uso se ha limitado principalmente a pacientes con presencia de diabetes tipo 2, con resultados que no siempre concuerdan. Mientras que algunos estudios han indicado una mejoría notable en los parámetros del metabolismo de la glucosa con dietas bajas en un índice glucémico, existen estudios en los que no se ven resultados significativos (26,27). De igual manera, al tomar en cuenta a un único alimento, su funcionalidad actualmente es limitada en virtud de los cambios en los hábitos de alimentación que se han ido modificando con el paso de las décadas.

2.1.3 Variabilidad interindividual a la respuesta glucémica posprandial

La variabilidad biológica que existe entre los seres humanos ha demostrado que puede llegar a afectar la respuesta que se tiene sobre el consumo de alimentos,

principalmente en términos de respuestas posprandiales. Estudios recientes han revelado que la respuesta glucémica posprandial tiene una alta variabilidad intra e interindividual (28) atribuido primordialmente a la fisiología de la persona (**Figura 1**) (26,29). Mientras que algunas personas tienen una respuesta glucémica posprandial más alta ante ciertos alimentos, otras tienen una respuesta más modesta a ellos (30–32). Al contrario de lo que se ha pensado sobre el uso de dietas para una población específica, la ciencia nos ha demostrado que es necesaria una nutrición personalizada.

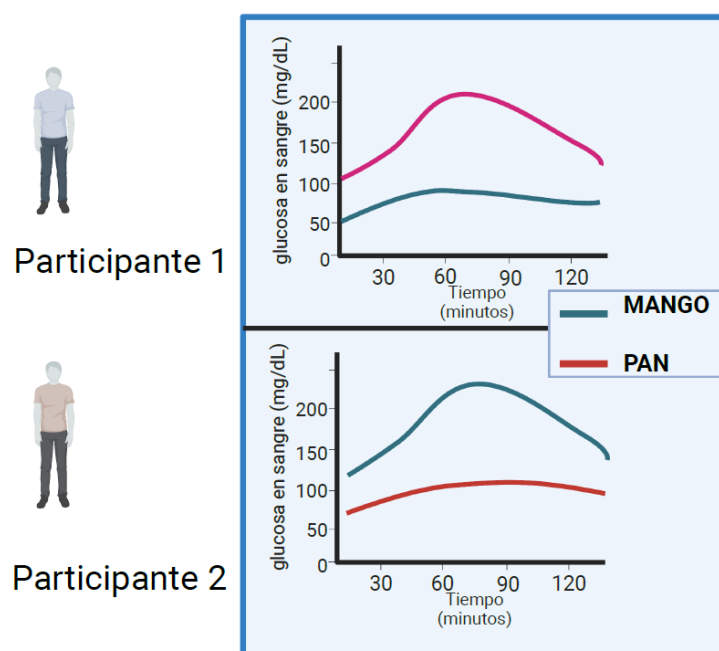


Figura 1. Variabilidad interindividual a la respuesta glucémica posprandial tras el consumo de los mismos alimentos.

Conocer la variabilidad de la respuesta glucémica posprandial es importante para realizar predicciones sobre el comportamiento glucémico del individuo y así poder realizar recomendaciones individualizadas para mejorar su salud (31). Gran parte de las estrategias dietarias utilizadas para desórdenes en el metabolismo de la glucosa, se centran en reducir las respuestas glucémicas posprandiales derivada de alimentos específicos; sin embargo, este tipo de estrategias tienden a ignorar las características propias del individuo y la variabilidad que existe con el resto de la población (18,32). Debido a esto, es fundamental contar con herramientas que sean

capaces de predecir la disglucemia¹ de forma temprana y así poder evitar el riesgo de desarrollar a futuro alguna enfermedad como la diabetes tipo 2.

En Israel, Zeevi y cols. (30), en 2015, informaron una gran variabilidad en la respuesta glucémica posprandial después del consumo de alimentos estandarizados (glucosa, fructosa, pan y pan con mantequilla) que contenían la misma cantidad de hidratos de carbono (50 g), en una cohorte de 800 personas con sobrepeso, obesidad y prediabetes, representativas de este país. En el caso del pan y la glucosa, a pesar de que han sido considerados alimentos con alto índice glucémico, no todos los individuos respondían de forma elevada a su consumo; en tanto que, con el pan con mantequilla, con la adición de grasa se esperaba una menor respuesta glucémica; a pesar de ello, no todas las personas del estudio presentaron respuestas glucémicas bajas.

Esta misma respuesta se mostró en una cohorte americana de 327 personas en la que Mendes-Soares y cols., (16) en Estados Unidos observaron respuestas glucémicas posprandiales distintas en su población de estudio tras el consumo de dos desayunos estandarizados. Interesantemente, en el estudio se determinó la sensibilidad a los hidratos de carbono medida como la correlación entre la cantidad de hidratos de carbono en gramos del alimento consumido y la respuesta glucémica posprandial, notando una alta variabilidad entre los participantes a pesar de ser las mismas cantidades de hidratos de carbono en los mismos alimentos.

Si bien la glucosa es uno de los alimentos más utilizados como referencia para la medición de la respuesta glucémica posprandial por tener un índice glucémico de 100 (23), el pan también puede emplearse para este fin. En Israel, Korem y cols. (33), en 2017 notaron en un estudio clínico de 20 sujetos sanos que la intervención con pan de masa madre o pan blanco con 100 g de hidratos de carbono contenidos en cada uno, genera respuesta glucémica posprandial individualizadas para cada persona, lo que demuestra que el uso del índice glucémico como herramienta para regular la respuesta glucémica posprandial no es efectiva ni aplicable para todas las personas.

Si se siguieran las recomendaciones nutricionales generales, se diría que los hidratos de carbono son el mayor componente de la dieta después del agua, considerando que una dieta debe estar entre el 40-60% de energía de este macronutriente (19). Aun cuando el contenido de hidratos de carbono en la dieta representa una gran parte del consumo total de energía, y aunque los hidratos de carbono son un elemento importante en la regulación de la glucemia posprandial, no son el único factor que puede estar involucrado en esta modulación. Ya se mencionaron los diversos factores que son capaces de regular la respuesta glucémica posprandial, como las hormonas pancreáticas y los macronutrientes que componen los alimentos de una dieta, pero también hay otros que pueden alterar esta respuesta y ser específicos de un individuo (**Cuadro 1**), como lo es la microbiota intestinal.

¹ Término utilizado para describir la glucemia elevada y puede incluir tanto la intolerancia a la glucosa, la prediabetes, como la diabetes(34).

Cuadro 1. Factores que afectan la glucosa posprandial

<i>Dieta</i>	- Total de hidratos de carbono - hidratos de carbono simples - hidratos de carbono complejos - Fibra - Tipo de proteína - Contenido de grasa - Tamaño de porción
<i>Actividad física</i>	- Sedentarismo - Ejercicio moderado/intenso
<i>Patrón horario de alimentación y sueño</i>	- Horario de comidas - Horario de sueño
<i>Externos</i>	- Estrés - Medicamentos - Factores ambientales
<i>Microbiota intestinal</i>	- Taxonomía - Metabolitos producidos
<i>Hormonas</i>	- Gastrointestinales (GIP y péptido similar al glucagón-1 (GLP1, por sus siglas en inglés)) - Páncreaticas (insulina y glucagón)

El estudio tanto de la microbiota intestinal como de otros factores involucrados en la variabilidad de la respuesta glucémica posprandial ha dado lugar a un nuevo nicho dentro de la nutrición que permite tomar estas características de cada individuo y transformarlas en recomendaciones puntuales para cada persona, y a esto se le conoce como nutrición personalizada.

2.2 Nutrición personalizada

Se sabe que no todos los individuos responden por igual a los cambios en el estilo de vida, especialmente a las intervenciones dietarias. Por ejemplo, un estudio demostró que diferentes fenotipos metabólicos en la resistencia a la insulina pueden responder de manera diferente a las intervenciones dietarias con respecto a los resultados de la homeostasis de la glucosa y la deposición ectópica de grasa, entre otras cosas (35). Algunos de los factores que se han sugerido que podrían determinar las respuestas individualizadas a los alimentos son el genoma, el epigenoma y el microbioma de un individuo, así como variaciones interpersonales como factores ambientales y de estilo de vida (36,37).

La Sociedad Internacional de Nutrigenética y Nutrigenómica (ISNN) consideró que la nutrición personalizada debe entenderse en tres niveles: 1) pautas nutricionales realizadas a diferentes subgrupos poblacionales y estratificadas por edad, género y otros determinantes sociales; 2) enfoques individuales derivados de un fenotipo; y 3) una nutrición basada en variantes genéticas raras que tienen alto impacto en la respuesta de los individuos a ciertos alimentos (38). Sin embargo, en los últimos años se han incluido más factores en el diseño de una nutrición personalizada.

La nutrición personalizada considera características del individuo para establecer estrategias de prevención o tratamiento de determinadas patologías (39). Entre las características a considerar se encuentran las fenotípicas como el sexo, la edad (40) y el índice de masa corporal (41), además de otras variables que consideran el estilo de vida como la actividad física, los horarios y composición de las comidas, los horarios del sueño, entre algunas otras. Si bien las características anteriores aportan información importante, no son suficientes para lograr una nutrición verdaderamente individualizada, pues hay características del individuo que sólo las ciencias ómicas pueden proporcionar (39).

Las ciencias ómicas son disciplinas recientes capaces de identificar una gran cantidad de moléculas en muestras biológicas como la sangre, el suero y las heces. Los cambios moleculares pueden ocurrir en diferentes niveles: involucrando el ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico mensajero (ARNm), proteínas,

metabolitos de bajo peso molecular; modificaciones postraduccionales como parte de la epigenómica, y de manera importante el estudio de los microorganismos que son parte de la microbiota o microbioma intestinal (42).

2.3 Microbiota intestinal

La microbiota intestinal se define como la comunidad de microorganismos que residen en el tracto digestivo (42). El ecosistema de la microbiota intestinal cuenta con aproximadamente 1000 especies bacterianas diferentes, las cuáles contienen 100 veces más genes que el genoma humano (43). Estudios en las últimas dos décadas han demostrado que la actividad metabólica de la microbiota intestinal es esencial, ya que ayuda a la homeostasis fisiológica del hospedero (44). En los últimos años, la microbiota intestinal ha cobrado especial interés dentro de la investigación debido a que variaciones en su composición han sido relacionadas con diversas patologías metabólicas como son la obesidad, la diabetes y el síndrome metabólico, entre algunas otras (2,45,46).

La complejidad de la microbiota intestinal es muy grande, ya que no solo se encuentran especies bacterianas, sino también virus, hongos y algunos parásitos, sin embargo, la variabilidad en la taxonomía bacteriana es la que más se ha estudiado (47). Debido a la asociación de las variaciones en la composición de la microbiota intestinal con ciertas patologías, debe mantenerse un equilibrio dentro de ésta para mantener la salud del individuo (42). Taxonómicamente a las bacterias de la microbiota intestinal se les clasifica en: fila, clase, orden, familia, género y especie (48,49), siendo los Firmicutes y Bacteroidetes las filas más abundantes en la microbiota intestinal representando un 90% de su composición, seguidas de las filas Actinobacterias, Proteobacterias, Fusobacterias, Tenericutes y Verrucomicrobia (49,50).

La microbiota intestinal se comienza a formar desde el nacimiento y son diversos los factores que pueden modificarla, factores tanto intrínsecos como la edad, así como factores extrínsecos como la dieta (49). La dieta es un factor clave en la configuración de la microbiota intestinal y puede ser influenciada por la cantidad de alimentos, la composición de la dieta y horarios de las comidas, lo que conlleva a

un cambio en la abundancia de especies bacterianas específicas, así como en la abundancia de metabolitos producidos a través de estas bacterias que a su vez pueden ejercer efectos en el metabolismo del hospedero (50,51).

Dietas altas en grasa como la dieta occidental han sido relacionadas con una menor abundancia de Bacteroidetes y un aumento en los Firmicutes, además de que se ha asociado a una menor diversidad y riqueza de especies bacterianas (51). Por otro lado, los hidratos de carbono no digeribles son una fuente de energía para la microbiota intestinal, como el caso de la inulina la cuál con su consumo aumenta la abundancia de *Faecalibacterium prausnitzii* (52). De igual manera el almidón resistente también ha demostrado impactar sobre la abundancia de ciertas bacterias como *Rumminicoccus bromii* y *Eubacterium rectale* (53). Se ha demostrado que el tipo de grasa consumida, poliinsaturada o saturada (54), el tipo de edulcorantes (55) afectan la taxonomía de la microbiota intestinal. Por otro lado, la proteína dietaria ha sido muy poco estudiada sobre el efecto de su consumo sobre la taxonomía de la microbiota intestinal.

2.4 Proteína dietaria y la microbiota intestinal

La proteína de la dieta es un macronutriente esencial, ya que sus aminoácidos se utilizan para mantener una tasa adecuada de síntesis de proteínas en el organismo y proporcionar sustratos para la síntesis de varios compuestos nitrogenados (56). Varias estrategias de nutrición incluyen el consumo de dietas altas en proteínas utilizadas a menudo en la prevención o tratamiento de la obesidad, la diabetes tipo 2 (57,58), el envejecimiento, entre otras (59). De hecho, existe evidencia de que una dieta alta en proteínas aumenta la termogénesis y la saciedad (60), y también reduce el peso corporal asociado con un aumento en la reducción de la masa grasa (61).

Como se mencionó previamente, en los últimos años se ha demostrado que los nutrientes de la dieta pueden tener un impacto en la taxonomía de la microbiota intestinal (62). Varios estudios han demostrado que las proteínas de la dieta, tanto en tipo como en cantidad, pueden modificar la composición y la función de la microbiota intestinal, lo que repercute en la salud del huésped a largo plazo (63).

Por ejemplo, existe evidencia de que el consumo de dietas basadas en caseína o proteína de soya como principales fuentes de proteínas puede provocar cambios en la diversidad alfa y beta, así como cambios en la abundancia relativa de especies específicas presentes en el intestino (54). Esto probablemente esté asociado a la composición dada por el conjunto de sus aminoácidos, como a su digestibilidad, teniendo efectos diferenciales sobre el metabolismo (60).

Por otro lado, varios estudios han demostrado que el consumo de dietas bajas o altas en proteínas producen cambios en la composición de la microbiota intestinal (64,65). En las dietas altas en proteínas, una mayor cantidad de componentes derivados de proteínas no digeridas terminan en el intestino grueso, lo que provoca un aumento en el metabolismo de los aminoácidos bacterianos, lo que resulta en la fermentación colónica de los aminoácidos de la dieta (66) y la producción de metabolitos que pueden afectar la absorción y el metabolismo de proteínas/aminoácidos del huésped (67). Sin embargo, hay poca evidencia de que estos cambios puedan tener efectos significativos en la respuesta metabólica del huésped, especialmente en términos del metabolismo de la glucosa.

2.4.1 Efecto de la microbiota intestinal sobre la respuesta glucémica posprandial

La modificación de la microbiota así como la producción de metabolitos provenientes de la dieta y factores proinflamatorios, desempeñan un papel central en el control de la homeostasis de la glucosa en todo el cuerpo (Figura 2) (68). La microbiota intestinal puede regular el metabolismo de la glucosa a través de diversos mecanismos, como la modulación de la secreción de incretinas, la producción de ácidos grasos de cadena corta, la transformación de ácidos biliares y la regulación de la inflamación del tejido adiposo (48).

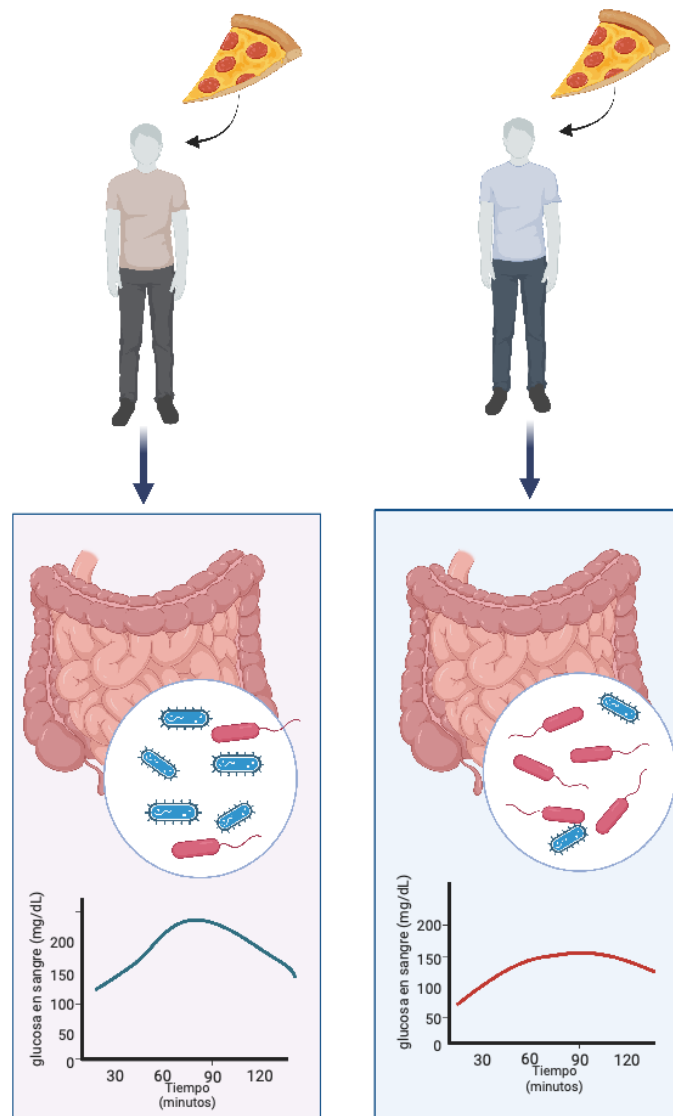


Figura 2. El consumo de alimentos modifica la composición de la microbiota intestinal de forma personal lo que genera una glucémica posprandial diferente para cada persona.

La suplementación ácidos grasos de cadena corta mejora la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina en humanos y roedores, tanto delgados como con obesidad y con diabetes. Los ácidos grasos de cadena corta, especialmente el butirato, actúan a través de los receptores acoplados a proteína G GPR41 y GPR43 para inducir la secreción de péptido similar al glucagón-1 (GLP1, por sus siglas en

inglés), de la incretina de las células L intestinales y, por lo tanto, contribuyen al control de la glucosa. Además, el butirato también podría promover la gluconeogénesis intestinal mediante la transcripción de genes gluconeogénicos intestinales en enterocitos a través de adenosin monofosfato cíclico (AMPc) (Figura 3) (69).

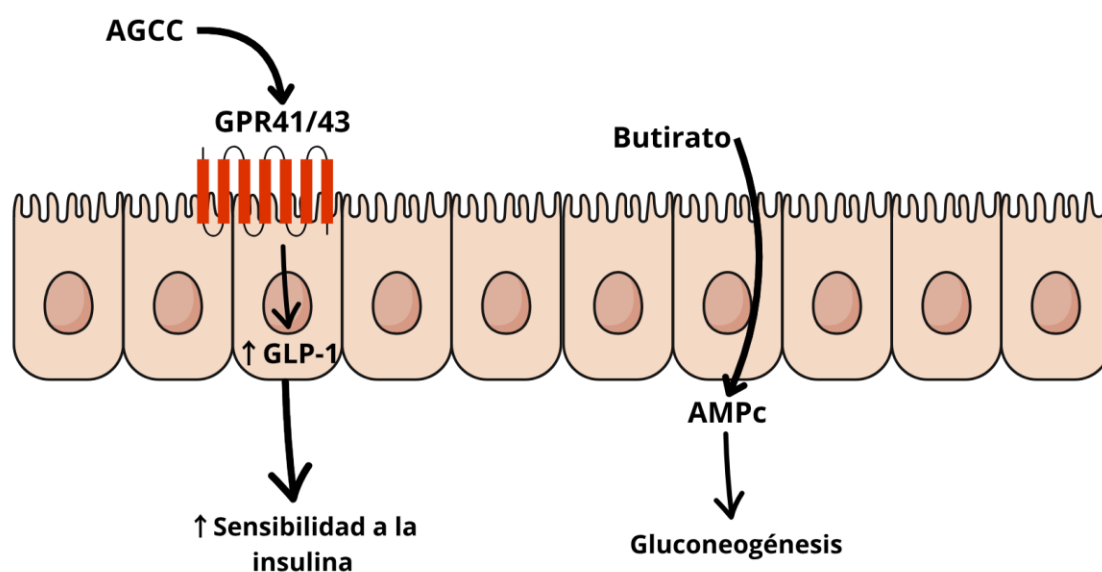


Figura 3. Acción de los ácidos grasos de cadena corta para mejorar la sensibilidad a la insulina y regular la homeostasis del metabolismo de la glucosa. AGCC: ácidos grasos de cadena corta; GLP-1: péptido 1 similar al glucagón; AMPc: adenin monofosfato cíclico.

Por otro lado, el efecto de los ácidos biliares está mediado principalmente por la conversión de ácidos biliares primarios en ácidos biliares secundarios a través de la microbiota intestinal. Los ácidos biliares secundarios se unen al receptor 5 acoplado a proteína G de la membrana de Takeda (TGR5), lo que conduce a la secreción de la incretina intestinal péptido similar al glucagón-1 (GLP1, por sus siglas en inglés), mejorando la homeostasis de la glucosa (68,70).

Varios estudios han demostrado que la microbiota intestinal tiene la capacidad de sintetizar aminoácidos de cadena ramificada. Por otro lado, la resistencia a la insulina se asocia con niveles elevados de aminoácidos de cadena ramificada circulantes, principalmente a través de la activación del mediador descendente de

la diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR, por sus siglas en inglés), la proteína ribosomal S6 cinasa 1 (S6K1, por sus siglas en inglés), lo que conlleva a una regulación negativa del sustrato 1 del receptor de insulina (IRS-1) a través de su fosforilación en la serina 312, disminuyendo la cascada de señalización de la insulina (Figura 4) (71). Estudios han demostrado que el aumento en la expresión de genes que codifican enzimas involucradas en la síntesis de aminoácidos de cadena ramificada correlaciona positivamente con la presencia de resistencia a la insulina, siendo *Prevotella copri* y *Bacteroides vulgatus* las principales especies responsables del aumento en la biosíntesis de aminoácidos de cadena ramificada. Además, se han relacionado a *Butyrivibrio crossus* y *Eubacterium siraeum* con un menor transporte de aminoácidos de cadena ramificada (72).

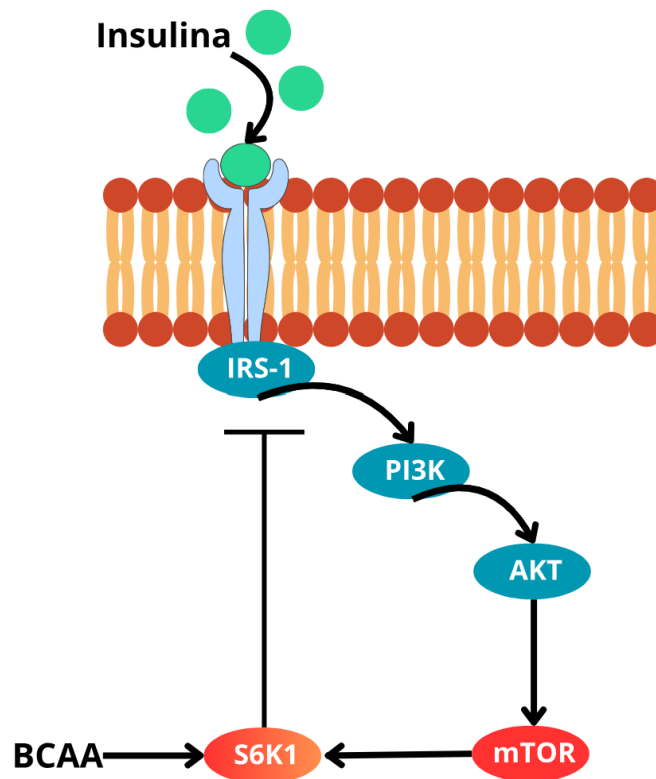


Figura 4. Efecto de los aminoácidos de cadena ramificada sobre la cascada de señalización de la insulina. IRS1: sustrato 1 del receptor de la insulina; PI3K: fosfoinositol-3 cinasa; AKT: proteína cinasa específica de Ser/Thr; mTOR: rapamicina en células de mamífero; S6K1: proteína ribosomal S6 cinasa 1.

La presencia de obesidad y diabetes tipo 2 se caracterizan por una inflamación de bajo grado que es estimulada por la presencia del lipopolisacárido producido por la microbiota intestinal y que es dependiente del grado de disbiosis en la barrera intestinal. Los receptores tipo toll (TLR, por sus siglas en inglés) se expresan principalmente en células epiteliales y pueden detectar patrones moleculares asociados a patógenos, como el lipopolisacárido, y facilitar así la respuesta inflamatoria. Se sabe que el lipopolisacárido estimula los niveles circulantes del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) que promueve la fosforilación de IRS-1 a través de la serina 312, lo que conduce a una disminución en la señalización de la insulina (73–75).

Por otro lado, se ha demostrado que alteraciones en la microbiota intestinal pueden generar firmas que ayudan en el diagnóstico temprano de algunas patologías, como la diabetes tipo 2. En sujetos con prediabetes se alteraron 36 unidades operativas taxonómicas (OTUs, por sus siglas en inglés), incluidos niveles bajos de *Akkermansia muciniphila*, lo que sugiere que la composición de la microbiota intestinal es una posible herramienta para detectar la prediabetes (48). Además, en un estudio transversal en el que participaron personas con prediabetes y diabetes tipo 2, el análisis de la microbiota intestinal mostró una disminución de las bacterias productoras de butirato lo cual se ha relacionado con alteraciones en el metabolismo de la glucosa (56,76).

Por lo tanto, el microbioma puede considerarse como un potencial terapéutico en una variedad de patologías como las relacionadas con el control glucémico, ya sea con la administración de antibióticos, a través de trasplante fecales, y mediante intervenciones dietarias personalizadas (68). Los prebióticos son otro agente que tiene la capacidad de modificar el microbioma a nivel terapéutico a través del control glucémico (77). Entre los prebióticos que han mostrado beneficios en la homeostasis glucémica está la inulina la cual mejora la sensibilidad a la insulina durante el sobrepeso y la obesidad (78). También se encuentra el extracto de agave el cual debido a su contenido de saponinas mejora la sensibilidad a la insulina y disminuye el índice HOMA-IR en ratones C57BL6 (79).

Sin embargo, se necesitan más estudios para mejorar nuestro conocimiento sobre la regulación de la microbiota intestinal en la respuesta glucémica posprandial. Martínez et al., realizaron un ensayo cruzado aleatorizado en el que individuos sanos consumieron cebada integral, arroz integral o una mezcla igual de ambos. Ellos encontraron una correlación negativa entre la abundancia de *Oscillibacter* y la glucosa posprandial. Además, la mezcla de ambos cereales disminuyó los picos de glucosa posprandial los cuales se asociaron con cambios en la abundancia de *Eubacterium rectale* (80). Tily y cols., recopilaron datos de la metatranscriptómica y midieron las respuestas glucémicas de 550 adultos que consumieron más de 27,000 comidas de dietas tipo omnívoras o tipo vegetarianas/sin gluten y demostraron que la actividad de la microbiota intestinal hace una contribución estadísticamente significativa a la variación individual en la respuesta glucémica posprandial, además de los factores antropométricos y la composición nutricional de los alimentos (81).

2.4.2 Asociación entre la proteína dietaria, la microbiota intestinal y el metabolismo de la glucosa

Las dietas altas en proteína han demostrado tener un impacto positivo sobre el metabolismo de la glucosa y la sensibilidad a la insulina principalmente en pacientes con alteraciones en el metabolismo de la glucosa como la diabetes tipo 2 (82). Sin embargo, son pocos los estudios que han evaluado el efecto de este tipo de estrategias en sujetos sanos no atletas. En un estudio de Xiao y cols., (83) se monitorearon adultos sanos a través de monitores continuos de glucosa y observaron que aquellos que consumieron desayunos altos en proteína tuvieron una disminución en el incremento del área bajo la curva de la glucosa posprandial.

Además, en un estudio de Tettamanzi y cols., (84) en pacientes con obesidad y resistencia a la insulina observaron que una dieta alta en proteína disminuye las concentraciones de insulina $-3.50 \mu\text{UI/mL}$ en comparación con una dieta Mediterránea, además de mejorar la variabilidad glucémica medida a través de diversos índices obtenidos mediante el monitoreo continuo de glucosa. De manera interesante, en este estudio investigaron la asociación de la composición de la microbiota intestinal y la variabilidad glucémica, encontrando un panel de 10

géneros que probablemente estén asociados a la mejora de la homeostasis de la glucosa del huésped.

Por otro lado, en un estudio con sujetos que padecen diabetes tipo 2 se observó que una dieta alta en proteína durante 12 semanas aumenta en un 2.6% la alpha diversidad de la microbiota intestinal, sin embargo, en este estudio no se demostraron cambios en la glucemia postprandial tras el consumo de una dieta alta en proteína (85).

Sin embargo, poco se conoce sobre los cambios que un consumo agudo alto en proteína puede provocar sobre la composición de la microbiota intestinal en sujetos sanos no atletas, y existe aún menos evidencia sobre el efecto de este consumo alto en proteína sobre la variabilidad glucémica en personas sanas. Lo que en el futuro podría utilizarse como estrategia de prevención para la disminución de picos posprandiales.

3. Planteamiento del problema

Un control glucémico eficiente es necesario para mantener la salud de un individuo y prevenir el desarrollo de enfermedades crónicas. La glucosa posprandial elevada ha sido relacionada con la etiología de diversas enfermedades como la diabetes tipo 2, enfermedad cardiovascular, cáncer y demencia. Considerando que el 70% de los sujetos con prediabetes eventualmente desarrollarán diabetes tipo 2, el aumento de glucosa en sangre durante el posprandio constituye un importante factor de riesgo para su desarrollo. Cambios en el estilo de vida reducen el riesgo de esto entre un 30 y 60%. Dentro de las intervenciones en el estilo de vida, las intervenciones dietarias son las que mayor fuerza han tomado dentro de la literatura. Una de las intervenciones dietarias utilizadas principalmente durante la obesidad es el uso de dietas altas en proteína, aunque esto en algunos estudios ha sido relacionado con un aumento en la resistencia a la insulina. Sin embargo, el uso de dietas altas en proteína en sujetos sin obesidad, no atletas ha sido poco estudiado. Por otro lado, se ha observado que existe una gran variabilidad en la respuesta glucémica posprandial a exactamente los mismos alimentos y esto en gran medida puede deberse a características propias del individuo tanto fenotípicas como el sexo y la

edad, así como características genéticas, metabólicas como el perfil de aminoácidos o la microbiota intestinal. La composición de la microbiota intestinal puede modificarse mediante diversos factores como lo es la dieta, donde la proteína dietaria puede jugar un papel importante. Sin embargo, poco se ha estudiado sobre la modificación de la microbiota intestinal tras un consumo alto en proteína, y su relación con la modificación de la glucemia. El estudio de la respuesta glucémica posprandial es importante para generar un mejor control metabólico de la población, por lo que es importante generar herramientas que puedan predecir un descontrol en esta respuesta a través de mediciones accesibles durante la consulta con un profesional de la salud o mediante algoritmos de predicción a través de inteligencia artificial, conduciendo a una nutrición individualizada.

4. Justificación

La respuesta glucémica posprandial es un mejor predictor de desarrollo de diabetes tipo 2 en personas con prediabetes, por lo que es importante crear nuevas herramientas que puedan predecir la respuesta glucémica posprandial no sólo con un tipo de alimento, sino con un conjunto de alimentos sin basarse únicamente en el contenido de hidratos de carbono de éstos. Un consumo alto en proteína ha sido relacionado a la disminución de glucemias posprandiales y se ha observado que este consumo es capaz de modificar la composición de la microbiota intestinal. Sin embargo, poco se conoce sobre la relación de este consumo alto en proteína, la modificación de la microbiota intestinal y una mejora en la variabilidad glucémica de individuos sanos.

5. Hipótesis

1. Mediante parámetros antropométricos, bioquímicos y clínicos se puede crear una herramienta capaz de evaluar la disglucemia sin la necesidad de realizar una curva de tolerancia oral a la glucosa de 2 horas.
2. Un consumo alto en proteína mejorará la variabilidad glucémica y modificará la composición de la microbiota intestinal en sujetos sanos.

6. Objetivo General

1. Evaluar la disglucemia, mediante una evaluación pronóstica de la composición corporal y de los parámetros bioquímicos y clínicos como predictores de una glucemia posprandial a las 2 horas.
2. Evaluar el efecto de una ingesta aguda alta en proteína sobre la variabilidad glucémica, la composición de la microbiota intestinal y el perfil de aminoácidos en sujetos sanos.

6.1 Objetivos Particulares

- Determinar los parámetros antropométricos, bioquímicos y clínicos que se relacionan con una glucemia posprandial de 2 horas anormal.
- Determinar si el consumo de una dieta alta en proteína modifica la composición del microbiota intestinal en sujetos sanos.
- Evaluar los cambios en la concentración del perfil de aminoácidos en suero tras el consumo de una dieta alta en proteína en sujetos sanos.
- Evaluar los cambios en la variabilidad glucémica tras el consumo de una dieta alta en proteína en sujetos sanos.

7. Metodología

Dos estudios se llevaron a cabo durante el doctorado. A continuación, se describirá cada uno a detalle. El primero de ellos fue un estudio transversal. El segundo de ellos un estudio clínico. Se seleccionaron a los participantes que cumplieron con los criterios de inclusión para cada uno de ellos. Estos pacientes fueron captados mediante publicidad en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Para el estudio transversal en total se incluyeron a 381 participantes y para el estudio clínico se incluyeron a 22 participantes, que ambos casos cumplieron con los criterios de inclusión.

7.1 Diseño del estudio transversal

Estudio transversal realizado de enero del 2021 a noviembre del 2022 con los siguientes criterios de selección:

7.2 Criterios de selección

a) Criterios de inclusión

- Masculino y femenino
- Adultos entre 19 y 60 años.
- Índice de masa corporal $\geq 25 \text{ kg/m}^2$
- Mexicanos mestizos: padres y abuelos nacidos en México.
- Alfabetizados
- Firma del consentimiento informado.

b) Criterios de exclusión

- Participantes con diagnóstico de cualquier tipo de diabetes.
- Participantes con historial de enfermedad cardiovascular.
- Participantes con enfermedades adquiridas que produzcan secundariamente obesidad y diabetes como hipotiroidismo, síndrome de ovario poliquístico, síndrome de Cushing, fibrosis quística, entre otros.
- Pérdida de peso $> 3 \text{ kg}$ en los últimos 3 meses.
- Enfermedades catabólicas como el cáncer y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.
- Estado de gravidez.
- Tratamiento con medicamentos:
 - Tratamiento o fármacos antihipertensivos (diuréticos tiacíclicos, de asa o ahorradores de potasio, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, bloqueadores de los receptores de la angiotensina II, alfa bloqueadores, calcio antagonistas, beta bloqueadores).
 - Tratamiento con hipoglucemiantes (sulfonilureas, metilglinidas, biguanidas, incretinas) o insulina.

- Tratamiento con estatinas, fibratos u otros fármacos para control de la dislipidemia.
- Uso de medicamentos esteroides, quimioterapia, inmunosupresores o radioterapia.
- Anorexigénicos o que aceleren la pérdida de peso como sibutramina u orlistat.

c) Criterios de eliminación

- Participantes que hayan retirado su consentimiento del estudio.

7.3 Variables del estudio

VAresistencia a la insulinaABLE	DEFINICIÓN	TIPO DE VAresistencia a la insulinaABLE	ESCALA DE MEDICIÓN
Glucosa sérica en ayuno	La concentración de glucosa en la sangre con 12 horas de ayuno mediante colorimetría enzimática.	Cuantitativa continua	mg/dL
Insulina sérica en ayuno	La concentración de insulina en la sangre con 12 horas de ayuno mediante ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas.	Cuantitativa continua	mUI/mL
Hemoglobina glucosilada	Unión de la hemoglobina a productos avanzados de la glucosilación no enzimática de las proteínas, la fracción 1c es la glucosilación reversible y refleja el promedio de las glucosas de 120 días.	Cuantitativa continua	Porcentaje, %
Colesterol sérico total	Medición de colesterol sérico por medio de colorimetría enzimática.	Cuantitativa continua	mg/dL
Colesterol-HDL sérico	Medición de lipoproteína de alta densidad de colesterol con un método enzimático colorimétrico homogéneo.	Cuantitativa continua	mg/dL

Colesterol-LDL sérico	Medición de la lipoproteína de baja densidad de colesterol con un método enzimático colorimétrico homogéneo.	Cuantitativa continua	mg/dL
Triglicéridos séricos	Medición de los triglicéridos séricos por el método de colorimetría enzimática.	Cuantitativa continua	mg/dL
Proteína C reactiva	Medición de la proteína c reactiva sérica por el método fotométrico.	Cuantitativa continua	mg/dL
Área bajo la curva de glucosa	Es el área obtenida por la regla de los trapezoides, después de realizar una curva de tolerancia oral a la glucosa de 2 horas y tras medir la concentración de glucosa en el minuto 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120.	Cuantitativa continua	mg/dL * 2 hr
Área bajo la curva de insulina	Es el área obtenida por la regla de los trapezoides, después de realizar una curva de tolerancia oral a la glucosa de 2 horas y tras medir la concentración de glucosa en el minuto 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120.	Cuantitativa continua	mUI/mL * 2 hr
Adiponectina sérica en ayuno	La concentración de adiponectina en la sangre con 12 horas de ayuno mediante ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas.	Cuantitativa continua	ng/mL
Leptina sérica en ayuno	La concentración de leptina en la sangre con 12 horas de ayuno mediante ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas.	Cuantitativa continua	ng/mL
Presión arterial sistólica	Corresponde al valor máximo de la presión arterial cuando el corazón está en sístole.	Cuantitativa continua	mmHg
Presión arterial diastólica	Corresponde al valor mínimo de la presión arterial	Cuantitativa continua	mmHg

	cuando el corazón está en diástole.		
Peso corporal	Medida en kilogramos, mediante la báscula ajustada diariamente.	Cuantitativa continua	Kg
Circunferencia de cintura	Medida en centímetros en el punto más prominente del abdomen al final de una espiración normal mediante una cinta métrica ajustada milimétricamente.	Cuantitativa continua	cm
Masa grasa	Corresponde a aquella masa compuesta de grasas estructurales y de depósito determinada por bioimpedancia.	Cuantitativa continua	Porcentaje
Masa músculo esquelética	Corresponde a aquella masa constituida el tejido muscular determinada por bioimpedancia.	Cuantitativa continua	Porcentaje
Área de grasa visceral	Corresponde a aquella masa grasa que se acumula en la parte profunda del abdomen, en el espacio que rodea los órganos determinada por bioimpedancia.	Cuantitativa continua	cm ³
Edad	Tiempo transcurrido desde su nacimiento hasta el momento.	Cuantitativa continua	Años
Sexo	Condición anatómica que distingue al hombre de la mujer.	Dicotómico	Masculino / femenino
HOMA-IR	Índice para medir la presencia de resistencia a la insulina: (glucosa en ayunas (mg/dL) * insulina en ayunas (μUI/mL))/405	Cuantitativa continua	≥2.5 presencia de resistencia a la insulina
Índice QUICKI	Índice para medir la sensibilidad a la insulina: $1/(\log \text{ glucosa en ayunas (mg/dL)} + \log \text{ insulina en ayunas (μUI/mL)})$.	Cuantitativa continua	<0.345 disminución en la sensibilidad a la insulina

7.4 Maniobra de la consulta

1. Se seleccionaron a los participantes que cumplieron con los criterios de inclusión, se les informó sobre las características del estudio y posteriormente firmaron el consentimiento informado (las mediciones se realizaron en una única visita) (Anexo I).
2. Se les realizó una historia clínico-nutricional (Anexo II).
3. Se realizaron mediciones antropométricas (peso, talla, circunferencia de cintura) y de composición corporal (masa grasa, masa libre de grasa, masa músculo esquelética, área de grasa visceral, agua intracelular y agua extracelular) mediante bioimpedancia eléctrica y medición de presión arterial sistólica y diastólica.
4. Se realizó la toma de muestra sanguínea para la determinación de glucosa, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triacilglicéridos, insulina, adiponectina, leptina, proteína C reactiva, HbA1c en suero.
5. Se realizó una curva de tolerancia oral a la glucosa con una duración de dos horas en la cual el participante permaneció sentado. Se le realizó una punción en la vena en el brazo para colocar un catéter de venoclisis periférico de 0.9 mm de diámetro y de longitud de 2.5 cm conectado a un adaptador, se tomaron muestras a través del adaptador del catéter. Para cada muestra se tomó un volumen de 3 mL de sangre total para obtención de glucosa e insulina en el minuto 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos de la prueba. Tras el minuto 0 al participante se le proporcionó una solución con 75 g de glucosa anhidra diluida en 250 mL de agua potable.

7.5 Técnicas utilizadas y mediciones

Estas mediciones se realizaron con un ayuno de entre 10 y 12 horas aproximadamente, a temperatura ambiente y con ropa ligera.

- **Composición corporal.** El peso y la composición corporal como la masa magra, masa grasa, masa musculo-esquelética, área de grasa visceral y

agua extra e intracelular fueron tomados con un analizador de composición corporal de bioimpedancia eléctrica (Inbody 720). Los participantes debían colocar los pies en los electrodos en la base del equipo y los brazos separados del cuerpo agarrando los electrodos correspondientes sin moverse.

- **Circunferencia de cintura.** La circunferencia de cintura se realizó siguiendo la técnica de Lohman (86), utilizando para su medición una cinta métrica flexible marca SECA. La medición se realizó entre el punto más bajo del borde intercostal y la cresta iliaca. Si esto no era posible al tacto, se medía el punto medio de esos dos referentes anatómicos, en el punto más prominente del abdomen.
- **Estatura.** La talla se tomó con un estadímetro automático (The bioespace BSM370), para lo cual se pidió a los participantes estar descalzos y posicionados en plano de Frankfort. Además, debían mantener los pies y rodillas juntas, con los glúteos y la espalda recta pegados al estadímetro.
- **Presión arterial.** La presión arterial se midió con un baumanómetro digital (Omron, HEM-781INT), el participante se encontraba sentado con ambos brazos descubiertos; se tuvo al participante en reposo por lo menos 5 minutos. La medición se realizó en el brazo derecho, se tomaron cuatro mediciones, donde la primera se eliminó y posteriormente se realizó un promedio de las tres mediciones (cada medición se tomó con un espacio de 3 minutos).
- **Parámetros bioquímicos en suero.** Se tomó una muestra de sangre a los participantes después de un ayuno de 10 a 12 horas. La toma de muestra se realizó con la aplicación de un torniquete con duración menor a 1 minuto. Posteriormente, la sangre se centrifugó a 3000 rpm por 10 min y se separó el suero en alícuotas diferentes. El suero se mantuvo a una temperatura de -80°C.

Para las concentraciones séricas de glucosa, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triacilglicéridos, y proteína C reactiva las mediciones se

determinaron a través de métodos enzimáticos y colorimétricos mediante el autoanalizador (Cobas C111).

Para la hemoglobina glucosilada se recolectó sangre venosa en un tubo con EDTA y se determinó mediante fotometría de absorción.

Los analitos fueron evaluados posterior a la calibración y a la evaluación de los controles positivos y negativos.

- **Medición de insulina, adiponectina, leptina en suero.** La medición de las hormonas insulina, adiponectina y leptina se determinaron a través de un método de ensayo inmunoenzimático (ELISA) tipo sándwich (ALPCO ELISA).
- **Curva de tolerancia oral a la glucosa.** Tras 12 horas de ayuno se le colocó un catéter al participante para obtener una muestra venosa de 3mL cada una. Posteriormente se determinó la concentración de insulina y glucosa a los tiempos 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos después de haber consumido 75 g de glucosa anhidra. La concentración de glucosa se determinó mediante un método enzimático empleando a la enzima hexocinasa. La hexocinasa cataliza la fosforilación de glucosa a glucosa-6-fosfato. La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa oxida a la glucosa-6-fosfato en presencia de NADP. La cantidad de NADPH formado durante la reacción es directamente proporcional a la concentración de glucosa.
- **Índice HOMA-IR (resistencia a la insulina).** La estimación del índice HOMA-IR se realizó a través del siguiente cálculo: $\text{glucosa en ayunas (mg/dL)} \times \text{insulina en ayunas (\mu UI/mL)} / 405$.
- **Índice QUICKI (sensibilidad a la insulina).** La estimación del índice QUICKI para sensibilidad a la insulina se realizó a través del siguiente cálculo: $1 / (\log \text{glucosa en ayunas (mg/dL)} + \log \text{insulina en ayunas (\mu UI/mL)})$.

7.6 Categorización y definición de glucemia

Los participantes se dividieron en tres grupos de acuerdo con su glucemia posprandial a las 2 horas durante la curva de tolerancia oral a la glucosa. Según los criterios diagnóstico 2023 de la Asociación Americana de Diabetes (5) se definió

como normoglucemia una concentración a las 2 horas de glucosa posprandial < 140 mg/dL tras consumir 75 gramos de glucosa anhidra en una curva de tolerancia oral a la glucosa. Prediabetes se definió como una concentración a las 2-h de glucosa posprandial entre 140 mg/dL a 199 mg/dL tras una curva de tolerancia oral a la glucosa y por último, diabetes se definió como concentraciones > 200 mg/dL a las 2-h de glucosa posprandial tras una curva de tolerancia oral a la glucosa.

7.7 Clasificación de la curva de respuesta de glucosa

La curva de respuesta a la curva de tolerancia oral a la glucosa de 2 h se clasificó en tres categorías según la forma de la curva. Una curva de forma monofásica se definió como un aumento en las concentraciones de glucosa hasta alcanzar una concentración máxima entre los 30 y 90 minutos con un descenso hasta los 120 minutos. Una forma bifásica se definió como un aumento en las concentraciones de glucosa a los 30 o 60 minutos seguido de una disminución y un subsecuente aumento posterior a los 120 minutos. Por último, una forma de ascenso continuo se definió como un tipo de curva continua cuyo perfil aumentaba monótonamente sin inflexión hacia abajo durante el período de 120 minutos (87).

7.8 Cálculo tamaño de muestra

El tamaño de la muestra se calculó con una ecuación de coeficiente de correlación a fin de obtener un número óptimo de sujetos para desarrollar un nuevo modelo para predecir la glucemia posprandial a las 2 h. Se consideraron trece variables para la evaluación del tamaño de la muestra: edad, índice de masa corporal, masa corporal magra, masa grasa corporal, minerales, agua intracelular, agua extracelular, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica, colesterol total, C-HDL, C-LDL, triglicéridos, adiponectina, leptina, proteína C reactiva y HbA1c. El tamaño de la muestra necesario para desarrollar la ecuación fue de 170 sujetos con normoglucemia y 170 sujetos con prediabetes y diabetes (88).

7.9 Análisis estadístico

Las variables continuas fueron expresadas en medianas y percentiles y las variables dicotómicas como frecuencias y porcentajes. Las variables continuas se evaluaron mediante Z de Kolmogorov-Smirnov para analizar su tipo de distribución. En caso de que los datos no tuvieran una distribución normal, se realizó la transformación logarítmica antes del análisis. La comparación de las diferencias entre las variables clínicas, antropométricas, de composición corporal y bioquímicas entre los grupos se realizó mediante un ANOVA de una vía. Cuando se identificaron los efectos principales en el análisis inicial, se aplicó la corrección de Bonferroni. Para determinar las diferencias proporcionales en las variables cualitativas se realizó una χ^2 . La asociación entre dos variables se determinó mediante una correlación de Spearman. La visualización de la correlación se realizó mediante un Heatmap con el programa GraphPad Prism (versión 7.0 para Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA), cuando el valor de p fue < 0.05 , se consideró como valor significativo. Para determinar la asociación entre la respuesta glucémica posprandial a las 2 h en el grupo de normoglucemia y los marcadores clínicos, antropométricos y bioquímicos se utilizó un análisis de regresión lineal múltiple. Se realizó una regresión lineal múltiple por pasos para desarrollar el modelo, utilizando parámetros clínicos, antropométricos y bioquímicos como variables dependientes y el nivel de glucosa posprandial de 2 h como variable independiente para cada modelo. Se seleccionaron las variables que presentaban correlaciones significativas y más fuertes para desarrollar el nuevo modelo. A continuación, se realizaron modelos de regresión lineal múltiple, obteniéndose un modelo que cumplía todos los supuestos del análisis de regresión múltiple. El valor significativo de p se estableció en < 0.05 de una cola. Los datos fueron analizados por el programa SPSS (versión 20.00 SPSS Inc. Chicago. IL).

7.10 Preceptos éticos para la investigación en humanos

Se obtuvo el consentimiento informado de cada paciente después de una explicación completa del estudio. Este consentimiento fue presentado al Comité de Ética del INCMNSZ para su aprobación. El ensayo clínico fue registrado con el número 2373.

7.11 Diseño del estudio clínico

Estudio antes y después realizado de agosto a septiembre del 2023 con los siguientes criterios de selección:

7.12 Criterios de selección

a) Criterios de inclusión

- Masculino y femenino
- Adultos ≥ 18 años
- Índice de masa corporal ($IMC < 30 \text{ kg/m}^2$)
- Alfabetizados
- Firma del consentimiento informado
- Sin diagnóstico de alguna enfermedad crónica (de acuerdo con la historia clínica)
- Sin consumo de medicamentos para enfermedades crónicas

b) Criterios de exclusión

- Sujetos con diagnóstico de cualquier enfermedad crónica
- Consumo de cualquier medicamento como tratamiento para enfermedad crónica
- Consumo de antibióticos 3 meses previos al estudio
- Sujetos con creatinina $> 1.3 \text{ mg/dL}$ para los hombres y $> 1 \text{ mg/dL}$ para las mujeres y nitrógeno ureico en sangre $> 20 \text{ mg/dL}$
- Tabaquismo positivo

- Consumo de suplementos de proteína

c) Criterios de eliminación

- Retiro de la carta de consentimiento informado

7.13 Variables del estudio

VAresistencia a la insulinaABLE	DEFINICIÓN	TIPO DE VAresistencia a la insulinaABLE	ESCALA DE MEDICIÓN
Glucosa sérica en ayuno	La concentración de glucosa en la sangre con 12 horas de ayuno mediante colorimetría enzimática.	Cuantitativa continua	mg/dL
Insulina sérica en ayuno	La concentración de insulina en la sangre con 12 horas de ayuno mediante ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas.	Cuantitativa continua	mUI/dL
Colesterol sérico total	Medición de colesterol sérico por medio de colorimetría enzimática.	Cuantitativa continua	mg/dL
Colesterol-HDL sérico	Medición de lipoproteína de alta densidad de colesterol con un método enzimático colorimétrico homogéneo.	Cuantitativa continua	mg/dL
Colesterol-LDL sérico	Medición de la lipoproteína de baja densidad de colesterol con un método enzimático colorimétrico homogéneo.	Cuantitativa continua	mg/dL
Triglicéridos séricos	Medición de los triglicéridos séricos por el método de colorimetría enzimática.	Cuantitativa continua	mg/dL
Alanina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM

Arginina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Aspartato plasmático	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Glutamina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Glutamato plasmático	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Glicina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Histidina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Serina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Tirosina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Prolina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Leucina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Isoleucina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Lisina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM

Fenilalanina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Valina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Metionina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Triptófano plasmático	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Treonina plasmática	Medición de perfil de aminoácidos por HPLC	Cuantitativa continua	μM
Sumatoria de aminoácidos de cadena ramificada en plasma	Es la sumatoria de los aminoácidos leucina, isoleucina y valina en plasma	Cuantitativa continua	μM
Presión arterial sistólica	Corresponde al valor máximo de la presión arterial cuando el corazón está en sístole.	Cuantitativa continua	mmHg
Presión arterial diastólica	Corresponde al valor mínimo de la presión arterial cuando el corazón está en diástole.	Cuantitativa continua	mmHg
Peso corporal	Medida en kilogramos, mediante la báscula ajustada diariamente.	Cuantitativa continúa	Kg
Circunferencia de cintura	Medida en centímetros en el punto más prominente del abdomen al final de una espiración normal mediante una cinta métrica ajustada milimétricamente.	Cuantitativa continúa	cm

Masa grasa	Corresponde a aquella masa compuesta de grasas estructurales y de depósito determinada por bioimpedancia.	Cuantitativa continua	Porcentaje
Masa músculo esquelética	Corresponde a aquella masa constituida el tejido muscular determinada por bioimpedancia.	Cuantitativa continua	Porcentaje
Masa libre de grasa	Corresponde a aquella masa constituida por los órganos internos, los músculos y los huesos.	Cuantitativa continua	Porcentaje
Edad	Tiempo transcurrido desde su nacimiento hasta el momento.	Cuantitativa continua	Años
Sexo	Condición anatómica que distingue al hombre de la mujer.	Dicotómico	Masculino / femenino
Urea	Medición de urea en sangre mediante una prueba cinética la enzima ureasa y glutamato deshidrogenasa.	Cuantitativa continua	mg/dL
Creatinina	Medición de creatinina en sangre mediante un ensayo cinético colorimétrico.	Cuantitativa continua	mg/dL
Apego a la intervención (caseinato de calcio)	Se determinará el apego al caseinato a través de una bitácora de consumo	Cuantitativa continua	Porcentaje
Microbiota intestinal	Abundancia relativa de especies microbianas que conforman la diversidad del tracto digestivo.	Cuantitativa continua	Porcentaje

7.14 Maniobra de la consulta

El estudio consistió en una examinación previa y 2 visitas durante el periodo de seguimiento.

Visita previa: pre-ingreso (Duración 40 minutos aproximadamente)

- Se firmó la carta de consentimiento informado (Anexo III).
- Se realizó una historia clínica-nutricia (Anexo IV).
- Se realizaron mediciones antropométricas (peso y talla) y se determinó el índice de masa corporal.
- Se realizó un recordatorio de 24 horas de su consumo de alimentos del día anterior a la consulta (Anexo V).
- Se realizó una toma de muestra sanguínea para la posterior determinación de glucosa, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicéridos, creatinina, urea y nitrógeno ureico en sangre.
- En caso de que el participante cumpliera con los criterios de selección, se le entregó un paquete para la toma de su microbiota con dos tubos para recolección de heces mediante un hisopo y una bolsa ziploc. También se le entregó al participante una infografía de cómo tomar las muestras de heces (Anexo VI). El participante debía entregar su muestra en la visita inicial.

Visita uno: (Duración 30 minutos aproximadamente) (Fase 1)

- Se tomó muestra de sangre para la determinación de la concentración sérica de insulina y perfil de aminoácidos.
- Se recolectó el paquete de microbiota y se entregó un paquete nuevo.
- Se realizó la determinación de medidas antropométricas (peso) y medición de composición corporal (masa libre de grasa, masa grasa y masa músculo esquelética) por medio de bioimpedancia eléctrica.
- A cada participante se le entregó un plan de alimentación controlado con las siguientes características nutrimentales: dieta isocalórica con una distribución del 20% de proteína, hidratos de carbono al 50% y 30% de lípidos del requerimiento calórico total. Durante la segunda semana además de seguir el plan de alimentación se adicionó una suplementación del 10% de proteína con caseinato de calcio.

- El suplemento de caseinato de calcio se entregó a cada participante en bolsas separadas con los gramos que debía consumir diariamente durante 7 días (día 8 al 14, fase 2) del estudio, combinado con sus alimentos.
- Se entregó una infografía de cómo mezclar e incluir el caseinato de calcio en su plan de alimentación durante la fase 2 del estudio (Anexo VII).
- Además, se entregó una bitácora con la finalidad de medir el apego al consumo de la intervención (caseinato de calcio) (Anexo VIII).
- Se sugirió al participante no cambiar el nivel de actividad física habitual.
- Se le colocó un monitor continuo de glucosa en donde:
El participante se quedaba de pie, con el brazo (de preferencia el dominante) relajado. Se le pidió que se descubriera la parte posterior del brazo y se limpió el área donde se colocaría el monitor (con una toallita sanitizante). Con los guantes puestos se preparó el material: se abrió el sensor y se colocó con el aplicador, el cual se posicionaba de manera horizontal y sin ejercer mucha presión.
- Se les preguntó a los participantes si su celular contaba con tecnología Near Field Communication (NFC, para compartir archivos). En caso de que no se entregó un lector de la misma marca del monitor para escanear este último. Si el paciente contaba con NFC en su celular, se le ayudaba a conectar el monitor a la aplicación del fabricante de éste.
- Se tomó la presión arterial. A cada participante se le pidió se descubriera ambos brazos para realizar las mediciones en cada uno de los lados, el brazo que saliera más alto se repitió y se sacó un promedio de las tres mediciones.
- Se entregaron 2 soluciones de glucosa. La primera debía tomarse al siguiente (día 2) en no más de 5 minutos y se les explicó a los participantes que debían pasar 120 minutos para que desayunaran. La siguiente solución se tomó un día antes de la visita 2 (día 13).

Visita dos: (Duración 30 minutos aproximadamente) (Fase 2)

- Se realizaron mismas mediciones antropométricas, de composición corporal, presión arterial y de parámetros bioquímicos que en visita uno.
- Se retiró el monitor continuo de glucosa.
- Se recogió el paquete de microbiota.
- Se citó a los participantes a los 15 días para la entrega de resultados.

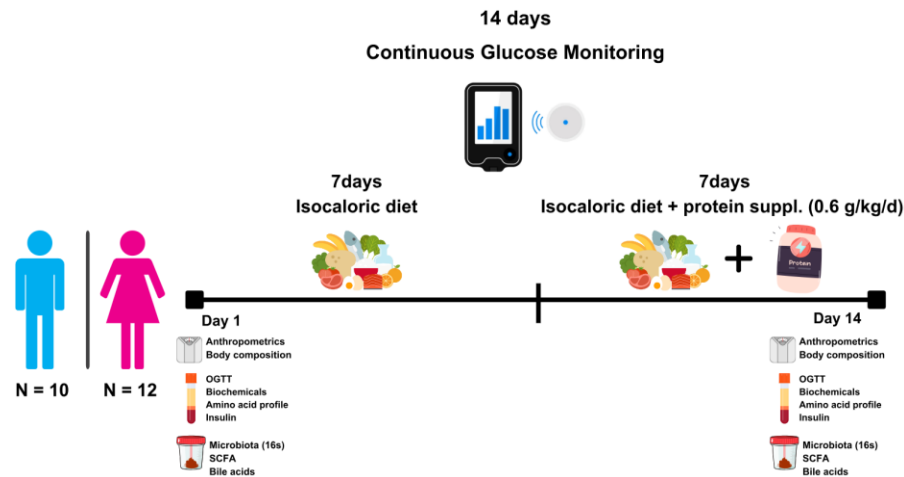


Figura 5. Diagrama del diseño del estudio.

7.15 Técnicas utilizadas y mediciones

Estas mediciones se realizaron con un ayuno de entre 10 y 12 horas aproximadamente, a temperatura ambiente y con ropa ligera.

- **Determinación del perfil de aminoácidos.** El procedimiento se llevó a cabo a través de un dispositivo de muestreo (Agilent; G1367F) acoplado a un HPLC (Agilent 1260 infinity) y aun detector de fluorescencia (Agilent; G1321B). Se utilizó una columna ZORBAX Eclipse AAA, la cual se mantuvo a una temperatura de 40°C. Las condiciones cromatográficas fueron de acuerdo con el inserto técnico de la columna. Se utilizaron dos fases: Fase A: 40mM Na₂HPO₄, pH 7.8 y Fase B: acetonitrilo:metanol:agua (45:45:10 v/v). Los aminoácidos fueron derivatizados con reactivos utilizados para la derivatización de aminoácidos primarios OPA (o-ftalaldehído), y FMOC (cloroformiato 9-Fluorenilmetil) para la derivatización de aminoácidos secundarios. Los aminoácidos se caracterizaron a través

de su tiempo de retención comparado con estándares puros. La detección se llevó a cabo por fluorescencia (340 nm excitación y 450 nm emisión).

La preparación de las muestras consistió en lo siguiente: Se descongeló una alícuota de plasma y se tomó 150 μ L de plasma y se le adicionó 38 μ L de ácido sulfosalicílico al 10%, se incubaron 30 minutos en refrigeración y se centrifugaron a 14000 rpm por 10 minutos a 4°C. Se tomaron 100 μ L del sobrenadante y se les agregó 1 μ L del estándar interno (norvalina; 15 mM) y se procedió a la derivatización e inyección de la muestra.

- **Determinación de ácidos grasos de cadena corta.** Se recogieron muestras de heces el día 0 y el día 14. Se colocaron entre 100 a 300 mg de muestras de heces en un tubo de 2 mL, colocando una perla de acero y agregando 5 μ L de HCl 0.1 N por cada mg de muestra. Las muestras se procesaron en el Tyssue Lyser a una frecuencia de 30 sacudidas/min durante 3 minutos. Posteriormente se centrifugó a 14,000 rpm durante 20 minutos y se recuperó el sobrenadante. En un tubo de 0.2 mL se colocaron 1 μ L de solución de ácido 2-etilbutírico 100 mM (como estándar interno) y 99 μ L del sobrenadante de las muestras de heces procesadas. Posteriormente se llevaron las muestras a analizarse a través de cromatografía de gases (Agilent 6850 GC con detector de ionización de llama) utilizando una columna capilar DB-225MS (30 m x 0.25 mm de diámetro interior con 0.25 mm de espesor de película (J&W Scientific, Albany, NY, EE. UU.). La inyección de 1 μ L de solución de muestra se realizó en modo dividido (1:20.8) a 225°C. Se utilizó hidrógeno como fase móvil, con un flujo constante de 0.5 mL/min, y la temperatura de la interfaz se mantuvo a 225°C. La temperatura del horno se elevó de 180°C a 200°C (5 min a 180°C, aumentó a 190°C [1°C/min]; 5 min a 190°C, aumentó a 200°C [1°C/min] /min]; 10 min a 200°C). La cuantificación de las muestras se llevó a cabo utilizando estándares de ácidos acético, propiónico y butírico, y las áreas de los picos se obtuvieron de los cromatogramas generados.

- **Monitor continuo de glucosa.** La glucosa intersticial se midió utilizando el monitor continuo de glucosa Abbott FreeStyle que mide los niveles de glucosa intersticiales utilizando sensores subcutáneos. El monitor se colocó en el brazo por una persona capacitada en colocar dichos monitores. Este monitor continuo de glucosa mide las concentraciones de glucosa intersticial del participante durante 14 días dando una medición cada 15 minutos. El principio de la medición es una reacción de óxido reducción llevada a cabo por la enzima glucosa oxidasa.
- **Análisis de la composición de la microbiota intestinal en heces.** La extracción del ácido desoxirribonucleico (ADN) de las muestras de heces se llevó a cabo por medio del paquete comercial QIAamp® DNA Stool Mini Kit (QIAGEN). La concentración de ADN así como su pureza se cuantificó mediante el NanoDrop 2000. Posteriormente se realizó un análisis de integridad del ADN por medio electroforesis utilizando el equipo QIAXCEL (QIAGEN). Las regiones hipervariables V3 y V4 del gen 16S del ácido ribonucleico ribosomal (ARNr) se amplificaron utilizando cebadores específicos que contenían las secuencias de nucleótidos sobresalientes del adaptador de Illumina. Luego se llevó a cabo una reacción en cadena de la polimerasa (proteína C reactiva) para unir los índices duales utilizando un kit Nextera XT V.2. La secuenciación se realizó en una plataforma Illumina MiSeq (MiSeq Reagent Kit V.3, 600 ciclos) de acuerdo con las instrucciones del fabricante para generar lecturas finales pareadas de 300 pares de bases de longitud en cada dirección.
- **Bioinformática y asignación taxonómica de la microbiota intestinal.** Las secuencias de amplicones sin procesar como FASTQ, se procesaron bioinformáticamente utilizando el algoritmo de eliminación de ruido de amplicones divisivos (DADA) a través del paquete de software estadístico R DADA2 versión 1.7.0, utilizando parámetros predeterminados. Brevemente,

los archivos FASTQ demultiplexados se filtraron (a longitudes de 240 hacia adelante y 200 hacia atrás) y se recortaron (con errores máximos esperados de 1 y 2). La eliminación de quimeras se produjo al mismo tiempo que se asignaban amplicones a variantes de secuencias de amplicones (ASV) mediante desreplicación, eliminación de ruido, fusión de lecturas emparejadas y tabulación de secuencias. Los ASV se asignaron a la base de datos SILVA v128 132 SSU NR99 para determinar las taxonomías (89).

7.16 Cálculo del tamaño de muestra

Se realizó el cálculo de tamaño de muestra tomando en cuenta la diferencia de la abundancia relativa de bacteroidetes (20%) y también realizamos el cálculo tomando en cuenta el cambio de verrucomicrobia (18%) después de la ingesta alta en proteína (50%) en comparación de consumo de proteína 6% y 20% en nuestro estudio en modelo animal (datos no publicados). Considerando un error tipo 1 (α) = 0.05, y un error tipo II (β) de 0.20, utilizando la fórmula:

$$n = (\sigma(Z\alpha + Z\beta) / (\mu - \mu_0))^2$$

Se obtuvo un resultado de 4 y 7 participantes, respectivamente. Tomando en cuenta una pérdida del 30% nos da un total de 10 participantes. Para poder evaluar las diferencias entre hombres y mujeres decidimos reclutar 10 participantes mujeres y 10 participantes hombres.

7.17 Análisis estadístico

Las variables continuas fueron expresadas en promedios y en desviación estándar y las variables cualitativas como frecuencias y porcentajes. Las variables continuas se evaluaron mediante Z de Kolmogorov-Smirnov para analizar su tipo de distribución. En caso de que los datos no tuvieran una distribución normal, se realizó la transformación logarítmica antes del análisis. Para analizar las diferencias de la ingesta dietética, las diferencias en los datos clínicos, antropométricos, bioquímicos,

hormonales y de monitorización continua de la glucosa antes y después de la suplementación con proteína, se realizó una T de Student pareada. Para evaluar las diferencias en las variables cualitativas se utilizó la prueba χ^2 . Las diferencias se consideraron significativas cuando el valor de p fue < 0.05 .

Los resultados de la medición del monitoreo continuo de glucosa se utilizaron para calcular diversos parámetros de las concentraciones de glucosa como la media, la mediana, los percentiles 25 y 75, la hemoglobina glucosilada estimada, la desviación estándar (DE), el coeficiente de variación (CV), el área bajo la curva durante el día (dAUC), el área bajo la curva nocturna (nAUC) y el área bajo la curva total (tAUC). Las métricas del rango de tiempo se recopilaron a partir de los datos del monitor continuo de glucosa. El tiempo dentro del rango (TIR) se definió como el porcentaje de tiempo en el rango de glucosa de 70 a 140 mg/dL, el tiempo por debajo del rango (TBR) como el porcentaje de tiempo < 70 mg/dL y el tiempo por encima del rango (TAR) como porcentaje de tiempo > 140 mg/dL. Además, la variabilidad de la glucosa se calculó mediante varios índices como acción glucémica neta global continua (de acción glucémica neta global continua (CONGA, por sus siglas en inglés), por sus siglas en inglés), medias absolutas de las diferencias diarias (de medias absolutas de las diferencias diarias (MODD, por sus siglas en inglés), por sus siglas en inglés) y amplitud media de la excursión glucémica (de amplitud media de las excursiones glucémicas (MAGE, por sus siglas en inglés), por sus siglas en inglés) (90).

Se realizó un análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) de parámetros antropométricos, bioquímicos, perfil de aminoácidos y abundancia relativa de especies de la microbiota intestinal antes y después del consumo de caseinato de calcio para resumir el conjunto de datos y estudiar las posibles relaciones entre estas variables. Esto se llevó a cabo con el paquete factextra y se graficaron utilizando el paquete ggplot2 ambos de Rstudio.

Las asociaciones entre la concentración de aminoácidos séricos y los parámetros del monitor continuo de glucosa se evaluaron con un análisis con el coeficiente de correlación de Pearson y se mostraron como un mapa de calor con su dendograma

correspondiente utilizando el paquete dextend de Rstudio. Todas las correlaciones se consideraron significativas cuando el valor de p fue <0.05 . Los análisis se realizaron con el software SPSS versión 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.). La significancia estadística se estableció en $p < 0.05$.

7.18 Preceptos éticos para la investigación en humanos

Se obtuvo el consentimiento informado de cada paciente después de una explicación completa del estudio. Este consentimiento fue presentado al Comité de Ética del INCMNSZ para su aprobación. El ensayo clínico fue registrado con el número 4532. Este ensayo se registró en ClinicalTrials.gov como NCT05906641 y se informó de acuerdo con las pautas CONSORT (91).

8. Resultados

8.1 Resultados estudio transversal

8.1.1 Descripción de la población de estudio

Los participantes fueron captados mediante publicidad en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. El estudio fue realizado de enero del 2021 a noviembre del 2022. Durante este periodo existieron alrededor de 530 interesados para participar en el proyecto, de los cuales sólo 437 fueron valorados para saber si cumplían los criterios de inclusión y sólo 380 cumplieron con los criterios tras su valoración.

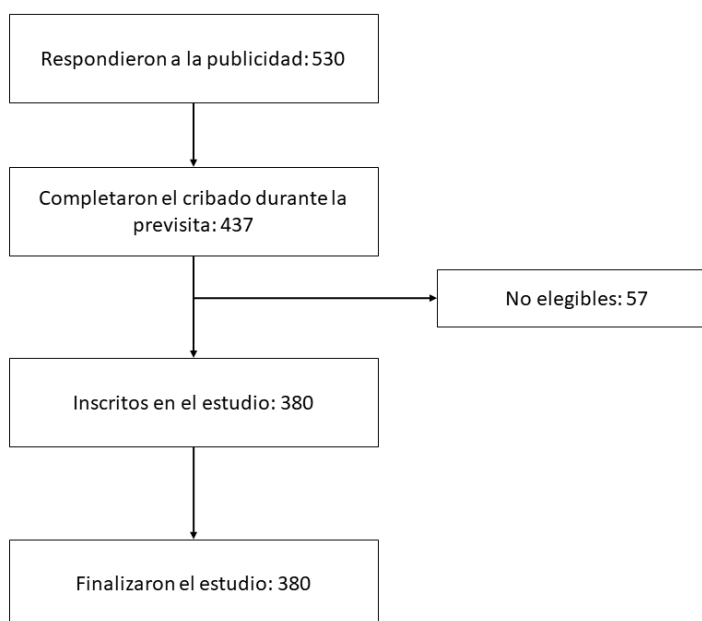


Figura 6. Diagrama de flujo de los participantes en el estudio.

Las características antropométricas y bioquímicas de la población de los 381 participantes del estudio mostraron que el 73.4% fueron mujeres, mientras que la mediana (percentil 24 y 75) de edad fue de 42 (34 – 49) años con un índice de masa corporal de 34.1 (31.2 – 36.8) kg/m². La mediana de la glucosa posprandial a la hora fue de 171 (136 – 204) mg/dL, mientras que a las dos horas fue de 130 (109 – 160) mg/dL **Cuadro 1.**

Cuadro 1. Características clínicas, antropométricas, bioquímicas y hormonales de los participantes

Variable	Todos los participantes N = 381	
	Mediana	25 – 75 percentil
Sexo		
Mujer/Hombre	280/101	-
Edad, años	42.0	34.0 – 49.0
Peso, kg	87.0	78.0 – 96.0
IMC, kg/m ²	34.1	31.2 – 36.8
C.Cintura, cm	103	96.0 – 112
Área de grasa visceral, cm ³	145	126 – 165
Masa grasa, kg	40.2	32.6 – 47.7
Masa magra, kg	27.0	24.0 – 31.9
PAS, mmHg	109	101 – 119
PAD, mmHg	77.0	71.0 – 83.0
Glucosa, mg/dL	98.6	89.9 – 105
1-h GP, mg/dL	171	136 – 204
2-h GP, mg/dL	130	109 – 160
Colesterol total, mg/dL	185	160 – 211
Triacilglicéridos, mg/dL	182	144 – 239
C- HDL, mg/dL	34.3	28.5 – 41.0
C- LDL, mg/dL	123	101 – 147
Proteína C reactiva, mg/mL	3.38	1.91 – 5.69
Adiponectina, ng/mL	4.43	3.17 – 6.45
Leptina, ng/mL	46.9	28.1 – 63.8
HbA1c, %	5.68	5.46 – 5.98
Insulina, µU/mL	13.8	9.48 – 20.2
HOMA-IR	3.38	2.18 – 5.06
Índice QUICKI	0.31	0.30 – 0.33

Los resultados son presentados como medianas y percentiles 25 – 75. IMC, índice de masa corporal.

C.Cintura, circunferencia de cintura. PAS, presión arterial sistólica. PAD, presión arterial diastólica.

GP, glucosa posprandial. HbA1c, hemoglobina glucosilada.

De acuerdo con los valores de glucemia posprandial a las 2 horas tras una curva de tolerancia oral a la glucosa la clasificación de los grupos quedó de la siguiente manera: grupo normoglucemia ($n = 220$), grupo de prediabetes ($n = 131$) y el grupo de diabetes ($n = 30$). Es importante resaltar, que aquellos participantes en el grupo de diabetes no contaban con conocimiento de su diagnóstico previo al ingreso del protocolo de investigación. Las características antropométricas, bioquímicas y hormonales de estos participantes se presentan en el **Cuadro 2**. El grupo de diabetes tuvo una mediana de edad significativamente mayor con 45.5 (37.2 – 51.7) años que los grupos normoglucemia y de prediabetes. Además, se observó que en el grupo normoglucemia los valores del índice HOMA-IR se encontraban por encima del punto de corte para población mexicana con una mediana de 3.10 (1.97 – 4.82). De igual forma, se observó que los valores del índice QUICKI fueron más elevados (Almeda-Valdes 2018 índices) con una mediana de 0.32 (0.30 – 0.34) **Cuadro 2**. Las curvas de tolerancia oral a la glucosa con 75-g de glucosa anhidra se presentan en la **Figura 7** tanto de glucosa como de insulina para cada uno de los grupos de acuerdo con la clasificación de la ADA.

Cuadro 2. Características clínicas, antropométricas, bioquímicas y hormonales de los participantes en los diferentes grupos

Variable	Grupo normoglucemia N = 220		Grupo Prediabetes N= 131		Grupo Diabetes N= 30		<i>p</i> ¹	<i>p</i> ²
	Mediana	25 – 75 percentil	Mediana	25 – 75 percentil	Mediana	25 – 75 percentil		
Sexo ⁺ Mujer/Hombre	153/67	-	105/26	-	22/8	-	0.09	-
Edad, años	41.0 ^a	33.0 – 47.7	44.0 ^{a, b}	34.0 – 50.0	45.5 ^b	37.2 – 51.7	0.02	-
Peso, kg	88.1	78.0 – 96.4	84.6	78.0 – 94.4	84.6	78.0 – 94.4	0.89	0.01
IMC, kg/m ²	34.0	31.3 – 37.0	34.2	31.1 – 36.8	34.2	31.1 – 36.8	0.16	0.81
C.Cintura, cm	104	96.7 – 112	102	95.0 – 110	102	95.0 – 110	0.88	0.01
Área de grasa visceral, cm ³	144	127 – 170	143	124 – 164	152	133 – 174	0.37	0.08
Masa grasa, kg	40.1	32.8 – 48.0	39.6	32.3 – 47.7	42.2	31.8 – 48.0	0.87	0.80
Masa magra, kg	27.3	23.9 – 33.2	26.2	24.1 – 28.6	28.3	23.7 – 32.7	0.05	0.01
PAS, mmHg	110	101 – 119	108	102 – 119	107	98.7 – 120	0.65	0.01
PAD, mmHg	77.0	71.7 – 83.0	77.0	71.0 – 81.2	78.5	69.0 – 85.2	0.93	0.02
Glucosa, mg/dL	94.6 ^a	87.0 – 103	101 ^b	93.2 – 108	107 ^b	97.2 – 117	0.01	0.01
1-h GP, mg/dL	149 ^a	127 – 177	193 ^b	176 – 212	232 ^c	196 – 252	0.01	0.01
2-h GP, mg/dL	112 ^a	98.0 – 126	160 ^b	149 – 176	218 ^c	206 – 242	0.01	0.01
Colesterol total, mg/dL	186	156 – 211	185	161 – 208	189	172 – 225	0.34	0.10
Triacilglicéridos, mg/dL	182	146 – 232	182	141 – 258	179	145 – 228	0.90	0.09
C-HDL, mg/dL	34.6	28.8 – 41.1	33.5	28.1 – 40.8	31.3	28.1 – 43.6	0.70	0.01
C-LDL, mg/dL	121	99.7 – 144	123	103 – 150	125	99.7 – 155	0.29	0.02
Proteína C reactiva, mg/mL	3.25	1.71 – 5.53	3.68	2.17 – 6.01	3.60	2.30 – 5.45	0.22	0.11
Adiponectina, ng/mL	4.42	3.04 – 6.73	4.47	3.33 – 6.64	4.03	2.95 – 5.89	0.22	0.01
Leptina, ng/mL	47.7	27.9 – 63.4	41.0	28.5 – 60.3	47.0	21.1 – 74.4	0.98	0.01
HbA1c, %	5.60 ^a	5.39 – 5.90	5.70 ^b	5.56 – 6.00	6.05 ^b	5.59 – 6.26	0.01	0.12
Insulina, µU/mL	12.8	8.80 – 19.5	15.3	11.2 – 20.8	14.6	9.22 – 20.9	0.13	0.03
HOMA-IR	3.10	1.97 – 4.82	3.74	2.69 – 5.32	3.92	2.22 – 5.47	0.06	0.01
Índice QUICKI	0.32 ^a	0.30 – 0.34	0.31 ^b	0.30 – 0.32	0.31 ^{a, b}	0.29 – 0.33	0.01	0.01

Los resultados son presentados como medianas y percentiles 25 – 75. IMC, índice de masa corporal. C.Cintura, circunferencia de cintura. PAS, presión arterial sistólica. PAD, presión arterial diastólica. GP, glucosa posprandial. HbA1c, hemoglobina glucosilada. Cuando los datos no tenían una distribución normal, se realizó una transformación logarítmica previo al análisis. *p*¹ANOVA de una vía se realizó para evaluar las diferencias entre grupos. El análisis post hoc se realizó mediante el método de Bonferroni. Las letras denotan diferencias significativas entre grupos, a > b > c. *p*² se ajustó por edad y sexo. *Chi² se utilizó para evaluar las diferencias proporcionales entre los grupos.

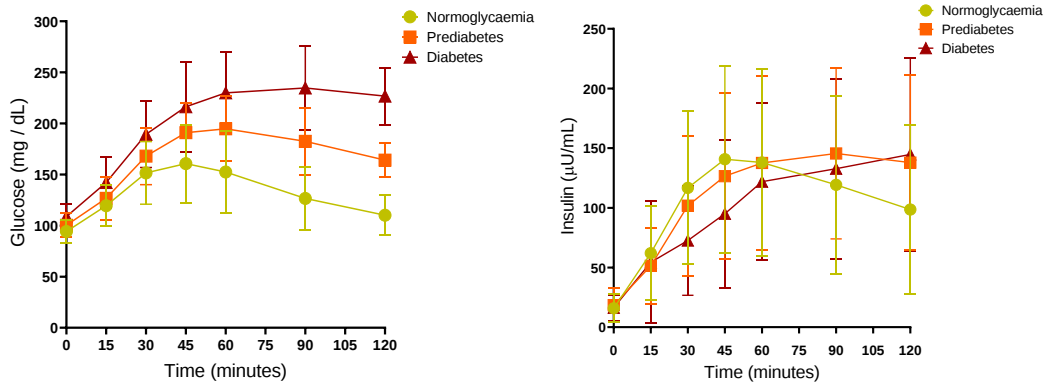


Figura 7. Curvas de respuesta de glucosa e insulina durante una curva de tolerancia oral a la glucosa de 2 horas clasificadas como normoglucemia, prediabetes y diabetes.

Por otro lado, la curva de glucosa de los participantes se clasificó según su forma en monofásica, bifásica y continua (**Figura 8**). En el grupo normoglucemia, el 53.4% presentó un tipo de curva monofásica, el 33.7% presentaron un tipo de curva continua y el 13% presentó un tipo de curva bifásica. En el grupo de prediabetes, el 56.1% presentó un tipo de curva monofásica, el 31.6% presentó una curva continua y el 11.4% una curva bifásica. Por último, el grupo de diabetes presentó en un 55.6 % un tipo de curva monofásica, un 29.6% un tipo de curva continua y un 14.8% un tipo de curva bifásica. Interesantemente, el 87.1% de los participantes del grupo normoglucemia presentaron un tipo de curva asociadas a una baja sensibilidad a la insulina (monofásica y continua) **Cuadro 3**. Al categorizar a los participantes según su forma de la curva de tolerancia oral a la glucosa y los niveles de insulina a las 2 h, el grupo normoglucemia no mostró diferencias en los tres tipos de curvas (monofásica, bifásica y continua).

Cuadro 3. Tipo de curvas durante la curva de tolerancia oral a la glucosa presentes en los tres diferentes grupos

	Monofásica	Bifásica	Continua
Normoglucemia	53.4%	13%	33.7%
Prediabetes	56.1%	11.4%	31.6%
Diabetes	55.6%	14.8%	29.6%

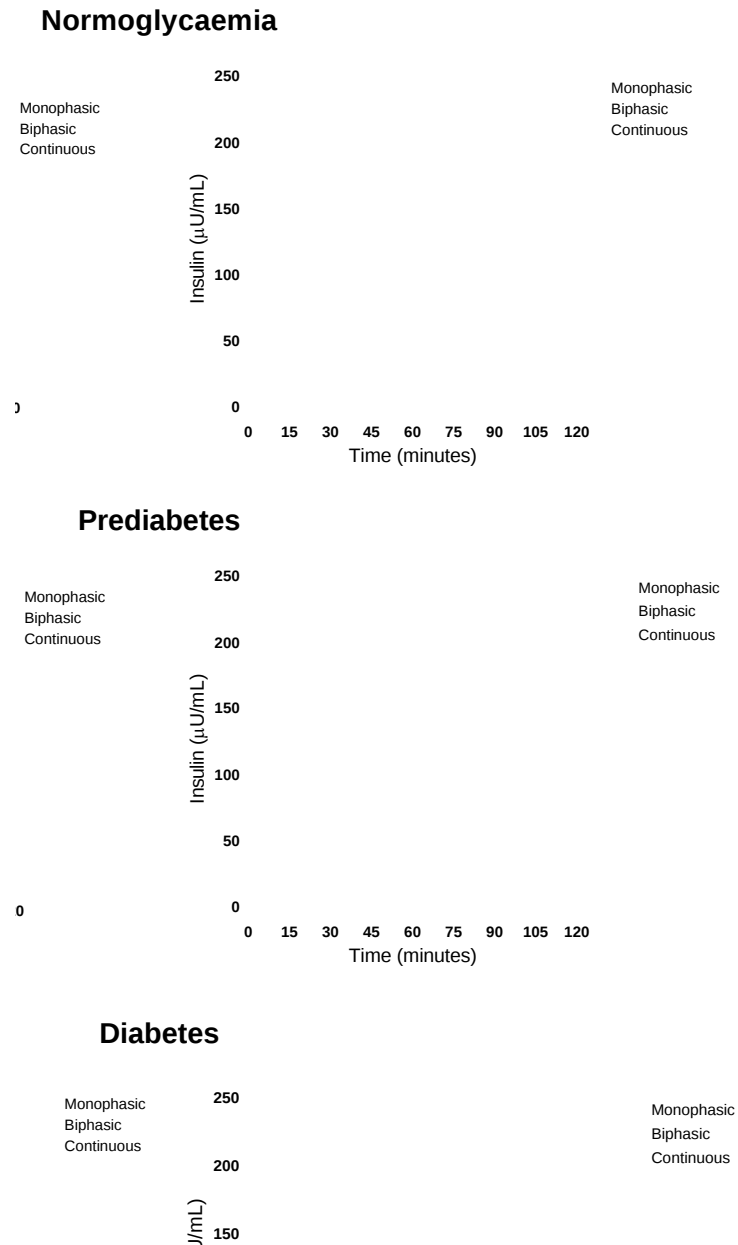


Figura 8. Curvas de glucosa e insulina durante una curva de tolerancia oral a la glucosa de 2 horas según la clasificación de la forma (monofásica, bifásica y continua) entre los tres estados glucémicos diferentes.

Posteriormente, se realizó un análisis de correlación con el coeficiente de correlación de Spearman calculado para la glucemia posprandial a las 2 horas, área bajo la curva de glucosa, concentraciones de insulina a las 2 horas, área bajo la curva de insulina para cada grupo y cada parámetro clínico, bioquímico y hormonal; y estas correlaciones se presentan en un mapa de calor (**Figura 9**).

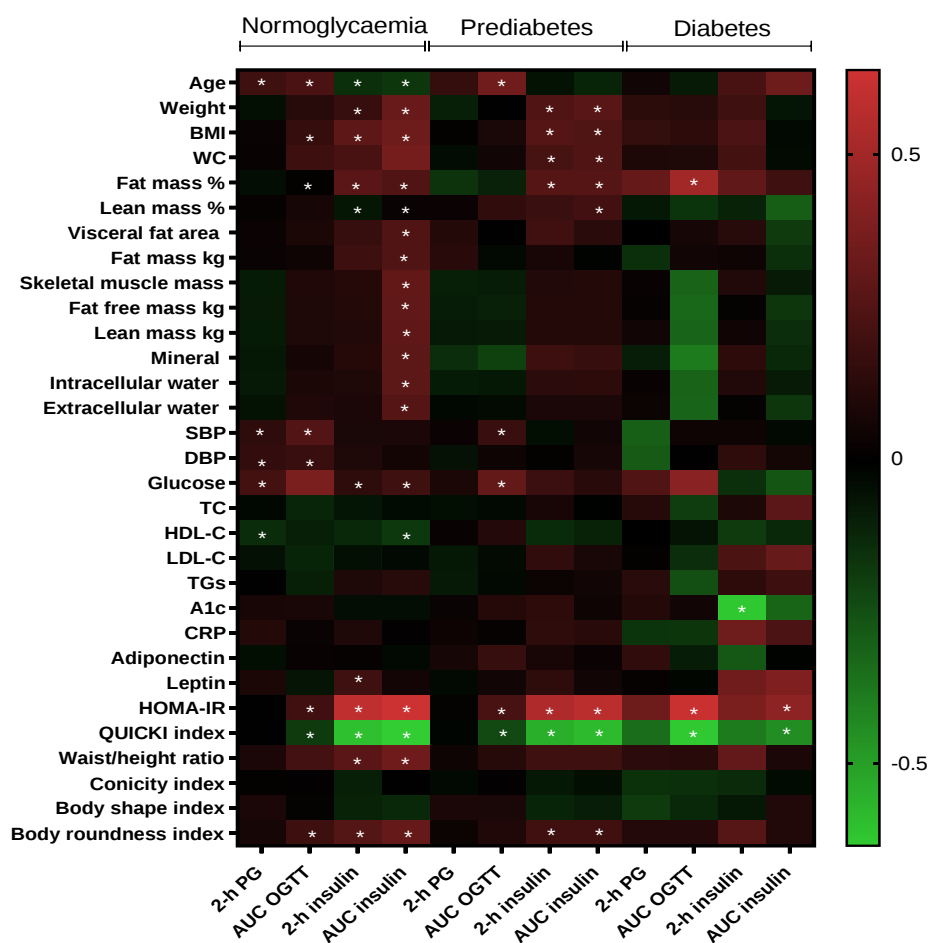


Figura 9. El análisis del coeficiente de correlación de Spearman entre los tres diferentes estados glucémicos y los parámetros clínicos, antropométricos, bioquímicos y hormonales se presenta como un mapa de calor. IMC, índice de masa corporal; WC, circunferencia de cintura; SBP: presión arterial sistólica; DBP, presión arterial diastólica; TC: colesterol total; TG, triglicéridos; HDL-C, colesterol HDL; LDL-C, colesterol LDL; A1c, hemoglobina glucosilada; CRP, proteína C reactiva; OGTT, prueba de tolerancia oral a la glucosa; área bajo la curva, área bajo la curva. Significancia estadística $p < 0.05$.

En el grupo normoglucemia se observó una correlación positiva entre la edad y las cuatro variables principales. Además, en el grupo normoglucemia los parámetros antropométricos correlacionaron positivamente con el área bajo la curva de insulina. Mientras tanto, en el grupo con prediabetes sólo el porcentaje de masa grasa y el porcentaje de masa magra correlacionaron positivamente con el área bajo la curva de insulina y las concentraciones de insulina a las 2 h. Para el grupo de diabetes, se observó una correlación negativa entre la hemoglobina glucosilada y las concentraciones de insulina a las 2 h.

Por último, con la finalidad de obtener una herramienta que fuera capaz de hacer un pronóstico oportuno de una disglucemia sin la necesidad de realizar una curva de tolerancia oral a la glucosa, se realizó un modelo de regresión lineal múltiple para determinar a partir de parámetros clínicos, antropométricos, bioquímicos y hormonales qué variables podrían asociarse con la glucemia posprandial a las 2 h. Los resultados revelaron que el modelo para hemoglobina glucosilada, proteína C reactiva, masa grasa corporal y colesterol total representó la mayor varianza. Este modelo fue estadísticamente significativo ($p < 0.05$) (**Cuadro 4**).

Cuadro 4. Análisis de regresión lineal para sujetos con una glucosa posprandial-2 h $\leq$ 139.9.

	Modelo	Coefficiente β no estandarizado	Error estándar	Coefficiente β estandarizado	<i>t</i>	<i>P</i> <i>Value</i>	95% <i>IC</i>	Modelo <i>R</i>	Modelo <i>R</i> ²
1	(Constante)	-49.097	59.0		-0.831	0.41	-169 a 71.3	0.43	0.19
	HbA1c	28.912	10.6	0.439	2.719	0.01	7.22 a 50.6		
2	(Constante)	-73.901	55.4		-1.332	0.19	-187 a 39.4	0.57	0.33
	HbA1c	31.637	9.89	0.480	3.199	0.003	11.4 a 51.8		
	PCR	2.405	0.96	0.376	2.505	0.01	0.44 a 4.36		
3	(Constante)	-79.143	49.3		-1.603	0.12	-180 a 21.8	0.70	0.49
	HbA1c	38.233	9.06	0.580	4.217	0.001	19.6 a 56.7		
	PCR	3.862	0.98	0.604	3.930	0.001	1.85 a 5.87		
	MG	-1.018	0.34	-0.463	-2.990	0.006	-1.71 a -0.32		
4	(Constante)	-92.343	47.1		-1.957	0.06	-189 a 4.32	0.74	0.55
	HbA1c	36.524	8.62	0.554	4.234	0.001	18.852 a 54.195		
	PCR	3.866	0.93	0.605	4.153	0.001	1.96 a 5.77		
	MG	-1.000	0.32	-0.455	-3.099	0.004	-1.66 a -0.33		
	CT	0.123	0.05	0.263	2.080	0.04	0.002 a 0.24		

Para evaluar la asociación entre glucosa posprandial de 2 h en el grupo normoglucemia y marcadores clínicos, antropométricos, bioquímicos, y hormonales se utilizó un análisis de regresión lineal múltiple por pasos. Variable dependiente: GP de 2 h, glucosa posprandial de 2 horas. HbA1c, hemoglobina glucosilada; PCR, proteína C reactiva; CT: colesterol total; MG, masa grasa.

8.2 Resultados estudio clínico

8.2.1 Descripción de la población de estudio

Los participantes fueron captados mediante publicidad en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. El estudio fue realizado de agosto del 2023 a septiembre del 2023. Durante este periodo existieron alrededor de 47 interesados para participar en el proyecto, de los cuales sólo 32 fueron valorados para saber si cumplían los criterios de inclusión y sólo 22 cumplieron con los criterios tras su valoración.

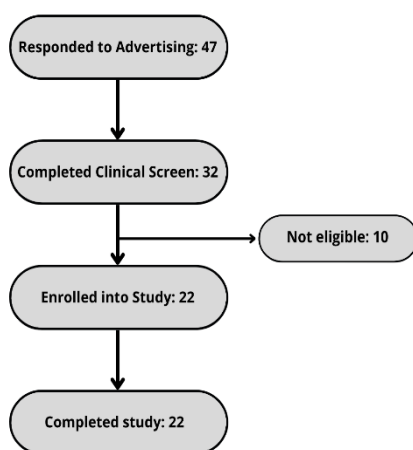


Figura 10. Diagrama de flujo de los participantes en el estudio.

En este estudio se reclutó a un total de 22 participantes (12 mujeres y 10 hombres). Las características clínicas, antropométricas, bioquímicas y hormonales de los participantes se muestran en el **Cuadro 5**. La edad media de la población fue de 29.8 ± 6.02 años, mientras que el índice de masa corporal promedio fue de 23.1 ± 2.34 kg/m². Las concentraciones de glucosa fueron de 94.7 ± 7.89 mg/dL y los niveles de insulina fueron de 14.4 ± 10.9 μ UI/mL. Después de 7 días de aumento en la ingesta de proteína, los niveles de colesterol total disminuyeron significativamente 163 ± 30.4 mg/dL a 147 ± 32.0 mg/dL, respectivamente. Sin embargo, las concentraciones iniciales estaban en valores normales. Interesantemente, se observó también una disminución significativa en el área de grasa visceral de 66.7 ± 14.5 cm³ a 64.8 ± 14.1 cm³. Por otro lado, las concentraciones de urea aumentaron tras la intervención, manteniéndose en valores normales de 4.59 ± 1.01 mmol/L a 5.36 ± 1.02 mmol/L.

Cuadro 6.

Cuadro 5. Características clínicas, antropométricas, bioquímicas y hormonales de los participantes.

Variable	N=22	Valores Normales
Sexo	12/10	
Mujer/Hombre		
Edad, años	29.8 ± 6.02	
Peso, kg	62.8 ± 8.78	
IMC, kg/m ²	23.1 ± 2.34	18.5 – 24.9
C.Cintura, cm	75.0 ± 7.35	< 80 mujeres / < 90 hombres
Área de grasa visceral, cm ³	66.7 ± 14.6	< 100
Masa grasa, kg	18.4 ± 11.2	
Masa magra, kg	43.7 ± 8.58	
PAS, mmHg	103 ± 13.0	120
PAD, mmHg	68.5 ± 5.56	80
Glucosa, mg/dL	94.7 ± 7.89	< 100
Colesterol total, mg/dL	163 ± 30.4	< 200
Triacilglicéridos, mg/dL	101 ± 37.6	< 150
C-HDL, mg/dL	45.3 ± 11.3	> 40 hombres / > 50 mujeres
C-LDL, mg/dL	102 ± 25.0	< 110
Urea, mmol/L	4.59 ± 1.01	2.1 – 8.5
Creatinina, mg/dL	0.81 ± 0.17	Hombres > 0.74 - < 1.35 Mujeres > 0.59 - < 1.04
ALT, U/L	20.4 ± 8.06	Hombres 10 – 40 Mujeres 7 -35
AST, U/L	23.5 ± 13.6	8 - 33
Insulina, µIU/mL	14.4 ± 10.9	5 - 25

Los datos son presentados como promedios y desviación estándar. IMC, índice de masa corporal. C.Cintura, circunferencia de cintura. PAS, presión arterial sistólica. PAD, presión arterial diastólica.; ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa.

Cuadro 6. Características clínicas, antropométricas, bioquímicas y hormonales de los participantes antes y después de la ingesta aguda de proteína.

Variable	Día 0 - 7	Día 8 - 14	<i>P</i>
Peso, kg	62.8 ± 8.78	62.7 ± 8.42	0.46
IMC, kg/m ²	23.1 ± 1.34	23.1 ± 2.24	0.77
C.Cintura, cm	75.0 ± 7.35	75.0 ± 6.55	0.98
Área de grasa visceral, cm ³	66.7 ± 14.6	64.8 ± 14.1	0.03
Masa grasa, kg	18.4 ± 11.1	16.0 ± 3.49	0.25
Masa magra, kg	43.7 ± 8.58	44.2 ± 8.44	0.09
PAS, mmHg	103 ± 13.0	103 ± 13.2	0.94
PAD, mmHg	68.5 ± 5.56	69.4 ± 6.98	0.49
Glucosa, mg/dL	94.7 ± 7.89	96.0 ± 11.4	0.48
Colesterol total, mg/dL	163 ± 30.4	147 ± 32.0	0.01
Triacilglicéridos, mg/dL	101 ± 37.6	87.5 ± 38.1	0.07
C-HDL, mg/dL	45.3 ± 11.3	47.3 ± 12.4	0.15
C-LDL, mg/dL	102 ± 25.0	98.7 ± 24.4	0.43
Urea, mmol/L	4.59 ± 1.01	5.36 ± 1.02	0.01
Creatina, mg/dL	0.81 ± 0.17	0.80 ± 0.16	0.93
ALT, U/L	20.4 ± 8.06	20.5 ± 6.82	0.95
AST, U/L	23.5 ± 13.6	20.8 ± 6.88	0.42
Insulina, µIU/mL	8.01 ± 3.64	6.74 ± 2.17	0.14

Los datos son presentados como promedios y desviación estándar. * *P*-value < 0.05 T de Student para muestras pareadas. IMC, índice de masa corporal. C.Cintura, circunferencia de cintura. PAS, presión arterial sistólica. PAD, presión arterial diastólica.; ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa.

Con la finalidad de determinar el efecto de un consumo agudo alto en proteína sobre la variabilidad glucémica se colocaron a los participantes monitores continuos de glucosa, donde se observó que los parámetros de glucemia que aumentaron significativamente con la suplementación de caseinato de calcio fueron la media de glucosa, la mediana, el percentil 25, el percentil 75 y la hemoglobina glucosilada estimada. Sin embargo, los parámetros asociados a la variabilidad glucémica como el CV y los índices de amplitud media de las excursiones glucémicas (MAGE, por sus siglas en inglés), de acción glucémica neta global continua (CONGA, por sus siglas en inglés) y de medias absolutas de las diferencias diarias (MODD, por sus siglas en inglés) disminuyeron significativamente. Con respecto a los tiempos en rango, los porcentajes de TIR y TAR no cambiaron durante los 7 días de intervención con caseinato de calcio. Sin embargo, el porcentaje de TBR disminuyó significativamente después de la ingesta de proteínas de 6.20% a 1.57% **Cuadro 7**. Además, al analizar los datos del monitor continuo de glucosa se observó una disminución significativa en el área bajo la curva de día de 715471 ± 71946 mg/dL*2h a 578148 ± 184725 mg/dL*2 h **Cuadro 7**, mientras que una disminución de casi el 20% de se observó el área bajo la curva total con la intervención de caseinato de calcio **Figura 11**.

Cuadro 7. Medidas de monitoreo continuo de glucosa; control y variabilidad glucémica antes y después de la ingesta aguda de proteína.

Variable	Día 0 - 7	Día 8 - 14	<i>P</i>
Promedio glucosa, mg/dL	93.8 ± 8.84	97.4 ± 7.06	0.01
Mediana glucosa, mg/dL	92.2 ± 7.94	95.1 ± 6.93	0.01
Percentil 25 glucosa, mg/dL	85.1 ± 8.70	88.9 ± 6.99	0.01
Percentil 75 glucosa, mg/dL	100 ± 8.50	103 ± 7.63	0.02
HbA1c estimada, %	4.89 ± 0.31	5.01 ± 0.25	0.01
Desviación estándar, mg/dL	14.3 ± 2.27	12.8 ± 2.78	0.01
CV, %	0.15 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.01
TIR, %	38.0 ± 47.2	40.0 ± 49.3	0.13
TBR, %	6.20 ± 9.19	1.57 ± 3.19	0.01
TAR, %	1.40 ± 1.98	1.42 ± 1.69	0.94
dAUC, mg/dL	715471 ± 71946	578148 ± 184725	0.01
nAUC, mg/dL	238020 ± 38839	232131 ± 83866	0.69
tAUC, mg/dL	954954 ± 106288	811668 ± 262529	0.01
MAGE	31.5 ± 6.54	27.8 ± 6.35	0.01
CONGA	15.0 ± 2.41	13.6 ± 2.88	0.01
MODD	13.7 ± 2.74	11.0 ± 2.06	0.01

Los datos son presentados como promedios y desviación estándar. * *P*-value < 0.05 T de Student para muestras pareadas. HbA1c, hemoglobina glucosilada; CV, coeficiente de variación; TIR, tiempo en rango; TBR, tiempo por debajo del rango; TAR, tiempo por encima del rango; dAUC, área bajo la curva de día; nAUC, área bajo la curva de noche; tAUC, área bajo la curva total; MAGE, mean amplitude of glycemic excursions; CONGA, continuous overall net glycemic action; MODD, mean of daily differences.

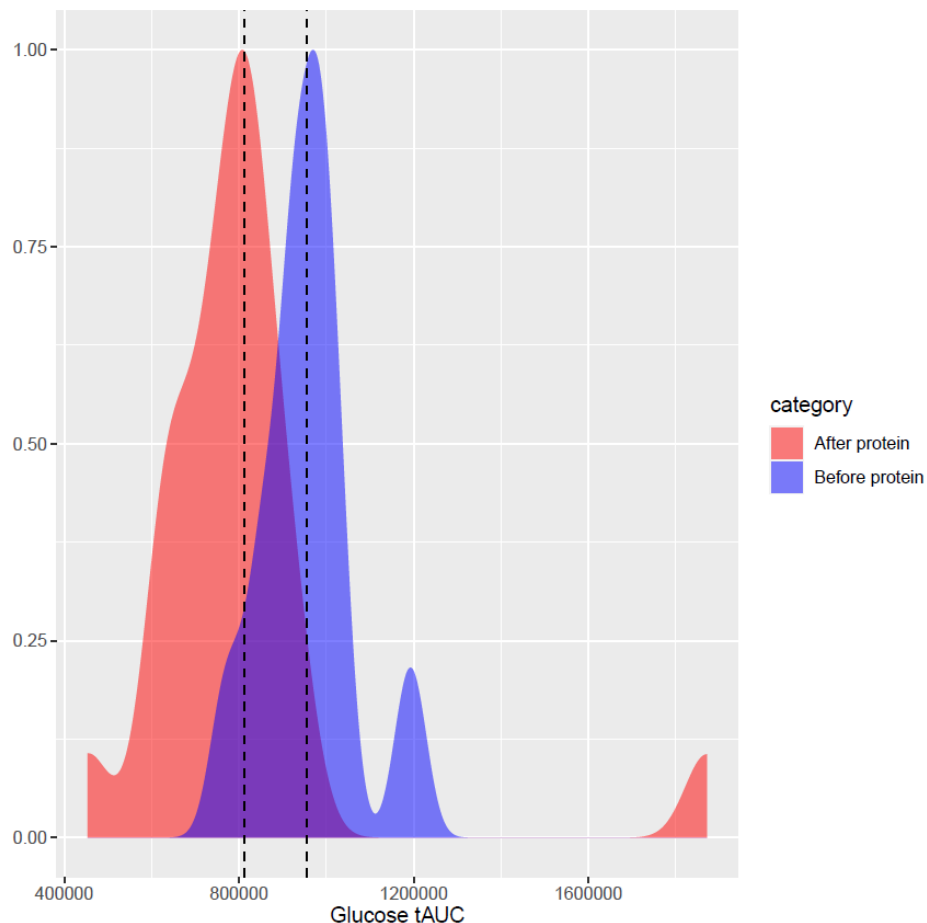


Figura 11. Área bajo la curva total de glucosa antes y después de la ingesta aguda de proteína de todos los sujetos.

Posteriormente, se realizó un análisis para determinar si existían diferencias entre el antes y después del consumo de caseinato de calcio y el sexo de los participantes (**Figura 12**), e interesantemente se observó que no sólo los grupos se separan de acuerdo con la suplementación de proteína, sino que también existe una separación de acuerdo con el sexo, siendo esto más evidente para el grupo de las mujeres.

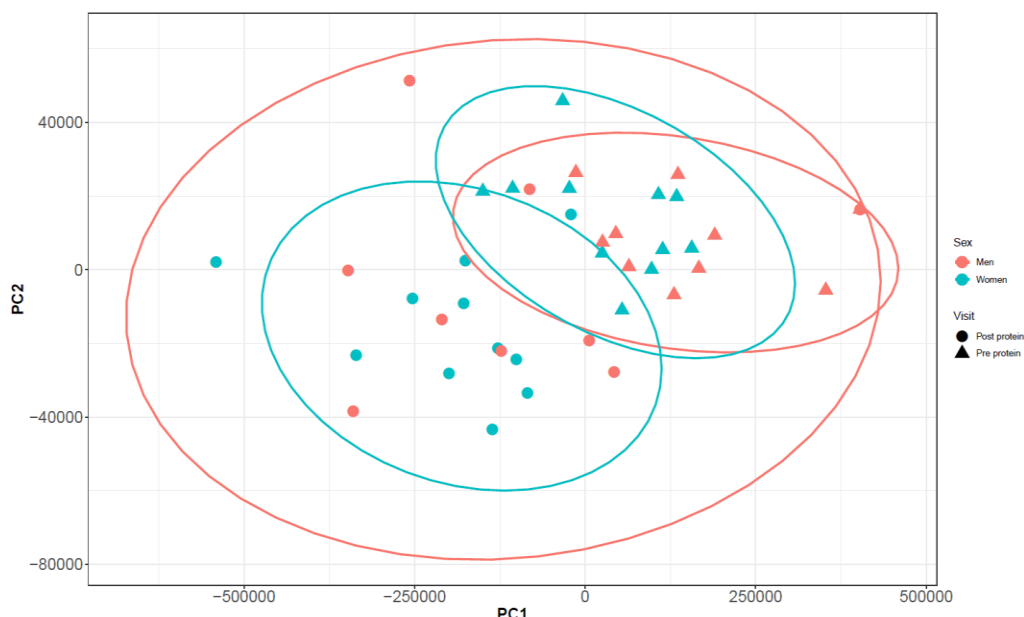


Figura 12. Análisis de componentes principales entre hombres y mujeres antes y después del consumo agudo de proteína.

Por lo que se decidió analizar los parámetros del monitor continuo de glucosa de acuerdo con el sexo **Cuadro 8**. Se observó que sólo en el grupo de mujeres existió un aumento en los parámetros de la glucemia y una disminución en el coeficiente de variación y de medias absolutas de las diferencias diarias (MODD, por sus siglas en inglés) asociados a la variabilidad glucémica. Además, el porcentaje del tiempo bajo el rango disminuyó de 8.64% a 2.08%, y tanto el área bajo la curva de día como el área bajo la curva total disminuyeron significativamente después de la suplementación con caseinato de calcio de $687171 \pm 53060 \text{ mg/dL} \cdot 2 \text{ h}$ a $529737 \pm 80336 \text{ mg/dL} \cdot 2 \text{ h}$ y de $911379 \pm 82166 \text{ mg/dL} \cdot 2 \text{ h}$ a $749361 \pm 114246 \text{ mg/dL} \cdot 2 \text{ h}$, respectivamente. Mientras que en el grupo de hombres las únicas diferencias observadas fueron en los índices de variabilidad glucémica de amplitud media de las excursiones glucémicas (MAGE, por sus siglas en inglés), de acción glucémica neta global continua (CONGA, por sus siglas en inglés) y de medias absolutas de las diferencias diarias (MODD, por sus siglas en inglés) con una reducción significativa de 34.2 ± 7.51 a 28.4 ± 8.18 , de 16.2 ± 2.56 a 14.4 ± 3.17 y de 14.6 ± 2.83 a 11.9 ± 2.12 , respectivamente.

Cuadro 8. Medidas de monitoreo continuo de glucosa; control y variabilidad glucémica de acuerdo con el sexo antes y después de la ingesta aguda de proteína.

Variable	Mujeres n = 13			<i>P</i>	Hombres n = 9			<i>P</i>
	Día 0	Día 14			Día 0	Día 14		
Promedio glucosa, mg/dL	89.0 ± 6.21	94.9 ± 6.33	0.01		99.5 ± 8.22	100 ± 6.92	0.62	
Mediana glucosa, mg/dL	87.6 ± 5.66	92.7 ± 6.07	0.01		97.6 ± 6.93	97.9 ± 7.09	0.84	
Percentil 25 glucosa, mg/dL	81.0 ± 7.15	86.9 ± 6.53	0.01		90.0 ± 8.04	91.4 ± 7.00	0.47	
Percentil 75 glucosa, mg/dL	95.5 ± 5.62	100 ± 6.42	0.01		106 ± 7.52	106 ± 7.76	0.95	
HbA1c estimada, %	4.71 ± 0.22	4.92 ± 0.21	0.01		5.10 ± 0.27	5.13 ± 0.24	0.68	
Desviación estándar, mg/dL	13.6 ± 1.84	12.1 ± 1.85	0.02		15.2 ± 2.51	13.6 ± 3.53	0.06	
CV, %	0.15 ± 0.03	0.12 ± 0.01	0.01		0.15 ± 0.02	0.13 ± 0.03	0.06	
TIR, %	29.0 ± 43.7	32.5 ± 48.1	0.16		48.7 ± 51.4	49.0 ± 51.7	0.36	
TBR, %	8.64 ± 11.5	2.08 ± 3.68	0.01		3.27 ± 3.98	0.96 ± 2.54	0.07	
TAR, %	0.52 ± 0.37	0.95 ± 0.92	0.93		2.46 ± 2.58	1.99 ± 2.24	0.55	
dAUC, mg/dL	687171 ± 53060	529737 ± 80336	0.01		749432 ± 79294	636241 ± 254673	0.21	
nAUC, mg/dL	222807 ± 34980	218278 ± 41648	0.55		256275 ± 36679	248755 ± 117170	0.82	
tAUC, mg/dL	911379 ± 82166	749361 ± 114246	0.01		1007243 ± 111978	886437 ± 365345	0.32	
MAGE	29.2 ± 4.83	27.3 ± 4.66	0.17		34.2 ± 7.51	28.4 ± 8.18	0.01	
CONGA	14.0 ± 1.83	13.0 ± 2.58	0.11		16.2 ± 2.56	14.4 ± 3.17	0.01	
MODD	13.0 ± 2.54	10.2 ± 1.73	0.01		14.6 ± 2.83	11.9 ± 2.12	0.02	

Los datos son presentados como promedios y desviación estándar. * *P*-value < 0.05 T de Student para muestras pareadas. HbA1c, hemoglobina glucosilada; CV, coeficiente de variación; TIR, tiempo en rango; TBR, tiempo por debajo del rango; TAR, tiempo por encima del rango; dAUC, área bajo la curva de día; nAUC, área bajo la curva de noche; tAUC, área bajo la curva total; MAGE, mean amplitude of glycemic excursions; CONGA, continuous overall net glycemic action; MODD, mean of daily differences.

Dado que existen diferencias notables en la variabilidad glucémica antes y después del consumo del caseinato del calcio entre hombres y mujeres, nos preguntamos si esto era debido a diferencias entre los diversos parámetros metabólicos estudiados y si esto estaba relacionado a una diferencia en la composición de la microbiota intestinal. En primer lugar, se estudiaron los cambios en los parámetros antropométricos, bioquímicos y hormonales entre hombres y mujeres donde se observó que en el grupo de las mujeres hubo una disminución significativa en el área de grasa visceral de $68.5 \pm 12.2 \text{ cm}^3$ a $66.3 \pm 12.3 \text{ cm}^3$. Además, en este mismo grupo se observó un aumento en la masa magra de $37.7 \pm 3.70 \text{ kg}$ a $38.4 \pm 4.17 \text{ kg}$, esto probablemente debido al aumento en el consumo de proteína. Por otro lado, en el grupo de los hombres únicamente se observó una disminución significativa en las concentraciones de colesterol total de $162 \pm 30.3 \text{ mg/dL}$ a $132 \pm 25.0 \text{ mg/dL}$.

Cuadro 9.

Cuadro 9. Características clínicas, antropométricas, bioquímicas y hormonales de los participantes de acuerdo con el sexo antes y después del consumo agudo de proteína.

Variable	Mujeres n = 12		P	Hombres n =10		P
	Día 0	Día 14		Día 0	Día 14	
Peso, kg	57.1 ± 5.54	57.2 ± 5.40	0.62	69.8 ± 6.71	69.4 ± 6.30	0.30
IMC, kg/m ²	22.2 ± 2.30	22.3 ± 2.18	0.30	24.1 ± 2.02	24.0 ± 2.04	0.33
C.Cintura, cm	69.8 ± 2.86	70.3 ± 3.87	0.38	81.2 ± 6.05	80.7 ± 4.03	0.54
Área de grasa visceral, cm ³	68.5 ± 12.2	66.3 ± 12.3	0.02	64.5 ± 17.4	63.1 ± 16.6	0.35
Masa grasa, kg	20.6 ± 14.7	16.5 ± 3.49	0.29	15.8 ± 3.73	15.4 ± 3.57	0.42
Masa magra, kg	37.7 ± 3.70	38.4 ± 4.17	0.01	50.9 ± 7.06	51.2 ± 6.77	0.61
PAS, mmHg	95.6 ± 11.7	96.5 ± 11.3	0.70	111 ± 8.43	111 ± 11.1	0.82
PAD, mmHg	66.2 ± 4.41	67.5 ± 6.81	0.33	71.4 ± 5.69	71.6 ± 6.88	0.92
Glucosa, mg/dL	91.6 ± 5.88	94.1 ± 11.3	0.34	98.4 ± 8.65	98.3 ± 11.6	0.97
Colesterol total, mg/dL	164 ± 31.8	159 ± 32.6	0.52	162 ± 30.3	132 ± 25.0	0.01
Triacilglicéridos, mg/dL	86.3 ± 32.4	80.9 ± 36.9	0.47	118 ± 37.1	95.3 ± 39.9	0.10
C-HDL, mg/dL	49.7 ± 11.6	52.5 ± 11.6	0.20	39.9 ± 8.65	41.2 ± 10.8	0.54
C-LDL, mg/dL	99.8 ± 23.3	103 ± 25.7	0.51	104 ± 27.9	93.1 ± 22.8	0.07
Urea, mmol/L	4.37 ± 0.92	5.36 ± 1.10	0.01	4.84 ± 1.09	5.36 ± 0.98	0.13
Creatina, mg/dL	0.71 ± 0.16	0.77 ± 0.19	0.30	0.93 ± 0.10	0.85 ± 0.11	0.09
ALT, U/L	16.8 ± 4.07	17.1 ± 3.56	0.77	24.9 ± 9.56	24.7 ± 7.59	0.96
AST, U/L	19.4 ± 5.10	18.7 ± 4.53	0.71	28.5 ± 18.7	23.3 ± 8.51	0.48
Insulina, µIU/mL	8.17 ± 2.03	6.68 ± 2.09	0.09	7.82 ± 5.08	6.82 ± 2.41	0.54

Los datos son presentados como promedios y desviación estándar. * P-value < 0.05 T de Student para muestras pareadas. IMC, índice de masa corporal. C.Cintura, circunferencia de cintura. PAS, presión arterial sistólica. PAD, presión arterial diastólica.; ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa.

En diversos estudios el perfil de aminoácidos se ha asociado a un mayor riesgo de presentar disglucemia (92–94), debido al consumo agudo alto en proteína se decidió determinar el perfil de aminoácidos en suero de estos participantes. En el total de la población se observó que después de 7 días de intervención el ácido aspártico, el ácido glutámico, la glicina y la fenilalanina disminuyeron, mientras que la isoleucina, metionina, prolina, treonina, tirosina y valina aumentaron significativamente **Cuadro 10**. Al momento de analizar por sexos **Cuadro 11**, en el grupo de las mujeres disminuyeron significativamente las concentraciones del ácido aspártico, ácido glutámico, glicina y fenilalanina. En este mismo grupo se observó un aumento significativo en las concentraciones de isoleucina, metionina, prolina y la sumatoria de los aminoácidos de cadena ramificada. Mientras que en el grupo de los hombres únicamente se observó una disminución significativa en las concentraciones de fenilalanina. Y se observó un aumento en las concentraciones de histidina, isoleucina, metionina, prolina, treonina, tirosina, valina y la sumatoria de los aminoácidos de cadena ramificada.

Cuadro 10. Perfil de aminoácidos de los participantes antes y después del consumo agudo de proteína.

Variable (μM)	Día 1	Día 14	<i>P</i>
Alanina	363 ± 67.2	353 ± 67.5	0.61
Arginina	82.3 ± 14.8	78.7 ± 14.0	0.25
Asparagina	38.3 ± 4.99	37.3 ± 6.08	0.50
Ácido Aspártico	6.65 ± 4.01	4.99 ± 2.14	0.03
Ácido Glutámico	32.6 ± 13.9	27.1 ± 12.6	0.04
Glutamina	435 ± 52.4	421 ± 51.2	0.16
Glicina	242 ± 64.5	208 ± 49.8	0.01
Histidina	63.0 ± 6.11	66.7 ± 15.1	0.28
Isoleucina	52.9 ± 13.2	64.0 ± 15.4	0.01
Leucina	96.8 ± 17.6	102 ± 19.6	0.23
Lisina	129 ± 19.1	116 ± 16.9	0.02
Metionina	16.4 ± 2.83	23.6 ± 8.43	0.01
Fenilalanina	47.4 ± 7.37	41.2 ± 6.93	0.01
Prolina	155 ± 54.2	194 ± 68.2	0.01
Serina	99.4 ± 19.2	95.7 ± 15.3	0.37
Treonina	100 ± 33.4	124 ± 42.6	0.01
Triptófano	43.0 ± 5.74	42.1 ± 7.59	0.52
Tirosina	51.6 ± 8.15	58.3 ± 11.6	0.02
Valina	149 ± 37.3	178 ± 29.2	0.01
ΣBCAA	299 ± 58.5	345 ± 59.6	0.01

Los datos son presentados como promedio y desviación estándar. * P-value < 0.05 T de Student para muestras pareadas. ΣBCAA, sumatoria de aminoácidos de cadena ramificada.

Cuadro 11. Perfil de aminoácidos de los participantes de acuerdo con el sexo antes y después del consumo agudo de proteína

Variable (μM)	Mujeres n = 12		P	Hombres n = 10		P
	Día 0	Día 14		Día 0	Día 14	
Alanina	364 ± 76.1	330 ± 60.7	0.20	361 ± 58.8	381 ± 67.5	0.48
Arginina	81.3 ± 16.3	73.9 ± 12.6	0.17	83.6 ± 13.6	84.5 ± 14.1	0.77
Asparagina	37.9 ± 5.91	35.5 ± 6.20	0.26	38.6 ± 3.87	39.2 ± 5.38	0.53
Ácido Aspártico	8.08 ± 4.94	4.85 ± 1.43	0.01	4.95 ± 1.32	5.17 ± 2.85	0.70
Ácido Glutámico	31.4 ± 15.4	21.1 ± 6.83	0.01	34.2 ± 12.6	34.2 ± 14.6	0.98
Glutamina	424 ± 66.9	404 ± 50.0	0.21	449 ± 23.4	442 ± 46.5	0.54
Glicina	256 ± 79.9	218 ± 58.7	0.04	224 ± 35.6	196 ± 35.8	0.07
Histidina	63.7 ± 6.48	62.7 ± 16.9	0.84	62.1 ± 5.85	71.5 ± 11.9	0.03
Isoleucina	46.6 ± 9.10	55.3 ± 14.4	0.03	60.6 ± 13.8	74.6 ± 8.54	0.02
Leucina	88.0 ± 9.07	91.5 ± 18.5	0.58	107 ± 19.9	114 ± 12.3	0.24
Lisina	124 ± 20.9	112 ± 15.6	0.15	135 ± 15.5	120 ± 18.2	0.07
Metionina	15.7 ± 3.22	22.3 ± 9.06	0.02	17.3 ± 2.09	25.1 ± 7.80	0.01
Fenilalanina	48.2 ± 8.04	41.4 ± 6.51	0.02	46.6 ± 6.80	41.0 ± 7.76	0.04
Prolina	132 ± 34.4	163 ± 55.1	0.05	183 ± 62.1	231 ± 66.0	0.02
Serina	105 ± 18.6	97.3 ± 16.6	0.19	92.0 ± 18.0	93.8 ± 14.0	0.71
Treonina	93.5 ± 38.9	118 ± 44.9	0.07	108 ± 25.0	131 ± 41.1	0.03
Triptófano	42.4 ± 6.88	40.5 ± 8.18	0.43	43.8 ± 4.22	44.1 ± 6.72	0.85
Tirosina	51.0 ± 8.67	55.1 ± 10.7	0.35	52.4 ± 7.86	62.2 ± 12.0	0.01
Valina	144 ± 15.1	164 ± 28.0	0.051	171 ± 22.9	196 ± 20.1	0.01
ΣBCAA	266 ± 39.3	311 ± 55.2	0.04	339 ± 53.5	385 ± 34.3	0.02

Los datos son presentados como promedio y desviación estándar. * P-value < 0.05 T de Student para muestras pareadas. ΣBCAA, sumatoria de aminoácidos de cadena ramificada.

Por otro lado, para determinar si existe una asociación entre la variabilidad glucémica y el perfil de aminoácidos se realizó un análisis de conglomerados jerárquicos utilizando el coeficiente de correlación de Pearson calculado para la concentración de cada aminoácido y cada parámetro del monitor continuo de glucosa. Los grupos se visualizaron mediante un mapa de calor con su respectivo dendograma. Se identificaron dos grupos principales tanto en concentraciones basales, como en las concentraciones finales en el total de la población estudiada (**Figura 13a y 13b**). Un grupo estaba compuesto por la valina, la isoleucina y el ácido glutámico, y el segundo por el resto de los aminoácidos. De manera interesante, se observó que las concentraciones basales de prolina, aspartato, tirosina e histidina correlacionaron negativamente con parámetros como la media de glucosa, la mediana y los percentiles, perdiéndose este perfil con el consumo agudo de proteína. Además, al final de la intervención la metionina, histidina y la treonina correlacionaron positivamente con la área bajo la curva y los índices de variabilidad glucémica, cuando esto no se reflejó previo a la intervención.

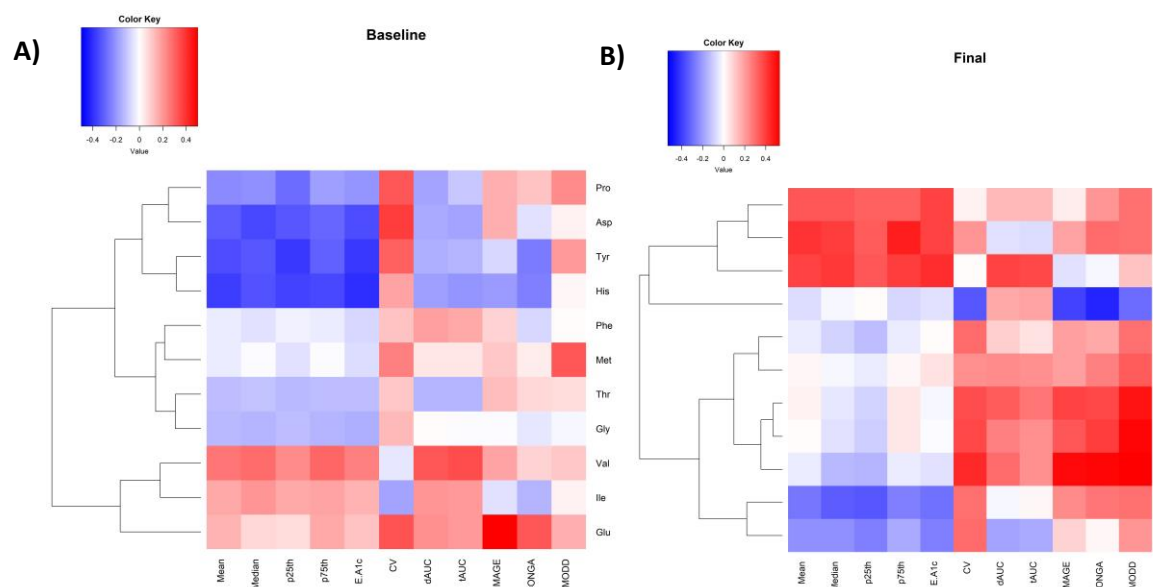


Figura 13. Heatmap de correlación utilizado el coeficiente de correlación de Pearson entre el perfil de aminoácidos de los participantes y parámetros del monitor continuo de glucosa antes y después de un consumo agudo de proteína. *Se consideró una p significativa cuando el valor fue < 0.05 .

Para examinar la posibilidad de que la variabilidad glucémica observada anteriormente estuviera asociada a posibles cambios en la microbiota intestinal, en primer lugar, se realizó un análisis de la composición de ésta antes y después del consumo del caseinato de calcio tanto en hombres como en mujeres. En cuanto a la Alpha diversidad en los OTUs observados, y los índices Chao1, Shannon y Simpson (**Figura 14**) en ambos sexos se observa una tendencia a aumentar tras el consumo agudo de proteína, sin embargo, no se obtuvo significancia estadística para alguno de los índices.

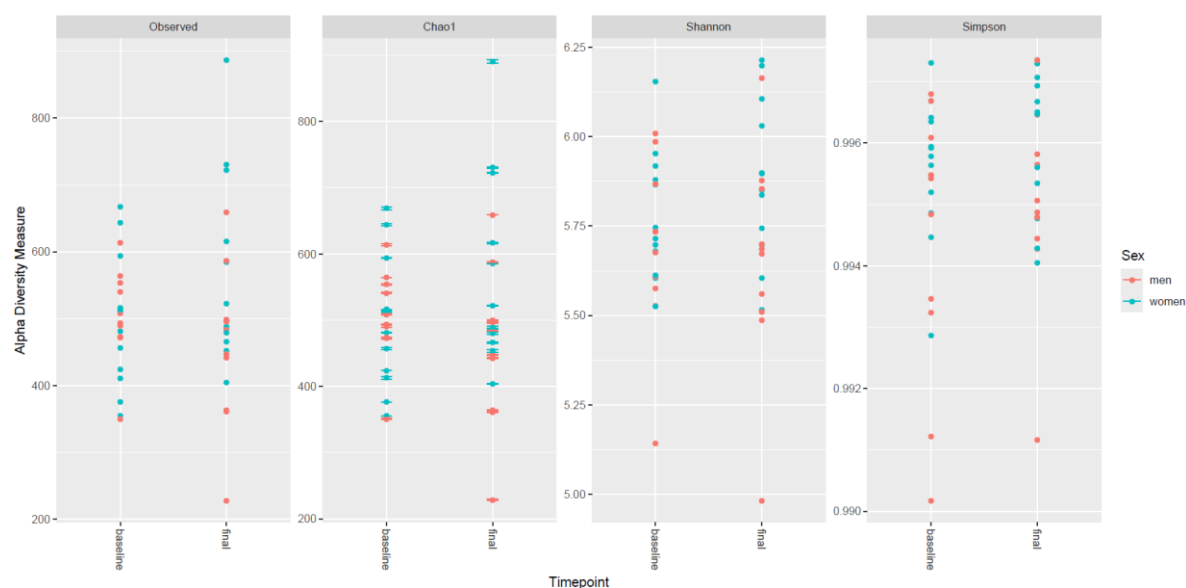


Figura 14. Análisis de alpha diversidad de acuerdo con el sexo antes y después del consumo agudo de proteína.

Por otro lado, se evaluó también su composición taxonómica. Para el total de la población se observó que la variabilidad interindividual en la composición taxonomía es muy evidente sin importar el sexo. Al realizar un promedio de acuerdo con el sexo se observó que a nivel de phylum previo a la suplementación con proteína *Bacteroidota* fue el phylum con mayor abundancia relativa, seguido por los *Firmicutes* y las *Proteobacterias* para ambos sexos (**Figura 15a**). Mientras que tras el consumo agudo de proteína fueron los Firmicutes el phylum más abundante (**Figura 15b**).

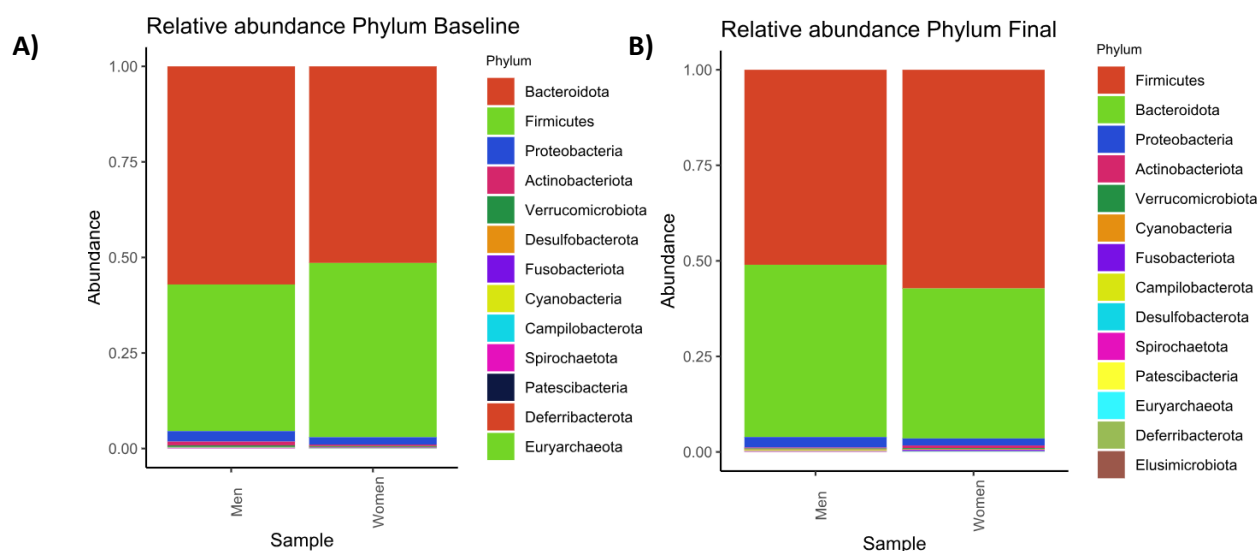


Figura 15. A) Abundancia relativa a nivel phylum de forma basal. B) Abundancia relativa a nivel de phylum de forma final.

Al realizar el análisis a nivel de género, se observó que de forma basal no hay diferencias entre los dos grupos. Siendo los géneros más abundantes al inicio los *Bacteroides*, *Prevotella*, y *Parabacteroides*, nuevamente sin mostrar diferencias entre sexos. De forma interesante, el género *Prevotella* fue predominante previo a la intervención en los hombres, y al final de la intervención fueron los hombres quienes mostraron mayor abundancia de este género (**Figura 16a y b**).

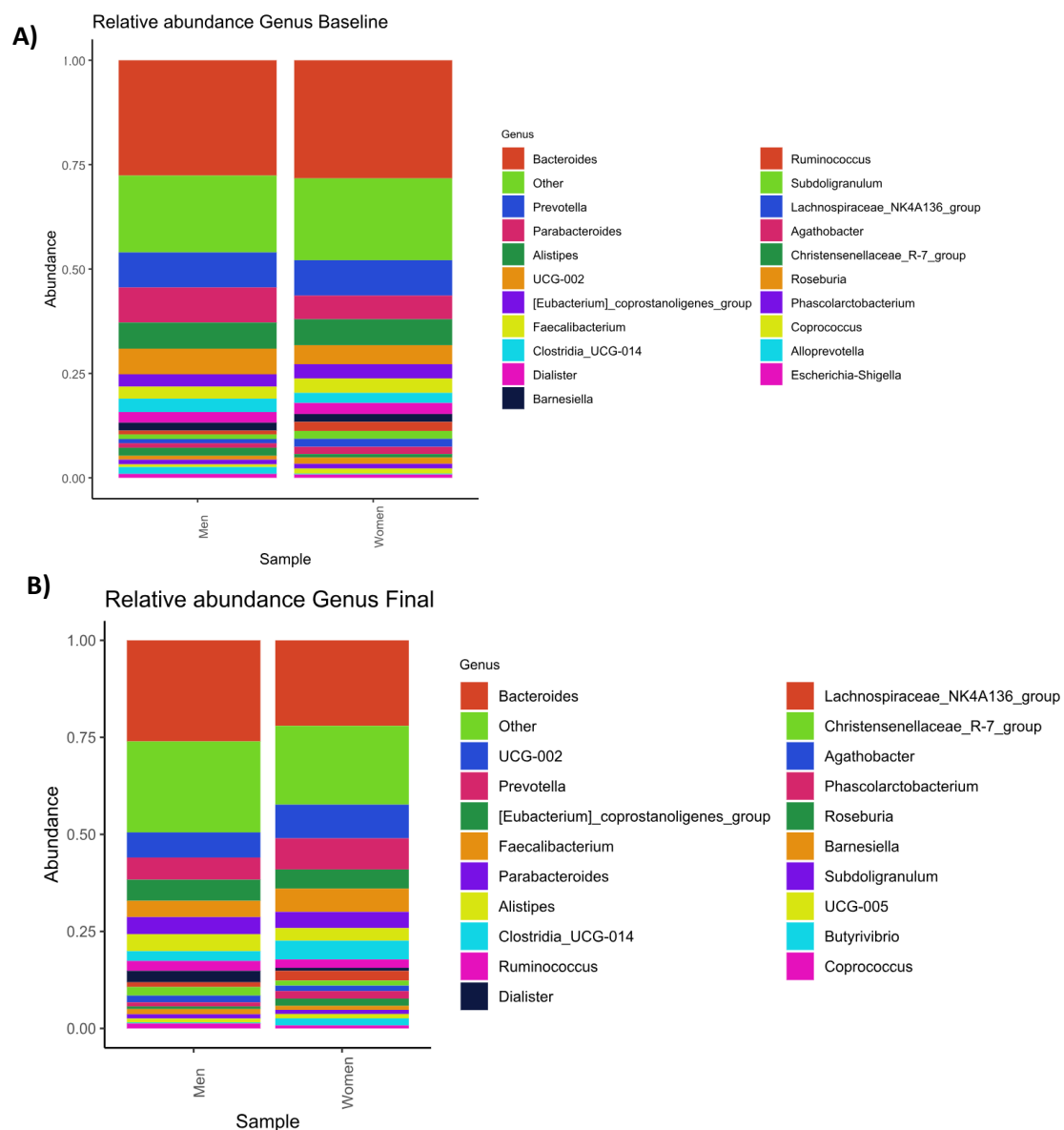
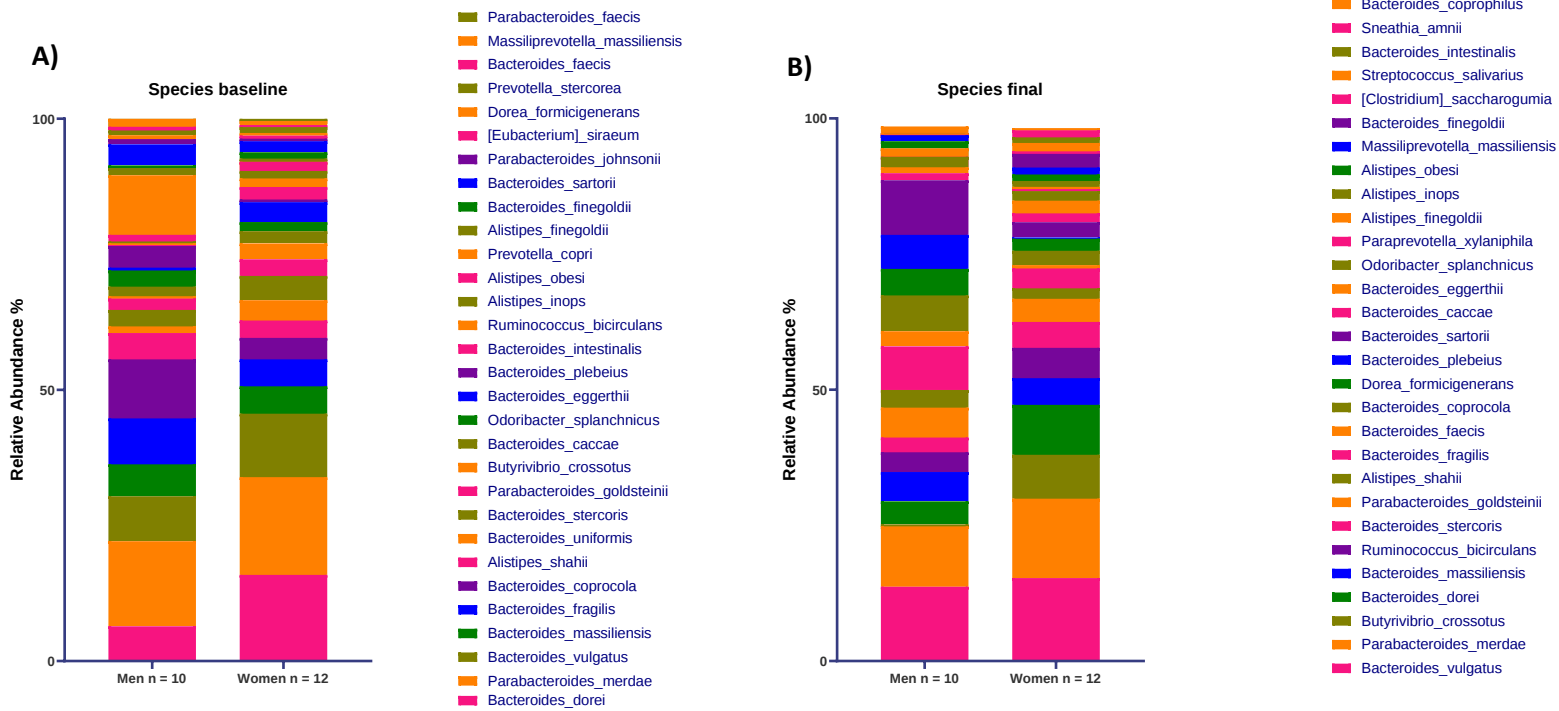


Figura 16. A) Abundancia relativa a nivel de género de forma basal. B) Abundancia relativa a nivel de género de forma final.

Por último, en cuanto a nivel de especie se notó un cambio en cuanto a la composición antes y después de la intervención con la suplementación de proteína principalmente en los hombres (**Figura 17a y b**). A nivel de especie se observó que previo al consumo agudo de proteína en las mujeres *Bacteroides dorei*, *Parabacteroides merdae* y *Bacteroides vulgatus* fueron las especies más abundantes, mientras que en los hombres fueron *Parabacteroides dorei*, *Bacteroides coprocola* y *Prevotella copri*. Tras la intervención las especie más

abundantes en hombres fueron *Bacteroides vulgatus*, *Parabacteroides merdae* y *Bacteroides sartorii*.



9. Discusión

9.1 Estudio transversal

En este estudio se evaluó, entre otras cosas, la prevalencia de disglucemia y los factores predictivos de una glucemia posprandial de 2 h alterada tras una curva de tolerancia oral a la glucosa de 2 h. 42.2% de los participantes presentaron alteraciones en las concentraciones de glucosa luego de realizar la curva de tolerancia oral a la glucosa, de los cuales el 34.3% presentó prediabetes y el 7.87% presentó concentraciones para diagnóstico de diabetes (5). En estudios previos se ha demostrado una mayor prevalencia de diabetes tipo 2 en comparación con la observada en nuestra población de estudio utilizando una curva de tolerancia oral a la glucosa de 2 h como criterio diagnóstico. Por ejemplo, Carnevale et al., (95) reportaron una prevalencia de diabetes del 11.2% en 619 sujetos con obesidad y alteración de las concentraciones de glucosa en ayuno. En otro estudio, Yang et al., (96) encontraron una prevalencia de prediabetes del 15.5% y una prevalencia de diabetes tipo 2 del 9.7% en 46,239 adultos de diferentes provincias de China. Mientras que el Informe Nacional de Estadísticas de Diabetes 2020 de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades en Estados Unidos informó una prevalencia del 38% para prediabetes y 8.2% para diabetes tipo 2 utilizando los diferentes criterios diagnósticos como la curva de tolerancia oral a la glucosa, la glucosa en ayuno o la hemoglobina glucosilada (97). Sin embargo, estas diferencias pueden explicarse por diversos factores relacionados con la población, como el origen étnico, la edad y la genética (5).

Interesantemente, observamos que la proporción de sujetos con concentraciones de glucosa alteradas después de una curva de tolerancia oral a la glucosa de 2 h respalda los resultados de estudios previos que informan que las alteraciones posprandiales ocurren previas a un aumento en las concentraciones de las concentraciones de glucosa en ayuno, lo que muestra la progresión natural de la diabetes tipo 2(98). Asimismo, este estudio confirma que una curva de tolerancia oral a la glucosa de 2 h tiene una mayor sensibilidad para detectar prediabetes o diabetes en comparación con las concentraciones de glucosa en ayuno y los valores

de hemoglobina glucosilada. Los participantes que cumplieron con los criterios de diabetes tipo 2 después de la curva de tolerancia oral a la glucosa de 2 h tuvieron niveles medios de la concentración de glucosa en ayuno y concentraciones de hemoglobina glucosilada inferiores a los puntos de corte establecidos por la Asociación Americana de Diabetes en 2023 (5,99). Por tanto, es importante concientizar sobre realizar un cribado rutinario como la curva de tolerancia oral a la glucosa de 2 h en personas aparentemente sanas. Aunque, las limitaciones financieras y el tiempo que esta conlleva crean un bajo apego a esta herramienta de evaluación diagnóstica.

Por otro lado, varios estudios han descrito que la forma de la curva de glucosa después de realizar una curva de tolerancia oral a la glucosa refleja la funcionalidad de las células β en sujetos sin diabetes (100). Nuestros resultados revelan que en sujetos con normoglucemia, el 53.4% presentó una curva monofásica y el 33.7% presentó una curva de glucosa continua, los cuales han sido asociados con una disminución en la funcionalidad de las células β y por tanto un mayor riesgo de progresión a diabetes tipo 2 en comparación con un patrón de curva bifásica. Otros estudios también han descrito que el patrón de una curva monofásica ocurre con mayor frecuencia en sujetos con normoglucemia y prediabetes, lo que podría reflejar una disminución de la sensibilidad a la insulina (100,101).

Además, se observó que en el grupo de normoglucemia se presentó una mayor proporción de resistencia a la insulina evaluada mediante el índice HOMA-IR, índice QUICKI y concentraciones de leptina, a pesar de tener concentraciones normales de glucosa ayuno. Por lo que se ha propuesto utilizar la curva de glucosa monofásica o continua como biomarcador de riesgo temprano de desarrollo de diabetes tipo 2, dado que independientemente de la concentración de glucosa en ayunas o post-curva de tolerancia oral a la glucosa de 2 h, se ha asociado con menor sensibilidad a la insulina y mayor incidencia. de diabetes tipo 2 en sujetos jóvenes obesos (102,103).

En sujetos con prediabetes, se observó una correlación positiva entre la glucemia posprandial a las 2 h, la edad, la presión arterial sistólica y diastólica, glucosa

plasmática en ayunas y colesterol HDL-C; sin embargo, no encontramos correlaciones significativas en el grupo de diabetes. La relación entre la edad y una disminución progresiva de la tolerancia a la glucosa relacionada con la pérdida de la funcionalidad de las células β ha sido descrita previamente. Chen et al.(104), demostraron que hay una respuesta de insulina más baja en la primera hora en una curva de tolerancia oral a la glucosa en adultos mayores que en adultos más jóvenes, a pesar de que los adultos mayores tenían concentraciones de glucosa más altas después de una curva de tolerancia oral a la glucosa. Además, la relación entre la presión arterial y la alteración de las concentraciones glucosa después de una curva de tolerancia oral a la glucosa se ha descrito previamente. Si et al. (105), encontraron que la glucosa posprandial a las 2 h alterada es un factor de riesgo independiente de hipertensión en una población asiática.

Finalmente, se realizó una regresión lineal múltiple con la finalidad de obtener una herramienta pronóstica de una glucemia posprandial alterada sin la necesidad de realizar una curva de tolerancia oral a la glucosa, basada en parámetros de mayor accesibilidad como parámetros antropométricos, clínicos, bioquímicos y hormonales. Por tanto, se observó que el mejor modelo para predecir una glucemia posprandial alterada a las 2 h fue con las variables hemoglobina glucosilada, proteína C reactiva, masa grasa y colesterol total ($R^2=0.55$). Babbar et al. (106), encontraron resultados similares al evaluar diferentes variables demográficas, antropométricas y de laboratorio para predecir una curva de tolerancia oral a la glucosa alterada, y las variables más sólidas en su modelo fueron la glucosa en ayunas, los ácidos grasos libres, los triglicéridos, la hemoglobina glucosilada y la proteína C reactiva. Interesantemente, en este modelo, la proteína C reactiva y la hemoglobina glucosilada fueron las variables más sólidas para predecir la glucemia posprandial alterada, demostrando que la proteína C reactiva refleja un papel importante de la inflamación crónica en la patogénesis de la disglucemia y la diabetes tipo 2.

Además, se ha demostrado que la hemoglobina glucosilada correlaciona directamente con las concentraciones de glucosa, lo que contribuye a la elevación

de la ésta (106). Incluso se ha descrito una sensibilidad del 72% de la hemoglobina glucosilada para predecir una glucemia posprandial de 2 h en sujetos con concentraciones normales de glucosa en ayunas (107). Por otro lado, la masa grasa corporal y el colesterol total fueron variables menos sólidas para predecir la disglucemia; sin embargo, fueron significativos cuando se agregaron al modelo final. Se sabe que el efecto negativo de la masa grasa corporal sobre la sensibilidad a la insulina también puede estar relacionado con las citocinas proinflamatorias liberadas por el tejido adiposo, que desempeñan un papel central en la patogénesis de la diabetes tipo 2 y la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD, por sus siglas en inglés) y el metabolismo de los lípidos al promover la lipogénesis de novo, y la lipogénesis hepática de novo que contribuyen al desarrollo de esteatosis (108,109).

Este estudio revela que a través de diferentes parámetros que pueden determinarse diariamente en la práctica clínica o que pueden ser de mayor accesibilidad, pueden ser útiles para predecir alteraciones en las concentraciones de glucosa sin realizar una curva de tolerancia oral a la glucosa. Esta herramienta puede ayudar a identificar de forma temprana a un mayor porcentaje de individuos que curse con alguna alteración en su glucemia. Lo que se traduce en el inicio de intervenciones tempranas para el tratamiento de estas alteraciones y así limitar futuras complicaciones. Se ha encontrado que cuanto mayor es el grado de disglucemia mayor es el riesgo de desarrollar hígado graso no alcohólico (110).

La limitación más importante de nuestro estudio es el tamaño de la muestra y por lo tanto la representatividad de la población estudiada, lo que puede restar validez externa, pero sin duda aporta información útil para estudios posteriores. Aunque se puede lograr una mejor predicción con un tamaño de muestra mayor y mediante técnicas de inteligencia artificial, este trabajo puede dar una pauta de las características que se pueden considerar en la práctica clínica para una posible predicción de una glucemia posprandial de 2 h.

9.2 Estudio clínico

En este estudio se evaluó el efecto de un consumo alto en proteína de manera aguda sobre la variabilidad glucémica, perfil de aminoácidos y la composición de la microbiota intestinal en sujetos sanos no atletas. De nuestros 22 participantes 12 fueron mujeres y 10 hombres.

El uso de dietas altas en proteína ha sido una estrategia dietaria utilizada principalmente en el tratamiento de pacientes con obesidad o en adultos mayores (111,112). Sin embargo, su uso en pacientes normopeso, que no padecen enfermedades y que no son atletas de alto rendimiento ha sido poco estudiado. Según las recomendaciones de ingesta proteica en sujetos sanos, ésta debe ir de 0.8 a 1 g/kg/día (113), en este estudio el promedio de consumo de proteína previo a la suplementación fue de 1.44 kg/kg/día, y al finalizar la suplementación de 7 días la ingesta llegó a 2.10 g/kg/día de proteína. Diversos estudios han demostrado que los mamíferos pueden adaptarse a una dieta alta en proteína, en parte reduciendo la velocidad del vaciado gástrico (114). Esta retroalimentación negativa sobre la velocidad del vaciado gástrico y la ingesta de alimentos podría estar implicada en señales bioquímicas y/o fisiológicas del organismo (115).

En estudios en personas con sobrepeso y obesidad se ha demostrado que una ingesta alta en proteína disminuye la cantidad de masa grasa (116). Lo que concuerda con nuestros resultados pues observamos que en las mujeres disminuyó significativamente el área de grasa visceral y a su vez aumentó la cantidad de masa magra de forma significativa. Esto en los hombres no se observó probablemente debido a que los hombres per se presentan una mayor cantidad de masa magra y una menor cantidad de masa grasa (117), por lo que el aumento en la suplementación de proteína no generó algún cambio en su composición corporal.

A pesar de que existe evidencia de que la caseína puede promover un aumento en las concentraciones de insulina (118), en nuestro estudio se observó una tendencia a disminuir las concentraciones de esta hormona en ambos sexos. Sin embargo, se ha encontrado que las concentraciones de aminoácidos séricos deben alcanzar un cierto nivel antes de que se pueda detectar cualquier aumento en las

concentraciones de insulina, independientemente de la tasa de vaciado gástrico o la composición de las comidas (119). Además, nuestros resultados demostraron una disminución en la área bajo la curva tras el consumo del suplemento de proteína. De acuerdo con la literatura el consumo de una bebida a base de caseína puede mantener niveles más bajos del área bajo la curva de insulina (118). Aunado a esto se ha informado que el patrón de aminoácidos del tipo de proteína también podría afectar a la liberación de insulina, por ejemplo, los aminoácidos arginina, lisina, fenilalanina, alanina, leucina e isoleucina estimulan la secreción de esta hormona (118).

Al medir el efecto del consumo alto en proteína de forma aguda sobre la concentración de aminoácidos séricos, observamos que, en ambos sexos, los aminoácidos de cadena ramificada aumentaron significativamente, sin embargo, al ser una población sana esto no tuvo efecto sobre las concentraciones de insulina. Por otro lado, observamos que el perfil de aminoácidos se comportó diferente tanto en hombres como en mujeres. Si bien son pocos los estudios que describen la modificación de los aminoácidos séricos en mujeres tras el consumo de una suplementación de proteína. Un estudio de van Loon y cols. (118) entre diferentes tipos de proteína dieron una bebida a base de caseinato a hombres sanos, no obesos e informaron concentraciones de algunos aminoácidos más elevadas que las encontradas en nuestro estudio como es el caso de la metionina, la prolina, la tirosina y la valina. Sin embargo, comparando las concentraciones de los aminoácidos del total de nuestra población contra sujetos sanos jóvenes observamos que nuestra población de forma basal ya contaba con concentraciones más elevadas de algunos aminoácidos como la isoleucina, la prolina, la tirosina y la valina (120). Esta diferencia probablemente se deba a que la población referencia era más joven y con un índice de masa corporal menor que la nuestra.

La mayoría de los estudios de intervención dietarias centrados en el efecto sobre la composición de la microbiota intestinal se han centrado en el tipo de grasas o en los hidratos de carbono no digeribles, mientras que el efecto de las proteínas dietarias se ha estudiado mucho menos. Se ha demostrado que el consumo de una dieta alta

en proteínas durante 3 semanas no afecta a la composición de la microbiota intestinal (121). Concordando con nuestros resultados donde no observamos diferencias en la taxonomía de la microbiota intestinal a nivel de phylum, género o especie.

10. Conclusión

10.1 Estudio transversal

Aproximadamente 4 de cada 10 participantes con sobrepeso y obesidad presentaron disglucemia después de la prueba de tolerancia oral a la glucosa de 2 h, a pesar de tener concentraciones normales de glucosa plasmática en ayunas, de los cuales casi el 8% cumplieron los criterios diagnósticos de diabetes tipo 2. La hemoglobina glucosilada, proteína C reactiva, masa grasa y colesterol total fueron las variables más importantes asociadas a un glucosa posprandial de 2 h alterada.

11. Bibliografía

1. Khan R. Postprandial blood glucose. American Diabetes Association. Diabetes Care [Internet]. 2001 [cited 2024 Apr 30];24(4):775–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11315848/>
2. Laddu D, Hauser M. Addressing the Nutritional Phenotype Through Personalized Nutrition for Chronic Disease Prevention and Management. Prog Cardiovasc Dis [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2024 May 1];62(1):9–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30553801/>
3. van Ommen B, van den Broek T, de Hoogh I, van Erk M, van Someren E, Rouhani-Rankouhi T, et al. Systems biology of personalized nutrition. Nutr Rev [Internet]. 2017 Aug 1 [cited 2024 Apr 30];75(8):579–99. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28969366/>
4. Monnier L, Colette C, Owens DR. Integrating glycaemic variability in the glycaemic disorders of type 2 diabetes: a move towards a unified glucose tetrad concept. Diabetes Metab Res Rev [Internet]. 2009 Jul [cited 2024 Apr 30];25(5):393–402. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19437415/>
5. Elsayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Bruemmer D, et al. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2023. Diabetes Care [Internet]. 2023 Jan 1 [cited 2024 Apr 30];46(Suppl 1):S19–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36507649/>
6. Vega-López S, Venn BJ, Slavin JL. Relevance of the Glycemic Index and Glycemic Load for Body Weight, Diabetes, and Cardiovascular Disease. Nutrients [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2024 Apr 30];10(10). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30249012/>
7. Leiter LA, Ceriello A, Davidson JA, Hanefeld M, Monnier L, Owens DR, et al. Postprandial glucose regulation: new data and new implications. Clin Ther [Internet]. 2005 [cited 2024 Apr 30];27 Suppl B(SUPPL. 2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16519037/>

8. Papakonstantinou E, Oikonomou C, Nychas G, Dimitriadis GD. Effects of Diet, Lifestyle, Chrononutrition and Alternative Dietary Interventions on Postprandial Glycemia and Insulin Resistance. *Nutrients* [Internet]. 2022 Feb 1 [cited 2024 Apr 30];14(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35215472/>
9. Zimmerman BR. Postprandial hyperglycemia: Implications for practice. *American Journal of Cardiology* [Internet]. 2001 Jul 26 [cited 2024 Apr 30];88(2 SUPPL. 2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11576524/>
10. Gavin JR. Pathophysiologic mechanisms of postprandial hyperglycemia. *American Journal of Cardiology* [Internet]. 2001 Jul 26 [cited 2024 Apr 30];88(2 SUPPL. 2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11576519/>
11. Vlachos D, Malisova S, Lindberg FA, Karaniki G. Glycemic Index (GI) or Glycemic Load (GL) and Dietary Interventions for Optimizing Postprandial Hyperglycemia in Patients with T2 Diabetes: A Review. *Nutrients* [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2024 Apr 30];12(6). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32471238/>
12. Meng H, Matthan NR, Ausman LM, Lichtenstein AH. Effect of prior meal macronutrient composition on postprandial glycemic responses and glycemic index and glycemic load value determinations. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2024 Apr 30];106(5):1246–56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28903959/>
13. Moghaddam E, Vogt JA, Wolever TMS. The effects of fat and protein on glycemic responses in nondiabetic humans vary with waist circumference, fasting plasma insulin, and dietary fiber intake. *J Nutr* [Internet]. 2006 [cited 2024 Apr 30];136(10):2506–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16988118/>
14. Lan-Pidhainy X, Wolever TMS. The hypoglycemic effect of fat and protein is not attenuated by insulin resistance. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2010 Jan 1 [cited 2024 Apr 30];91(1):98–105. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19923374/>

15. Willett W, Manson J, Liu S. Glycemic index, glycemic load, and risk of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2002 [cited 2024 Apr 30];76(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12081851/>
16. Mendes-Soares H, Raveh-Sadka T, Azulay S, Edens K, Ben-Shlomo Y, Cohen Y, et al. Assessment of a Personalized Approach to Predicting Postprandial Glycemic Responses to Food Among Individuals Without Diabetes. *JAMA Netw Open* [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2024 Apr 30];2(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30735238/>
17. Vrolix R, Mensink RP. Variability of the glycemic response to single food products in healthy subjects. *Contemp Clin Trials* [Internet]. 2010 Jan [cited 2024 Apr 30];31(1):5–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19737630/>
18. Von Schwanzenberg RJ, Turnbaugh PJ. Siri, What Should I Eat? *Cell* [Internet]. 2015 Nov 19 [cited 2024 Apr 30];163(5):1051–2. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26590412/>
19. Blaak EE, Antoine JM, Benton D, Björck I, Bozzetto L, Brouns F, et al. Impact of postprandial glycaemia on health and prevention of disease. *Obes Rev* [Internet]. 2012 Oct [cited 2024 Apr 30];13(10):923–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22780564/>
20. Ceriello A. Impaired glucose tolerance and cardiovascular disease: The possible role of post-prandial hyperglycemia. *Am Heart J* [Internet]. 2004 [cited 2024 Apr 30];147(5):803–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15131534/>
21. Meigs JB, Nathan DM, D’Agostino RB, Wilson PWF. Fasting and postchallenge glycemia and cardiovascular disease risk: the Framingham Offspring Study. *Diabetes Care* [Internet]. 2002 Oct [cited 2024 Apr 30];25(10):1845–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12351489/>
22. Monnier L, Lapinski H, Colette C. Contributions of fasting and postprandial plasma glucose increments to the overall diurnal hyperglycemia of type 2 diabetic patients: variations with increasing levels of HbA(1c). *Diabetes Care*

[Internet]. 2003 Mar 1 [cited 2024 Apr 30];26(3):881–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12610053/>

23. Jenkins DJA, Wolever TMS, Taylor RH, Barker H, Fielden H, Baldwin JM, et al. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 1981 [cited 2024 Apr 30];34(3):362–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6259925/>
24. Wolever TMS, Jenkins DJA. The use of the glycemic index in predicting the blood glucose response to mixed meals. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 1986 [cited 2024 Apr 30];43(1):167–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3942088/>
25. Meng H, Matthan NR, Ausman LM, Lichtenstein AH. Effect of macronutrients and fiber on postprandial glycemic responses and meal glycemic index and glycemic load value determinations. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2017 Apr 1 [cited 2024 Apr 30];105(4):842–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28202475/>
26. Brand-Miller J, Buyken AE. The Relationship between Glycemic Index and Health. *Nutrients* [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2024 May 6];12(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32093020/>
27. Meynier A, Goux A, Atkinson F, Brack O, Vinoy S. Postprandial glycaemic response: how is it influenced by characteristics of cereal products? *Br J Nutr* [Internet]. 2015 Jun 28 [cited 2024 Apr 30];113(12):1931–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25998901/>
28. Röhling M, Martin T, Wonnemann M, Kragl M, Klein HH, Heinemann L, et al. Determination of Postprandial Glycemic Responses by Continuous Glucose Monitoring in a Real-World Setting. *Nutrients* [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2024 Apr 30];11(10). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31569815/>
29. Chiavaroli L, Lee D, Ahmed A, Cheung A, Khan TA, Blanco S, et al. Effect of low glycaemic index or load dietary patterns on glycaemic control and cardiometabolic risk factors in diabetes: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* [Internet]. 2021 Aug 4 [cited 2024 Apr 30];374. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34348965/>

30. Zeevi D, Korem T, Zmora N, Israeli D, Rothschild D, Weinberger A, et al. Personalized Nutrition by Prediction of Glycemic Responses. *Cell* [Internet]. 2015 Nov 19 [cited 2024 Apr 30];163(5):1079–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26590418/>
31. Berry SE, Valdes AM, Drew DA, Asnicar F, Mazidi M, Wolf J, et al. Human postprandial responses to food and potential for precision nutrition. *Nat Med* [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2024 Apr 30];26(6):964–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32528151/>
32. Mendes-Soares H, Raveh-Sadka T, Azulay S, Ben-Shlomo Y, Cohen Y, Ofek T, et al. Model of personalized postprandial glycemic response to food developed for an Israeli cohort predicts responses in Midwestern American individuals. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2024 Apr 30];110(1):63–75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31095300/>
33. Korem T, Zeevi D, Zmora N, Weissbrod O, Bar N, Lotan-Pompan M, et al. Bread Affects Clinical Parameters and Induces Gut Microbiome-Associated Personal Glycemic Responses. *Cell Metab* [Internet]. 2017 Jun 6 [cited 2024 Apr 30];25(6):1243-1253.e5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28591632/>
34. McPhee PG, Singh S, Morrison KM. Childhood Obesity and Cardiovascular Disease Risk: Working Toward Solutions. *Canadian Journal of Cardiology*. 2020 Sep 1;36(9):1352–61.
35. Gijbels A, Trouwborst I, Jardon KM, Hul GB, Siebelink E, Bowser SM, et al. The PERSONalized Glucose Optimization Through Nutritional Intervention (PERSON) Study: Rationale, Design and Preliminary Screening Results. *Front Nutr* [Internet]. 2021 Jun 30 [cited 2024 May 1];8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34277687/>
36. Bashiardes S, Godneva A, Elinav E, Segal E. Towards utilization of the human genome and microbiome for personalized nutrition. *Curr Opin Biotechnol* [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2024 May 1];51:57–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29223004/>

37. Torres N, Tovar AR. THE PRESENT AND FUTURE OF PERSONALIZED NUTRITION. *Rev Invest Clin* [Internet]. 2021 [cited 2024 May 1];73(5):321–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34609363/>
38. de Toro-Martín J, Arsenault BJ, Després JP, Vohl MC. Precision Nutrition: A Review of Personalized Nutritional Approaches for the Prevention and Management of Metabolic Syndrome. *Nutrients* [Internet]. 2017 Aug 22 [cited 2024 May 1];9(8). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28829397/>
39. Corella D, Ordovás JMA. [The role of omics in precision nutrition: strengths and weaknesses]. *Nutr Hosp* [Internet]. 2018 [cited 2024 May 1];35(Spec No4):10–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30070116/>
40. Stewart-Knox BJ, Poínhos R, Fischer ARH, Chaudhrey M, Rankin A, Davison J, et al. Sex and age differences in attitudes and intention to adopt personalised nutrition in a UK sample. *Z Gesundh Wiss* [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2024 May 1];31(8):1277–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34926128/>
41. Qi L. Personalized nutrition and obesity. *Ann Med* [Internet]. 2014 [cited 2024 May 1];46(5):247–52. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24716734/>
42. Di Renzo L, Gualtieri P, Romano L, Marrone G, Noce A, Pujia A, et al. Role of Personalized Nutrition in Chronic-Degenerative Diseases. *Nutrients* [Internet]. 2019 [cited 2024 May 1];11(8). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31344895/>
43. Ursell LK, Haiser HJ, Van Treuren W, Garg N, Reddivari L, Vanamala J, et al. The intestinal metabolome: an intersection between microbiota and host. *Gastroenterology* [Internet]. 2014 [cited 2024 May 1];146(6):1470–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24631493/>
44. Sánchez-Tapia M, Tovar AR, Torres N. Diet as Regulator of Gut Microbiota and its Role in Health and Disease. *Arch Med Res* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2024 May 1];50(5):259–68. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31593850/>

45. Guevara-Cruz M, Flores-Lopez AG, Aguilar-Lopez M, Sanchez-Tapia M, Medina-Vera I, Diaz D, et al. Improvement of Lipoprotein Profile and Metabolic Endotoxemia by a Lifestyle Intervention That Modifies the Gut Microbiota in Subjects With Metabolic Syndrome. *J Am Heart Assoc* [Internet]. 2019 Sep 3 [cited 2024 May 1];8(17). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31451009/>

46. Medina-Vera I, Sanchez-Tapia M, Noriega-López L, Granados-Portillo O, Guevara-Cruz M, Flores-López A, et al. A dietary intervention with functional foods reduces metabolic endotoxaemia and attenuates biochemical abnormalities by modifying faecal microbiota in people with type 2 diabetes. *Diabetes Metab* [Internet]. 2019 Apr 1 [cited 2024 May 1];45(2):122–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30266575/>

47. Leviatan S, Segal E. A Significant Expansion of Our Understanding of the Composition of the Human Microbiome. *mSystems* [Internet]. 2019 Feb 26 [cited 2024 May 1];4(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30701191/>

48. Gérard C, Vidal H. Impact of Gut Microbiota on Host Glycemic Control. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2019 [cited 2024 May 1];10(JAN). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30761090/>

49. Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggiano GAD, Gasbarrini A, et al. What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2024 May 1];7(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30634578/>

50. Gomaa EZ. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie Van Leeuwenhoek* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2024 May 1];113(12):2019–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33136284/>

51. Kolodziejczyk AA, Zheng D, Elinav E. Diet-microbiota interactions and personalized nutrition. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2024 May 1];17(12):742–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31541197/>

52. Tasse L, Bercovici J, Pizzut-Serin S, Robe P, Tap J, Klopp C, et al. Functional metagenomics to mine the human gut microbiome for dietary fiber catabolic enzymes. *Genome Res* [Internet]. 2010 Nov [cited 2024 Jun 18];20(11):1605–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20841432/>
53. Yang X, Darko KO, Huang Y, He C, Yang H, He S, et al. Resistant Starch Regulates Gut Microbiota: Structure, Biochemistry and Cell Signalling. *Cell Physiol Biochem* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2024 Jun 18];42(1):306–18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28535508/>
54. López-Salazar V, Tapia MS, Tobón-Cornejo S, Díaz D, Alemán-Escondrillas G, Granados-Portillo O, et al. Consumption of soybean or olive oil at recommended concentrations increased the intestinal microbiota diversity and insulin sensitivity and prevented fatty liver compared to the effects of coconut oil. *J Nutr Biochem* [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2024 May 1];94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33915261/>
55. Sánchez-Tapia M, Miller AW, Granados-Portillo O, Tovar AR, Torres N. The development of metabolic endotoxemia is dependent on the type of sweetener and the presence of saturated fat in the diet. *Gut Microbes* [Internet]. 2020 Nov 9 [cited 2024 May 1];12(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32804018/>
56. Wu G. Dietary protein intake and human health. *Food Funct* [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2024 May 1];7(3):1251–65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26797090/>
57. Astrup A, Raben A, Geiker N. The role of higher protein diets in weight control and obesity-related comorbidities. *Int J Obes (Lond)* [Internet]. 2015 May 8 [cited 2024 May 1];39(5):721–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25540980/>
58. McAuley KA, Hopkins CM, Smith KJ, McLay RT, Williams SM, Taylor RW, et al. Comparison of high-fat and high-protein diets with a high-carbohydrate diet in insulin-resistant obese women. *Diabetologia* [Internet]. 2005 Jan [cited 2024 May 1];48(1):8–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15616799/>

59. Ortolá R, Struijk EA, García-Esquinas E, Rodríguez-Artalejo F, Lopez-Garcia E. Changes in Dietary Intake of Animal and Vegetable Protein and Unhealthy Aging. *Am J Med* [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2024 May 1];133(2):231-239.e7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31369726/>
60. Simonson M, Boirie Y, Guillet C. Protein, amino acids and obesity treatment. *Rev Endocr Metab Disord* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2024 May 1];21(3):341–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32827096/>
61. Westerterp-Plantenga MS, Nieuwenhuizen A, Tomé D, Soenen S, Westerterp KR. Dietary protein, weight loss, and weight maintenance. *Annu Rev Nutr* [Internet]. 2009 Aug [cited 2024 May 1];29:21–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19400750/>
62. Danneskiold-Samsøe NB, Dias de Freitas Queiroz Barros H, Santos R, Bicas JL, Cazarin CBB, Madsen L, et al. Interplay between food and gut microbiota in health and disease. *Food Res Int* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2024 May 1];115:23–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30599936/>
63. Bartlett A, Kleiner M. Dietary protein and the intestinal microbiota: An understudied relationship. *iScience* [Internet]. 2022 Nov 18 [cited 2024 May 1];25(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36339270/>
64. Zhao J, Zhang X, Liu H, Brown MA, Qiao S. Dietary Protein and Gut Microbiota Composition and Function. *Curr Protein Pept Sci* [Internet]. 2019 May 14 [cited 2024 May 1];20(2):145–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29756574/>
65. Holmes AJ, Chew YV, Colakoglu F, Cliff JB, Klaassens E, Read MN, et al. Diet-Microbiome Interactions in Health Are Controlled by Intestinal Nitrogen Source Constraints. *Cell Metab* [Internet]. 2017 Jan 10 [cited 2024 May 1];25(1):140–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27889387/>
66. Kårlund A, Gómez-Gallego C, Turpeinen AM, Palo-Oja OM, El-Nezami H, Kolehmainen M. Protein Supplements and Their Relation with Nutrition, Microbiota Composition and Health: Is More Protein Always Better for

Sportspeople? Nutrients [Internet]. 2019 Apr 1 [cited 2024 May 1];11(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31013719/>

67. Portune KJ, Benítez-Páez A, Del Pulgar EMG, Cerrudo V, Sanz Y. Gut microbiota, diet, and obesity-related disorders-The good, the bad, and the future challenges. *Mol Nutr Food Res* [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2024 May 1];61(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27287778/>
68. Suez J, Shapiro H, Elinav E. Role of the microbiome in the normal and aberrant glycemic response. *Clin Nutr Exp*. 2016 Apr 1;6:59–73.
69. Coutiño-Hernández D, Sánchez-Tapia M, Leal-Vega F, Bobadilla del Valle M, Ledezma H, Cervantes R, et al. Modulation of gut microbiota by Mantequilla and Melipona honeys decrease low-grade inflammation caused by high fructose corn syrup or sucrose in rats. *Food Res Int* [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2024 May 1];151. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34980392/>
70. Shapiro H, Kolodziejczyk AA, Halstuch D, Elinav E. Bile acids in glucose metabolism in health and disease. *J Exp Med* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2024 May 1];215(2):383–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29339445/>
71. Liu GY, Sabatini DM. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2024 May 1];21(4):183–203. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31937935/>
72. Gojda J, Cahova M. Gut Microbiota as the Link between Elevated BCAA Serum Levels and Insulin Resistance. *Biomolecules* [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2024 May 1];11(10). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34680047/>
73. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α - and obesity-induced insulin resistance. *Science* [Internet]. 1996 Feb 2 [cited 2024 May 1];271(5249):665–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8571133/>

74. Ruder B, Atreya R, Becker C. Tumour Necrosis Factor Alpha in Intestinal Homeostasis and Gut Related Diseases. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019 Apr 2 [cited 2024 May 1];20(8). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30995806/>

75. Scheithauer TPM, Rampanelli E, Nieuwdorp M, Vallance BA, Verchere CB, van Raalte DH, et al. Gut Microbiota as a Trigger for Metabolic Inflammation in Obesity and Type 2 Diabetes. *Front Immunol* [Internet]. 2020 Oct 16 [cited 2024 May 1];11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33178196/>

76. Wu H, Tremaroli V, Schmidt C, Lundqvist A, Olsson LM, Krämer M, et al. The Gut Microbiota in Prediabetes and Diabetes: A Population-Based Cross-Sectional Study. *Cell Metab* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2024 May 6];32(3):379-390.e3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32652044/>

77. Zhang Y, Huang A, Li J, Munthali W, Cao S, Putri UMP, et al. The Effect of Microbiome-Modulating Agents (MMAs) on Type 1 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients* [Internet]. 2024 May 29 [cited 2024 Jun 22];16(11):1675. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38892608/>

78. Chambers ES, Byrne CS, Morrison DJ, Murphy KG, Preston T, Tedford C, et al. Dietary supplementation with inulin-propionate ester or inulin improves insulin sensitivity in adults with overweight and obesity with distinct effects on the gut microbiota, plasma metabolome and systemic inflammatory responses: a randomised cross-over trial. *Gut* [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2024 Jun 22];68(8):1430–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30971437/>

79. Leal-Díaz AM, Noriega LG, Torre-Villalvazo I, Torres N, Alemán-Escondrillas G, López-Romero P, et al. Aguamiel concentrate from *Agave salmiana* and its extracted saponins attenuated obesity and hepatic steatosis and increased *Akkermansia muciniphila* in C57BL6 mice. *Sci Rep* [Internet]. 2016 Sep 28 [cited 2024 Jun 22];6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27678062/>

80. Martínez I, Lattimer JM, Hubach KL, Case JA, Yang J, Weber CG, et al. Gut microbiome composition is linked to whole grain-induced immunological improvements. *ISME J* [Internet]. 2013 Mar [cited 2024 May 6];7(2):269–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23038174/>
81. Tily H, Patridge E, Cai Y, Gopu V, Gline S, Genkin M, et al. Gut Microbiome Activity Contributes to Prediction of Individual Variation in Glycemic Response in Adults. *Diabetes Ther* [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2024 May 6];13(1):89–111. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34799839/>
82. Clina JG, Sayer RD, Pan Z, Cohen CW, McDermott MT, Catenacci VA, et al. High- and normal-protein diets improve body composition and glucose control in adults with type 2 diabetes: a randomized trial. *Obesity (Silver Spring)* [Internet]. 2023 Aug 1 [cited 2024 Jun 16];31(8):2021–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37475689/>
83. Xiao K, Furutani A, Sasaki H, Takahashi M, Shibata S. Effect of a High Protein Diet at Breakfast on Postprandial Glucose Level at Dinner Time in Healthy Adults. *Nutrients* [Internet]. 2023 Jan 1 [cited 2024 Jun 16];15(1). Available from: [/pmc/articles/PMC9824806/](https://pmc/articles/PMC9824806/)
84. Tettamanzi F, Bagnardi V, Louca P, Nogal A, Monti GS, Mambrini SP, et al. A High Protein Diet Is More Effective in Improving Insulin Resistance and Glycemic Variability Compared to a Mediterranean Diet-A Cross-Over Controlled Inpatient Dietary Study. *Nutrients* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2024 Jun 16];13(12). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34959931/>
85. Attaye I, Lassen PB, Adriouch S, Steinbach E, Patiño-Navarrete R, Davids M, et al. Protein supplementation changes gut microbial diversity and derived metabolites in subjects with type 2 diabetes. *iScience* [Internet]. 2023 Aug 8 [cited 2024 Jun 16];26(8). Available from: [/pmc/articles/PMC10432813/](https://pmc/articles/PMC10432813/)
86. Martorell TGLAFRR. Anthropometric standardization reference manual. 1988.
87. Utzschneider KM, Younes N, Rasouli N, Barzilay JI, Banerji MA, Cohen RM, et al. Shape of the OGTT glucose response curve: relationship with β -cell function and differences by sex, race, and Bmicrobiota intestinal in adults

with early type 2 diabetes treated with metformin. *BMJ Open Diabetes Res Care* [Internet]. 2021 Sep 16 [cited 2024 May 6];9(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34531242/>

88. Serdar CC, Cihan M, Yücel D, Serdar MA. Sample size, power and effect size revisited: simplified and practical approaches in pre-clinical, clinical and laboratory studies. *Biochem Med (Zagreb)* [Internet]. 2021 [cited 2024 May 6];31(1):1–27. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33380887/>
89. Quast C, Priesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2013 Jan 1 [cited 2024 May 1];41(Database issue). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23193283/>
90. Monnier L, Colette C, Owens DR. The application of simple metrics in the assessment of glycaemic variability. *Diabetes Metab* [Internet]. 2018 Sep 1 [cited 2024 May 1];44(4):313–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29602622/>
91. Schulz KF, Altman DG, Moher D. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ* [Internet]. 2010 Mar 27 [cited 2024 May 1];340(7748):698–702. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20332509/>
92. Chen T, Zheng X, Ma X, Bao Y, Ni Y, Hu C, et al. Tryptophan Predicts the Risk for Future Type 2 Diabetes. *PLoS One*. 2016 Sep 1;11(9).
93. Wurtz P, Soininen P, Kangas AJ, Rönnemaa T, Lehtimäki T, Kähönen M, et al. Branched-chain and aromatic amino acids are predictors of insulin resistance in young adults. *Diabetes Care*. 2013 Mar;36(3):648–55.
94. Chen T, Ni Y, Ma X, Bao Y, Liu J, Huang F, et al. Branched-chain and aromatic amino acid profiles and diabetes risk in Chinese populations. *Sci Rep* [Internet]. 2016 Feb 5 [cited 2024 Jun 18];6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26846565/>

95. Carnevale Schianca glucosa posprandial, Fra glucosa posprandial, Bigliocca M, Mella R, Rossi L, Bartoli E. Oral glucose tolerance test-based calculation identifies different glucose intolerance phenotypes within the impaired fasting glucose range. *J Diabetes Investig* [Internet]. 2014 [cited 2024 May 5];5(5):533–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25411621/>

96. Yang W, Lu J, Weng J, Jia W, Ji L, Xiao J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China. *N Engl J Med* [Internet]. 2010 Mar 25 [cited 2024 May 5];362(12):1090–101. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20335585/>

97. Centers for Disease Control and Prevention: National... - Google Académico [Internet]. [cited 2024 May 5]. Available from: https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=National%20diabetes%20Statistics%20Report%202020%20Estimates%20of%20diabetes%20and%20its%20burden%20in%20the%20United%20States&author=U.S.%20Department%20of%20Health%20and%20Human%20Services%20Centers%20for%20Disease%20Control%20and%20Prevention&publication_year=2020

98. Sitasuwan T, Lertwattanak R. Prediction of type 2 diabetes mellitus using fasting plasma glucose and hemoglobina glucosilada levels among individuals with impaired fasting plasma glucose: a cross-sectional study in Thailand. *BMJ Open* [Internet]. 2020 Nov 10 [cited 2024 May 6];10(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33172945/>

99. Kim DL, Kim SD, Kim SK, Park S, Song KH. Is an Oral Glucose Tolerance Test Still Valid for Diagnosing Diabetes Mellitus? *Diabetes Metab J* [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2024 May 5];40(2):118–28. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26616592/>

100. Kanauchi M, Kimura K, Kanauchi K, Saito Y. Beta-cell function and insulin sensitivity contribute to the shape of plasma glucose curve during an oral glucose tolerance test in non-diabetic individuals. *Int J Clin Pract* [Internet]. 2005 Apr [cited 2024 May 5];59(4):427–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15853859/>

101. Tschritter O, Fritsche A, Shirkavand F, Machicao F, Häring H, Stumvoll M. Assessing the shape of the glucose curve during an oral glucose tolerance test. *Diabetes Care* [Internet]. 2003 Apr 1 [cited 2024 May 5];26(4):1026–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12663568/>

102. Abdul-Ghani MA, Lyssenko V, Tuomi T, DeFronzo RA, Groop L. The shape of plasma glucose concentration curve during OGTT predicts future risk of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* [Internet]. 2010 May [cited 2024 May 5];26(4):280–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20503260/>
103. Kim JY, Michaliszyn SF, Nasr A, Lee SJ, Tfayli H, Hannon T, et al. The Shape of the Glucose Response Curve During an Oral Glucose Tolerance Test Heralds Biomarkers of Type 2 Diabetes Risk in Obese Youth. *Diabetes Care* [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2024 May 5];39(8):1431–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27293201/>
104. Chen M, Bergman RN, Pacini G, Porte D. Pathogenesis of age-related glucose intolerance in man: insulin resistance and decreased beta-cell function. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1985 [cited 2024 May 6];60(1):13–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3880560/>
105. Si Y, Wang A, Yang Y, Liu H, Gu S, Mu Y, et al. Fasting Blood Glucose and 2-h Postprandial Blood Glucose Predict Hypertension: A Report from the REACTION Study. *Diabetes Ther* [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2024 May 6];12(4):1117–28. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33660197/>
106. Babbar R, Heni M, Peter A, de Angelis MH, Häring HU, Fritsche A, et al. Prediction of Glucose Tolerance without an Oral Glucose Tolerance Test. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2018 Mar 19 [cited 2024 May 6];9(MAR). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29615972/>
107. Geberhiwot T, Haddon A, Labib M. hemoglobina glucosilada predicts the likelihood of having impaired glucose tolerance in high-risk patients with normal fasting plasma glucose. *Ann Clin Biochem* [Internet]. 2005 May [cited 2024 May 6];42(Pt 3):193–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15949153/>
108. Shi J, Fan J, Su Q, Yang Z. Cytokines and Abnormal Glucose and Lipid Metabolism. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2019 Oct 30 [cited 2024 May 5];10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31736870/>

109. Smith GI, Shankaran M, Yoshino M, Schweitzer GG, Chondronikola M, Beals JW, et al. Insulin resistance drives hepatic de novo lipogenesis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* [Internet]. 2020 Mar 2 [cited 2024 May 6];130(3):1453–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31805015/>
110. Tarantino G, Crocetto F, Di Vito C, Creta M, Martino R, Pandolfo SD, et al. Association of NAFLD and Insulin Resistance with Non Metastatic Bladder Cancer Patients: A Cross-Sectional Retrospective Study. *J Clin Med* [Internet]. 2021 Jan 2 [cited 2024 May 6];10(2):1–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33477579/>
111. Daily JW, Park S. Association of Plant-Based and High-Protein Diets with a Lower Obesity Risk Defined by Fat Mass in Middle-Aged and Elderly Persons with a High Genetic Risk of Obesity. *Nutrients* [Internet]. 2023 Feb 1 [cited 2024 Jun 21];15(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36839421/>
112. Wirth J, Segat A, Horner K, Crognale D, Smith T, O'Sullivan M, et al. Impact of increased protein intake in older adults: a 12-week double-blind randomised controlled trial. *Age Ageing* [Internet]. 2024 May 1 [cited 2024 Jun 21];53(Supplement_2):ii13–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38745486/>
113. van Elswyk ME, Weatherford CA, McNeill SH. A Systematic Review of Renal Health in Healthy Individuals Associated with Protein Intake above the US Recommended Daily Allowance in Randomized Controlled Trials and Observational Studies. *Adv Nutr* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2024 Jun 21];9(4):404–18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30032227/>
114. Colombo JP, Cervantes H, Kokorovic M, Pfister U, Perritaz R. Effect of different protein diets on the distribution of amino acids in plasma, liver and brain in the rat. *Ann Nutr Metab* [Internet]. 1992 [cited 2024 Jun 19];36(1):23–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1590669/>
115. Phillips RJ, Powley TL. Gastric volume rather than nutrient content inhibits food intake. *Am J Physiol* [Internet]. 1996 [cited 2024 Jun 19];271(3 Pt 2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8853402/>

116. Elahikhah M, Haidari F, Khalesi S, Shahbazian H, Mohammadshahi M, Aghamohammadi V. Milk protein concentrate supplementation improved appetite, metabolic parameters, adipocytokines, and body composition in dieting women with obesity: a randomized controlled trial. *BMC Nutr* [Internet]. 2024 Dec 1 [cited 2024 Jun 21];10(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38831442/>
117. Grandperrin A, Ollive P, Kretel Y, Maufrais C, Nottin S. Impact of a 16-week strength training program on physical performance, body composition and cardiac remodeling in previously untrained women and men. *Eur J Sport Sci* [Internet]. 2024 Apr 1 [cited 2024 Jun 21];24(4):474–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38895874/>
118. Van Loon LJC, Saris WHM, Verhagen H, Wagenmakers AJM. Plasma insulin responses after ingestion of different amino acid or protein mixtures with carbohydrate. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2000 [cited 2024 Jun 19];72(1):96–105. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10871567/>
119. Calbet JAL, MacLean DA. Plasma glucagon and insulin responses depend on the rate of appearance of amino acids after ingestion of different protein solutions in humans. *J Nutr* [Internet]. 2002 [cited 2024 Jun 19];132(8):2174–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12163658/>
120. Guevara-Cruz M, Vargas-Morales JM, Méndez-García AL, López-Barradas AM, Granados-Portillo O, Ordaz-Nava G, et al. Amino acid profiles of young adults differ by sex, body mass index and insulin resistance. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2024 Jun 20];28(4):393–401. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29422298/>
121. Beaumont M, Portune KJ, Steuer N, Lan A, Cerrudo V, Audebert M, et al. Quantity and source of dietary protein influence metabolite production by gut microbiota and rectal mucosa gene expression: a randomized, parallel, double-blind trial in overweight humans. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2024 Jun 19];106(4):1005–19. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28903954/>

14. Anexos

Anexo I



Anexo II

INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO:

EFFECTO DE LA PROTEÍNA DIETARIA Y LA RESTRICCIÓN DE ENERGÍA EN LA MEJORA DE LA
RESISTENCIA A LA INSULINA EN SUJETOS CON OBESIDAD.
(18 SEPTIEMBRE DE 2017, VERSIÓN 1)

Investigador principal: Dra. Martha Guevara Cruz
Dirección del Investigador: Av. Vasco de Quiroga No. 15 Col. Belisario Domínguez
Sección XVI, Tlalpan CP. 14060, Ciudad de México.
Teléfono de contacto del Investigador:
54570900 ext 2801 y 2802
Investigadores participantes: Dra. Martha Guevara Cruz, LN. María del Rocío Guizar
Heredia, MC Edgar Pichardo Ontiveros Dra. Lilia Guadalupe Noriega López, Dr. Armando
Tovar Palacio, QFB. Guillermo Ordaz Nava, Dra. Nimbe Torres y Torres, MC Adriana Flores
López, PLN Liliana Ardeaga.
Versión del consentimiento informado y fecha de su preparación: Versión uno.
Septiembre del 2017.

INTRODUCCIÓN:

Este documento es una invitación a participar en un estudio de investigación del Instituto.
Por favor, tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento; pregunte al
investigador sobre cualquier duda que tenga.

Procedimiento para dar su consentimiento. Usted tiene el derecho a decidir si quiere
participar o no como sujeto de investigación en este proyecto. El investigador le debe
explicar ampliamente los beneficios y riesgos del proyecto sin ningún tipo de presión y
usted tendrá todo el tiempo que requiera para pensar, solo o con quien usted decida
consultarlo, antes de decidir si acepta participar. Cualquiera que sea su decisión no
tendrá efecto alguno sobre su atención médica en el Instituto (en caso de ser paciente).

Con el fin de tomar una decisión verdaderamente informada sobre si acepta participar o no
en este estudio, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los posibles riesgos
y beneficios a su salud al momento de participar. Este documento le dará información
detallada acerca del estudio de investigación, la cual podrá comentar con quien usted
quiera, por ejemplo un familiar, su médico tratante, el investigador principal de este estudio
o con algún miembro del equipo de investigadores. Al final, una vez leída y entendida esta
información, se le invitará a que forme parte del proyecto y si usted acepta, sin ninguna
presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado.

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

Nombre del / de la Participante	Firma del / de la Participante
Fecha	Coloque la huella digital del participante sobre esta línea si no sabe escribir
Nombre del representante legal (si aplica)	Firma del representante legal
Fecha	
Nombre del Investigador	Firma del Investigador que explicó el documento
Fecha	
Nombre del Testigo 1	Firma del Testigo 1
Fecha	Relación con el participante
Dirección:	
Nombre del Testigo 2	Firma del Testigo 2
Fecha	Relación con el participante
Dirección:	
Lugar y Fecha:	

(El presente documento es original y consta de 11 páginas)

Anexo II



"EFECTO DE LA PROTEÍNA DIETARIA Y LA RESTRICCIÓN DE ENERGÍA EN LA MEJORA DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA EN SUJETOS CON OBESIDAD."

Historia clínica

Fecha: _____

Nombre: _____ Edad: _____

Lugar de nacimiento: _____ Teléfono de casa: _____ Celular: _____

Ancestria:

Padres mexicanos

☐ SI ☐ No

Abuelos mexicanos

☐ SI ☐ No

Antecedentes personales patológicos:

Enfermedad	SI	NO
Diabetes		
HTA		
ECV		
Cáncer		
VIH		
Tiroides		
Renal		
Pancreática		
Vesícula biliar		
Hepática		
Otra:		

Medicamentos:

	SI	NO
Glucosa		
Triglicéridos		
Colesterol		
Presión arterial		
Peso corporal		
Otra:		

Tratamientos:

	SI	NO
Esteroides		
Quimioterapia		
Inmunosupresores		
Radioterapia		
Otra:		

Consumo de tabaco:

☐ SI ☐ No No. de cigarrillos al día/semana: _____ Ha fumado en los últimos 6 meses: ☐ SI ☐ No

Consumo de alcohol:

☐ SI ☐ No

Evento cardiovascular en los últimos 6 meses:

☐ SI ☐ No

Perdido más de 3 kg en los últimos 3 meses:

☐ SI ☐ No

Embarazo actual/embarazada/lactancia en los últimos 6 meses:

☐ SI ☐ No

Anticonceptivos orales:

☐ SI ☐ No

Alergias a algún alimento:

☐ SI ☐ No

Codr: _____

Síntomas gastrointestinales:

	SI	NO
Acidez		
Sx. Intestino irritable		
Diarrea crónica		
Estreñimiento crónico		
Otra:		

Uso de suplementos:

	SI	NO
Proteína		
Vitaminas		
Minerales		
Plantas medicinales		
Otra:		

Hábitos de alimentación

	SI	NO
Entre semana come en casa		
En fin de semana come en casa		
Prepara sus propios alimentos		
Le gusta cocinar		
Hace su propia despensa		
Ha estado en dietas		
Ha sabido llevar sus dietas		

Familia

	SI	NO
Vive sola/a		
Vive con integrantes de su familia		
Vive con su cónyuge		
Vive con sus hijos		
Total integrantes en casa:		

Anexo III



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO:

**MODULACIÓN DE LOS ÁCIDOS BILIARES SECUNDARIOS A TRAVÉS DE LA MICROBIOTA INTESTINAL,
TRAS EL CONSUMO DE UNA DIETA ALTA EN PROTEÍNA.
(ABRIL DE 2023, VERSIÓN 1)**

Investigador principal: Dr. Armando R. Tovar Palacio.

Dirección del investigador: Av. Vasco de Quiroga No. 15, Col. Belisario Domínguez, Sección XVI, Tlalpan CP. 14080, Ciudad de México.

Teléfono de contacto del investigador:

54870900, ext. 2801 y 2802 celular 5539260946

Investigadores participantes: Dr. Armando R. Tovar Palacio, Dra. Martha Guevara Cruz, MC. Edgar Pichardo Ontiveros, MC. María del Rocío Guizar Heredia, Dra. Nimbe Torres y Torres, Dra. Mónica Sánchez Tapia, Dra. Laura Alejandra Velázquez Villegas, Dr. Omar Granados Portillo, Dra. Sandra Tobón Cornejo, LN. Diana Alejandra De Jesús Jacintos, PLN. Montserrat Molina Espinoza.

Versión del consentimiento informado y fecha de su preparación: Versión uno, abril de 2023.

INTRODUCCIÓN:

Este documento es una invitación a participar en un estudio de investigación del Instituto. Por favor, tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento; pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga.

Procedimiento para dar su consentimiento. Usted tiene el derecho a decidir si quiere participar o no como sujeto de investigación en este proyecto. El investigador le debe explicar ampliamente los beneficios y riesgos del proyecto sin ningún tipo de presión y **usted tendrá todo el tiempo que requiera para pensar, solo o con quien usted decida consultarlo, antes de decidir si acepta participar**. Cualquiera que sea su decisión no tendrá efecto alguno sobre su atención médica en el Instituto.

Con el fin de tomar una decisión verdaderamente informada sobre si acepta participar o no en este estudio, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los posibles riesgos y beneficios a su salud al participar. Este documento le dará información detallada acerca del estudio de investigación, la cual podrá comentar quien usted quiera, por ejemplo, un familiar, su médico tratante, el investigador principal de este estudio o con algún miembro del equipo de investigadores. Al final, una vez leída y entendida esta información, se le invitará a que forme parte del proyecto y si usted acepta, sin ninguna presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado.

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

Nombre del / de la Participante	Firma del / de la Participante
Fecha	Coloque la huella digital del participante sobre esta línea si no sabe escribir
Nombre del representante legal (si aplica)	Firma del representante legal
Fecha	
Nombre del Investigador que explicó el documento	Firma del Investigador
Fecha	
Nombre del Testigo 1	Firma del Testigo 1
Fecha	Relación con el participante:
Dirección: _____	

Nombre del Testigo 2	Firma del Testigo 2
Fecha	Relación con el participante:
Dirección: _____	

Lugar y Fecha: _____	

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

MODULACIÓN DE LOS ÁCIDOS BILIARES SECUNDARIOS A TRAVÉS DE LA MICROBIOTA INTESTINAL,
TRAS EL CONSUMO DE UNA DIETA ALTA EN PROTEÍNA. (ABRIL DE 2023, VERSIÓN 1).

10

Anexo IV



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

FR-FN-55

“MODULACIÓN DE LOS ÁCIDOS BILIARES SECUNDARIOS A TRAVÉS DE LA MICROBIOTA INTESTINAL TRAS EL CONSUMO DE UNA DIETA ALTA EN PROTEÍNA”

Historia Clínica Previsita

ID: _____

Fecha: _____

Nombre: _____ Edad: _____

Lugar de nacimiento: _____ Teléfono de casa: _____ Celular: _____

Medicamentos:

	SÍ	NO
Gastritis		
Acidez		
Antibióticos		
Pérdida de peso		
Glucosa		
Presión arterial		
Colesterol		
Antiinflamatorios		
Otra:		

Enfermedades:

	SÍ	NO
Diabetes		
HTA		
ECV		
Cáncer		
VIH		
Tiroides		
Renal		
Pancreática		
Vesícula biliar		
Hepática		
Otra:		

Tratamientos:

	SÍ	NO
Esteroides		
Quimioterapia		
Inmunosupresores		
Radioterapia		
Otra:		

Consumo de tabaco:

☐ Sí ☐ No No. de cigarrillos al día/semana: _____ Ha fumado en los últimos 6 meses: ☐ Sí ☐ No

FR-FN-55

Consumo de alcohol:

☐ Sí ☐ No

Evento cardiovascular en los últimos 6 meses:

☐ Sí ☐ No

Perdido más de 3 kg en los últimos 3 meses:

☐ Sí ☐ No

Embarazo actual/embarazada/lactancia en los últimos 6 meses:

☐ Sí ☐ No

Anticonceptivos orales:

☐ Sí ☐ No

Alergias a algún alimento:

☐ Sí ☐ No

Cuál: _____

Síntomas gastrointestinales:

	SÍ	NO
Acidez		
Sx. Intestino irritable		
Diarrea crónica		
Estreñimiento crónico		
Otra:		

Uso de suplementos:

	SÍ	NO	ÚLTIMA VEZ DE CONSUMO
Proteína			
Probióticos			
Prebióticos			
Simbióticos			
Otra:			

Anexo V

FR-FN-56



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

RECORDATORIO DE 24 HORAS

ID: _____

Kcal recomendadas: _____

Visita: _____

Día: _____

Hora y lugar de consumo	Alimentos	Cantidad
Desayuno Hora: _____ Lugar: _____		
Colación Hora: _____ Lugar: _____		
Comida Hora: _____ Lugar: _____		
Colación Hora: _____ Lugar: _____		
Cena Hora: _____ Lugar: _____		



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

INSTRUCTIVO PARA LA TOMA DE MUESTRAS FECALES

EL KIT CONTIENE:

- 3 tubos con solución
- 3 hisopos
- 1 bolsa tipo ziploc

¿CÓMO RECOLECTAR LA MUESTRA?

RECOLECTAR

PASO
1



Después de evacuar, al limpiarse,
agarrar con un hisopo un poco de las heces.
IMPORTANTE tener suficiente muestra.

DEPOSITAR

PASO
2



Una vez recolectada la muestra en el hisopo,
introducir el hisopo en el tubo de muestra
con solución y cerrarlo bien.

REPETIR

PASO
3



Realizar lo mismo con los otros tubos.

ENTREGAR

PASO
4



Meter los tubos en una bolsa tipo ziploc,
entregar en la fecha indicada.

Anexo VII



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

¿Cómo consumir el Caseinato de calcio (Ca) ?

Antes de consumirlo, debes considerar:

- Almacenarlo a temperatura ambiente.
- Conservar a temperatura ambiente a no más de 25°C.
- Protegerlo de la luz y humedad.
- Consumirlo en tiempo y forma indicada.
- Evitar mezclar con alimentos a alta temperatura.



Opciones para mezclar con los alimentos el Caseinato de Ca:

PREPARACIÓN CON LÍQUIDOS:

- Licuados.
- Jugos de frutas o verduras.
- Té
- Leche
- Yogurt bebible.
- Consomé o caldos
- Agua simple



PREPARACIÓN CON SÓLIDOS:

- Arroz
- Guisados
- Cereales (avena, amaranto, quínoa, cereal de caja)



Recuerda:

El caseinato de calcio es una proteína fácil de combinar que no modifica el olor ni sabor de los alimentos.

Departamento Fisiología de la Nutrición, INCMNSZ.

Anexo VIII

“MODULACIÓN DE LOS ÁCIDOS BILIARES SECUNDARIOS A TRAVÉS DEL MICROBIOTA INTESTINAL TRAS EL CONSUMO DE UNA DIETA ALTA EN PROTEÍNA FR-FN-55-4532”

Bitácora de Consumo de Caseinato de calcio

*Además de esta bitácora de toma de caseinato de calcio, deberá llevar las bolsas de plástico vacías en la próxima consulta

FR-FN-55-4532

¿Cómo consumir el caseinato de calcio?

ID: _____

La preparación del caseinato se muestra en la infografía entregada sobre “¿Cómo consumir caseinato de calcio (Ca)?”

FECHA: _____

✓ Marcar con una palomita si es que usted tomó el caseinato de calcio

	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha
Caseinato de calcio (En bolsas de plástico)	1 <u>Día</u> ○	2 <u>Día</u> ○	3 <u>Día</u> ○	4 <u>Día</u> ○	5 <u>Día</u> ○	6 <u>Día</u> ○	7 <u>Día</u> ○
Observaciones							